

**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 de origen animal

**MODALIDAD** Estudio de caso

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2012**

## PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de Mesa:

---

Dra. Cristina Rios

Segundo Miembro (Tutor):

---

Dra. Silvana Carro

Tercer Miembro:

---

Dra. Matilde Piquet

Autores:

---

Marisol Barneche

---

Marcelo Villagrán

Fecha: 17/12/2012

## **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 del Departamento de Ciencia y Tecnología de la Leche y Salud Pública Veterinaria por el apoyo recibido en las diferentes etapas del trabajo.
- A nuestros amigos, por estar siempre presentes.
- A nuestras familias, por su apoyo e incentivo continuo. A ellos les dedicamos este trabajo.

## **TABLA DE CONTENIDO**

|   |    |
|---|----|
| PÁGINA DE APROBACIÓN.....   | 1  |
| AGRADECIMIENTOS.....  | 2  |
| LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....   | 3  |
| RESUMEN.....  | 4  |
| SUMMARY.....  | 5  |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....   | 6  |
| PRODUCCIÓN MUNDIAL DE LECHE.....  | 6  |
| PRODUCCIÓN DE LECHE EN URUGUAY.....   | 6  |
| DEFINICIÓN DE LECHE Y COMPOSICIÓN.....  | 7  |
| CALIDAD DE LECHE.....   | 8  |
| Sistema Nacional de Calidad de Leche en Uruguay.....  | 9  |
| Especificaciones del Reglamento Bromatológico Nacional (RBN).....                           | 9  |
| DEFINICIÓN Y CALIDAD DE QUESO.....  | 10 |
| Calidad Higiénico-Sanitaria de Quesos Artesanales.....                                      | 10 |
| PRINCIPIOS DE LA ELABORACIÓN DEL QUESO.....   | 12 |
| Tratamientos previos de la leche.....   | 12 |
| Coagulación de la leche.....  | 13 |
| Desuerado o sinéresis de la cuajada.....  | 14 |
| Moldeado.....   | 15 |
| Prensado.....   | 15 |
| Salado.....   | 16 |
| Maduración.....   | 16 |
| CARACTERÍSTICAS DE QUESO TIPO SBRINZ.....   | 17 |
| MARCO LEGAL PARA QUESOS ARTESANALES.....  | 19 |
| ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS (ETA).....  | 19 |
| Microorganismos importantes en leche y queso.....   | 20 |
| Staphylococcus aureus.....  | 20 |
| Salmonella spp.....   | 21 |
| Escherichia coli.....   | 22 |
| Listeria monocytogenes.....   | 23 |
| OBJETIVOS.....  | 24 |
| OBJETIVO GENERAL.....   | 24 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....  | 24 |
| MATERIALES Y MÉTODOS.....   | 25 |
| RESULTADOS.....   | 27 |
| CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTABLECIMIENTOS.....  | 27 |
| PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO ARTESANAL (TIPO SBRINZ).....                                | 29 |
| CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA EN LECHE CRUDA.....   | 29 |
| Recuento Total de Mesófilos Aerobios y Recuento de Células Somáticas.....                   | 29 |
| Determinación de coliformes totales y recuento de Staphylococcus coagulasa<br>positiva..... | 30 |
| Calidad de composición.....   | 31 |
| CALIDAD EN QUESOS ARTESANALES.....  | 31 |
| Determinación de coliformes totales y termotolerantes.....                                  | 31 |
| Recuento de Staphylococcus coagulasa positiva.....  | 32 |
| Determinación de Listeria monocytogenes y Salmonella spp.....                               | 33 |
| ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO EN AGUA.....  | 33 |
| Determinación de coliformes totales y termotolerantes.....                                  | 33 |

|   |    |
|---|----|
| DISCUSIÓN.....                                    | 34 |
| CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA EN LECHE CRUDA.....   | 34 |
| CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN QUESOS ARTESANALES..... | 37 |
| CONCLUSIONES.....                                 | 41 |
| RECOMENDACIONES.....                              | 42 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                   | 43 |

## **LISTA DE CUADROS Y FIGURAS**

|  |    |
|--|----|
| <b>Cuadro I.</b> Composición general de la leche bovina.....   | 10 |
| <b>Cuadro II.</b> Categorías de calidad de leche. ....   | 12 |
| <b>Cuadro III.</b> Valores promedio en porcentaje de materia grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos en leche cruda.....  | 34 |
| <b>Cuadro IV.</b> Determinación de coliformes totales y termotolerantes en muestras de agua por establecimiento.....   | 36 |
| <b>Figura I.</b> Diagrama de flujo de Queso Sbrinz.....  | 21 |
| <b>Figura II.</b> Análisis realizados a las muestras de leche cruda.....   | 29 |
| <b>Figura III.</b> Instalaciones e infraestructura de productor pertenecientes al grupo “Los Treinta”.....   | 31 |
| <b>Figura IV.</b> Salas destinadas a salazón y maduración de quesos.....   | 31 |
| <b>Figura V.</b> Resultados agrupados en categorías del RTMA obtenidos en el total de muestras (n=83) de leche cruda expresados en $\log_{10}$ ufc/mL.....   | 32 |
| <b>Figura VI.</b> Resultados obtenidos del RCS en leche cruda (n=83).....  | 33 |
| <b>Figura VII.</b> Categorías obtenidas del recuento de coliformes totales en leche cruda (n=83) expresados en $\log_{10}$ ufc/mL.....   | 33 |
| <b>Figura VIII.</b> Categorías obtenidas del recuento de <i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva en leche cruda (n=83) expresados en $\log_{10}$ ufc/mL.....                                      | 34 |
| <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 $\log_{10}$ NMP/g..... | 35 |
| <b>Figura X.</b> Categorías de <i>Staphylococcus</i> coagulasa positiva en queso artesanal tipo Sbrinz (n=83) expresado en $\log_{10}$ ufc/g.....  | 35 |

## **RESUMEN**

La quesería 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 queso 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 su 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* coagulasa positiva, coliformes totales y termotolerantes, así como análisis de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. Los 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 la 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 (OMS/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 (FIL/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 los últimos 10 años, la producción láctea mundial ha crecido a una tasa del 2% acumulativo anual, pero no ha logrado acompañar plenamente la creciente demanda mundial (Uruguay XXI, 2011).

La producción mundial de leche estimada en el 2011 fue de 446 mil millones de toneladas métricas, lo que representaría un aumento del 1,7% con respecto al año anterior. En este contexto, la Unión Europea en el 2010 interviene con un 31% del volumen total de la producción mundial, mientras que el país con mayor aporte individual es Estados Unidos con prácticamente el 20%. La tendencia en el 2011 respecto al año anterior indica que el crecimiento lechero mundial fue liderado por Asia, Oceanía y Sudamérica, con aumentos de entre 3 y 4% por región. Con respecto a Sudamérica, que aporta entre el 9 y 10% de la producción mundial; Brasil se destaca en su dinámica productiva y de volumen, aunque Argentina continúa creciendo a tasas superiores, con un 4% de expansión respecto al 2010 (DIEA, 2011).

### **PRODUCCIÓN DE LECHE EN URUGUAY**

La producción de leche de Uruguay representa el 0,3% de la producción mundial, la que se encuentra en constante aumento, llegando en los últimos 5 años al 4% acumulativo anual (Uruguay XXI, 2011). La misma se ha duplicado con respecto a los años 90, aunque en muy pocos años se han producido caídas con respecto al período anterior (DIEA, 2011).

El volumen total anual de leche producido en el 2010 fue de 1.854 millones de litros, ubicándose 4,7% por encima del ejercicio anterior, siendo el máximo histórico. De dicha producción, 1.766 millones de litros (más del 95%) provienen de predios que tienen actividad comercial en lechería. Con relación al sistema de comercialización, el sector de industrias procesadoras se mantiene de forma predominante, ya que en él se vierte un 84% de la leche obtenida. Por otra parte y en cuanto a la ubicación geográfica, la producción de leche en el país sigue manteniendo una amplia dispersión territorial, pero con una marcada concentración en las zonas de Florida, San José y Colonia (DIEA, 2011).

Además, exporta más del 60% de su producción de leche (Uruguay XXI, 2011).

El mayor volumen corresponde a leches en polvo y quesos, acumulando ambos el 96% del total exportado. Entre los quesos, los de tipo semi-duro comprenden la mayor parte (61%) (DIEA, 2011).

Uruguay constituye un ejemplo dentro de América, tanto por el elevado consumo de lácteos de su población como por la amplia oferta de diversos productos. En relación al consumo, el 71% proviene de los productos procesados a nivel industrial, un 17 % de elaboración predial y venta directa y el restante 12 % del consumo en los tambos. La cifra estimada para el 2010 fue de 242 litros de consumo por persona por año (DIEA, 2011). Este altísimo consumo lo ubica en primer lugar dentro de América Latina (Uruguay XXI, 2011).

## 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 y col., 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 y col., 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 y col., 2001). También contiene otros lípidos como fosfolípidos y cerebrósidos. Asimismo, la fracción grasa incluye esteroides, 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, 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 y col., 2001). Se distinguen cinco tipos de caseínas:  $\alpha_s^1$ ,  $\alpha_s^2$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$  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).

La leche contiene sales inorgánicas y orgánicas. Los principales minerales en la leche son K, Na, Ca, Mg, Cl y fosfato, además de contener muchos otros elementos en cantidades traza (Walstra y col., 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). 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 el decreto del Sistema Nacional de Calidad de Leche, que empezó a aplicarse en 1997. Este sistema clasifica la leche en categorías de acuerdo con el recuento bacteriano y el recuento de células somáticas (Instituto Plan Agropecuario, 1997). El decreto N°57/999, con vigencia el 1° de marzo de 1999, establece los parámetros que determinan las distintas categorías de calidad de leche (Cuadro II).

**Cuadro II. Categorías de calidad de leche. Decreto N° 57/999 MGAP**

| Categoría | Recuento Microbiano<br>(ufc mil/mL) | Células Somáticas<br>(mil/mL) |
|-----------|-------------------------------------|-------------------------------|
| A         | < 200                               | < 800                         |
| B         | 200 – 800                           | 800 – 1.000                   |
| C         | > 800                               | > 1.000                       |

De acuerdo con datos del DIEA (2003), el promedio ponderado de recuentos microbianos cayó notoriamente desde la instalación del Sistema Nacional de Calidad, mientras que las células somáticas tuvieron una disminución del 27% hasta ese año.

Con este nuevo sistema, en el que se tiene en cuenta el recuento total de bacterias y células somáticas, se cumplió una etapa fundamental para mejorar la calidad de la leche que procesan las plantas industriales. Consecuencia de ello es que casi un 90% de la leche remitida por los productores tienen menos de 50.000 ufc/ml (DIEA, 2003).

### Especificaciones del Reglamento Bromatológico Nacional (RBN)

Por otra parte el RBN (MSP, 1994) establece como leche cruda no apta para consumo o elaboración de cualquier producto alimenticio los siguientes límites: el recuento de unidades formadoras de colonias (ufc) por mililitro de bacterias aerobias mesófilas, no deberá sobrepasar el límite de  $1 \times 10^6$  ufc/mL,  $10^4$  ufc/mL de coliformes totales y hasta  $10^3$  ufc/mL de *Staphylococcus aureus*.

## 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 específicas, 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.

En cuanto a queso artesanal el MSP, (1994) 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. Según el Decreto 65/003 del MGAP, se define Queso Artesanal como: “el queso elaborado con leche cruda, pasteurizada o termizada, producida en el predio, exclusivamente”.

### Calidad Higiénico-Sanitaria de Quesos Artesanales

En el sistema lácteo uruguayo existen dos subsistemas diferentes, uno de producción de leche fluida con altos índices de productividad y con un esquema industria-dependiente, y otro subsistema para la producción de queso artesanal (elaboración en el predio de la leche producida). De esta manera, del total de leche destinada a producción de queso en Uruguay, el primer subsistema (industrial) es responsable en un 78% y el segundo (artesanal) del 22% restante (PACPYMES, 2006).

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

fuentes 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 y col., 2007).

La participación del queso artesanal en lo que respecta al consumo de queso, en el mercado interno de Uruguay compite con el consumo de queso industrial así como también con el importado. De acuerdo a las estadísticas agropecuarias aproximadamente el 50% del queso consumido es de origen artesanal. Si bien este tipo de producto tiene una demanda concreta en el mercado interno, el sector cuenta con limitaciones: escasos volúmenes de producción individual y calidad de la producción muy variables y a veces con un mal posicionamiento, provocado por manejos deficientes en lo que respecta a la inocuidad del producto (PACPYMES, 2006).

Existen más de 2000 establecimientos dedicados a la quesería artesanal en su mayoría ubicados en los Departamentos de San José y Colonia, siendo la mayor parte productores con menos de 50 hectáreas (Bagnato, 2004).

En la quesería artesanal uruguaya, existen dos 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 y col., 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 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 y col., 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 y col., 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 (Walstra y col., 2001; Scholz, 2007).

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 (Walstra y col., 2001; Alais, 1985). 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 haya 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  $\text{Ca}^{2+}$  suficiente (Walstra y col., 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 y col., 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 y col., 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 moldeado 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 y col., 2001).

El método de moldeado 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 y col., 2011). También interviene en los procesos enzimáticos, en la selección y crecimiento de microorganismos y en las actividades bioquímicas de reducción de la actividad del agua (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 y col., 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 queso 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 queso. 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).

## Maduración

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 y col., 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 y col., 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 y col., 2001).

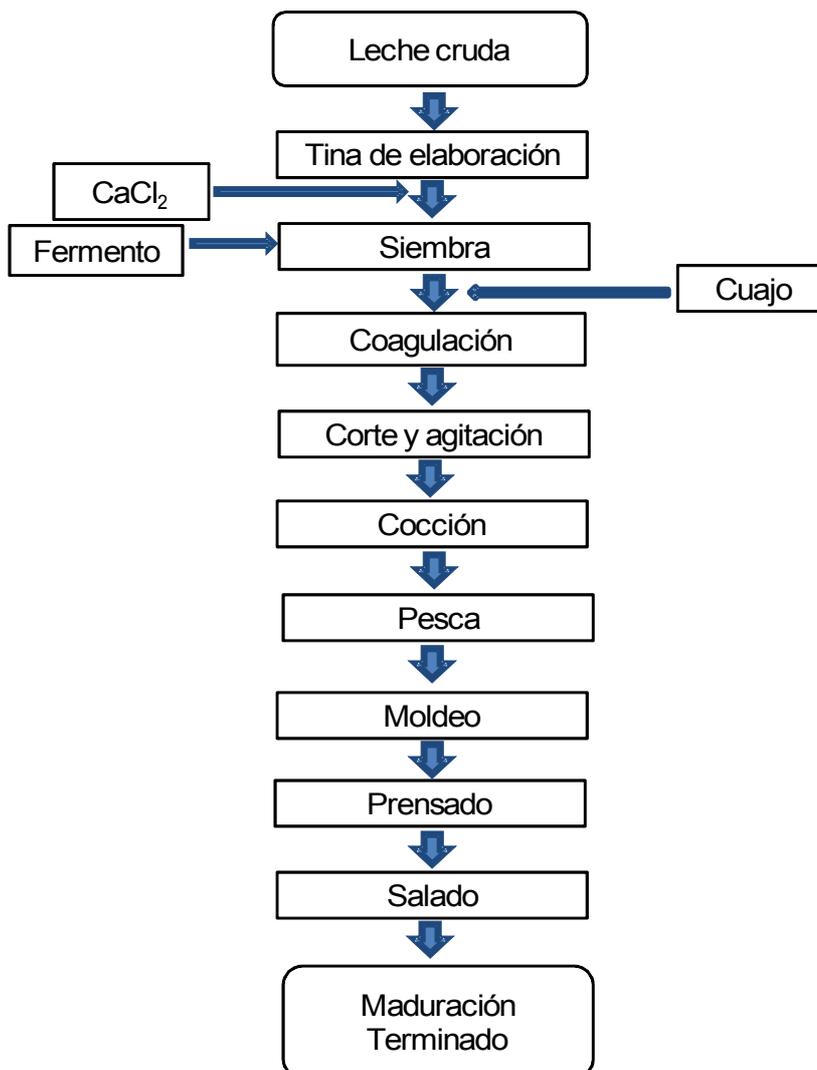
## CARACTERÍSTICAS DE QUESO TIPO SBRINZ

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 y col., 1999). Estos agentes y toxinas llegan a los alimentos por inadecuada manipulación o conservación (Roig Sagués, 2004).

Se estima que 76 millones de casos de ETA ocurren cada año en los Estados Unidos. Cuando se consideran 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).

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 y col., 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 plaguicidas 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 y col., 2009).

### Microorganismos importantes en leche y queso

De acuerdo a Kousta y col. (2010) los microorganismos implicados en brotes de ETA originadas por el consumo de quesos pueden ser entre otros: *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 (Rodríguez y col., 2009; Kousta y col., 2010)

### *Staphylococcus aureus*

Los integrantes del género *Staphylococcus*, son cocos Gram positivos, de 0.5-1.5  $\mu\text{m}$  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.

La enfermedad estafilocócica transmitida 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 y col. (2010), se considera la tercera causa más importante en el mundo de ETA.

Los síntomas característicos de la intoxicación estafilocócica son náuseas, 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).

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).

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

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 y col., 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 náuseas, 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 y col., 2009).

## *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 y col. 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 y col., 2007).

*E. coli* forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*, la cual está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos 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 y col., 2009).

*Escherichia coli* enterohemorrágica ha sido descrita 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).

### *Listeria monocytogenes*

El género *Listeria* pertenece a la subrama de *Clostridium* junto con *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Brochothrix*. Las características de este género son: 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 y col., 2009).

La principal especie patógena es *L. monocytogenes*, la 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 y col., 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 y col., 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 y col., 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. Esta bacteria es una de las patógenas más importante de origen alimentario, dado que resiste diversas condiciones ambientales, como pH bajo, altas concentraciones de sal y, sobre todo, tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de refrigeración (2-4°C) y tratamientos no satisfactorios de pasteurización, logrando que se constituya en una seria amenaza en la industria alimentaria (Espinoza y col., 2004).

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 y col., 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 de 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™ (Ginn y col., 1984).

*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®).

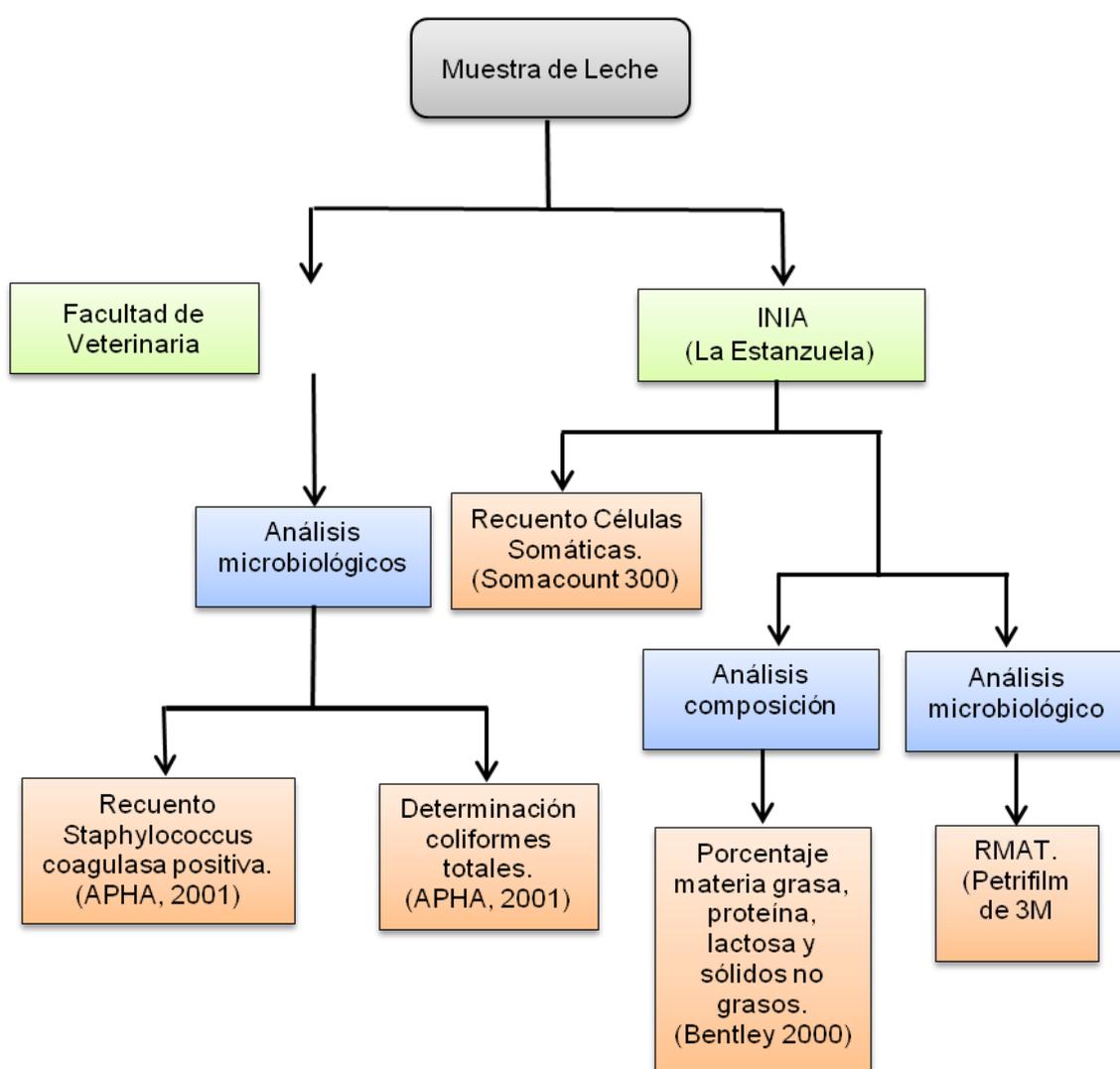
En el laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Leche a partir de las muestras de leche se realizaron los siguientes análisis microbiológicos: determinación de coliformes totales y recuento de *Staphylococcus* coagulasa positiva conforme la metodología American Public Health Association (APHA, 2001)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

Para realizar la evaluación de la calidad microbiológica en quesos se determinó *Staphylococcus* coagulasa positiva, coliformes totales ( $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y coliformes termotolerantes ( $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). 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 muestreo 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 ( $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) y coliformes termotolerantes ( $44 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) 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 ordeño, 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 ordeño y el mismo tiene piso y paredes de cemento, a excepción de uno en 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 varios de los establecimientos 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 ordeño.



**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.

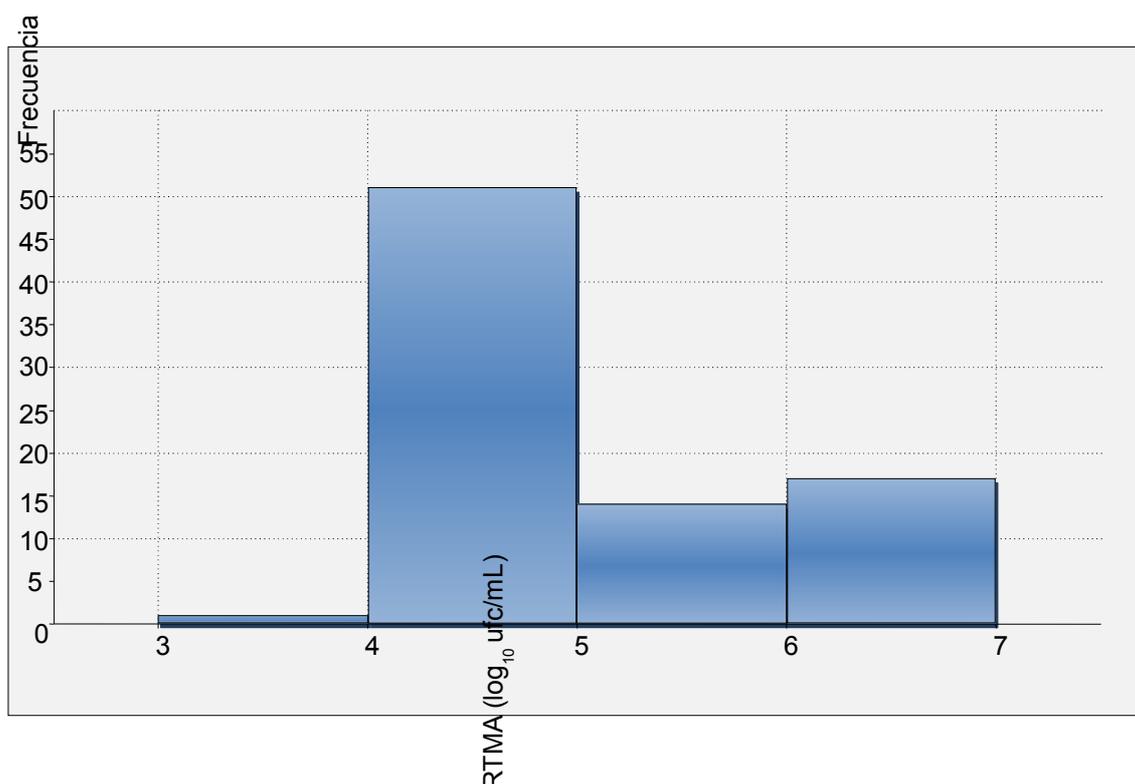
## PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO ARTESANAL (TIPO SBRINZ)

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 ordeño 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 y Recuento de Células Somáticas

Los resultados obtenidos en relación al RTMA en leche cruda, agrupados en categorías y expresados en logaritmo base 10 ( $\log_{10}$ ) 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  $\log_{10}$  ufc/mL**

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

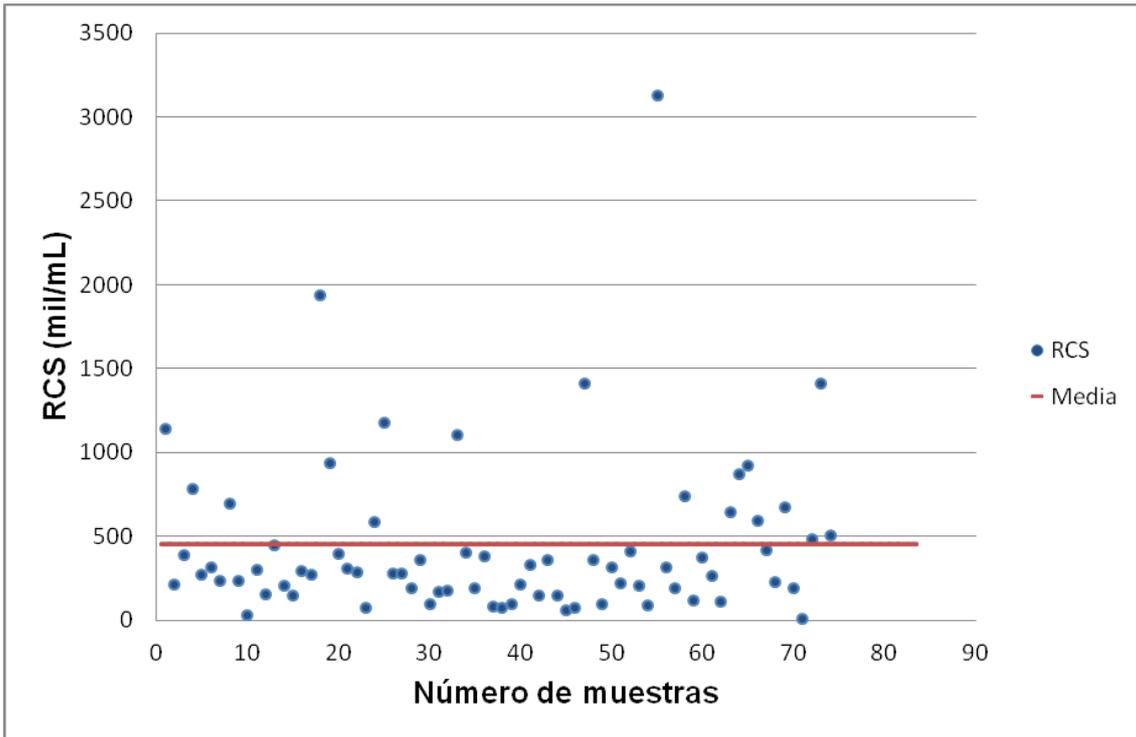


Figura VI. Resultados obtenidos del RCS en leche cruda (n=83)

Determinación de coliformes totales y recuento de *Staphylococcus coagulasa* positiva

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 ( $\log_{10}$ ) de ufc/mL.

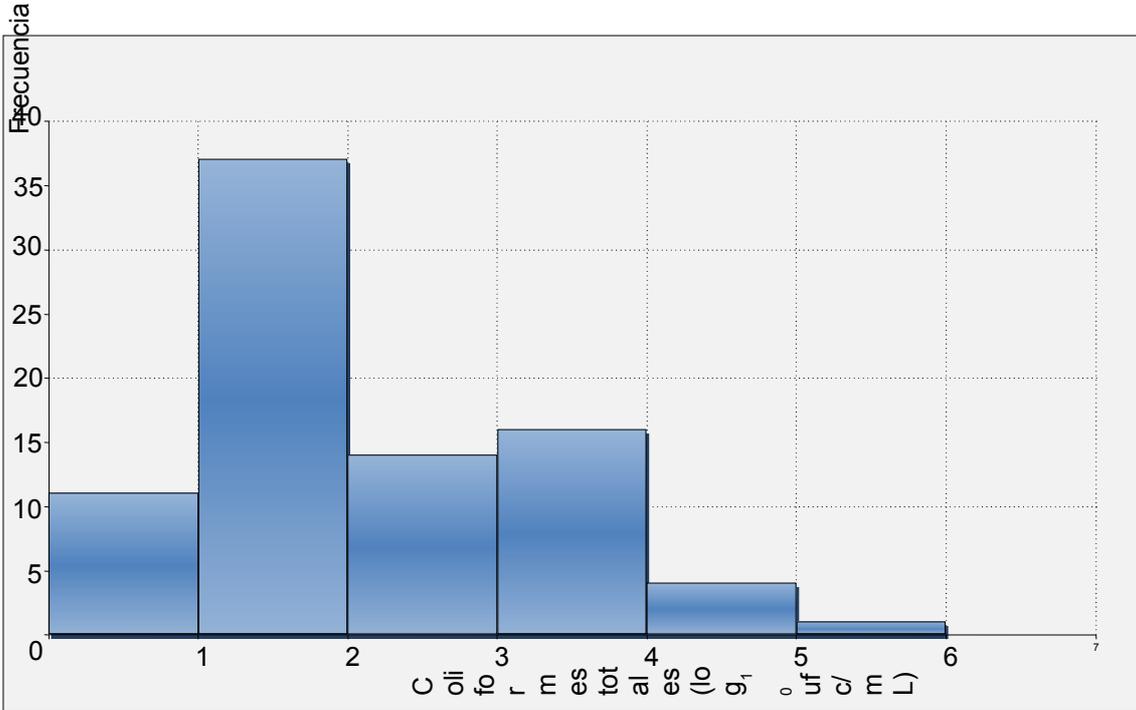
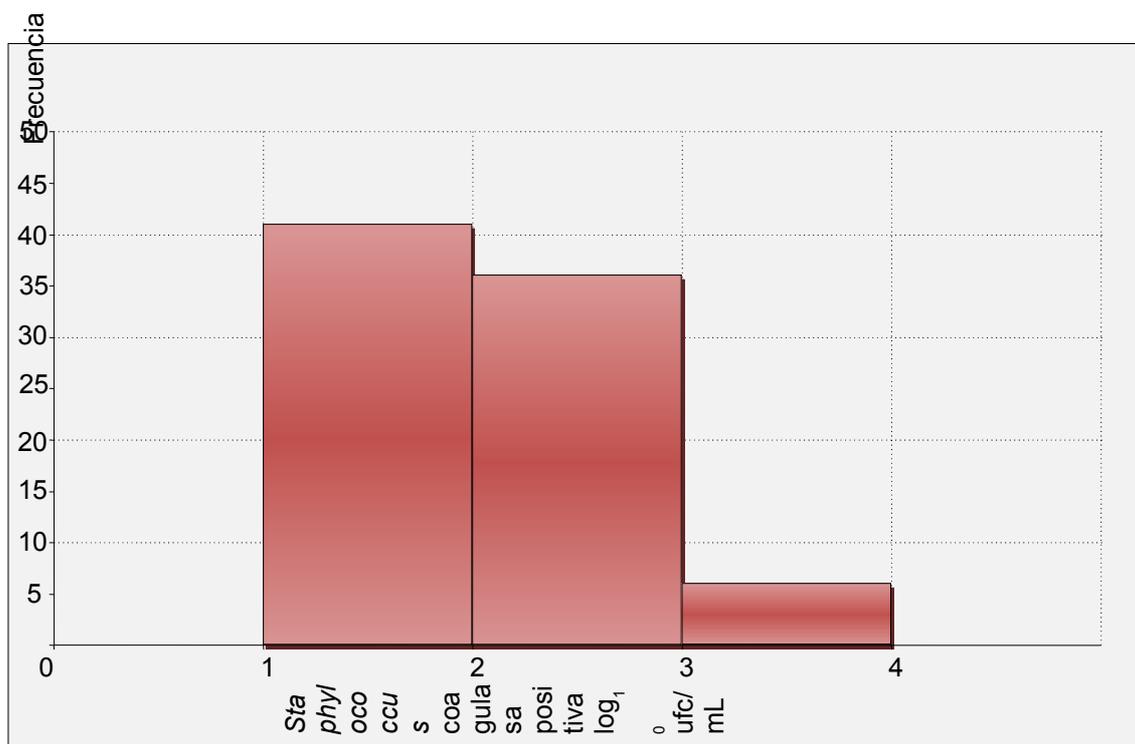


Figura VII. Categorías obtenidas del recuento de coliformes totales en leche cruda (n=83) expresados en  $\log_{10}$  ufc/mL



**Figura VIII. Categorías obtenidas del recuento de *Staphylococcus coagulasa* positiva en leche cruda (n=83) expresados en log<sub>10</sub> 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 ± 0,76   | 3,08 ± 0,19 | 4,72 ± 0,24 | 8,50 ± 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 (log<sub>10</sub>) de NMP/g en queso artesanal tipo Sbrinz elaborado a partir de leche cruda.

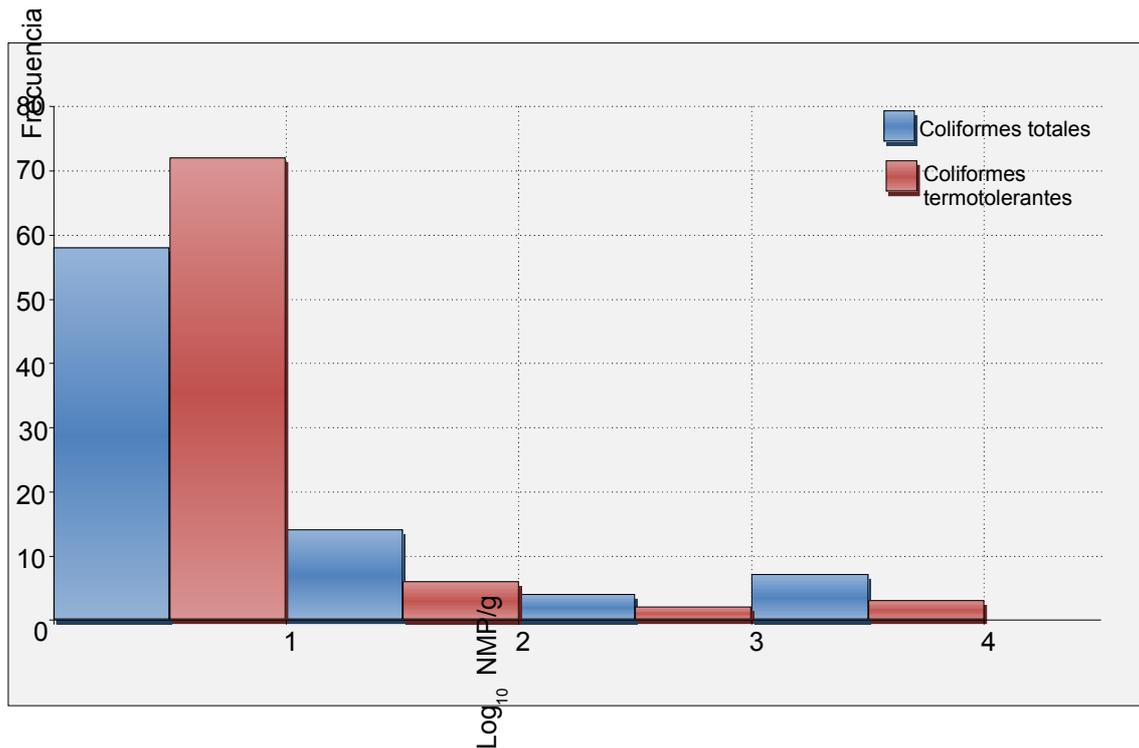


Figura IX. Determinación de coliformes totales y termotolerantes en el total de muestras analizadas (n=83) de queso artesanal agrupados en categorías y expresado en log<sub>10</sub> NMP/g

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<sub>10</sub> ufc/g.

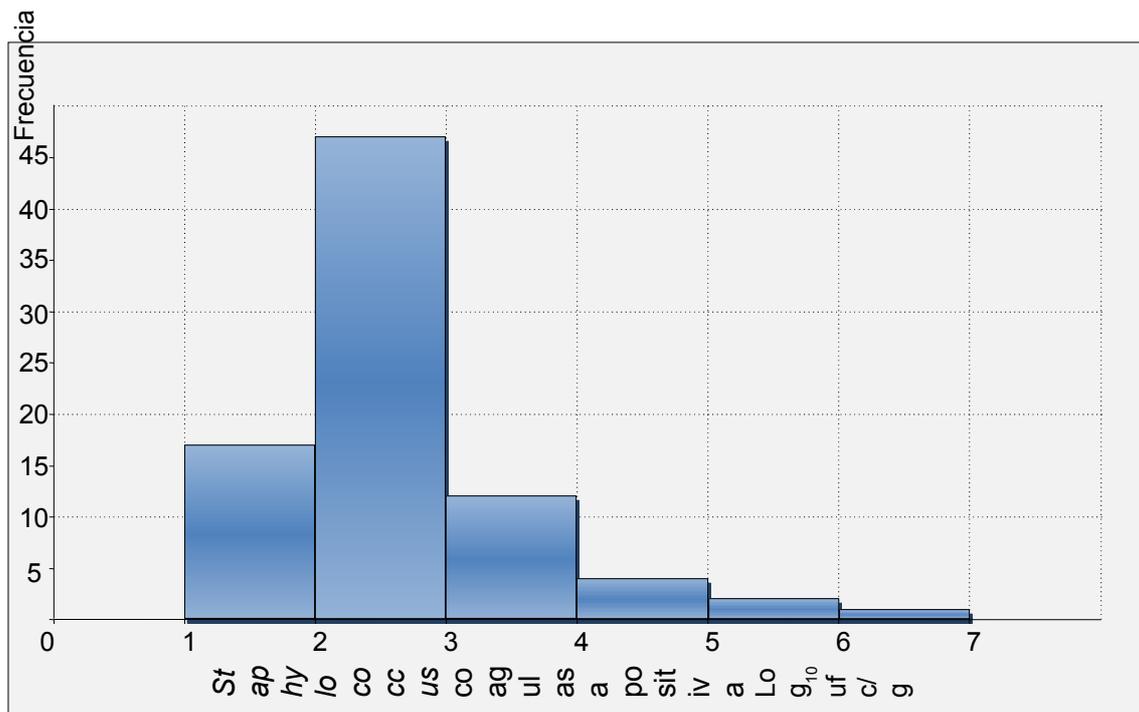


Figura X. Categorías de *Staphylococcus coagulasa positiva* en queso artesanal

tipo Sbrinz (n=83) expresado en  $\log_{10}$  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                       |

\*1 NMP/100ml

\*2 presencia/ausencia en 100ml

## **DISCUSIÓN**

Este estudio presentó como objetivo general determinar la calidad higiénico-sanitaria 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 (Rodríguez y col., 2009).

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 y col., 2007).

Según DIEA, (2008) a lo largo del año 2007, los valores en el país para materia grasa se encontraron en el rango de 3.47-3.93%, mientras que en este estudio el valor promedio fue algo menor (3.24 %). En relación a proteína a nivel nacional en ese año fue de 3,05-3,25%, similar a los resultados encontrados (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**

La elaboración artesanal trae consigo el riesgo de la manipulación directa a la que es sometida la materia prima. Esto favorece la diseminación y el desarrollo de microorganismos contaminantes y alterantes de los alimentos así como el de otros 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 y col., 2010), por este motivo es de importancia conocer la calidad higiénica de dicha materia prima.

El RTMA estima el número total de bacterias mesófilas aerobias presentes en leche cruda y provee una medida general de calidad higiénica de la leche; sin embargo, tiene un valor diagnóstico muy limitado, en lo que concierne a la identificación de bacterias contaminantes (Elmoslemany y col. 2009).

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  $1 \times 10^6$  ufc/mL (6

$\log_{10}$  ufc/mL). Del total de muestras, 66 se presentaron por debajo de este límite, lo que significa que un 79,5%, son aptas para el consumo y elaboración de derivados según este parámetro. Analizando esos resultados un 62,6% presentaron valores menores a  $10^5$  ufc/mL, de los que sólo el 1,2% (correspondiendo a 1 muestra) presentó valor por debajo de  $10^4$  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  $10^5$  ufc/mL y un 91% menores a  $10^4$  ufc/mL.

Por otro lado, en referencia al pago por calidad de leche para este parámetro exclusivamente de acuerdo al Decreto N° 57/999, MGAP (Cuadro II), los resultados obtenidos sitúan al 68,7% de las muestras (n=57) en la categoría A, 10,8% (n=9) en la categoría B y 20,5% (n=17) en la C.

Según DIEA, (2003) el 98% de la leche producida en Uruguay se encuentra en la categoría A. En este contexto, es posible considerar los resultados obtenidos en este estudio como altos, ya que un 20,5% de las muestras analizadas están comprendidas en la categoría C. Por lo tanto, resulta interesante analizar los datos por productor. En este sentido, se observa que este 20,5% no provienen de un productor en particular, ya que 8 productores presentaron en algún momento del período analizado categoría C. Esto podría deberse a posibles deficiencias en las medidas higiénicas utilizadas. Según Calderón y col. (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 ordeño 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 y col. (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 ordeño, en cuanto a la contaminación microbiana, es el tiempo transcurrido desde el ordeño hasta el tanque, sin alcanzar la temperatura de refrigeración.

Las células somáticas 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 (Pedraza y col., 1999).

En cuanto al RCS el Decreto N° 57/999 (MGAP) establece como categoría A recuentos menores a  $8 \times 10^5$  cél/mL de leche. El valor promedio en este estudio (n=83) fue de  $4,5 \times 10^5$  cel/mL, resultando inferior al establecido para esta categoría. Gillespie y col. (2012) en EUA, encontraron un valor promedio de  $4,7 \times 10^5$  cel/mL, lo cual se asemeja a los encontrados en este estudio, aplicando además el mismo equipo (Somacount 300). Por otro lado, los recuentos fueron superiores a lo reportado en Canadá por Elmoslemany y col.

(2009), quienes obtuvieron un promedio de  $2,2 \times 10^5$  cel/mL, en muestras de leche de tanque, también empleando la misma metodología.

Evaluando el total de muestras analizadas (n=83) en base exclusivamente a RCS se observó que el 84,3% de las muestras se sitúa en la categoría A. Del 15,7% de las muestras que superaron el parámetro establecido para la categoría A, 4,8% se situó en la categoría B y 10,9% en la C.

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 y col., 2009; Gillespie y col., 2012).

En este contexto, analizando los datos anteriores en base a RTMA y RCS, se categorizó la leche cruda de acuerdo a los parámetros establecidos por el Decreto N° 57/999 (MGAP). Con respecto a los valores obtenidos en este estudio del total de muestras analizadas (n=83) se obtuvo que un 55% (n=46) pertenece a la calidad tipo A, un 15% (n=12) a la calidad B y un 30% (n=25) a la calidad C. Al comparar los resultados con los reportados en el país para leche remitida a planta, se observa una calidad inferior en este estudio ya que durante el 2002 el 98% de la leche habría obtenido el nivel máximo de calidad A (DIEA, 2003). Se observó que 24 de las 37 muestras que no pertenecían a la categoría A, fue por elevado RTMA, aunque el RCS se presentaba aceptable.

Con respecto a coliformes totales 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 la posible presencia de enteropatógenos y/o toxigénicos para la salud humana (Caballero, 2008).

Según el RBN (MSP, 1994), el límite establecido es de  $10^4$  ufc/mL ( $4 \log_{10}$  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  $10^2$  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  $10^2$  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 y col. 2006). 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 ordeño de la vaca (Pantoja y col., 2009).

En relación al recuento de *Staphylococcus coagulasa positiva* el RBN (MSP, 1994) admite como límite hasta  $10^3$  ufc/mL ( $3 \log_{10}$  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 y col. (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  $10^3$  a  $10^4$  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  $10^2$  ufc/mL y apenas un 7,2% de las muestras analizadas entre  $10^3$  a  $10^4$  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 6 y 46°C, siendo óptima a 37°C. Se destruye rápidamente a pH ácido y a temperaturas de 60°C en 5-10 minutos (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 419/97 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  $2 \times 10^2$  ufc/g ( $2,3 \log_{10}$  ufc/g). Con respecto a coliformes termotolerantes el 94% (n=78) de las muestras no superó el límite de  $1 \times 10^2$  ufc/g ( $2 \log_{10}$  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 queso blanco fresco clasificado como semiduro en la ciudad de Mérida (Venezuela) el 97,2% de 72 muestras por encima de  $2 \times 10^2$  ufc/g respecto a coliformes totales y el 98,6% superando  $1 \times 10^2$  ufc/g para coliformes termotolerantes. Asimismo, Rodríguez y col., (2009) obtuvieron para coliformes termotolerantes el 46,7% de 60 muestras de queso "Telita" elaborado con leche bovina en Venezuela por

encima de  $1 \times 10^2$  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  $2 \times 10^2$  ufc/g en diferentes localidades de EUA de queso 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 y col., 2009).

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 y col. (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). 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 *Staphylococcus 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 y col., 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 (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 y col., 2009).

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  $1 \times 10^3$  ufc/g ( $3 \log_{10}$  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  $10^3$  ufc/g. No obstante, los rangos obtenidos por estos autores coinciden con los de este estudio siendo el valor mínimo  $1 \times 10^2$  ufc/g y el máximo  $5 \times 10^6$  ufc/g. En contraposición Brooks y col., (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  $1 \times 10^3$  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 y col., 2009). Es importante destacar que el 52,6% (n=10) de estas 19 muestras presentaron recuentos de  $10^4$  ufc/g o superiores, observándose el mayor recuento en el orden de  $10^6$  ufc/g. Según Díaz y González (2001), estas muestras constituirían un riesgo para el consumo, quienes consideran valor crítico  $10^4$  ufc/g representando una alta probabilidad de la presencia de alguna de sus enterotoxinas, la cual es mayor aún con valores de  $10^6$  ufc/g o superiores.

En referencia a *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp 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 y col., (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 y col., (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*. Jakobsen y col., (2010), detectaron la presencia de *Listeria monocytogenes* en 1 muestra (1,4%) de 73 muestras de queso artesanal elaborado a partir de leche cruda en Noruega. En relación a *Salmonella* spp, Vasek y col. (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).

*Salmonella* es 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 (Albarracin y col., 2006). *Listeria monocytogenes*, es 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 y col., 2004).

En definitiva, del total de muestras de quesos artesanales analizadas el 69,9% (n=58) resultaron aptas para su consumo, aunque no 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 RTMA, 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 sobre hábitos higiénicos y medidas de prevención en el proceso de elaboración contra las infecciones transmitidas 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 BIBLIOGRÁFICAS

1. Alais, C. (1985) Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. 4ª ed. Barcelona. Reverté, 873p.
2. Albarracín, F.; Sarmiento, P.; Carrascal, A.; 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): p 30-41.
3. American Public Health Association (APHA-AWWA-WPCF). (1981) Standard methods for the examination of water and wastewater. 15ª ed. New York. American Public Health Association, 874p.
4. American Public Health Association. (APHA) (2001) Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods. 4ªed. Washington DC. American Public Health Association, 676p.
5. Amiot, J.; Oria, R. (1991) Ciencia y tecnología de la leche. Zaragoza. Acribia, 547p.
6. Anchieri, D.; Carrera, D.; Lagarmilla, P.; Aguirre, E. (2007) Prácticas de Higiene en la Quesería Artesanal. Programa de desarrollo tecnológico. Área Salud Pública Veterinaria. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República. Montevideo. Mastergraf, 40p.
7. Bagnato, D. (2004) Quesería artesanal. Situación actual y desafíos para Uruguay. 20p. Disponible en: <http://www.iica.org.uy/data/documentos/5050.doc> Fecha de consulta: 9 de abril de 2012.
8. Ballester, P. (2005) La sal y los Quesos. Industrias Lácteas Españolas; 319: p 17-20.
9. Borbonet Legnani, S. (2001) Historia de la quesería en Uruguay. Montevideo. LATU. 180 p.
10. Brooks, J.C.; Martínez, B.; Stratton, J.; Bianchini, A.; Krokstrom, R.; Hutkins, R. (2012) Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. Food Microbiology; 30: p 1-5.
11. Caballero, A. (2008) Temas de Higiene de los Alimentos. La Habana. Ciencias Médicas, 387p.
12. Calderón, A.; García, F.; Martínez, G. (2006) Indicadores de calidad de leches cruda en diferentes regiones de Colombia. Revista MVZ Córdoba; 11(1): p 725-737.
13. D'Amico D.J.; 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: p 134-147.
14. Díaz-Rivero, C.; González de García, B. (2001) *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con los diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. *Revista Salud Pública y Nutrición*; 2(3): p 1-9.
  15. DIEA. (2003) Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca: Estadísticas del sector lácteo 2002. Montevideo, Uruguay. 44p. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,108,O,S,0,MNU;E;41;2;MNU> Fecha de consulta: 26 de Junio de 2012.
  16. DIEA. (2008) Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca: Estadísticas del sector lácteo 2007. Montevideo, Uruguay. 39p. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,108,O,S,0,MNU;E;41;2;MNU> Fecha de consulta: 25 de Septiembre de 2012.
  17. DIEA. (2011) Uruguay; Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca: Anuario Estadístico Agropecuario 2011. Montevideo, Uruguay. 246p. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,583,O,S,0,MNU;E;27;7;MNU;,.htm> Fecha de consulta: 22 de Junio de 2012.
  18. Dilanjan, S. (1984) Fundamentos de la elaboración del queso. Zaragoza. Acribia, 128p.
  19. Doyle, M. (2001) Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras. Zaragoza. Acribia, 799p.
  20. Early R. (2000) Tecnología de los productos lácteos. 2ª ed. Zaragoza. Acribia, 459p.
  21. Elmoslemany, A.M.; Keefe, G.P.; Dohoo, I.R.; Dingwell, R.T. (2009) Microbiological quality of bulk tank raw milk in Prince Edward Island dairy herds. *Journal of Dairy Science*; 92: p 4239-4248.
  22. Espinoza, A.; De La Torre, M.; Salinas, M.; 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: p 71-75.
  23. Federación Internacional de Lechería, International Dairy Federation (FIL/IDF). (2010) The World Dairy Situation 2010. Bruselas. 212p.
  24. García Viejo, F.; Salinas, R. (1998) Calidad de la leche cruda: definición y tipos de calidad. *Revista Mensual de las Industrias Lácteas Españolas*; 236: p 33-38.

25. García, C., Landa J. (2008) Toxiinfecciones alimentarias. 2ª ed. Barcelona. Ergon. p 281-288.
26. Gillespie, B.E.; Lewis, M.J.; Boonyayatra, S.; Maxwell, M.L.; Saxton, A.; Oliver, S.P.; Almeida, R.A. (2012) Short communication: Evaluation of bulk tank milk microbiological quality of nine dairy farms in Tennessee. *Journal Dairy Science*; 95: p 4275-4279.
27. Ginn, R.; Packard, V.; Fox, T. (1984) Evaluation of the 3M dry medium culture plate (Petrifilm-TM SM) method for determining numbers of bacteria in raw milk. *Journal of food protection*; 477: p 753-759.
28. González, V.; Pérez, V.; Clemente, A.; Mazariegos, M.; Ruiz, M.; Rodríguez, M. (2007) Determinación de Coliformes totales en los productos lácteos y su comparación entre dos queserías del Municipio de Pijijiapan, Chiapas, México. *Bioquímica*; p 32:98.
29. Ibarra, A (1997) Sistemas de Pago de Leche. Seminario Regional de Calidad de Leche. Instituto Plan Agropecuario, Atlántida, Uruguay; p 40-54.
30. Institute of Food Technologist. (2004) Bacteria Associated with Food-borne Diseases. Scientific Status Summary, 25p.
31. Instituto Uruguayo de Normas Técnicas (2000) Norma UNIT-ISO 9000:2000. Sistemas de Gestión de la Calidad. Fundamentos y Vocabulario. Montevideo. UNIT. 96p.
32. Jay, J.; Loessner, M.J.; Golden, D.A. (2009) Microbiología moderna de los Alimentos. 5ª ed. Zaragoza. Acribia, 788p.
33. Kousta, M.; Mataragas, M.; Skandamis, P.; Drosinos, E.H. (2010) Prevalence and source of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*; 21: p 805–815.
34. Madigan, M.; Martinko, J.M.; Parker, J. (1999) Brock: Biología de los Microorganismos. 8ª ed. Madrid. Prentice Hall, 986p.
35. Mataix, J.; Carazo, E. (2005) Nutrición para Educadores. 2ª ed. Madrid. Díaz de Santos, 752p.
36. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP). (1999) Decreto 57/999 Díctanse normas referidas a determinación de calidad de la leche. Disponible en: [http://www.mgap.gub.uy/DGSG/Legislacion/Cap2\\_Sanidades\\_Especiales.pdf](http://www.mgap.gub.uy/DGSG/Legislacion/Cap2_Sanidades_Especiales.pdf) Fecha de consulta: 12 de Febrero de 2012.
37. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP). (2003) Decreto 65/003. Exigencias para Establecimientos Productores de Quesos Artesanales, Acopiadores y Transformadores de Quesos. Disponible en: [http://www.queseriartesanal.org.uy/c/document\\_library/get\\_file?](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.

38. Ministerio de Salud Pública (MSP). (1994) Reglamento Bromatológico Nacional. Decreto N° 315/994 2ª ed., Montevideo, IMPO, CD ROM.
39. Morais, J. (2004) Estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas aisladas de leche cruda de oveja guirra para la elaboración de queso. Disponible en: <http://tdx.cat/bitstream/handle/10803/5650/jm1de1.pdf?sequence=1> Fecha de consulta: 14 de Junio de 2012.
40. Mortimore, S.; Wallace, C. (1996) HACCP. Enfoque práctico. Zaragoza. Acribia, 308p.
41. Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (OMS/FAO). (2007) Codex Alimentarius: Leche y productos Lácteos. Roma. FAO/OMS, 275p.
42. Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2002) Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. Montevideo. OPS. 214p.
43. Paille, D.; Hackney C.; Reily L.; Cole M.; 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): p 545-549.
44. Pantoja, J.C.F.; Reinemann, D.J.; Ruegg, P.L. (2009) Associations among milk quality indicators in raw bulk milk. *Journal of Dairy Science*; 92: p 4978-4987.
45. Pedraza, C.; Mansilla, A.; Fajardo, P.; 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): p 251-258.
46. Programa de Apoyo a la Competitividad y Promoción de Exportaciones de la Pequeña y Mediana Empresa (PACPYMES). (2006) Diagnostico Participativo del Cluster Quesería Artesanal de San José y Colonia, 44p. Disponible en [http://www.pacpymes.gub.uy/c/document\\_library/get\\_file?folderId=9652&name=Diagnostico+Queseria.pdf](http://www.pacpymes.gub.uy/c/document_library/get_file?folderId=9652&name=Diagnostico+Queseria.pdf) Fecha de consulta: 9 de Marzo de 2012.
47. Quintanilla, M. I.; Peña, A.E. (1992) Cuadernos del Queso de oveja. Madrid. Publicaciones Técnicas Alimentarias, 295p.
48. Ramírez, M.A. (2004) Información Técnica: Fermentación y Maduración personalizada, una contribución nueva para las fábricas de quesos españolas. *Industrias Lácteas Españolas*; 304: p 39-47.
49. Revilla, A. (1985) Tecnología de la leche: procesamiento manufactura y análisis. 2ª ed. San José. IICA. p 192-244.

50. Rodríguez, C.; Caldas, L.; Ogeerally, P. (2009) Calidad sanitaria en queso artesanal tipo "telita". Upata, estado Bolívar, Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Micobiología; 29: p 98-102.
51. 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. CERPTA, Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos Universidad Autónoma de Barcelona Disponible en: <http://www.adiveter.com/ftp/articles/articulo1277.pdf> Fecha de consulta: 30 de agosto de 2012.
52. Román, D. (2003) Leche que no has de beber. Madrid. Ediciones Mandala, 278p.
53. Ruiz-Cortés, T; Orozco, S.; Rodríguez, L.; Idárraga, J.; 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): p 147-155.
54. Scholz, W. (2007) Fundamentos del tratamiento de la leche: Elaboración de quesos de oveja y de cabra. Zaragoza. Acribia, 145p.
55. Scott, R. (1991) Fabricación de queso. Zaragoza. Acribia, 520p.
56. Uruguay XXI Promoción de Inversiones y Exportaciones. (2011) Sector Lácteo: Oportunidades de inversión en Uruguay. 28p. Disponible en: [http://www.uruguayxxi.gub.uy/innovaportal/file/199/1/lacteos\\_-\\_uruguay\\_xxi.pdf](http://www.uruguayxxi.gub.uy/innovaportal/file/199/1/lacteos_-_uruguay_xxi.pdf) Fecha de consulta: 16 de Mayo de 2012.
57. Varnam, A.; Sutherland, J. (1995) Leche y productos lácteos. Zaragoza. Acribia, 488p.
58. Vasek, O.; Cabrera, R.; Coronel, G.J.; Giori, G.S.; Fusco, A.J.V. (2004) Análisis de riesgos en la elaboración de queso artesanal de Corrientes (Argentina). Facena; 20: p 13-22.
59. Veisseyre, R. (1988) Lactología Técnica. Zaragoza. Acribia, 640p.
60. Villegas de Gante, A. (2004) Tecnología Quesera. México. Trillas, 398p.
61. Walstra, P.; Geurts, T.J.; Noomen, A.; Jellema, A.; Van Boekel. M. (2001) Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos. Zaragoza. Acribia, 730p.
62. Ward, T. J.; Gorski, L.; Borucki, M. K.; Mandrell, R. E.; Hutchins, J.; Pupedis, K.(2004) Intraspecific Phylogeny and Lineage Group Identification Based on the prfA Virulence Gene Cluster of *Listeria monocytogenes*. Journal of Bacteriology; 186: p 4994-5002.
63. Zehren, V. (1976) Manual de tecnología quesera. Montevideo. LATU,

175p.