

Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso de elaboración de queso tipo Gouda en una industria venezolana

Jacqueline Dávila, Genara Reyes y Otoniel Corzo

Departamento de Tecnología de Alimentos, Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, Universidad de Oriente,
Boca del Río, Estado Nueva Esparta, Venezuela

RESUMEN. La adopción del sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (HACCP) por la industria quesera es importante para asegurar la inocuidad del producto. Previo a la implementación de un plan HACCP se deben cumplir con programas pre-requisitos que incluyen las buenas prácticas de fabricación (BPF) y los procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES). Las BPF establecen las normativas con respecto a edificaciones, equipos, utensilios, personal, etc. Los POES se refieren a los procedimientos de higiene y saneamiento de la planta y de los trabajadores. El objetivo de este trabajo fue diagnosticar el cumplimiento de las BPF-POES y evaluar las condiciones microbiológicas en diferentes etapas del proceso de elaboración industrial del queso Gouda como paso previo para el diseño de un plan HACCP. Las muestras fueron: a) leche cruda, leche pasteurizada, cuajada y queso antes del despacho b) agua de servicio c) ambiente de las áreas de producción y cavas c) equipos utilizados al inicio del proceso y al final después de la limpieza d) manos de los operarios. Los análisis microbiológicos se realizaron según Normas COVENIN. Se evidenció que aunque el proceso térmico de pasteurización es efectivo para destruir la carga microbiana patógena de la leche cruda y que el agua potable utilizada es de calidad sanitaria aceptable, existen deficientes prácticas de fabricación en el proceso de elaboración del queso, así como en los procedimientos de higiene y saneamiento en planta y operarios. Los programas pre-requisitos de esta empresa requieren ser bien implementados, controlados y evaluados.

Palabras clave: Evaluación microbiológica, proceso de elaboración, queso Gouda, BPF.

SUMMARY. Microbiological assessment of the Gouda-type cheese-making process in a Venezuelan industry. The adoption of the Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) system is necessary to assure the safety of the product in the cheese-making industry. The compliment of pre-requisite programs as Good Manufacture Practices (GMPs) and Sanitation Standard Operating Procedures (SSOPs) are required before the implementation of the HACCP plan. GMPs are the standards related to equipments, tools, personnel, etc. SSOPs are the procedures related to hygiene and sanitation of the plant and workers. The aim of this study was to assess the compliment of the pre-requisite programs and the microbiological conditions of the Gouda type cheese-making process in a Venezuelan processing plant before designing a HACCP plan. Samples were: a) raw milk, pasteurized milk, curd and ripened cheese, b) water, c) environment of the production areas and ripening premises, d) equipments before and after sanitation, e) food handlers. Microbiological analyses were done according to COVENIN standards. This study showed that even though pasteurization process was effective to kill pathogen bacteria of the raw milk and the water was safe, however there are deficient manufacture practices in the hygiene as well as in sanitation of the plant and food handlers. Prerequisite programs (GMP-SSOP) of this industry need to be well established, controlled and evaluated.

Key words: Microbiological assessment, manufacturing process, Gouda cheese, GMP.

INTRODUCCION

El queso amarillo tipo Gouda se define como un queso semiduro de forma rectangular o cilíndrica, de sabor suave, no amargo, olor sin signos de rancidez, color amarillo pálido uniforme, de superficie lisa, sin grietas, sin crecimiento de mohos, de corteza de consistencia dura y seca, revestida de un producto antimohos y parafina, de fácil rebanado, de ojos redondos u ovalados, distribuidos regular o irregularmente, con un tiempo de maduración de 25 a 35 días. Es un queso alto en grasa, producido a partir de leche de vaca acidificada por bacterias ácido-lácticas y coaguladas por enzimas específicas. La cuajada es semi-cocida lo que genera una pasta elástica (1).

El queso ha estado implicado como vehículo de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). En un estudio realizado sobre alimentos sospechosos de ocasionar incidentes de ETA en Venezuela desde 1989-1999, se halló que el agente causal encontrado con mayor frecuencia era el *Staphylococcus aureus* y en la mayoría de los casos el queso estaba involucrado (2); en una investigación realizada para determinar la calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos, se encontró que ésta era deficiente por encontrarse microorganismos tales como: *Salmonella sp*, levaduras, coliformes totales, coliformes fecales, *S. aureus* y su enterotoxina (3).

La adopción del sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (HACCP) por la industria quesera es

importante para asegurar la inocuidad del queso el cual es un producto biológica y bioquímicamente inestable (4). Previa a la implementación de un plan HACCP, las industrias de alimentos deben desarrollar, documentar e implementar programas pre-requisitos escritos, los cuales deben incluir: la ubicación de la industria, instalaciones, control de suministros o proveedores, especificaciones de los insumos, equipos, limpieza y saneamiento, higiene personal, entrenamiento, control de químicos, control de plagas, trazabilidad, recepción, almacenamiento y distribución (5, 6).

Los programas pre-requisitos son universalmente usados para el control de las condiciones de la planta y el ambiente; ellos incluyen las buenas prácticas de fabricación (BPF) y los procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES) y representan la suma de los programas, prácticas y procedimientos que deben ser aplicados para diseñar, producir y distribuir alimentos inocuos (7). Las BPF establecen los principios y prácticas de higiene que abarcan todo el espectro de la producción de alimentos con respecto a edificaciones, equipos, utensilios, personal y requisitos higiénicos de la producción en los pre y post procesos en la planta (8). Los POES se refieren a los puntos de control en cuanto a la higiene y el saneamiento de la planta y de los trabajadores y control de plagas en el ambiente antes y después del proceso de producción (9).

El objetivo de este trabajo fue diagnosticar el cumplimiento de las BPF-POES y evaluar las condiciones microbiológicas en las diferentes etapas del proceso de elaboración del queso tipo Gouda en una industria venezolana como paso previo para el diseño de un plan HACCP.

MATERIALES Y METODOS

Actividades

La presente investigación se realizó en una empresa de productos lácteos situada en el Estado Portuguesa, Venezuela, y para el logro de los objetivos propuestos se realizaron las siguientes actividades: 1) observación diaria del proceso de elaboración del queso, desde la recepción de la leche cruda hasta el despacho del producto terminado, 2) captación de muestras de leche cruda recibida en la planta para realizar los análisis microbiológicos, 3) análisis microbiológicos de las muestras tomadas durante el proceso, 4) registro de los controles efectuados por la empresa durante el proceso (proceso térmico, temperatura de las cavas y otros).

Muestras

En un mismo día, al azar se tomó una muestra representativa en cada una de las etapas del proceso. Las diversas muestras consideradas y analizadas fueron: a) leche cruda, leche pasteurizada, cuajada y queso al final de la maduración en la planta (fase de despacho), b) agua de servicio tomada en diversos puntos dentro del área de procesos, c) ambiente de

las áreas de producción y cavas, d) equipos utilizados al inicio del proceso y al final después de la limpieza (cubas, láminas del pre-prensado, moldes, rejillas, palas, y e) manos de operarios. Esta toma de muestras se realizó 5 veces en las diferentes etapas del proceso durante un periodo de dos meses.

La identificación y preparación de la muestra se realizó según la Norma COVENIN 1126 (10). Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de control de calidad de la empresa. Todos los análisis microbiológicos de las muestras y/o sus diluciones sucesivas sembradas en placas con los diferentes medios se realizaron por duplicado y en el caso de número más probable (NMP) se realizaron por triplicado.

Evaluación microbiológica

En la leche cruda, leche pasteurizada, cuajada y el queso madurado antes de ser empacado se determinó el NMP de coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) inoculando 1 ml de muestra y/o sus diluciones en cada uno de 3 tubos con caldo lauril sulfato triptosa (CLST) e incubados a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. Para la prueba confirmativa se transfirieron asas de los tubos positivos a tubos con caldo lactosa bilis verde brillante (CLBVB) incubados por 24-48 h. Se empleó el caldo EC para la prueba confirmativa de CF, incubándose a 45°C por 24 h según la Norma COVENIN 1104 (11). Adicionalmente a la leche cruda y pasteurizada también se les realizó el recuento de colonias de bacterias aerobias mesófilas en agar estándar (PCA) y las placas se incubaron a $32 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 h, según la Norma COVENIN 902 (12). En el queso además, se determinó la presencia de *Salmonella* en 25 g de muestra usando el caldo tetrationato-verde brillante y el caldo selenito-cistina como medios de enriquecimiento selectivo incubados $43 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 h. Al finalizar la incubación se transfirió una asada de cada uno de los medios a la superficie de placas de agar bismuto sulfito y agar verde brillante rojo fenol incubados a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. Las colonias presuntivas de *Salmonella* en los medios diferenciales, se inocularon por profundidad y en la superficie de agar Kliger incubado por 24 h a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ según la Norma COVENIN 1291 (13).

En el queso también se realizaron recuentos de *Staphylococcus aureus* inoculando 1 ml de muestra y/o sus diluciones distribuidos en la superficie de placas previamente secadas conteniendo agar Baird-Parker e incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 h. Las colonias presuntivas de *Staphylococcus aureus* fueron inoculadas en caldo infusión cerebro corazón por 24 h a 37°C . Al cabo de este tiempo, se inoculó plasma de conejo e incubó a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 6 h para realizar la prueba de coagulasa según la Norma COVENIN 1292 (14). Además se realizaron en el queso, recuentos de mohos y levaduras en agar Saboraud según la Norma COVENIN 1337 (15). Como en esta investigación se analizaron muestras únicas en cada una de las etapas del proceso, en cinco muestreos repartidos en un periodo de 2 meses, no se pueden aplicar todos los

componentes del criterio microbiológico (n , c , m , M) establecido en la Norma COVENIN 2851 (16) para el queso Gouda. En este caso la evaluación se realizó considerando el límite mínimo m como se indica cuando $n=1$ (17).

La calidad sanitaria del agua se determinó utilizando la técnica del NMP, según la Norma COVENIN 3047 (18), empleando el CLST y el CLBVB para la prueba presuntiva y confirmativa de CT y el Caldo EC para la prueba confirmativa de CF.

Para la determinación de la contaminación del ambiente por mohos y levaduras, se utilizó la técnica de sedimentación en placas de Petri, mediante la cual las placas con Agar Sabraud se colocaron abiertas por 10 minutos en el ambiente de la planta, se incubaron a 22°C – 25°C por un tiempo aproximado de 4 – 5 días y se hicieron los recuentos según el caso. Con este recuento se obtuvo la tasa de sedimentación de estos microorganismos en el ambiente sobre las superficies consideradas, según la siguiente relación (19):

$$(UFC/m^2)/min = (CP \cdot 10^4 / A) / t. \quad (1)$$

Siendo CP el contaje en la placa expuesta (ufc), 10^4 el factor de conversión de cm^2 a m^2 , A el área de la placa (cm^2), y t el tiempo de exposición (min).

Antes y después de higienizar los equipos, se determinó el recuento de coliformes mediante la técnica del hisopado (19). Se tomaron cuatro zonas de 25 cm^2 cada una, delimitadas por plantillas estériles, para una superficie total de 100 cm^2 en cada equipo. Dichas áreas se frotaron con un hisopo impregnado de solución diluyente (caldo nutritivo con 0,1% de Tween 80). Los hisopos se cortaron por el extremo que se frotaron y se introdujeron en un frasco con 100 ml de diluyente, el tubo o frasco se tapó y agitó vigorosamente, considerando éste como la muestra original y de allí se realizaron diluciones sucesivas, sembrando una alícuota de 1 ml en placas estériles a las cuales se les agregó agar violeta rojo bilis (AVRB) y una vez solidificadas se incubaron a 35°C – 37°C por un tiempo de 24 h. Para este recuento se tomaron en consideración las placas que contenían entre 30 y 150 colonias sospechosas (20), para luego confirmar CT y CF en los CLBVB y Caldo EC, respectivamente.

Para evaluar la calidad sanitaria de las manos de los operarios durante el proceso de elaboración del queso, se utilizó la técnica de impresión de los dedos, la cual consiste en imprimir la huella de los dedos de las manos de los operarios que se encontraban manipulando el producto en el área de producción, en la superficie del agar (19). Se utilizaron diferentes medios de cultivo, según la prueba a realizar: 1) para coliformes en placas: se utilizaron placas de Petri conteniendo AVRB solidificado y se incubaron a $35 \pm 2^\circ C$ por 24 a 48 h., luego se contaron las colonias típicas, 2) para *Staphylococcus aureus*: se utilizaron placas de Petri preparadas con agar manitol sal, se incubaron a $35 \pm 2^\circ C$ por 36 – 48 h, y las colonias típicas se traspasaron al

caldo infusión cerebro corazón, luego a plasma de conejo, para realizar la prueba de la coagulasa.

Análisis estadístico

Los resultados microbiológicos se expresaron como logaritmos de los recuentos microbianos en las cuatro etapas consideradas del proceso. Se aplicó un análisis de contraste de hipótesis entre los datos arrojados por las muestras y los datos referenciales (poblacionales) para cada una de las variables en leche cruda y queso al final de la maduración, según los requisitos establecidos por la Normas COVENIN 903 (21) y 2851 (16). El estadístico de prueba que se utilizó fue la t de Student debido al desconocimiento de la varianza poblacional y a que el tamaño muestral < 30 .

RESULTADOS Y DISCUSION

Diagnóstico de los Programas pre-requisitos de la planta

Edificación e instalaciones

En el área de procesos, las ventanas laterales ubicadas en la parte más elevada, así como los ventiladores y extractores de aire, no reciben una limpieza frecuente, permitiendo la acumulación de polvo. No se observaron problemas en el sistema de drenaje de la planta; sin embargo, cabe destacar que no existen políticas de mantenimiento constante, para evitar cualquier problema que pudiera presentarse durante el procesamiento del alimento. Las tuberías, externamente se observan en buen estado, pero no son lavadas frecuentemente y acumulan polvo. Con respecto a la iluminación, los bombillos en el área de procesos no están protegidos, lo cual, en caso de ruptura, pudieran ocasionar contaminación del producto. Las instalaciones sanitarias se mantienen limpias y provistas de los recursos requeridos para la higiene personal. Los equipos como el pasteurizador, acondicionadores de aire en las cavas, deshumidificadores, turbinas de aireación, calderas generadoras de agua caliente y vapor, banco de hielo, entre otros, se observan en buenas condiciones.

Higiene y saneamiento de equipos, utensilios, pisos y personal

La higiene del pasteurizador y las tuberías por donde pasa la leche, se realiza antes de comenzar la jornada, a la mitad y al finalizar la misma (se le coloca soda cáustica, ácido, yodo y por último abundante agua a 85°C – 90°C). Los equipos y utensilios del área de producción (cubas, láminas de prensado, moldes, rejillas, palas y mangueras) se limpian diariamente al terminar el proceso de producción dejándose sumergidas hasta el otro día en soluciones de ácido. Los pisos son lavados con agua templada, detergente, cloro y frotados con cepillo. Cabe destacar que en los POES empleados en planta, solo están escritos lineamientos generales de limpieza

y desinfección sin especificar las concentraciones de los desinfectantes usados.

Dentro de las prácticas higiénicas de los operarios está lavarse las manos con agua y soluciones detergentes antes de empezar el proceso de producción, sin embargo, para el momento de realizar este estudio la empresa no disponía de suficientes instalaciones para el lavado de las manos en el área de producción. Aunque la apariencia de los manipuladores era aceptable en cuanto al empleo de uniformes, se encontraron algunas fallas en el cumplimiento de las BPF, tales como no lavarse las manos después de manipular cualquier material u objeto que pudiese representar peligro de contaminación para el alimento, entre otros. Por otra parte, se visualizó que los operarios entran y salen de la planta sin quitarse el uniforme. Todos estos factores hacen de los operarios una fuente de contaminación en la producción del queso.

Productos tóxicos

Los productos e utensilios destinados a la limpieza y desinfección de la planta se encuentran ubicados en la planta en una habitación destinada para tal fin.

Control del ambiente y de plagas

Se observó que en las POES no están definidas políticas regulares de saneamiento del ambiente. Además, aunque existen algunas barreras que separan las zonas de mayor riesgo de las otras, las mismas permanecen abiertas durante la jornada de trabajo, por lo que en el área de producción se observó la presencia de algunos insectos en el aire, factor que contribuye a la contaminación de la cuajada. Con respecto a los otros tipos de plagas, existen políticas de control para evitarlas, tales como: uso de trampas, polvos insecticidas, etc.

Almacenamiento y transporte

El queso se almacena en cavas a 8°C antes de su despacho. El transporte se realiza en cavas con termoking con una temperatura de 8°C.

Evaluación general de la BPF

De los 51 aspectos evaluados en la BPF, la empresa cumplió con 36 y tiene 2 no aplicables, por lo que resultó una efectividad higiénica de 70% (8).

Evaluación microbiológica del proceso de elaboración del queso

Determinación del NMP de coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF)

En la Tabla 1, se presentan los resultados del NMP de CT y CF en la leche cruda, leche pasteurizada, cuajada y queso madurado. Los valores promedios del log NMP/ml de CT (4,969) y CF (3,312) en la leche cruda son elevados, debido

posiblemente a las malas prácticas de manipulación en el ordeño del ganado vacuno en las fincas proveedoras de leche a la planta y/o a una refrigeración inadecuada inmediatamente después que se ha obtenido la misma (22). Los valores promedios del log NMP/ml de CT (0,654) y CF (0,477) hallados en la leche pasteurizada indican que se cumplen los requisitos establecidos por las Normas COVENIN y que el proceso de pasteurización es eficiente. En la cuajada aumentaron ($P \leq 0,05$) los valores promedios del log NMP/g de CT (3,312) y CF (2,814) con respecto a la leche pasteurizada, lo cual se debió a que la cuajada se mantuvo expuesta directamente al medio ambiente a una temperatura entre 32°C y 38°C (óptima para el crecimiento bacteriano), durante aproximadamente 5 h, con mucha manipulación directa y empleo de una gran cantidad de utensilios sucios, existiendo la posibilidad que otros patógenos estén presentes por las deficientes prácticas de fabricación en la planta.

Los valores promedios del log NMP/ml de CT (1,745) y CF (1,147) en el queso madurado evidencian una disminución significativa ($P \leq 0,05$) con respecto a los valores respectivos presentes en la cuajada, lo cual puede explicarse por la acción inhibitoria de la sal en el crecimiento de diversos microorganismos, la temperatura de refrigeración de conservación del queso y al control que ejerce el cultivo láctico sobre los microorganismos indeseables. Este efecto es atribuido a la disminución del pH, la producción de metabolitos que limitan el desarrollo de bacterias no deseables y a la competencia por el mismo sustrato durante la maduración (23). La maduración del queso es importante para su inocuidad y desarrollo de las características organolépticas típicas (4). Los valores de NMP de CT y de CF en el queso variaron apreciablemente en los cinco muestreos realizados, siendo muy altos en los dos últimos debido quizás a una acción variable de los cultivos lácticos sobre los coliformes o a la contaminación proveniente de equipos o al manejo inadecuado de los quesos desde el inicio hasta el final de la producción. Por otra parte, dichos valores son altos en comparación con los requisitos establecidos para el queso Gouda por la Norma COVENIN 2851 (16) de que para CT el valor $m = 43$ NMP/g y para CF el valor $m = < 3$ NMP/g.

La contaminación de la cuajada refleja deficientes prácticas en la higiene del personal y desinfección de los equipos, tal como se puede observar en los recuentos de CF en los manipuladores (Tabla 2) y CT en los equipos (Tabla 3). Los equipos involucrados en la preparación de alimentos, deben estar libres de bacterias coliformes (19) pero los valores obtenidos superan ampliamente este criterio establecido para los equipos antes y después de ser higienizados (Tabla 3), corroborando las fallas en la desinfección. En la cuajada estos índices de contaminación, directa o indirectamente de origen fecal, constituyen un peligro potencial de contaminación con patógenos entéricos.

TABLA 1
NMP de coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) en leche cruda, leche pasteurizada, cuajada y queso en el proceso de elaboración del queso tipo Gouda.

Muestréos	Leche cruda (NMP/ml)		Leche pasteurizada (NMP/ml)		Cuajada (NMP/g)		Queso madurado (NMP/g)	
	CT	CF	CT	CF	CT	CF	CT	CF
1	4,6x10 ⁴	2,4x10 ³	<3	<3	>2,4x10 ³	460	9	4
2	1,1x10 ⁴	1,1x10 ³	<3	<3	>2,4x10 ³	460	14	9
3	2,4x10 ⁴	2,4x10 ³	<3	<3	>2,4x10 ³	460	20	9
4	2,4x10 ⁵	2,4x10 ³	23	<3	1,1x10 ³	1,1x10 ³	460	39
5	2,4x10 ⁵	2,4x10 ³	<3	<3	2400	1,1x10 ³	460	43
Log \bar{X} *	4,969a	3,312a	0,654b	0,477b	3,312c	2,814c	1,745d	1,147d
DE	0,443	0,152	0,396	0	0,152	0,207	0,847	0,449

Log \bar{X} es el logaritmo del valor promedio de NMP, DE es la desviación estándar

*En la comparación por pares de log \bar{X} de leche pasteurizada con leche cruda, cuajada con leche pasteurizada y queso con cuajada, letras diferentes en la fila indican diferencias significativas (P≤0,05) con respecto al valor de NMP de CT y CF de la etapa anterior. No se realizan comparaciones entre los valores de NMP de CT y CF dentro de una misma etapa.

TABLA 2
Recuentos de coliformes fecales en las manos de los manipuladores en el área de producción

Manipuladores 1	Muestréos (ufc/mano)					Promedio
	2	3	4	5		
1	2,2x10 ²	7,4x10 ²	2,6x10	1,0x10 ²	4,8x10	2,3x10 ²
2	2,0x10	3,3x10	-	1,9x10	5,7x10	3,2x10
3	-	-	1,8x10	5,6x10	2,5x10	3,3x10
4	-	-	2,4x10 ²	1,2x10 ²	3,9x10 ²	1,3x10 ²
5	3,0x10 ³	3,8x10 ²	6,4x10 ⁴	4,1x10 ²	9,1x10 ²	1,1x10 ³
6	4,6x10 ²	6,8x10	4,5x10 ²	5,2x10	7,2x10 ²	3,5x10 ²
7	2,0x10 ²	1,7x10 ³	2,3x10 ³	9,2x10	2,8x10	8,6x10 ²
8	3,5x10	8,4x10 ²	2,9x10 ²	3,9x10	1,7x10	2,4x10 ²
9	4,3x10 ²	9,6x10	1,5x10	1,8x10 ²	1,5x10	1,5x10 ²
10	5,6x10	-	3,0x10	-	7,0x10	5,2x10

TABLA 3
Recuentos de coliformes totales en la superficie de los equipos

Muestréos	Coliformes totales (ufc/100 cm ²)	
	Antes de higienizar	Después de higienizar
1	9,3x10 ³	4,2x10 ²
2	1,1x10 ⁴	1,9x10 ²
3	9,2x10 ³	1,5x10 ²
4	1,1x10 ³	2,5x10 ²
5	7,7x10 ²	6,3x10
Log \bar{X}	3,572	2,255*
DE	0,576	0,304

Log \bar{X} es el logaritmo del valor promedio de ufc/100 cm²

DE es la desviación estándar

* indica que hay diferencia significativa (P=0,05) con respecto a la etapa anterior

Recuentos de aerobios mesófilos en leche cruda y pasteurizada

Al comparar el logaritmo del valor promedio del recuento de bacterias aerobias mesófilas (Tabla 4) hallado en la leche cruda (5,564) con la Norma COVENIN 903 (20) que categoriza la leche cruda venezolana según su recuento microbiano estimado por el tiempo de reducción del azul de metileno, se puede clasificar a la leche cruda que entra a la planta, dentro de la categoría 2 (entre 1.500.000 y 3.000.000 ufc/ml). El log del recuento promedio de estas bacterias para la leche pasteurizada (2,092) confirmó que el proceso térmico fue eficiente para disminuir significativamente la carga microbiana inicial de la leche cruda (Tabla 4).

TABLA 4
Recuentos de aerobios mesófilos en la leche cruda y pasteurizada

Muestréos	Leche cruda (ufc/ml)	Leche pasteurizada (ufc/ml)
1	1,1x10 ⁶	5,1x10 ²
2	1,5x10 ⁵	< 10
3	1,1x10 ⁶	4,2x10 ²
4	1,1x10 ⁵	1,5x10 ²
5	3,3x10 ⁵	9x10
Log \bar{X}	5,564	2,092
DE	0,469	0,686

Log \bar{X} es el logaritmo del valor promedio de ufc/ml

DE es la desviación estándar

Recuentos de *S. aureus* en el queso y en las manos de los manipuladores

En la Tabla 5 se presentan los resultados de los recuentos de *S. aureus* y los correspondientes valores estadísticos obtenidos en el queso amarillo tipo Gouda. Los recuentos de *S. aureus* obtenidos en cuatro de los cinco muestreos realizados (Tabla 5), se encuentran por debajo del valor $m=1,0 \times 10^2$ ufc/g establecido por la Norma COVENIN 2851 (16), sin embargo, se observa que el queso analizado en el tercer muestreo presentó un recuento de $1,1 \times 10^2$, lo cual excede el valor m de dicha norma. En este sentido debe tenerse extremo cuidado con el control de *S. aureus*, ya que altos recuentos de este microorganismo producen enterotoxinas que causan intoxicaciones alimentarias (22).

TABLA 5
Recuentos de *Staphylococcus aureus* en el queso Gouda

Muestreos	Recuento (ufc/g) <i>S. aureus</i> *
1	9,0x10
2	2,3x10
3	1,1x10 ² *
4	9,3x10
5	1,5x10
Log \bar{X}	1,700
DE	0,400

Log \bar{X} = logaritmo del valor promedio de ufc/g, DE es la desviación estándar

En la Tabla 6 se muestran los resultados de los recuentos de *S. aureus* en las manos de los manipuladores y los valores estadísticos respectivos. Cabe destacar, que aunque no se dispone de valores de referencia para *S. aureus* en las manos de los operarios (19), dichos valores evidencian una deficiente higiene, lo que causa contaminación de la cuajada, donde comienza una manipulación abundante del producto por parte de los operarios con injerencia directa en las etapas siguientes.

Detección de *Salmonella sp* en el queso

No hubo presencia de este microorganismo en el queso amarillo tipo Gouda (Tabla 7), con lo cual se cumple con el requisito establecido por la Norma COVENIN 2851 (16) para este tipo de queso (ausencia de *Salmonella sp* en 25 g de queso).

Recuentos de mohos y levaduras en el queso

En la Tabla 7 se presentan igualmente los resultados obtenidos de los recuentos para mohos y levaduras. El recuento de mohos en los cinco muestreos excede el valor $m=1,0 \times 10^2$ ufc/g exigido por la Norma COVENIN 2851 (16) para este queso. Por lo tanto no se deben permitir quesos expuestos al

ambiente sin cubierta, que podrían ocasionar altos recuentos de mohos y producción de micotoxinas causantes de ETA. La incidencia de los mohos ha sido considerada como un problema común y recurrente durante la maduración y almacenamiento refrigerado de los quesos (24).

TABLA 6
Recuentos de *Staphylococcus aureus* en las manos de los manipuladores en el área de producción

Manipulador	Muestreos (ufc/mano)					\bar{X}
	1	2	3	4	5	
1	3,1x10	2,0x10 ²	3,2x10	1,1x10	8,1x10	7,1x10
2	9,4x10	9,0x10	2,5x10	3,1x10	4,5x10	5,7x10
3	2,4x10 ²	3,7x10	2,9x10	6,1x10	5,7x10	8,5x10
4	3,0x10	7,2x10	1,5x10	1,1x10	5,6x10	3,7x10
5	4,1x10	8,4x10	4	3,7x10	7,6x10	4,7x10
6	1,7x10 ²	7,4x10	4,1x10	2,5x10	6,9x10	7,6x10
7	1,8x10	5,5x10	9,2x10	1,2x10	1,0x10	7,0x10
8	1,1x10 ²	1,9x10	8,8x10	8,3x10	5,1x10	7,0x10
9	7,3x10	1,0x10 ²	1,4x10 ²	2,4x10	4,0x10	7,5x10
10	4,9x10	4,7x10	8,3x10	3,6x10	6,3x10	5,6x10

\bar{X} es el valor promedio de las medias de ufc/manos de los operarios en los 5 muestreos

TABLA 7
Detección de *Salmonella sp* y recuentos de mohos y levaduras en el queso tipo Gouda

Muestreo	<i>Salmonella</i> (en 25 g)	Mohos (log ufc/g)	Levaduras (log ufc/g)
1	Ausente	1,2x10 ³	1,8x10 ²
2	Ausente	4,3x10 ²	1,3x10 ²
3	Ausente	5,5x10 ²	1,7x10
4	Ausente	3,1x10 ²	9,8x10
5	Ausente	1,1x10 ²	2,0x10 ²
Log \bar{X}		2,597	1,978
DE		0,379	0,435

Log \bar{X} = logaritmo del valor promedio de ufc/g
DE es la desviación estándar

Estos elevados recuentos de mohos en el queso demuestran las deficientes prácticas de higiene y saneamiento en el ambiente, equipos y/o salmuera. Cabe señalar, que la empresa no posee una política establecida de recambio de salmuera, lo cual podría también estar contaminando los quesos. Se recomienda que cada 6 meses deba reemplazarse la salmuera y limpiarse los equipos (4).

El recuento de levaduras fue bajo, sin embargo, en tres muestreos, estos recuentos excedieron el valor $m=1,0 \times 10^2$ ufc/g estipulado por la Norma COVENIN 2851 (16) para este queso y aunque hasta ahora, se considera que las levaduras

no producen ETA, pueden causar deterioro en el producto. La presencia de este tipo de microorganismo en el queso, pudo deberse a la posible contaminación del queso por el ambiente debido al calor húmedo durante la producción en el área de procesos, ya que las levaduras presentan su mayor crecimiento a temperaturas entre 20°C y 30°C en un ambiente húmedo, además el queso brinda un medio ácido que permite su crecimiento, y por último, el uso de salmueras "viejas" podría representar un foco de contaminación (4).

Contaminación microbiológica del ambiente y utensilios

El recuento obtenido en el ambiente por área de trabajo (Tabla 8) para mohos y levaduras, se considera alto porque excede el límite microbiológico permitido para aire-ambiente, que es de $2,5 \times 10^2$ ufc/cm² (19), en especial en las áreas de producción, salado, secado y empaçado. Por los recuentos de mohos y levaduras, se observa que los ambientes al estar más aislados, como es el caso de la primera y segunda cavas de maduración, la contaminación disminuye paulatinamente (Tabla 9). Esto demuestra lo imprescindible que es colocar las barreras entre cada uno de los ambientes; además de limitar el paso de cualquier persona a los mismos, sin la debida protección (gorros, batas, etc.). Las cavas de maduración deben ser limpiadas, saneadas y mantenidas en condiciones estables de temperatura y humedad relativa (4). También es importante mantener aisladas las entradas que comunican la planta con el medio exterior, porque son fuentes de contaminación; además, no existe un programa periódico de saneamiento ambiental en la planta que elimine los microorganismos y sus esporas.

TABLA 8
Recuentos de mohos y levaduras en el ambiente por área de trabajo

Áreas	Muestras (ufc/cm ²)					\bar{X}	
	1	2	3	4	5		
Producción	M	5,4x10 ³	1,4x10 ³	2,8 x 10 ³	4,9x10 ²	5,9x10 ³	3,2x10 ³
	L	3,6x10 ²	2,2x10 ³	2,5x10 ²	1,5x10 ³	3,8x10 ²	9,4x10 ³
Cava de salado	M	1,1x10 ³	2,2x10 ²	7,3x10 ²	1,3x10 ²	4,6x10 ²	5,3x10 ²
	L	2,2x10 ²	1,3x10 ²	1,4x10 ²	7,4x10	1,1x10 ²	2,7x10 ²
Cava de secado	M	8,2x10 ²	1,4x10 ²	2,7x10 ²	3,1x10 ²	4,7x10 ²	4,2x10 ²
	L	1,6x10 ²	2,8x10 ²	5,9x10 ²	9,6x10	4,3x10 ²	3,1x10 ²
1ª Cava de maduración	M	3,1x10	8,1x10	3,9x10	3,1x10	3,9x10	3,8x10
	L	2,0x10	2,3x10	4,3x10	2,3x10	2,0x10	2,6x10
2ª Cava de maduración	M	1,2x10	3,1x10	3,2x10	2,7x10	2,1x10	2,5x10
	L	1,4x10	1,2x10	1,7x10	1,3x10	2,3x10	1,6x10
Sala de empaques	M	6,5x10 ²	9,1x10 ²	5,3x10 ²	5,0x10 ²	1,1x10 ³	7,4x10 ²
	L	3,0x10 ²	3,5x10 ²	5,8x10 ²	1,1x10 ²	9,1x10 ²	6,5x10 ²

M = Mohos
L = Levaduras

TABLA 9
Recuentos de mohos y levaduras en el ambiente por áreas de trabajo

Área	Parámetro	Mohos (log ufc/cm ²)	Levaduras (log ufc/cm ²)
Producción	\bar{X}	3,357	2,810
	DE	0,45	0,420
	CV	13,40	14,93
Cava de salado	\bar{X}	2,605*	2,103*
	DE	0,377	0,172
	CV	14,50	0,159
Cava de secado	\bar{X}	2,531	2,408
	DE	0,286	0,319
	CV	11,29	13,25
1ª Cava de maduración	\bar{X}	1,615*	1,392*
	DE	0,172	0,138
	CV	10,63	9,933
2ª Cava de maduración	\bar{X}	1,366	1,186
	DE	0,176	0,113
	CV	12,86	9,530
Sala de empaque	\bar{X}	2,847*	2,757*
	DE	0,149	0,247
	CV	5,22	8,980

\bar{X} es la media, DE= desviación estándar; CV= coeficiente de variación.

* indica que hay diferencia significativa (P=0,05) en los valores \bar{X} de áreas sucesivas de una misma columna con respecto al área anterior.

Del análisis de la Tabla 9, se comprobó estadísticamente para los dos microorganismos considerados, que los recuentos promedios fueron disminuyendo significativamente (P≤ 0,05) en cada una de las áreas, con excepción de la sala de empaçado, donde los recuentos presentaron un incremento, debido a que la sala está cerca de una de las entradas de la planta, la cual se encuentra abierta durante la jornada laboral.

Determinación del NMP de coliformes en el agua potable utilizada en la planta

La evaluación de coliformes del agua potable empleada en la planta (Tabla 10) demostró que su calidad sanitaria es aceptable, ya que no se detectaron coliformes en los cinco muestreos realizados (25).

TABLA 10
Coliformes totales y fecales en el agua potable utilizada en la planta

Muestras	NMP/100 ml	
	Coliformes totales	Coliformes fecales
1	≤ 2,2	≤ 2,2
2	≤ 2,2	≤ 2,2
3	≤ 2,2	≤ 2,2
4	≤ 2,2	≤ 2,2
5	≤ 2,2	≤ 2,2

Registros de tiempos y temperaturas en diferentes etapas de elaboración del queso

En la Tabla 11 se presentan los registros de tiempos y temperaturas en diferentes etapas durante la elaboración del queso. El tiempo total de procesamiento fue entre 7 y 16 días, para un promedio de 11,5 días y el de maduración fue entre 10 y 20 días, con un promedio de 15 días. El tiempo de maduración del queso era acortado en función de la demanda del mercado, por tanto no se cumplió el requisito en cuanto al tiempo de maduración para este tipo de queso, que según la Norma 2851 (16) debe ser de 35 días.

TABLA 11
Registros de tiempos y temperaturas en diferentes etapas de elaboración del queso tipo Gorda

Etapas	Tiempo	Temperatura (°C)
Leche cruda – recepción	20 – 30 min	4 – 28
Almacenamiento refrigerado	18 – 20 h	4 – 8
Pasteurización de la leche	12 – 15 s.	75-77
Leche pasteurizada para coagulación (llenado de tanque, adición de ingredientes y agitación).	1 – 1½ h.	32 – 35
Formación de la cuajada en el tanque (reposo, corte, agitación, desuerado).	1 h.	32 – 35
Cocción – agitación	40 – 45 min	37 – 38
Desuerado – prepresado	50 min. – 1 h.	36 – 37
Moldeado	30 min.	36 – 37
Prensado	1 – 1½ h.	36
Salado	24 h.	8 – 10
Secado	48 h.	8 – 10
Maduración	10 – 20 días	8
Envasado	15 – 40 min.	15 – 20
Almacenamiento y/o distribución	0 – 5 días	8

CONCLUSIONES

El estudio realizado evidenció que aunque el proceso térmico de pasteurización es efectivo para destruir la carga microbiana de la leche cruda y que el agua potable utilizada es de calidad sanitaria aceptable, en el proceso de fabricación del queso Gouda existen deficientes prácticas de fabricación, así como en los procedimientos de higiene y saneamiento en planta (POES) y operarios. También se observó que no se cumple con el tiempo de maduración del queso establecido por la norma respectiva. En cuanto a la evaluación general de las BPF se halló una efectividad higiénica de 70%, por lo que la empresa se considera satisfactoria en el límite inferior y debe adoptar las medidas correctivas correspondientes a las deficiencias halladas. Los programas pre-requisitos de esta empresa requieren ser bien implementados, controlados y evaluados.

REFERENCIAS

- Bertola NC, Califano AN, Bevilacqua AE, Zaritzky NE. Effects of ripening conditions on the texture of Gouda cheese. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2000;35: 207-214.
- Ríos A, Novoa M. Apoyo del Departamento de Microbiología de Alimentos del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" a la investigación de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"*. 1999;30:8-13.
- Miró A, Ríos M. Calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos analizados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Período: enero 1988 a junio 1998. *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"*. 1999;30:14-20.
- Sandrou DK, Arvanitoyannis IS. Application of hazard analysis critical control point (HACCP) system to the cheese-making industry: a review. *Food Rev. Int.* 2000;16(3):327-368.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 3802 Directrices generales para la aplicación del sistema HACCP en el sector alimentario. 2002. 37 p.
- Bou-Rached L, Ascanio N, Hernández P. Diseño de un plan HACCP para el aseguramiento de la inocuidad de la mortadela elaborada por una empresa de productos cárnicos. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 2004;54(1):72-80.
- Food and Drug Administration (U.S.FDA). Hazard Analysis and Critical Control Point Principles and Application Guidelines. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. Washington: USFDA; 1997. Disponible: www.fda.org
- Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS). Buenas Prácticas de Fabricación, Almacenamiento y Transporte de Alimentos para Consumo Humano. Resolución N° SG 457. *Gaceta Oficial* de 7 de noviembre. Caracas. 1996
- Arispe I. Procedimientos estandarizados operativos de higiene y saneamiento de plantas (SSOPs). Metodologías para la implementación de programas HACCP en Venezuela. II Congreso Venezolano de Ciencia y Tecnología de Alimentos; 1999 Abril 24- 28; Caracas.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 1126. Alimentos: Codificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. 1989. 6 p.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 1104. Alimentos: Determinación del número más probable de coliformes totales, de coliformes fecales y de *Escherichia coli*. 1996. 13 p.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 902. Alimentos: Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri. 1987. 7 p.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 1291. Alimentos: Detección de *Salmonella*. 1988. 30 p.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 1292. Alimentos: Aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*. 1989. 14 p.

15. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 1337. Alimentos: Método para recuentos de mohos y levaduras. 1990. 6 p.
16. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 2851. Queso Gouda. 2004. 6 p.
17. Zea Z A, Ríos de Selgrad M. Evaluación de la calidad microbiológica de los productos cárnicos analizados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" durante el periodo 1990-2000. Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" 2004; 35: 17-24.
18. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 3047. Agua Potable: Método de determinación del NMP de bacterias coliformes. 1993. 6 p.
19. Barreiro J. Higiene y saneamiento en el procesamiento de alimentos. Caracas: Ed. Industria Gráfica Integral C.A; 1992.
20. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 1086. Método para recuento de bacterias coliformes en placas de Petri. 1984. 5 p.
21. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Norma Venezolana COVENIN: 903. Leche Cruda. 1987. 6 p.
22. Ranquen, M. Manual de industrias de los alimentos. Zaragoza: Ed. Acribia; 1993.
23. Martínez, R. Preservación de la calidad y estabilidad microbiológica del queso blanco pasteurizado por combinación de factores: cultivos lácticos indicadores, sorbato de potasio. [Trabajo de Ascenso]. Caracas: Univ. Central de Venezuela; 1988.
24. Arispe I, Westhoff D. Venezuelan white cheese: composition and quality. J. Food Prot. 1984; 47 (1):27-35.
25. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS). Normas y Estándares del Agua Potable. N° 34892. Gaceta Oficial del 29 de Enero. Caracas. 1992.

Recibido: 18-07-2005

Aceptado: 01-12-2005