

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

Tema: “Identificación, cuantificación y dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas por métodos convencionales, durante el tiempo de vida útil del queso amasado elaborados en Tulcán, Provincia del Carchi, Ecuador”

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del
título de Ingenieros en Alimentos

AUTORES: Chamorro Rayo Jhonatan Marcelo
Vázquez Valverde Ambar Nayesska
TUTOR: MSc. Anchundia Lucas Miguel Ángel PhD

Tulcán, 2026.

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que los estudiantes Chamorro Rayo Jhonatan Marcelo y Vázquez Valverde Ambar Nayessa con el número de cédula 2100713029 y 1312831611 respectivamente han desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Identificación, cuantificación y dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas por métodos convencionales, durante el tiempo de vida útil del queso amasado elaborados en Tulcán, Provincia del Carchi, Ecuador"

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en la Codificación del Reglamento de Régimen Académico y de Estudiantes de la UPEC, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.

MSc. Miguel Ángel Anchundia Lucas PhD

TUTOR

Tulcán, septiembre de 2026

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente Trabajo de Integración Curricular constituye un requisito previo para la obtención del título de Ingenieros en la Carrera de alimentos de la FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

Nosotros, Chamorro Rayo Jhonatan Marcelo y Vázquez Valverde Ambar Nayesska con cédula de identidad número 2100713029 y 1312831611 respectivamente declaramos que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que hemos llegado son de nuestra absoluta responsabilidad.



Chamorro Rayo Jhonatan Marcelo

AUTOR



Vázquez Valverde Ambar Nayesska

AUTORA

Tulcán, septiembre de 2026

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Nosotros Chamorro Rayo Jhonatan Marcelo y Vázquez Valverde Ambar Nayesska declaramos ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Identificación, cuantificación y dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas por métodos convencionales, durante el tiempo de vida útil del queso amasado elaborados en Tulcán, Provincia del Carchi, Ecuador" y se exime expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes de posibles reclamos o acciones legales.



Chamorro Rayo Jhonatan Marcelo

AUTOR



Vázquez Valverde Ambar Nayesska

AUTORA

Tulcán, septiembre de 2026

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, por darme fortaleza, comprensión y nunca dejarme solo en mis días más difíciles por guiarme y estar siempre a mi lado en esta etapa de mi vida y poder cumplir con un logro académico más.

En especial a las personas más importantes en mi vida y los cuales han sido mi motor principal para cumplir mis sueños y metas mi padre Hernan Chamorro y mi madre Marcela Rayo. Por estar siempre a mi lado con su apoyo incondicional, aunque los tiempos han sido difíciles siempre han sabido sacarnos adelante a mí y mis hermanos, por criarnos en un hogar lleno de amor, cariño y sobre todo sus sabios consejos y palabras de aliento.

A mi tutor de tesis PhD. Miguel Ángel Anchundia, por sus enseñanza, dedicación y consejos en mi formación profesional y en este proyecto de investigación y nunca dejarnos solos a mi compañera y a mí.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y en especial a cada docente de la carrera los cuales me compartieron enseñanza y momentos inolvidables junto a mis compañeros en las aulas de clases, laboratorios y finca muchas gracias por todo y de la misma forma al club de Baloncesto de la UPEC.

A mis hermanos Stiben, Nayeli y Elian a mi sobrino Said y toda mi familia que estuvieron siempre a mi lado y que de alguna forma me apoyaron con sus palabras de aliento consejos y estuvieron siempre para mí.

A mis amistades Alejandra, Michael, Genesis, Jostyn, Milton, Patricia, Lucia, Mauro y Mireya con los cuales compartimos momentos inolvidables e hicieron que cada momento se lleve en el corazón y en especial a Mayerli Jiménez por estar siempre para mí en los momentos que más la necesite y ella más me necesito por escucharme y sacar mi mejor versión gracias. A mi compañera de tesis Ambar por saber trabajar en equipo, darme su apoyo, comprensión y momentos que llevare de recuerdo.

Jhonatan Marcelo Chamorro

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios, por brindarme vida, salud, fortaleza y sabiduría para superar cada desafío presentado a lo largo de esta etapa universitaria y permitirme culminar con éxito este importante logro académico.

Agradezco al PhD. Miguel Ángel Anchundia mi tutor de tesis, por su orientación, paciencia, dedicación y valiosos conocimientos compartidos durante el desarrollo de esta investigación. Su apoyo académico fue fundamental para la culminación de este trabajo.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a cada uno de los docentes que formaron parte de mi proceso de aprendizaje, por brindarme los conocimientos, experiencias y herramientas necesarias para mi formación profesional y personal.

A mi familia, especialmente a mi mamá Yadira, mi tía Mirella, mi prima Leslye y a todos quienes estuvieron a mi lado, gracias por su amor, apoyo incondicional, consejos y motivación constante para seguir adelante y no rendirme en los momentos difíciles.

Samuel, por su cariño, comprensión y apoyo incondicional durante todo este proceso. Gracias por acompañarme en los momentos de estrés, por motivarme a no rendirme y por brindarme tranquilidad y confianza para continuar. A mis amigas Samantha, Paola, Mónica, a mi compañero de tesis Jhonatan, gracias por acompañarme durante esta etapa, por su apoyo emocional, comprensión y por compartir conmigo momentos importantes que hicieron más especial este camino universitario.

Finalmente, agradezco a todas aquellas personas que, de una u otra manera, contribuyeron con sus conocimientos, consejos y apoyo durante mi formación académica y personal. A todos ustedes, mi más profunda gratitud por ser parte de este importante logro en mi vida.

Ambar Vázquez Valverde

DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios, por darme fortaleza y nunca dejarme solo en mis días más difíciles por guiarme y estar siempre a mi lado en esta etapa de mi vida y poder cumplir con un logro académico más.

Este logro se lo dedico a mis padres ya es más suyo que mío por no rendirse y estar siempre a mi lado con su apoyo incondicional, ser los pilares fundamentales para mí y nunca dejarme solo sus consejos siempre los recordare.

A mis hermanos Stiben, Nayeli y Elian a mi sobrino Said por ser mi lugar seguro y saber que siempre que los necesite los voy a encontrar les dedico este logro porque ustedes son una parte especial para mí y espero ser un ejemplo para ustedes y saberlo guiar.

A mi mejor amiga Alejandra por estar en los momentos más difíciles, pero de igual forma en los momentos más divertidos e inolvidables y ser alguien en quien poder confiar. Mayerli Jiménez por compartí ocurrencias por mostrarse tal como es por escucharme tener esa conexión y confianza por ser mi apoyo en estos últimos meses y lo que viene. A mi compañera de tesis Ambar por estar siempre pendiente, comprensible y apoyando para poder culminar este proyecto que día a día nos fue dejándonos enseñanzas nuevas y poder terminar con éxito.

Jhonatan Marcelo Chamorro

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis, en primer lugar, a Dios, por ser mi guía, mi fortaleza y por darme la sabiduría y perseverancia necesarias para culminar esta importante etapa de mi vida.

A mi mamá Yadira, por su amor incondicional, sacrificio y apoyo constante. Gracias por ser mi inspiración, por creer en mí incluso en los momentos más difíciles y por motivarme siempre a seguir adelante para cumplir mis metas. Este logro también es tuyo.

A mi tía Mirella, a mi prima Leslye y a toda mi familia, por acompañarme, motivarme y brindarme siempre su cariño y confianza en cada paso de mi formación académica.

A mi compañero de tesis, por el compromiso, dedicación y trabajo en equipo demostrado durante el desarrollo de esta investigación. Gracias por compartir conocimientos, ideas y esfuerzo para alcanzar juntos este objetivo académico.

A Samuel y a mis amigas, por su apoyo, comprensión y palabras de aliento en los momentos difíciles, y por hacer más especial este camino universitario.

Finalmente, dedico este trabajo a todas las personas que creyeron en mí y me impulsaron a seguir adelante hasta cumplir este gran sueño profesional.

Ambar Vázquez Valverde

ÍNDICE

RESUMEN	12
ABSTRACT	13
INTRODUCCIÓN	14
I. EL PROBLEMA	16
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	18
1.3. JUSTIFICACIÓN	18
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	20
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	21
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	21
2.2. MARCO TEÓRICO	24
2.2.1. Generalidades sobre el queso	24
2.2.2. Tipos de bacterias deteriorativas en el queso	27
2.2.3. Dinámica de crecimiento microbiano en queso fresco	33
2.2.4. Vida útil y calidad en el queso	34
2.2.5. Métodos convencionales de cuantificación e identificación microbiana	35
2.2.6. Medios de cultivo para bacterias proteolíticas y lipolíticas	38
2.2.7. Pruebas bioquímicas	40
2.2.8. Caracterización de Bacterias Ácido-Lácticas (API 50 CHL)	43
2.2.9. Cambios microbiológicos, fisicoquímicos y organolépticos en el deterioro del Queso Amasado	44
III. METODOLOGÍA	45
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	45
3.1.1. Enfoque	46
3.1.2. Tipo de Investigación	46

3.2. HIPÓTESIS	46
3.2.1 Hipótesis nula:	46
3.2.2 Hipótesis alternativa:	46
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	47
3.3.1. Definición de variables	47
3.3.2. Operacionalización de las variables de la investigación	48
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS	50
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	53
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
4.1. RESULTADOS	54
4.1.1 Pruebas bioquímicas.....	54
4.2. DISCUSIÓN	62
4.2.1 Identificación de bacterias.....	62
4.2.2. Dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas	64
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	70
5.1. CONCLUSIONES	70
5.2. RECOMENDACIONES	71
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
VII. ANEXOS.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Requisitos Del Queso Fresco.....	27
Tabla 2. Factores que influyen en el crecimiento microbiano en queso fresco.....	34
Tabla 3. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados	35
Tabla 4. Correcta tinción de Gram	41
Tabla 5. Procedimiento API 20E.....	43
Tabla 6. Procedimiento API 20NE.....	43
Tabla 7. Procedimiento API 50CH con médium de API 50CHL	44
Tabla 8. Matriz de operacionalización de las variables.....	48
Tabla 9. Empresas dedicadas a la fabricación de quesos amasados en la provincia del Carchi	53
Tabla 10. Bacterias identificadas en galerías API 20E	54
Tabla 11. Bacterias identificadas en galerías API 20NE.....	54
Tabla 12. Bacterias identificadas en galerías API 50CH con Medium 50CHL	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dinámica de crecimiento microbiano en queso fresco	33
Figura 2. Mapa político del Carchi	45
Figura 3. Diluciones seriadas.....	51
Figura 4. Curva de crecimiento aerobios mesófilos en queso amasado.....	56
Figura 5. Curva de crecimiento Bacterias proteolíticas en queso amasado.	57
Figura 6. Curva de crecimiento de Bacilos ácidos lácticos termófilos en queso amasado.....	58
Figura 7. Curva de crecimiento de bacterias lipolíticas en queso amasado.....	59
Figura 8. Curva de crecimiento de streptococcus ácidos lácticos en queso amasado.	60
Figura 9. Curva de crecimiento de bacterias <i>Aeromonas</i> spp en queso amasado. .	61
Figura 10. Curva de crecimiento <i>E. coli</i> en queso amasado.	62
Figura 11. Hinchazón de empaque.....	87

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado del abstract por parte de idiomas	79
Anexo 2. Hinchazón del empaque.....	81

RESUMEN

Se cuantificó, aisló, identificó y determinó la dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas proteolíticas y lipolíticas, *E. coli*, bacilos ácido-lácticos mesófilos y termófilos, *Aeromonas* spp. y *Streptococcus* spp. en queso amasado elaborado en 9 plantas ubicadas en Tulcán, provincia del Carchi, Ecuador, mediante métodos de siembra en superficie. Se emplearon medios de cultivo tales como Agar plate count (PCA), Agar leche descremada, Agar Tributirina, Agar Cromogénico, Agar DeMan, Rogosa y Sharpe (MRS), Agar selectivo Pseudo Aero. y Agar M17, así como API 50 CHL, 20E y 20NE para la identificación de las especies pertenecientes a bacterias ácido-lácticas, enterobacterias y proteolíticas, respectivamente. Los resultados mostraron un aumento progresivo en la población de todos los microorganismos estudiados durante los 20 días de evaluación del producto. Se encontraron tiempos de vida útil de entre 10 y 20 días (estos resultados coinciden con otras investigaciones previas), para las plantas P041, J042, S043 Q044, M046, D047, L048 y C049, debido a que el contenido de microorganismos aerobios mesófilos, proteolíticas, lipolíticas, bacilos ácido lácticos mesófilos y termófilos, *Streptococcus* ácido lácticos, *Aeromonas* spp y *E. coli*, estuvieron por arriba de 10^4 UFC/g ya que estos valores superan los umbrales establecidos en las normativas INEN 1528 y similares a los valores reportados en diversos estudios. Entre los microorganismos identificados, la mayor frecuencia y densidad relativa fueron para Enterobacterias, con 33.33% y 27.27%, respectivamente, mientras que para *Pseudomonas luteola* fueron de 78.78% y 28.26%, y para bacterias ácido-lácticas, de 88.89% y 40.00%, respectivamente. Los resultados permiten sentar las bases para realizar investigaciones sobre el diseño de estrategias de control microbiológico que permitan extender la vida útil a lo largo de la cadena de producción de alimentos y, por ende, el crecimiento sostenible de la región.

Palabras Claves: Queso amasado, bacterias deteriorativas, vida útil, deterioro microbiológico.

ABSTRACT

Proteolytic and lipolytic spoilage bacteria, *Escherichia coli*, mesophilic and thermophilic lactic acid bacilli, *Aeromonas* spp., and *Streptococcus* spp. present in kneaded cheese produced in nine dairy plants located in Tulcán, Carchi Province, Ecuador, were quantified, isolated, identified, and their growth dynamics were determined using the Spread Plate Method. The culture media used included Plate Count Agar (PCA), Skim Milk Agar, Tributyrin Agar, Chromogenic Agar, De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agar, Pseudo Aero Selective Agar, and M17 Agar, as well as API 50 CHL, API 20E, and API 20NE for the identification of species belonging to lactic acid bacteria, enterobacteria, and proteolytic bacteria, respectively. The results showed a progressive increase in the populations of all microorganisms studied throughout the 20-day evaluation period. Shelf-life values ranging from 10 to 20 days were observed for factories P041, J042, S043, Q044, M046, D047, L048, and C049, because the counts of mesophilic aerobic microorganisms, proteolytic and lipolytic bacteria, mesophilic and thermophilic lactic acid bacilli, lactic acid *Streptococcus*, *Aeromonas* spp., and *E. coli* exceeded 10^4 CFU/g. These values exceeded the limits set by the INEN 1528 standard and were comparable to those reported in several studies. Among the identified microorganisms, *Enterobacteriaceae* showed a frequency of 33.33% and a relative density of 27.27%, *Pseudomonas luteola* showed 78.78% and 28.26%, and lactic acid bacteria showed 88.89% and 40.00%, respectively. The results provide a basis for future research to design microbiological control strategies that extend shelf life across the food production chain and, consequently, promote sustainable growth in the region.

Keywords: kneaded cheese, spoilage bacteria, shelf life, microbiological spoilage.

INTRODUCCIÓN

La industria quesera en Ecuador, especialmente en la región del Carchi, cuenta con una tradición que se remonta a una práctica milenaria y que constituye un elemento importante en la cultura y economía local (Enríquez, 2019). Entre las distintas variedades de tipos de queso, el amasado se distingue por su sabor característico, su textura y su elaboración artesanal, aspectos que le confieren un valor cultural y social en comunidades como Tulcán (Paredes, Cadena y Bolaños, 2022).

A pesar de su importancia, uno de los principales desafíos que enfrentan los productores de queso amasado en la región es la limitada vida útil del producto, debido en gran parte a su susceptibilidad al deterioro microbiológico (Enríquez, 2019). Este periodo de vida útil ha sido establecido entre 10 y 15 días debido a que cambian sus características fisicoquímicas y microbiológicas (Salcedo M y Pozo Rosero, 2021).

El deterioro bacteriano de quesos frescos no maduros es un proceso complejo que implica la contaminación durante la cadena de producción y la proliferación de microorganismos durante el almacenamiento y comercialización (Salcedo M y Pozo Rosero, 2021). Entre los principales agentes deteriorativos se destacan las bacterias psicrótrofas, Gram negativas, coliformes y *Escherichia coli*, así como bacterias ácido lácticas y bacterias proteolíticas del género *Bacillus*, entre las que identifican *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. subtilis* y *B. circulans* (Farfán, Romero, y Ortiz, 2017). En el deterioro de grasas y proteínas predominan especies de los géneros *Pseudomonas* y *Enterobacter* (Sánchez et al., 2025), así como otras especies como *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp. y *Aeromonas* spp (Sánchez et al., 2025).

Estas bacterias producen enzimas proteasas y lipasas termoestables que degradan proteínas y grasas del queso, provocando cambios en sus características sensoriales como mal olor, sabor ácido, cambios de textura y formación de burbujas o exudados, además de exopolisacáridos y pigmentos que alteran su viscosidad y coloración natural (Sánchez et al., 2025).

Esta problemática no solo compromete la calidad del queso amasado, sino que también genera implicaciones ambientales ya que la generación de pérdidas de producto no comercializable incrementa el volumen de residuos orgánicos y

subproductos lácteos como el suero que deben ser manejados como el consiguiente riesgo de contaminación de fuentes de agua y suelo si no reciben un manejo adecuado (Ulloa, 2018). A esto se suma el impacto económico sobre los productos artesanales, quienes enfrentan pérdidas por producto no comercializables y costos adicionales de conservación (Pozo, 2021).

En este sentido, la presente investigación tiene como objetivo principal identificar y cuantificar las bacterias deteriorativas presentes en el queso amasado elaborado en Tulcán, mediante métodos microbiológicos convencionales, y describir su comportamiento poblacional durante el período de vida útil del producto. Además, entender la dinámica de crecimiento de estos microorganismos para proponer a futuro medidas que ayuden a prolongar la vida útil del queso amasado, reducir las pérdidas económicas, mantener la calidad sensorial y garantizar la seguridad alimentaria.

Frente a este panorama, resulta imprescindible identificar y cuantificar con precisión las bacterias deteriorativas que afectan al queso amasado, así como estudiar su dinámica de crecimiento durante su vida útil, con el fin de generar información que permita diseñar estrategias efectivas de control microbiológico (Pozo y Salcedo, 2021). En este contexto, el presente estudio se enfoca en la identificación, cuantificación y dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas mediante métodos convencionales, durante la vida útil del queso amasado elaborado en Tulcán, provincia del Carchi.

I. EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El queso amasado es un producto lácteo tradicional de Tulcán, provincia del Carchi, Ecuador, valorado por su sabor y textura únicos. Se estima que en esta provincia existen aproximadamente 38 plantas pequeñas procesadoras de queso amasado, siendo el 81,58% de ellas categorizadas como microempresas, de las cuales el 78,95% elaboran queso amasado (Anchundia et al., 2019).

De acuerdo con Núñez (2023), el consumo de queso amasado en las provincias del Carchi e Imbabura es de aproximadamente dos quesos a la semana por familia, de las cuales el 89% consume queso amasado, por lo tanto, la actividad quesera contribuye significativamente a la dinamización y mejora de la economía local, considerando que se estima una producción de 20.000 unidades de queso amasado diario en Carchi, siendo una de las provincias con mayor producción.

El deterioro de quesos amasado por bacterias es un problema que causa reducción de la calidad debido a defectos, como el mal olor y sabor, afectando los atributos sensoriales del queso amasado. Así mismo, este deterioro provoca una pérdida de la calidad nutritiva del queso, disminuyendo su valor como alimento. También genera una menor disponibilidad de alimentos aptos para el consumo, debido a que los quesos en mal estado deben descartarse, desde el punto de vista económico, el deterioro bacteriano del queso genera pérdidas significativas, la reducción de calidad, el trabajo adicional requerido y los problemas de seguridad alimentaria (Andrade, 2019). Finalmente, este fenómeno conlleva problemas ambientales asociados al desperdicio de alimentos y al manejo de los desperdicios generados.

Los cambios sensoriales están ligados a la descomposición de proteínas y lípidos, procesos que favorecen la formación de compuestos no deseados, como amoníaco, aminas biogénicas, cetonas, aldehídos, ésteres y ácidos grasos libres, generados por la actividad metabólica de *Pseudomonas fluorescens*. Esta bacteria suele manifestarse en los quesos mediante la formación de pigmentaciones verdosas, azuladas o fluorescentes en la superficie, además de la aparición de mucosidad

(biofilm) y olores desagradables asociados a la degradación de proteínas y grasas. Como consecuencia, se producen defectos organolépticos como sabores amargos o rancios, alteraciones en la textura y cambios de color en la superficie del queso amasado (Moreano et al., 2024).

Pérdida de calidad nutritiva del queso amasado por efectos del deterioro directo de *Pseudomonas* spp, debido a la producción de enzimas proteasas las cuales degradan las proteínas del queso lo que altera la textura y liberan compuestos amargos afectando el valor que pueden aportar los aminoácidos, las enzimas lipolíticas rompen los triglicéridos causando la pérdida de ácidos grasos esenciales y generan rancidez, dando un olor y sabores desagradables. Bacterias como *E. coli* y esporuladas como *Clostridium* fermentan los carbohidratos, produciendo gas CO₂ que causan hinchazón y porosidad anómala en el producto terminado (Bassi et al., 2020).

En este contexto, el alto contenido de humedad y las condiciones fisicoquímicas del queso favorecen la proliferación de bacterias Gram negativas psicrótrofas y bacterias ácido lácticas (BAL), incluyendo bacilos ácido lácticos mesófilos, bacilos ácido lácticos termófilos y *Streptococcus* ácido lácticos termófilos. Asimismo, microorganismos como *Clostridium* spp. y *Aeromonas* spp., que pueden provenir del ensilado utilizado en la alimentación del ganado o de fuentes de contaminación ambiental, son capaces de sobrevivir a determinadas condiciones, bacterias coliformes como *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp. y *Citrobacter* spp. pueden alterar las propiedades organolépticas del producto.

Entre las bacterias psicrótrofas el género *Pseudomonas* destaca por su capacidad de producir proteasas y lipasas termoestables que degradan proteínas y grasas, acelerando los procesos de deterioro durante el almacenamiento refrigerado. Además, los coliformes totales constituyen un indicador importante de contaminación higiénico-sanitaria, ya que su presencia en quesos frescos con elevado contenido de humedad se asocia con defectos como hinchazón temprana, sabores ácidos indeseables y disminución de la calidad general del producto (Boor y Fromm, 2006; Escobar et al., 2023; Robinson et al., 2014).

Desde una perspectiva comercial y ambiental, la limitada vida útil del queso amasado representa un desafío para su distribución y comercialización en mercados más amplios. A diferencia de otros quesos con procesos de maduración que

incrementan su estabilidad microbiológica, el queso amasado requiere condiciones adecuadas de producción, almacenamiento y transporte para minimizar el deterioro y mantener su calidad. La reducción de pérdidas y desperdicios de productos lácteos contribuye al cumplimiento del Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) 12: Producción y Consumo Responsables, particularmente en lo relacionado con la disminución del desperdicio de alimentos a lo largo de la cadena de suministro, promoviendo sistemas alimentarios más sostenibles y eficientes (Izolani, 2021)

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las bacterias deteriorativas y como es la dinámica de crecimiento microbiano en el queso amasado elaborado en Tulcán, provincia del Carchi, que afectan su vida útil?

1.3. JUSTIFICACIÓN

El queso amasado constituye uno de los productos lácteos de mayor consumo en la provincia del Carchi y representa una importante fuente de ingresos para pequeños y medianos productores. Debido a sus características fisicoquímicas y a su alta aceptación en el mercado, resulta de gran importancia fortalecer el conocimiento científico sobre los microorganismos presentes durante su almacenamiento. En este contexto, la presente investigación permitirá identificar y cuantificar las bacterias responsables del deterioro microbiológico, generando información técnica que contribuirá al desarrollo de estrategias para optimizar la calidad e incrementar la vida útil del producto (Cortes, 2024).

Desde el punto de vista de la calidad, el estudio permitirá conocer los principales microorganismos deteriorativos presentes en el queso amasado y su comportamiento durante el período de almacenamiento. Esta información facilitará la comprensión de los cambios microbiológicos relacionados con las características sensoriales del producto, como el olor, el sabor, la textura y la apariencia, aportando bases científicas para la implementación de prácticas que favorezcan la obtención de un queso de mejor calidad y mayor estabilidad (Manríquez et al., 2021).

Desde la perspectiva nutricional, la investigación contribuirá a comprender la influencia de los microorganismos deteriorativos sobre la conservación de proteínas, grasas y otros componentes de importancia nutricional. Los resultados permitirán generar conocimientos que favorezcan la preservación del valor nutritivo del queso

amasado durante su vida útil, promoviendo un producto con mejores condiciones para el consumo (Sani, 2023).

En el ámbito económico, la información obtenida servirá como fundamento para el diseño de estrategias orientadas a mejorar la conservación del queso amasado, favoreciendo el aprovechamiento de la producción, el fortalecimiento de la competitividad de los pequeños y medianos productores y la ampliación de las oportunidades de comercialización. De esta manera, la investigación aportará beneficios tanto para el sector productivo como para los consumidores, al promover un producto de mayor calidad y vida útil (Manríquez Rojas et al., 2022).

La identificación de los microorganismos responsables permitirá establecer estrategias de control que contribuyan a disminuir pérdidas económicas, mejorar la rentabilidad de los productores y fortalecer la competitividad de la cadena láctea local (Albuja et al., 2023).

En el punto de vista social, el queso amasado forma parte de la alimentación habitual de la población y constituye una actividad productiva relevante para numerosas familias de la región. La generación de conocimiento sobre los factores que afectan su calidad contribuirá al fortalecimiento del sector lácteo local, favoreciendo la sostenibilidad de los medios de vida de productores, comerciantes y demás actores involucrados en la cadena productiva (Ruano, 2022).

Desde la perspectiva tecnológica, la investigación aportará información científica sobre las bacterias deteriorativas presentes en el queso amasado elaborado en Tulcán, permitiendo desarrollar criterios técnicos para optimizar las prácticas de producción, almacenamiento y conservación. Asimismo, contribuirá a reducir el vacío de información existente sobre la microbiota deteriorativa de este producto tradicional (Erazo, 2018).

Finalmente, desde el punto de vista ambiental, la reducción del deterioro microbiológico y de las pérdidas de queso amasado contribuirá a disminuir el desperdicio de alimentos a lo largo de la cadena de producción y comercialización. Promoviendo la reducción de las pérdidas y desperdicios de alimentos mediante sistemas productivos más eficientes y sostenibles (Rodríguez, 2016).

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

Identificar, cuantificar y determinar la dinámica de crecimiento a las bacterias deteriorativas por métodos convencionales, durante el tiempo de vida útil del queso amasado elaborados en Tulcán, Provincia del Carchi, Ecuador.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Identificar a las bacterias deteriorativas al final del tiempo de vida útil de los quesos amasados por métodos bioquímicos.
- Cuantificar las bacterias deteriorarías durante el tiempo de vida útil de los quesos amasados por métodos de siembra en superficie.
- Determinar la dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas durante el tiempo de vida útil de los quesos amasados.

1.4.3. Preguntas de Investigación

- ¿Qué especies de bacterias deteriorativas se pueden identificar durante la vida útil de los quesos amasados mediante métodos bioquímicos?
- ¿Cuál es la cantidad de bacterias deteriorativas presentes durante el tiempo de vida útil del queso amasado elaborado en Tulcán?
- ¿Cómo es la dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas durante el tiempo de vida útil de los quesos?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Un estudio realizado por de Moreano Terán y otros (2024), aborda un problema de salud pública crítico en Ecuador: la calidad microbiológica deficiente de los quesos frescos de producción artesanal. El estudio se centra en la evaluación de los riesgos asociados con el consumo de estos quesos, que a menudo son desconocidos para los consumidores. La investigación tuvo como objetivo la evaluación de la calidad microbiológica de los quesos frescos comercializados en un mercado en la ciudad de Latacunga en Ecuador, utilizando técnicas microbiológicas y siguiendo las especificaciones de la Norma Técnica INEN 1528:2012.

El estudio utilizó un enfoque descriptivo, recolectando muestras de quesos frescos de diversos establecimientos comerciales, estableciendo el conteo y determinando la presencia de patógenos, incluyendo *Enterobacterias*, *E. Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*, respectivamente. El 75% de las muestras analizadas superaron los niveles permitidos de *E. coli*, lo que indicó una alta contaminación fecal presente desde la materia prima, posiblemente debido a prácticas de ordeño antihigiénicas. Los análisis de *Enterobacterias* mostraron recuentos que exceden los parámetros permisibles, con valores entre 10^4 y 10^5 ufc/g. Esto se atribuye a la exposición del producto a temperatura ambiente, lo que favorece el desarrollo de microorganismos.

Se encontró que el 50% de las muestras presentaban la presencia de *Listeria monocytogenes*, lo que representa un riesgo significativo para la salud pública. Además, se identificaron condiciones favorables para el desarrollo de *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus* debido a la exposición del producto durante las actividades comerciales. El estudio determinó que los quesos frescos comercializados en este mercado en Ecuador presentan condiciones higiénicas deficientes, lo que afecta

negativamente la calidad del producto y supone un riesgo significativo para la salud de los consumidores. Los hallazgos subrayan la necesidad de implementar medidas eficaces en seguridad alimentaria, mejorar las prácticas de inocuidad alimentaria y aumentar la concienciación de los consumidores para mitigar los riesgos asociados con el consumo de estos alimentos.

Un estudio realizado por Ramírez y otros (2024), en Ecuador, titulado “Determinación de Coliformes spp y *Escherichia coli* en quesos frescos del mercado 9 de octubre, Cuenca”, abordó la calidad microbiológica de estos productos mediante la recolección y análisis de 30 muestras de queso fresco artesanal expendidos en dicho centro de acopio. Para la identificación y cuantificación de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) se emplearon placas microbiológicas rápidas Compact Dry EC, siguiendo los lineamientos técnicos establecidos en la normativa nacional vigente NTE-INEN 1529-7:2013, con el objetivo de verificar el cumplimiento de los límites máximos permisibles definidos por la regulación INEN 2620:2012.

El deterioro microbiológico y la contaminación de los productos lácteos, especialmente de los quesos frescos artesanales, representa un desafío de gran relevancia en la industria alimentaria y la salud pública, debido al impacto negativo que genera en la seguridad y aptitud para el consumo de estos alimentos. En este contexto, las bacterias del grupo de los coliformes y, de manera específica, la especie *Escherichia coli* han sido identificadas como los principales indicadores de contaminación fecal y de deficiencias críticas en las prácticas higiénicas durante las etapas de ordeño, elaboración, transporte y comercialización, lo que incrementa significativamente el riesgo de transmisión de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAS).

Los resultados obtenidos revelaron un panorama preocupante en términos de inocuidad alimentaria debido a que el 100% de las muestras analizadas presentó contaminación por coliformes y el 90% por *Escherichia coli*. Al contrastar estos valores con los límites normativos, se determinó que el 90% de las muestras incumplen el límite máximo permitido para Coliformes spp., mientras que un preocupante 96% excede el umbral seguro para *Escherichia coli*, dejando en evidencia una exposición generalizada del producto a condiciones de procesamiento con deficiencias higiénicas. Este alto grado de contaminación se vincula de manera directa con factores como la falta de pasteurización de la leche cruda, fallas en la cadena de frío, manipulación inadecuada por parte de los expendedores y el uso de utensilios

sin la debida higienización, lo que resalta la urgencia de implementar auditorías sanitarias y programas de capacitación obligatorios en buenas prácticas de manufactura.

Un estudio realizado por Ávila y otros (2025), en España, titulado "Diversity and spoilage potential of *Pseudomonas* spp. from Spanish milk and dairy products: Impact on fresh cheese and milk quality", se abordó la diversidad genética y el potencial deteriorativo de cepas de *Pseudomonas* spp. aisladas de productos lácteos españoles, incluyendo leche cruda y pasteurizada, suero, nata, distintos tipos de quesos y tofu. Se analizaron 208 aislamientos mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y secuenciación genética, identificándose 108 tipos y al menos 20 especies distintas, con predominancia de *P. fluorescens*, *P. fragi* y *P. lundensis*. Además, se reportó por primera vez la presencia de especies como *P. shahriarae*, *P. atacamensis* y *P. salmasensis* en productos lácteos.

El deterioro microbiológico de los productos lácteos, especialmente de la leche y los quesos frescos, representa un desafío relevante en la industria alimentaria, debido al impacto negativo que genera en la calidad, seguridad y vida útil de estos productos. En este contexto, el género *Pseudomonas* ha sido identificado como uno de los principales responsables de alteraciones físicas y químicas durante el almacenamiento en frío, provocando defectos como decoloración, rancidez, sabores amargos, formación de sedimentos o geles, y reducción del rendimiento en la elaboración de quesos.

Las cepas analizadas presentaron una alta heterogeneidad fenotípica, destacando por su capacidad para producir enzimas extracelulares termoestables, como proteasas y lipasas, que persistieron incluso después de tratamientos térmicos como la ultrapasteurización (UHT). Estas enzimas provocaron proteólisis en leche refrigerada y pigmentaciones anómalas en queso fresco, evidenciando su alto potencial de deterioro. Un hallazgo importante fue la detección del gen *aprX* asociado a la producción de una proteasa metalodependiente termoestable en el 57% de las cepas, confirmando su implicación directa en la degradación de proteínas lácteas incluso tras procesos de higienización térmica.

Este estudio representa un antecedente fundamental para la comprensión del rol de *Pseudomonas* spp. en el deterioro de productos lácteos, y resalta la importancia de identificar cepas específicas para establecer medidas de control más eficaces en las

plantas procesadoras. Los resultados obtenidos por Ávila y otros (2025) aportan una base científica sólida para el desarrollo de estrategias de prevención y conservación orientadas a mejorar la calidad y prolongar la vida útil de la leche y los derivados lácteos.

De acuerdo a Vasquez y otros (2018), en un estudio realizado en Perú sobre la calidad bacteriológica del queso en Cajamarca, menciona que el queso fresco es un alimento consumido en todo el mundo a pesar de que se le puede encontrar con distintos nombres y procesos de elaboración con características nutritivas, textura y sensoriales difieren en cada tipo. Donde se tiene un estimado de más de 2000 variedades de queso los cuales constituyen un legado gastronómico en cada zona donde se elaboran queso fresco.

La industrialización de queso fresco ha evolucionado de una producción artesanal a una industrializada para mejorar de la calidad del alimento tomando en cuenta las características fisicoquímicas, texturales y microbiológicas. Entre los principales riesgos asociados a estos alimentos destacan microorganismos patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, debido a que producen enfermedades transmitidas por alimentos.

En Perú las normativas vigentes establecen límites microbiológicos específicos para quesos frescos con la finalidad de garantizar la inocuidad. Para lo cual una vez realizados los análisis de 30 muestra de queso fresco de cinco empresas se reveló que la mayoría de estas incumple con normativa, donde se reportó un encuentro elevado de mesófilos viables, coliformes totales y fecales *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, evidenciando deficiencias higiénicas en la elaboración, manipulación y almacenamiento del producto. Solo las empresas E y F mostraron resultados aceptables en algunos indicadores. No se identificó *Salmonella* spp., aunque su ausencia no garantiza inocuidad total, representando estos hallazgos un riesgo potencial para la salud del consumidor (Vasquez et al., 2018).

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Generalidades sobre el queso

2.2.1.1. Definición y clasificación de los quesos

El queso es el extracto proteico y graso, fresco o madurado, sólido o semisólido obtenido por la separación del suero después de la coagulación natural ó artificial

de la leche, por procesos tecnológicos adecuados, añadiendo otros ingredientes y adictivos de uso permitido (Esaín J, 2019).

2.2.1.2 Clasificación de queso

Los quesos se pueden clasificar principalmente según su contenido de humedad, proceso de elaboración y origen de la leche. Por textura, existen quesos frescos con alta humedad y sabor suave, otros blandos, semiduros y duros o curados, tienen aspectos como la baja humedad y de sabores intensos.

También se distinguen por el origen animal de la leche que puede ser de vaca, cabra, oveja o búfala y por el proceso como la pasta hilada, prensados, de pastas azul o con moho superficial. Otro criterio es el tiempo de maduración, que va desde días hasta varios meses, determinando aroma y firmeza. Esta diversidad refleja tradiciones regionales y técnicas artesanales acumuladas durante siglos (Duchi, 2021).

2.2.1.3. Queso amasado y sus características

El queso amasado es un producto lácteo no madurado obtenido de la cuajada no cortada de acidificación natural, molido, amasado, moldeado en moldes perforados y espolvoreada sal de consumo humano, es moldeado y es semiduro o de pasta blanda, emblemático de la matriz agroalimentaria de la provincia del Carchi, donde su producción artesanal dinamiza la economía de las plantas procesadoras de la región Pozo y Yépez (2021). A diferencia de los quesos frescos industriales, su identidad radica en un proceso de manufactura tradicional caracterizado por una corta acidificación espontánea de la cuajada. Esta dependencia de los métodos empíricos y de la calidad de la materia prima local otorga al producto un perfil sensorial único, pero también genera una alta variabilidad en sus propiedades físicas y bioquímicas basales.

La principal particularidad tecnológica de este alimento ocurre tras el desuerado, etapa en la cual la cuajada es desmenuzada y sometida a un riguroso amasado manual o mecánico con adición directa de sal (Pozo y Yépez, 2021). Este tratamiento físico altera la matriz proteica original, distribuyendo uniformemente la humedad y los componentes grasos antes del moldeado definitivo. Como consecuencia directa de esta técnica, el queso desarrolla una consistencia firme y elástica, caracterizada microscópicamente por la oclusión de aire que da origen a sus típicos ojos mecánicos e irregulares al corte.

Desde la perspectiva microbiológica, al no someterse a maduración prolongada, el queso amasado constituye un ecosistema biológicamente activo donde predominan bacterias ácido-lácticas nativas que regulan su pH y sabor (Cárdenas y Portilla, 2023). No obstante, esta elevada actividad de agua y la falta de estandarización térmica exponen al producto a una colonización progresiva de microorganismos indicadores de higiene durante su almacenamiento. Por este motivo, el monitoreo de su dinámica poblacional es un factor crítico para asegurar el cumplimiento de los estándares de inocuidad dictados por la normativa nacional NTE INEN 1528.

2.2.1.4. Origen del queso amasado

El origen del queso fresco amasado en el Ecuador se remonta a la época colonial con la introducción de la ganadería bovina por parte de los españoles, consolidando desde entonces una notable relevancia en la gastronomía andina como acompañamiento versátil de diversos platos tradicionales. En la provincia del Carchi, la producción artesanal de este lácteo se concentra principalmente en los cantones de San Gabriel y Tulcán (Huasipungo, 2019). Su proceso tecnológico diferenciador consiste en el desuerado eficiente de la cuajada, seguido del esparcimiento homogéneo de sal refinada y una etapa final de molienda mediante molinos de grano; este tratamiento mecánico rompe la matriz proteica y le confiere sus propiedades reológicas y sensoriales características, distinguiéndolo del queso fresco común cuya manufactura simplificada se basa en la coagulación térmica o enzimática de la leche mediante ácidos cítricos o cultivos iniciadores.

Respecto a la caracterización bromatológica de las matrices lácteas frescas, Dubach (1988) señala un perfil composicional general constituido por un 50% de humedad, 24% de materia grasa, 2% de sales minerales, 1% de cloruro de sodio y un aporte vitamínico que incluye las fracciones liposolubles e hidrosolubles A, B, D, E y K; asimismo, el remanente de la fracción sólida se distribuye entre proteínas estructurales y carbohidratos residuales como la lactosa. En función de estos parámetros fisicoquímicos, los quesos frescos se someten a clasificaciones estandarizadas y controles de calidad rigurosos que son analizados sistemáticamente bajo los criterios técnicos y límites permisibles establecidos en las normativas nacionales vigentes.

Tabla 1. Requisitos Del Queso Fresco

Requisitos	Tipo de queso	Medida	Min	Max	Met. De ensayo
Humedad	Queso fresco común	%	-	65	INEN 63
	Queso fresco extra húmedo	%	>65	80	INEN 63
	Rico en grasa	%	>60	-	INEN 64
Grasa	Grasos	%	>45	>60	INEN 64
	Semigrasos	%	>25	>45	INEN 64
	Pobres en grasas	%	>10	>25	INEN 64
	Desnatados	%	-	10	INEN 64

Fuente: Norma INEN 1528 (1996).

2.2.2. Tipos de bacterias deteriorativas en el queso

2.2.2.1. Aerobios mesófilos

Los microorganismos aerobios mesófilos constituyen uno de los principales indicadores de calidad sanitaria y comercial en la industria láctea. Su cuantificación en quesos frescos es fundamental, ya que un recuento elevado de estos microorganismos evidencia deficiencias en las buenas prácticas de manufactura, fallas en las condiciones de almacenamiento o la pérdida de la cadena de frío (Jay et al., 2005). De este modo, su presencia permite evaluar indirectamente la vida útil potencial del producto y el nivel de higiene durante su procesamiento.

Aunque estas bacterias, mohos y levaduras se desarrollan de manera óptima en un rango de 30 °C a 37 °C, su multiplicación altera las propiedades organolépticas del queso, provocando el deterioro prematuro del olor, sabor, textura y apariencia general.

Por esta razón, la Comisión Internacional para la Especificación Microbiológica de los Alimentos (ICMSF) establece que el recuento de aerobios mesófilos es un parámetro esencial para asegurar la estandarización de la calidad y verificar que el alimento sea microbiológicamente seguro para el consumidor.

2.2.2.2. Bacterias proteolíticas

En el ámbito de la microbiología deteriorativas de los alimentos, las bacterias proteolíticas desempeñan un rol crítico en la pérdida de la calidad comercial de los derivados lácteos, afectando directamente a matrices como el queso fresco amasado. Estos microorganismos poseen la capacidad de sintetizar y secretar enzimas extracelulares (proteasas) que degradan las proteínas lácteas,

principalmente la caseína, descomponiéndola en péptidos de cadena corta y aminoácidos libres.

Durante el proceso de maduración o almacenamiento inadecuado del queso fresco amasado, la actividad de estas proteasas bacterianas genera compuestos volátiles no deseados como amoníaco, compuestos sulfatados y aminas. La acumulación de estos metabolitos es la responsable directa de la aparición de defectos sensoriales severos, tales como olores amoniacales o pútridos, sabores amargos y un ablandamiento excesivo o licuación de la textura característica del queso (Forsythe, 2020).

Entre los principales géneros bacterianos deteriorantes con actividad proteolítica aislados en productos lácteos destacan *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. y *Clostridium* spp. Cabe señalar que muchas de estas especies psicrótrofas o esporuladas logran sobrevivir a las condiciones de procesamiento artesanal y proliferan durante el almacenamiento refrigerado, consolidando a la proteólisis microbiana como uno de los mecanismos determinantes en la reducción de la vida útil comercial del queso (Jay et al., 2005).

2.2.2.3. Bacterias lipolíticas

En el estudio de la microbiología deteriorativa del queso fresco amasado, las bacterias lipolíticas representan un grupo de especial interés tecnológico debido a su capacidad para hidrolizar la fracción grasa del sustrato lácteo. Estos microorganismos sintetizan y secretan enzimas denominadas lipasas, las cuales desglosan los triacilglicéridos en glicerol y ácidos grasos libres (AGL). La acumulación descontrolada de estos ácidos grasos libres desencadena procesos de rancidez hidrolítica, afectando drásticamente la estabilidad del producto al alterar su olor y conferirle sabores picantes, jabonosos o amargos indeseables (Ray y Bhunia, 2025).

Entre los géneros bacterianos más comunes asociados con la actividad lipolítica en matrices lácteas se encuentran *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* y determinadas especies de *Bacillus*. Una parte significativa de este microbiota posee características psicrótrofas, permitiendo su multiplicación activa durante el almacenamiento bajo refrigeración del queso fresco.

Asimismo, se puede señalar que las lipasas extracelulares producidas por estos géneros particularmente las de *Pseudomonas fluorescens* y enzimas lipolíticas termoestables de *Bacillus cereus* poseen una elevada estabilidad térmica. Estas

enzimas logran resistir tratamientos térmicos estándar como la pasteurización, manteniendo su actividad hidrolítica residual incluso tras la eliminación de la carga bacteriana viable. Por lo tanto, la presencia y persistencia de estas enzimas termoestables en el queso fresco amasado se consolidan como causas principales de pérdidas económicas debido al deterioro prematuro de sus propiedades organolépticas. (Ramesh et al, 2024).

2.2.2.4. Bacilos ácido-lácticos mesófilos y termófilos

Los bacilos ácido-lácticos pertenecen a un grupo de bacterias Gram positivas, son no esporuladas y producen ácido láctico como principal producto de la fermentación de carbohidratos. Estas bacterias desempeñan un papel fundamental en la industria alimentaria, especialmente en la elaboración de productos fermentados como yogur, queso, embutidos y vegetales fermentados. Según su temperatura óptima de crecimiento, los bacilos ácido-lácticos pueden clasificarse en mesófilos y termófilos (Madigan et al., 2021).

Los bacilos ácido-lácticos mesófilos crecen preferentemente entre 20 °C y 30 °C. Entre las especies más representativas se encuentran *Lactobacillus plantarum* y *Lactococcus lactis*, ampliamente utilizadas en procesos fermentativos por su capacidad de acidificar alimentos y mejorar sus propiedades sensoriales. Por otro lado, los bacilos ácido-lácticos termófilos presentan un crecimiento óptimo entre 40 °C y 45 °C, destacándose especies como *Lactobacillus delbrueckii* y *Lactobacillus helveticus*, utilizadas principalmente en la elaboración de yogur y ciertos tipos de queso (Tortora, Funke y Case, 2019).

2.2.2.5. *Streptococcus* ácido lácticos

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) del género *Streptococcus* corresponden a cocos Gram positivos, anaerobios facultativos, catalasa negativos e inmóviles, cuya característica metabólica principal es la fermentación homofermentativa de carbohidratos para la producción predominante de ácido L-láctico. En la tecnología quesera, estos microorganismos desempeñan un rol biotecnológico clave al liderar los procesos de acidificación primaria y transformación bioquímica de la leche y la cuajada (Adams y Moss, 2008).

Dentro de este género, la especie de mayor relevancia en la industria quesera es *Streptococcus thermophilus*, utilizada ampliamente como cultivo iniciador (starter) termófilo en la elaboración de diversos tipos de queso, como los de pasta hilada,

prensados o madurados. Su principal función tecnológica es la rápida conversión de la lactosa en ácido láctico, lo que provoca un descenso acelerado del pH. Esta acidificación resulta indispensable para promover la desestabilización de las micelas de caseína, favorecer la acción del cuajo (quimosina), facilitar el desuerado eficiente y conferir la firmeza y plasticidad adecuadas a la matriz del queso.

Adicionalmente, la actividad metabólica de *S. thermophilus* aporta atributos clave para la calidad del queso:

- Estructura y textura: Diversas cepas poseen la capacidad de sintetizar exopolisacáridos (EPS), biopolímeros que interactúan con la red proteica reteniendo agua libre, lo que contribuye a mejorar el rendimiento del queso, optimizar su elasticidad y moderar la expulsión excesiva de suero (Adams y Moss, 2008).
- Desarrollo sensorial: A través de sus vías proteolíticas y del metabolismo de los carbohidratos, produce compuestos volátiles como acetaldehído y diacetilo, los cuales constituyen precursores esenciales del perfil de aroma y sabor característicos de la cuajada (Adams y Moss, 2008).
- Vida útil: La rápida acumulación de ácido láctico, combinada con la producción de sustancias antimicrobianas (como bacteriocinas o peróxido de hidrógeno), genera un efecto de barrera biológica que inhibe la proliferación de microorganismos patógenos (p. ej., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) y alterantes, garantizando la estabilidad microbiológica del producto (Adams y Moss, 2008).
- Por otra parte, se ha demostrado que determinadas cepas de *S. thermophilus* exhiben propiedades probióticas. Al resistir al tránsito gastrointestinal y mantener la actividad de la enzima β -galactosidasa, estas bacterias favorecen el equilibrio de la microbiota intestinal y ayudan a la digestión de la lactosa residual, aportando un valor funcional añadido al queso (Madigan et al., 2021).

2.2.2.6. Coliformes

Las bacterias coliformes pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y se definen microbiológicamente como bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos y no esporulados. Estos microorganismos poseen la capacidad metabólica de fermentar la lactosa con producción de ácido, gas (CO_2 y H_2) y otros metabolitos a 35–37 °C en

un periodo de 24 a 48 horas. En la industria láctea y la microbiología de alimentos, su relevancia radica en su doble papel como agentes de deterioro microbiológico y como indicadores de higiene y contaminación fecal (Centre for Food Safety, 2019).

En el procesamiento de productos lácteos, especialmente en la elaboración de quesos, la proliferación de coliformes causa graves alteraciones físicas y sensoriales. Su rápida producción de gas durante las primeras etapas de coagulación y fermentación genera el defecto tecnológico conocido como hinchazón precoz, caracterizado por la formación de cavidades irregulares o "ojos", fisuras en la masa, acidificación no deseada y sabores o aromas extraños que comprometen la calidad y el rendimiento del producto.

Aunque algunas especies de coliformes están asociadas a enfermedades infecciosas en humanos, su principal valor en el control de calidad de alimentos es servir como parámetro para evaluar la inocuidad, la calidad de la materia prima y la efectividad de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) durante el procesamiento y almacenamiento (Mestanza-Buenaño, 2024).

Las pruebas de coliformes totales no tienen como objetivo detectar la contaminación fecal, sino más bien reflejar la higiene general durante la producción o manipulación de alimentos y la calidad de las medidas utilizadas para minimizar la contaminación bacteriana (Centre for Food Safety, 2019)

Los coliformes que pueden fermentar lactosa a una temperatura de 44,5°C y producir indol, especialmente *Escherichia coli* y especies de los géneros *Klebsiella* y *Citrobacter*, se utilizan como indicadores de contaminación en alimentos que han sido manipulados sin asegurar las condiciones higiénico-sanitarias adecuadas. (Swistock, 2023)

2.2.2.7. Características microbiológicas y morfología

En términos generales, el reconocimiento de bacterias se basa en características como la morfología celular (cocos, bacilos espirilos), la tinción de Gram positivos o negativos, con la capacidad de formar esporas, el tipo de metabolismo que tienen son aerobio, anaerobio o facultativo, con pruebas bioquímicas específicas, que son aspectos fundamentales para identificar y diferenciar al grupo bacteriano en el contexto de microbiología alimentaria y deteriorativa (Pozo, 2021).

Dentro de la estructura de la envoltura de las bacterias coliformes se caracteriza por ser laminar y estar compuesta de dos membranas principales. La membrana de forma citoplasmática consiste en una bicapa de fosfolípidos que regula el paso de metabolitos, nutrientes y macromoléculas y presenta una alta concentración de proteínas asociadas a su capa externa de peptidoglucano. Por otro lado, la membrana externa, también formada por una bicapa fosfolipídica, contiene lipoproteínas, lipopolisacáridos, proteínas porinas y otros componentes estructurales que le confiere mayor complejidad y funciones de protección (González de la Cruz, et al., 2021).

2.2.2.8. *Escherichia coli*

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa, anaerobia facultativa y perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Forma parte de la microbiota intestinal normal de humanos y animales de sangre caliente, sin embargo, algunas cepas son patógenas y pueden ocasionar enfermedades gastrointestinales de diversa gravedad. La contaminación de los quesos puede producirse por el uso de leche cruda contaminada, por deficiencias en el proceso de pasteurización o por prácticas inadecuadas de higiene durante la manipulación, elaboración, almacenamiento y distribución del producto. La presencia de cepas patógenas de *E. coli* en productos lácteos representa un riesgo importante para la salud pública, ya que puede provocar brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (Pakbin, Wolfram y A. Rossen, 2021).

Entre las cepas de mayor relevancia se encuentra *Escherichia coli* O157:H7, una bacteria productora de toxina Shiga (STEC), capaz de causar colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico, especialmente en niños, adultos mayores y personas inmunodeprimidas. Además de *E. coli* O157:H7, otros patógenos entéricos de importancia en la inocuidad de los productos lácteos son *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae* y *Yersinia enterocolitica*, microorganismos asociados con cuadros de gastroenteritis, diarrea severa, fiebre y otras complicaciones sistémicas. La detección de estos microorganismos evidencia fallas en las condiciones higiénico-sanitarias del proceso de elaboración y constituye un riesgo de salud para el consumidor.

Para prevenir este tipo de contaminación es indispensable utilizar leche pasteurizada, mantener un estricto control de la calidad de la materia prima y aplicar Buenas

Prácticas de Manufactura (BPM) durante todas las etapas de producción. Asimismo, la capacitación continua del personal, la limpieza y desinfección de equipos e instalaciones, el control de la cadena de frío y la prevención de la contaminación cruzada son medidas fundamentales para reducir la proliferación de microorganismos patógenos y deteriorantes durante la elaboración y almacenamiento del queso amasado, garantizando así la inocuidad y la calidad del producto (Pozo, 2021).

2.2.3. Dinámica de crecimiento microbiano en queso fresco

La dinámica de crecimiento bacteriana está dada como aumenta una población de bacterias a lo largo del tiempo. Lo cual se puede dar en un sistema que garantice las condiciones necesarias para cada microorganismo, esto se puede representar mediante una curva estándar como se muestra en la figura 1. Dividiéndose en cuatro fases como latente, exponencial, estacionaria y muerte.

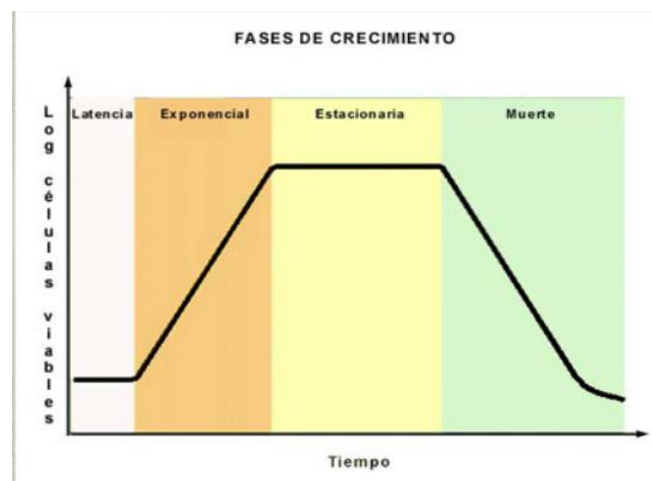


Figura 1. Dinámica de crecimiento microbiano en queso fresco

Fuente: (Díaz, 2023).

- Fase Lag (Adaptación): Los microorganismos se adaptan al medio. Hay poco o ningún aumento en la población. En lácteos, esta fase se alarga con la refrigeración (Pelczar, Chan, y Krieg, 2000).
- Fase Log (Crecimiento Exponencial): La población se duplica rápidamente a una velocidad constante. El producto comienza a sufrir un deterioro rápido. Por ejemplo, las BAL producen ácido láctico de manera acelerada (James, 2002).

- Fase Estacionaria: La tasa de crecimiento se iguala a la tasa de muerte celular (por agotamiento de nutrientes o acumulación de metabolitos tóxicos, como el ácido láctico) (James, 2002).
- Fase de Muerte: La tasa de muerte es mayor que la de crecimiento; la población disminuye (James, 2002).

Los tratamientos térmicos como la pasteurización o UHT, son claves debido a que buscan inactivar los microorganismos, pasando de una fase de adaptación a una fase de muerte sin pasar por las fases de crecimiento exponencial y fase estacionaria, por ende, extendiendo la vida útil del producto (Montville y Matthews, 2008).

Factores clave que influyen en el crecimiento microbiano en queso fresco

El queso fresco un medio de cultivo rico en nutrientes (lactosa, proteínas, grasas, minerales), con una alta actividad de agua ($A_w > 0.99$). Generalmente un pH 4.4 cercano a neutro, condiciones que favorecen de una manera significativa a la proliferación de bacterias, levaduras y mohos, de forma acelera un proceso de deterioro microbiológico (Vargas-Salas y Toro, 2020).

En la tabla 2 se mencionan los factores que influyen en el crecimiento microbiano en queso fresco.

Tabla 2. Factores que influyen en el crecimiento microbiano en queso fresco

Factor intrínseco	Influencia
Actividad de agua (a_w)	Queso fresco ($a_w \approx 0.99$) y la mayoría de los quesos ($a_w \approx 0.96$) permiten la multiplicación microbiana. Los alimentos con baja A_w (ej., leche en polvo, $a_w \approx 0.2$) inhiben la proliferación.
pH	Los microorganismos prosperan a pH neutro. Un pH bajo ($pH < 4.4$), como el que se alcanza en productos fermentados (queso fresco acidificado), dificulta su desarrollo y supervivencia.
Nutrientes	Dentro de la producción de queso, donde este consiste de (proteínas, lípidos, carbohidratos) sustenta el crecimiento de una amplia gama de bacterias. La estructura de los glóbulos de grasa de la leche puede influir en la dinámica microbiana, promoviendo el crecimiento de bacterias beneficiosas como <i>Bacillus subtilis</i> .

Fuente: (Vargas-Salas y Toro, 2020; Consorcio Lechero, 2022; UMEC, 2025).

2.2.4. Vida útil y calidad en el queso

2.2.4.1. Concepto de Vida Útil en Quesos Frescos

La vida útil de un queso se define como el tiempo límite en el que el producto mantiene sus características sensoriales (olor, sabor, textura), fisicoquímicas y de inocuidad bajo condiciones de almacenamiento recomendadas (Hough, 2010).

En el caso del queso amasado, al ser un queso fresco con una elevada actividad de agua (aw) y un pH cercano a la neutralidad, presenta condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos, lo que limita su vida útil. Diversos autores señalan que la vida útil de este tipo de queso oscila entre 8 y 15 días cuando se mantiene bajo refrigeración (2–8 °C), aunque este período puede variar según la calidad de la leche utilizada, las condiciones higiénicas durante la elaboración, el tipo de empaque y las condiciones de almacenamiento (Pozo y Salcedo, 2021). Durante este tiempo pueden desarrollarse microorganismos capaces de degradar proteínas y lípidos, ocasionando cambios en las características sensoriales y reduciendo la inocuidad y aceptabilidad del producto.

Debido a esta susceptibilidad al deterioro microbiológico, es indispensable que los quesos frescos cumplan con los criterios microbiológicos establecidos por la normativa vigente para garantizar su calidad e inocuidad. En este contexto, la Tabla 3 presenta los requisitos microbiológicos establecidos para quesos frescos no madurados destinados a la comercialización.

Tabla 3. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados

Requisito	N	M	M	c	Método de ensayo
Enterobacteriaceas, UFC/g	5	2x10 ²	10 ³	1	NTE INEN 1529-13
<i>Escherichia Coli</i> , UFC/g	5	<10	10	1	AOAC 991. 14
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	5	10	10 ²	1	NTE INEN 1529-14
<i>Listeria Monocytogenes</i> / 25/g	5	Ausencia	-		ISO 11290-1
<i>Salmonella</i> en 25 g	5	Ausencia	-	0	NTE INEN-1529-15

Fuente: (INEN, 2012).

Además de los criterios establecidos en la NTE INEN 1528, la producción y comercialización de quesos frescos en Ecuador se complementa con la NTE INEN 3067:2016, aplicable a quesos elaborados con mezcla de leches, y con la NTE INEN 076, correspondiente al Reglamento Técnico de Leche y Productos Lácteos. De igual manera, el Codex Alimentarius CAC/GL 21-1997 establece los principios y directrices para la aplicación de criterios microbiológicos en los alimentos, con el propósito de prevenir y controlar los riesgos microbiológicos y garantizar la inocuidad del producto final.

2.2.5. Métodos convencionales de cuantificación e identificación microbiana

Los métodos de siembra o inoculación son técnicas esenciales en microbiología permitiendo cultivar microorganismos en medios controlados con el objetivo de analizarlos y estudiarlos, ya que permiten la identificación y cuantificación de

bacterias, hongos y otros microorganismos mediante medios de cultivo los cuales están diseñados para satisfacer las necesidades de los diferentes microorganismos. Para lo cual los tipos de siembra microbiológicas son fundamental con el fin de comprender los distintos enfoques que se puede utilizar en función del propósito del análisis y tipo de microorganismos (Fernandez I. et al., 2023).

- Siembra por estría

Es una técnica de aislamiento que permite obtener colonias individuales de microorganismos a partir de una muestra, en este método, se utiliza un asa de siembra para arrastrar una pequeña cantidad de muestra sobre la superficie de un medio sólido en una placa de Petri. Durante el proceso el asa se pasa varias veces en diferentes direcciones, de modo que los microorganismos se diluyan progresivamente. Esto facilita que en las últimas estrías aparezcan colonias individuales, que pueden aislarse y estudiarse de manera separada (Tao et al., 2025).

- Siembra por agotamiento

La siembra por agotamiento es otra técnica de aislamiento utilizada para reducir la concentración de microorganismos en una muestra, de manera similar a la siembra por estría. En este caso, sin embargo, la muestra se extiende sobre toda la superficie del medio de cultivo en una placa de Petri, y el asa de siembra se esteriliza después de cada pasada. De este modo, se reduce la cantidad de microorganismos en cada pasada, lo que permite obtener colonias bien separadas y aisladas (Secor et al., 2022).

- Siembra en profundidad

Permite cultivar microorganismos en el interior de un medio de cultivo sólido, en lugar de hacerlo sobre su superficie, la muestra se mezcla con un medio de cultivo agar fundido y atemperado, y esta mezcla se vierte posteriormente en una placa de Petri o en un tubo de ensayo. Una vez que el medio solidifica, los microorganismos quedan distribuidos y crecen en el interior del agar, en lugar de hacerlo únicamente en su superficie (Tao et al., 2025)

- Siembra por extensión

Se utiliza para distribuir de manera uniforme los microorganismos sobre la superficie de un medio sólido. Para emplearla, se coloca una pequeña cantidad de muestra en el centro de la placa de Petri, y luego se utiliza una espátula esterilizada para

extender la muestra en toda la superficie del medio. Esta técnica es útil cuando se quiere obtener un crecimiento uniforme en toda la placa (Sanders, 2012).

- Siembra en placa de vertido

Es útil para cuantificar y aislar microorganismos. En esta técnica, una cantidad medida de la muestra se mezcla con medio de cultivo líquido fundido y luego se vierte en una placa de Petri. Una vez que el medio solidifica, los microorganismos crecen tanto en la superficie como en el interior de la placa (Vidova, 2021).

- Siembra en medios selectivos

Implica el uso de medios de cultivo diseñados para favorecer el crecimiento de ciertos microorganismos e inhibir el crecimiento de otros. Esta técnica es especialmente útil para aislar y estudiar microorganismos específicos en muestras complejas, como las obtenidas de suelos, alimentos o ambientes (Tao et al., 2025)

- Siembra en medios diferentes

Esta técnica permite distinguir diferentes tipos de microorganismos en función de sus características bioquímicas. Estos medios contienen indicadores que cambian de color o producen reacciones visibles en respuesta a las actividades metabólicas de los microorganismos, permitiendo diferenciarlos entre sí. Se trata de un tipo de siembra común en laboratorios de microbiología para identificar especies bacterianas en función de sus capacidades metabólicas (Espinoza, 2019).

2.2.5.1. Medios de cultivo para la determinación de la microbiota y bacterias ácido lácticas.

Para evaluar la microbiota presente en el queso amasado se emplean diferentes medios de cultivo, cada uno diseñado para favorecer el crecimiento de determinados grupos bacterianos o para evidenciar actividades metabólicas específicas:

- Agar Plate Count (PCA)

El agar Plate Count es un medio de cultivo no selectivo utilizado para el recuento total de bacterias aerobias viables en alimentos. Su composición, basada en digestión enzimática de caseína y triptona, proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo de una amplia variedad de bacterias no exigentes. Se incuba generalmente a 37 °C durante 48 horas y permite observar el número total de colonias

desarrolladas, expresadas como unidades formadoras de colonias (UFC). Este medio no diferencia grupos bacterianos específicos, sino que sirve para estimar la carga microbiana total de la muestra y evaluar la calidad microbiológica del alimento. (Calderón y González, 2024).

- Agar MRS: Agar MRS (de Man, Rogosa y Sharpe)

Es un medio selectivo diseñado para favorecer el crecimiento de bacterias ácido lácticas, especialmente bacilos del género *Lactobacillus*. Contiene fuentes de carbono, nitrógeno y sales que inhiben parcialmente el crecimiento de otras bacterias. Se incuba en condiciones anaeróbicas y las colonias desarrolladas corresponden principalmente a lactobacilos, los cuales participan en la fermentación y acidificación del queso. La diferenciación se realiza por el crecimiento predominante de colonias pequeñas, circulares y de color blanco crema características de este grupo bacteriano (Veselá et al., 2019).

- Agar M17

El agar M17 es un medio selectivo utilizado para el cultivo de cocos ácido lácticos, principalmente de los géneros *Lactococcus* y *Streptococcus*. Su formulación favorece el crecimiento de estos microorganismos y limita parcialmente el desarrollo de otras bacterias. Después de la incubación se observan colonias pequeñas y redondeadas típicas de cocos lácticos, permitiendo distinguirlos de los bacilos que crecen en agar MRS. Este medio es útil para estudiar microorganismos responsables de la acidificación y maduración de productos lácteos (Abarquero et al., 2025).

2.2.6. Medios de cultivo para bacterias proteolíticas y lipolíticas

El deterioro sensorial del queso está asociado con microorganismos capaces de degradar proteínas y grasas mediante enzimas extracelulares. Para evidenciar estas actividades se emplean medios diferenciales.

- Plate Count Skimmed Milk Agar

Este medio contiene leche descremada como fuente de caseína y se utiliza para detectar bacterias con actividad proteolítica. Las bacterias capaces de producir proteasas hidrolizan la caseína y generan una zona transparente alrededor de la colonia. Las colonias sin halo corresponden a microorganismos sin actividad proteolítica detectable. De esta manera, el medio permite distinguir bacterias

proteolíticas de bacterias no proteolíticas por la presencia o ausencia del halo de clarificación (Liepa et al., 2018).

- Agar Tributyrin

El agar Tributyrin contiene tributirina como sustrato lipídico y se emplea para evidenciar bacterias productoras de lipasas. La hidrólisis de la tributirina provoca una zona clara alrededor de las colonias debido a la degradación del lípido. Las bacterias lipolíticas se distinguen por la formación de halos transparentes, mientras que las bacterias no lipolíticas crecen sin producir cambios en el medio. Este ensayo permite evaluar microorganismos asociados al desarrollo de sabores y olores rancios en quesos almacenados durante periodos prolongados (Zheng et al., 2018).

2.2.6.1. Medios de cultivo para microorganismos indicadores de contaminación

La evaluación de la inocuidad microbiológica del queso requiere medios que permitan detectar microorganismos indicadores de contaminación fecal o ambiental.

- Agar Cromogénico

Este medio diferencial contiene sustratos cromogénicos que reaccionan con enzimas específicas de coliformes y de *E. coli*. Las colonias de coliformes presentan una coloración característica, mientras que *E. coli* desarrolla colonias azul verdoso o verde turquesa. La diferenciación se basa en el color de las colonias producido por la actividad enzimática de cada grupo bacteriano, lo que permite una detección rápida y directa en productos alimenticios (Romero, et al., 2023).

- Agar *Aeromonas* (con ampicilina)

Este medio selectivo contiene ampicilina para inhibir gran parte de la microbiota acompañante y favorecer el crecimiento de especies del género *Aeromonas*. Las colonias sospechosas se observan generalmente de color rosado o amarillo, permitiendo distinguirlas de otros microorganismos que no logran crecer o presentan una coloración diferente. Su uso es importante en alimentos elaborados con agua de calidad microbiológica deficiente (Atlas, 2010).

2.2.6.2. Medio de cultivo para bacilos Gram negativos

- Agar MacConkey

El agar MacConkey es un medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de bacilos Gram negativos entéricos. La presencia de sales biliares y cristal violeta inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas, permitiendo el desarrollo de enterobacterias y otros bacilos Gram negativos. Además, contiene lactosa y rojo neutro como indicador de pH, lo que permite distinguir bacterias fermentadoras de lactosa de bacterias no fermentadoras. Las bacterias fermentadoras producen colonias rosadas o rojas debido a la acidificación del medio, mientras que las no fermentadoras forman colonias incoloras o transparentes. Esta característica facilita la diferenciación preliminar de grupos bacterianos de importancia sanitaria en productos lácteos (Mladenović et al., 2018).

2.2.6.3. Diferenciación por Fermentación de Lactosa

La importancia del Agar MacConkey en tu investigación radica en su capacidad diferencial mediante el indicador de pH rojo neutro:

- Bacterias Lactosa Positivas (L+)

Organismos como *Escherichia coli* o *Klebsiella* spp. fermentan la lactosa produciendo ácidos que viran el color de la colonia a un rosa intenso o rojo. Esto correlaciona directamente con los hallazgos esperados en el Agar Cromogénico mencionado anteriormente.

- Bacterias Lactosa Negativas (L-)

Organismos como *Pseudomonas* spp. o *Salmonella* spp. no fermentan este azúcar, dando lugar a colonias incoloras o transparentes.

2.2.7. Pruebas bioquímicas

2.2.7.1. Tinción de Gram

Con bases a esta técnica no evalúa el metabolismo del microorganismo, sino su arquitectura externa. El fundamento de la tinción radica en la capacidad diferencial de la pared bacteriana para retener el colorante primario (cristal violeta) tras la aplicación de un solvente orgánico (alcohol-acetona). Las bacterias que poseen una capa gruesa y compacta de peptidoglicano retienen el colorante y se visualizan de color morado o azul-violeta (Gram-positivas); por el contrario, aquellas con una capa

de peptidoglicano delgada y una membrana externa rica en lipopolisacáridos pierden el colorante primario y adoptan el tono rosado o rojo del reactivo de contraste (Tripathi et al., 2025; Vijayakumar et al., 2023).

Tabla 4. Correcta tinción de Gram		
Reactivo Empleado	Mecanismo de Acción	Tiempo Estándar
Cristal Violeta (0.5% - 1%)	Disociación en iones CV⁺ , los cuales penetran la pared y se unen electrostáticamente a las cargas negativas de los ácidos teicoicos y fosfolípidos celulares.	60 segundos
Solución de Lugol (Yodo/Yoduro potásico)	Actúa como mordiente. El ion I₃⁻ interactúa con el CV⁺ intracelular, originando agregados moleculares de gran tamaño (complejo CV-I) insolubles en sistemas acuosos.	60 segundos
Alcohol-Acetona (1:1 v/v)	Agente extractor selectivo. Determina críticamente la retención o pérdida del complejo cromógeno en función de la porosidad y contenido lipídico de la pared.	5 a 10 segundos
Safranina (o Fucsina Básica)	Colorante catiónico de contraste. Tiñe las estructuras celulares que quedaron previamente expuestas y desprovistas de color tras la fase de diferenciación.	60 segundos
Fuente: (Casasola Bado , 2022).		

2.2.7.2. Identificación bioquímica mediante galerías API

La identificación de los microorganismos presentes en los alimentos constituye una etapa fundamental dentro de los estudios microbiológicos orientados a evaluar la calidad de los productos lácteos. En el caso del queso amasado, la presencia de bacterias alterantes puede acelerar los procesos de deterioro, disminuyendo su vida útil y afectando sus características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales.

Los sistemas API, desarrollados por bioMérieux, están conformados por galerías de microcúpulas que contienen sustratos bioquímicos deshidratados. Una vez inoculados con una suspensión bacteriana estandarizada, los microorganismos utilizan dichos sustratos de acuerdo con sus capacidades metabólicas, originando cambios de color o reacciones específicas que son interpretadas mediante un perfil numérico. Este perfil es comparado con la base de datos del sistema APIweb™, permitiendo la identificación del género y, en la mayoría de los casos, de la especie bacteriana.

La utilización de estas galerías resulta especialmente útil en investigaciones sobre la vida útil del queso amasado, ya que facilita la diferenciación de los microorganismos alterantes o potencialmente patógenos que ocasionan pérdidas en la calidad del producto. En función del tipo de microorganismo previamente aislado en los diferentes medios de cultivo, se selecciona la galería API más adecuada para su

identificación bioquímica, permitiendo obtener resultados específicos de acuerdo con las características fisiológicas y metabólicas de cada grupo bacteriano (bioMérieux, 2024).

2.2.7.3. Pruebas de catalasa y oxidasa

Dentro de las pruebas bioquímicas se encuentra la de oxidasa y catalasa, las cuales son pruebas rápidas con el fin de identificar bacterias mediante reacciones químicas. La prueba de catalasa detecta la enzima, la cual descompone el peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno produciendo efervescencia lo que indica positivo, esta prueba es útil para diferenciar géneros como *Staphylococcus* de *Streptococcus* de catalasa negativa entre los cocos grampositivos (Bou et al., 2011).

La prueba de oxidasa actúa en presencia de la enzima citocromo c oxidasa, parte de la cadena respiratoria aerobia de transporte de electrones, aplicando reactivo tetrametil-p-etilendiamina produciendo cambio de color a azul o púrpura indicando presencia de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* de oxidasa negativa y bacilos gramnegativos como *Pseudomonas* oxidasa positiva (Valdez, 2021).

2.2.7.4. Identificación de Bacterias Gram Negativas (API 20E y API 20NE)

Dada la importancia de las bacterias deteriorativas en la vida útil, se utilizan galerías específicas según el perfil metabólico observado previamente en medios como el Agar MacConkey y los agares ya mencionados.

- API 20E

Se utiliza para la identificación de la familia *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram negativos. Este sistema evalúa 20 pruebas bioquímicas estandarizadas. Como mencionan Calderón y Pascual (2000), la estandarización de estas pruebas es crucial en productos lácteos para diferenciar coliformes de otros patógenos entéricos, garantizando una interpretación objetiva de la calidad higiénico-sanitaria.

- API 20NE

Es el método de elección para la identificación de bacilos Gram negativos no pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, incluyendo géneros de gran importancia en el deterioro psicrótrofo como *Pseudomonas* spp. y *Aeromonas* spp. (identificadas presuntivamente en el Agar *Aeromonas*). La importancia de este sistema radica en su capacidad para identificar especies que degradan proteínas y lípidos bajo condiciones de refrigeración (Vásconez, 2022).

2.2.8. Caracterización de Bacterias Ácido-Lácticas (API 50 CHL)

El queso amasado de la provincia del Carchi posee un microbiota nativo donde predominan las Bacterias Ácido-Lácticas (BAL).

- API 50 CHL

Este sistema se emplea para el estudio del perfil de fermentación de 49 carbohidratos. Es considerado el estándar para la identificación de especies de *Lactobacillus* y microorganismos relacionados. El uso de la galería 50 CHL permite determinar la dinámica poblacional de las BAL, diferenciando aquellas que contribuyen a la textura y sabor del queso de aquellas que podrían causar una acidificación excesiva durante la vida útil.

2.2.8.1. Procedimiento de Galerías API

En la Tabla 5, 6 y 7 se describe el procedimiento de la aplicación de galerías API 20E para determinación de bacterias.

Tabla 5. Procedimiento API 20E

Etapas	Procedimiento
Selección de colonia	Seleccionar una colonia pura de 18-24 horas de cultivo.
Preparación del inóculo	Suspender la colonia en 5 mL de solución salina estéril (NaCl 0,85%).
Preparación de la galería	Colocar la galería en la cámara de incubación con aproximadamente 5 mL de agua para generar humedad.
Inoculación	Llenar los microtubos según las indicaciones del fabricante.
Aceite mineral	Agregar aceite de parafina en ADH, LDC, ODC, H ₂ S y URE.
Incubación	Incubar a 36 ± 2 °C durante 18-24 horas.
Revelado	Añadir reactivos TDA, JAMES e IND según corresponda.
Interpretación	Obtener el perfil numérico de 7 dígitos e identificar mediante APIWEB.

Fuente: (bioMérieux, 2010).

Tabla 6. Procedimiento API 20NE

Etapas	Procedimiento
Selección de colonias	Utilizar colonias puras de 18-24 horas.
Preparación del inóculo	Preparar suspensión equivalente a 0,5 McFarland.
Preparación de galería	Colocar la tira API en la cámara húmeda.
Inoculación	Llenar los tubos NO3-PNPG con suspensión salina.
Medio AUX	Transferir aproximadamente 200 µL al API AUX Medium.
Llenado de asimilación	Inocular GLU hasta PAC.
Aceite mineral	Agregar en GLU, ADH y URE.
Incubación	29 ± 2 °C durante 24 horas.
Lectura	Registrar pruebas espontáneas y revelar NO3 y TRP.
Interpretación	Calcular perfil numérico e identificar mediante APIWEB.

Fuente: (bioMérieux, 2009).

Tabla 7. Procedimiento API 50CH con médium de API 50CHL

Etapas	Procedimiento
Verificación de cultivo	Confirmar Gram positivo, catalasa negativa y crecimiento en MRS.
Cultivo previo	Incubar en agar MRS durante 24 horas a 30-37 °C.
Preparación del inóculo	Ajustar a McFarland 2 en API 50 CHL Medium.
Preparación de galería	Preparar la tira API 50 CH según instrucciones del fabricante.
Inoculación	Distribuir la suspensión en todos los tubos.
Aceite de parafina	Cubrir los tubos inoculados.
Incubación	29 ± 2 °C o 36 ± 2 °C durante 48 horas.
Lectura	Observar viraje de púrpura a amarillo por fermentación.
Interpretación	Obtener perfil bioquímico e identificar mediante APIWEB.

Fuente: (bioMérieux, 2011; bioMérieux, 2020).

2.2.9. Cambios microbiológicos, fisicoquímicos y organolépticos en el deterioro del Queso Amasado

El queso amasado es un producto lácteo fresco, no madurado y de elaboración artesanal característico de la región andina. Presenta una elevada actividad de agua ($a_w \geq 0,98$), una humedad entre el 45 y 55%, y un pH cercano a la neutralidad (5,8 a 6,4) (Martínez, 2018). Estas características físico-químicas lo convierten en un matriz sumamente susceptible a la proliferación de microorganismos alterantes y patógenos cuando disminuyen las buenas prácticas de manufactura o la cadena de frío (Martínez, 2018).

A continuación, se detallan los principales cambios que ocurren durante su deterioro:

- Acidificación excesiva o desacidificación

La fermentación incontrolada de la lactosa por bacterias ácido-lácticas (BAL) heterofermentativas produce un exceso de ácido láctico y acético, generando un pH bajo indeseado y un sabor excesivamente agrio (Demera et al., 2025). Por el contrario, la actividad proteolítica de contaminantes como *Pseudomonas* spp. libera compuestos alcalinos (amonio) que elevan el pH, alterando la estabilidad proteica (López y Ramos, 2022).

- Proteólisis y pérdida de consistencia

Las proteasas endógenas o bacterianas degradan la red de caseína, lo que provoca la exudación masiva del suero (sinéresis) y una degradación de la textura elástica característica del queso amasado, transformándolo en una masa viscosa, blanda y granulosa (Demera et al., 2025).

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

Descripción del área de estudio

Dentro del área de estudio corresponde a la provincia del Carchi, específicamente a los cantones de Montufar, Huaca, Tulcán y Espejo, donde se elaboran quesos amasados analizados en la presente investigación como se visualiza en la figura 2. Geográficamente la provincia del Carchi limita al norte con la República de Colombia; al Sur y Oeste con la Provincia de Imbabura; al Este con la Provincia de Sucumbíos y al Oeste con la Provincia de Esmeraldas. La provincia del Carchi tiene 172.828 habitantes, distribuidos en Tulcán 92.375, Montúfar 29.590, Bolívar 15.677, Espejo 14.522, Mira 12.727 y Huaca 7.937 (INEC, 2023).



Figura 2. Mapa político del Carchi
Fuente. Tulcán Online 2023

3.1.1. Enfoque

La presente investigación se desarrolló con un enfoque cuali-cuantitativo, mediante la cuantificación de microorganismo deteriorativas y la identificación taxonómica de las bacterias presentes en los quesos amasados analizados. Los datos serán analizados estadísticamente para responder a los objetivos planteados, se tratarán de establecer patrones de distribución de los microorganismos, lo que permitirá tener una perspectiva acerca de los microorganismos responsables del deterioro en los quesos frescos amasados elaborados en la provincia del Carchi y la Identificación a nivel de especie género de bacterias, y efecto en quesos frescos.

3.1.2. Tipo de Investigación

El estudio se clasifica de una forma experimental, descriptiva y observacional, dado que no llega aplicar en los tratamientos experimentales donde las muestras no van a hacer analizadas. El propósito principal es determinar los valores que tienen como indicadores para la vida útil de cada queso amasado mediante la caracterización, cuantificación y seguimiento de la dinámica de crecimiento de las bacterias deteriorativas a lo largo de un periodo definido. Se emplea métodos microbiológicos convencionales que permiten evaluar con precisión los cambios en la calidad del producto en el tiempo de almacenamiento.

3.2. HIPÓTESIS

3.2.1 Hipótesis nula:

Durante el período de vida útil del queso amasado elaborado en Tulcán, la identificación de los microorganismos predominantes y la carga de bacterias deteriorativas no presentan un incremento progresivo, por lo que no influyen de manera significativa en la pérdida de la calidad microbiológica del producto.

3.2.2 Hipótesis alternativa:

Durante el período de vida útil del queso amasado elaborado en Tulcán, la identificación de los microorganismos predominantes y la carga de bacterias deteriorativas presentan un incremento progresivo, influyendo de manera significativa en la pérdida de la calidad microbiológica del producto.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

3.3.1. Definición de variables

Variables independientes

- *Definición conceptual:* Período durante el cual el queso amasado se mantiene apto para el consumo desde su elaboración hasta la aparición de signos de deterioro microbiológico.
- *Definición operacional:* Días transcurridos desde la fecha de producción hasta el día de muestreo para análisis microbiológico (por ejemplo: día 0, 5, 10, 15, 20).

Variables dependientes

- *Definición conceptual:* Carga microbiana y tipos de bacterias que provocan deterioro en el queso (alteraciones sensoriales, bioquímicas o estructurales).
- *Definición operacional:* Número de unidades formadoras de colonias (UFC/g) de especies bacterianas como *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp., entre otras, determinadas mediante métodos de siembra, pruebas bioquímicas.

3.3.2. Operacionalización de las variables de la investigación

Tabla 8. Matriz de operacionalización de las variables

Variable	Concepto	Dimensiones	Indicadores	Técnica	Instrumento
Independiente	Vida útil	Tiempo	Días (0;5;10;15;20)		(López Muñoz et al., 2024)
Dependiente	Calidad microbiológica	Cuantificación de microorganismos deteriorativos: - Bacterias aeróbicas mesófilas - Bacterias proteolíticas - Bacterias lipolíticas - Coliformes totales - Bacilos ácidos lácticos mesófilos	Unidades formadoras de colonias/gramo (UFC/g)	Siembra en superficie -Agar Plate Count (PCA) a 37°C por 48 horas. -Agar Plate Count con leche descremada (Plate Count Skimmed Milk Agar) a 30°C por 120 horas. -Agar Tributyrin (Tributyrin agar) a 30°C por 72 horas. -Agar coliformes cromogénico (Chromogenic Coliform Agar) con suplemento selectivo (C.F.C) a 25°C por 48 horas. -Agar DeMan, Rogosa y Sharpe a 35°C por 48 horas y 42°C por 48 horas en condiciones anaeróbicas.	(Sanders, 2012) NTE INEN-ISO 4833 (INEN, 2003) APHA (American Public Health Association) <i>Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods</i> , capítulo "Tests for Groups of Microorganisms" de Frank, J.F. y Yousef, A.E. Mourey, A. y Kilbertus, G. (1976) NTE INEN 1529-7 NTE INEN 2395:2011 y NTE INEN 2564:2011

Empresas	Bacilos ácidos lácticos termófilos	-Agar DeMan, Rogosa y Sharpe a 35°C por 48 horas y 42°C por 48 horas en condiciones anaeróbicas.	NTE INEN 9:2012
	<i>Streptococcus</i> ácidos lácticos termófilos	Agar M17 35°C por 48 horas.	INEN 712-1 INEN 1529-1
	<i>Aeromonas spp</i> y <i>Pseudomonas spp</i>	Agar Aeromonas medio base suplementado con 2.5mL de suplemento selectivo de ampicilina.	Ficha técnica
	P041, J042, S043, Q044, M045, M046, D047, L048, C049.	Se tomaron asépticamente 10 gramos de cada muestra de queso y se realizaron diluciones seriadas en solución de agua peptonada estéril (0.1 %).	Quintieri et al., (2021)

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

1. El muestreo se llevó a cabo en los cantones de Montúfar, San Pedro de Huaca, Tulcán y Espejo, pertenecientes a la provincia del Carchi. Se recolectaron un total de 45 muestras de queso amasado de 250 g cada una, correspondientes a 6 unidades por planta procesadora. Al momento de la adquisición, se registró la fecha de elaboración y el número de lote para asegurar la trazabilidad y uniformidad de los productos.
2. Posterior a la recolección, las muestras fueron colocadas en recipientes isotérmicos provistos de acumuladores de frío (pilas térmicas) para su traslado inmediato a los laboratorios de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC). Durante todo el trayecto se mantuvo la cadena de frío a una temperatura controlada de 4 °C.
3. Se realizó la cuantificación presuntiva de bacterias aeróbicas mesófilas, bacterias proteolíticas, bacterias lipolíticas, coliformes totales, *Pseudomonas spp*, *Enterococcus spp*, Bacilos ácidos lácticos mesófilos, Bacilos ácidos lácticos termófilos y *Streptococcus ácidos lácticos termófilos*, *Pseudomonas spp* y *Aeromonas spp* de acuerdo con lo indicado por Quintieri et al (2021).
4. Para el análisis microbiológico, se pesaron asépticamente 10 g de queso y se colocaron en una funda estéril con 90 mL de agua peptonada al 0,1 % (w/v). La mezcla se homogenizó en un equipo Stomacher durante 2 minutos para asegurar la liberación y distribución uniforme de la carga microbiana (Sapkota, 2023). A partir de esta suspensión inicial (10^{-1}), se prepararon diluciones decimales seriadas en agua peptonada. El procedimiento para la realización de las diluciones seriadas en agua peptonada se representa en la Figura 3.

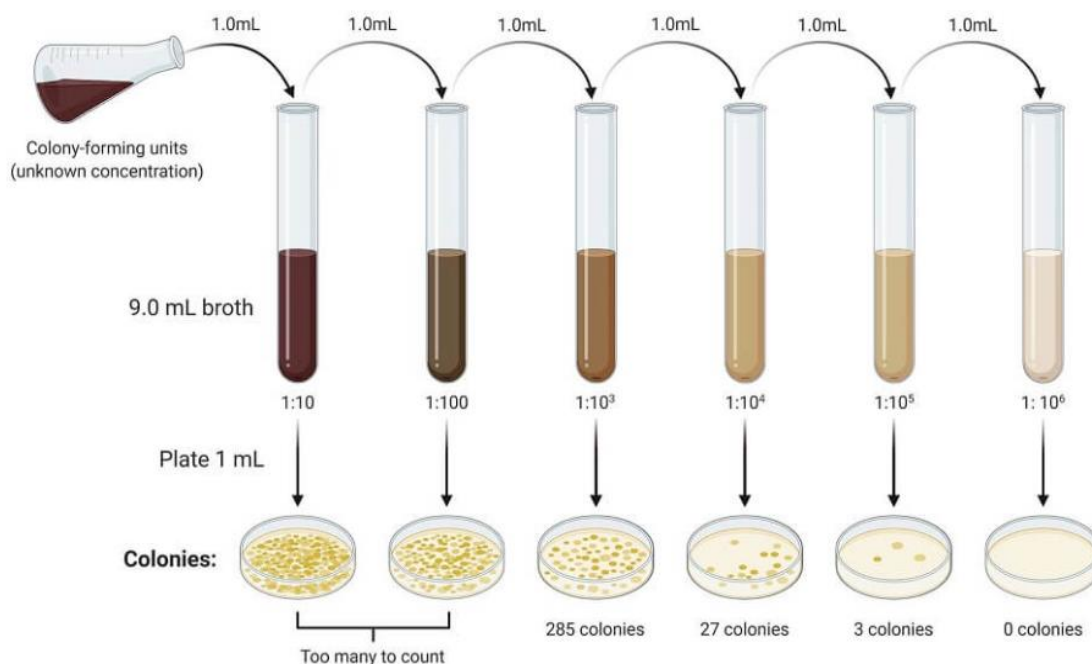


Figura 3. Diluciones seriadas
Fuente. (Sapkota, 2023).

5. La inoculación se efectuó mediante la técnica de siembra en superficie (difusión en placa con asa de Drigalski) empleando los agares selectivos mencionados en los literales 5.1 al 5.7. Se inoculó por triplicado para minimizar el error experimental y garantizar la validez estadística de los conteos. Esta técnica en superficie se seleccionó con el fin de facilitar la disponibilidad de oxígeno para los organismos aerobios y facultativos, así como permitir una delimitación y conteo directo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g). La incubación se llevó a cabo bajo los siguientes parámetros de tiempo y temperatura:

- Aerobios mesófilos en Agar *Plate Count* (PCA) en incubación a 37 °C durante 48 horas para permitir la proliferación de la microflora aerobia viable.
- Bacterias proteolíticas en Agar *Plate Count* enriquecido con leche descremada al 1 % *Skim Milk Agar* en incubación a 30 °C durante 120 horas para favorecer la evidencia de halo clarificado por actividad proteolítica.
- Bacterias lipolíticas en Agar Tributirina en incubación a 30 °C durante 72 horas para determinar la degradación enzimática de los lípidos.
- Coliformes totales/*E. coli* en Agar Coliformes Cromogénico en incubación a 35 °C durante 48 horas para la diferenciación Cromogénico de colonias.

- Bacilos ácidos lácticos mesófilos y bacilos ácidos lácticos termófilos en Agar DeMan, Rogosa y Sharpe, incubación en anaerobiosis a 35 °C para mesófilos y a 42 °C para termófilos, durante 48 horas en ambos casos, asegurando la baja tensión de oxígeno requerida por las bacterias ácido-lácticas.
 - *Streptococcus* ácido lácticos en Agar M17 en incubación a 35 °C durante 48 horas para favorecer el desarrollo de estreptococos lácticos.
 - *Aeromonas* spp y *Pseudomonas* spp en Agar suplementado con 2.5 mL/L de ampicilina selectiva; incubación a 30 °C durante 48 horas para inhibir la flora acompañante no deseada.
6. Para el caso de la identificación de bacterias Gram positivas, se realizó una tinción de Gram, la prueba de oxidasa colocando a las colonias presuntivas en discos de papel de filtro de 6mm al cual se añadió unas gotas de solución de tetramethyl-p-phenylenediamine al 1% y se realizó la prueba de catalasa colocando colonias presuntivas en discos de papel filtro de 6mm, al cual se añadió una gota de peróxido de hidrogeno al 18%, la enzima catalasa la reacción efervescente diferenciando así de forma rápida a los microorganismos como *Staphylococcus* spp. (catalasa positivos) de los anaerobios o microaerófilos como *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* (catalasa negativa). Posteriormente se seleccionaron las colonias Gram negativas, oxidasas negativas y catalasa negativa para su identificación tentativa mediante el kit API 50CHL, siguiendo las instrucciones del fabricante. Cada galería se incubo a 37° C durante 24 a 48 horas, la lectura e interpretación de los resultados se llevó a cabo mediante los códigos numéricos del manual API.
 7. La identificación de bacilos gramnegativos no exigentes y no entéricos como Proteolíticas, Lipolíticas, *Aeromonas* y *Pseudomonas* se realizó con el uso de las galerías API 20 NE. Para la inoculación costa de 20 microtubos que contiene sustractor deshidratados, los microtubos fueron inoculados con una suspensión bacteriana que reconstituye el medio y se llevó 29°C por 24 horas a incubar y la lectura se realiza manualmente previa a la identificación que se obtuvo mediante la apiweb™.
 8. Para la determinación de la densidad relativa y frecuencia de aparición de bacterias mediante pruebas bioquímicas. Se utilizaron las ecuaciones descritas

por Lahouar y otros (2015). La frecuencia representa la proporción de muestras en las que se detectó un taxón específico respecto al total de muestras evaluadas:

$$F(\%) = \left(\frac{\text{Número de muestras con presencia de un género o especie}}{\text{Número total de muestras}} \right) \times 100$$

Mientras que la densidad relativa cuantifica la proporción de aislamientos pertenecientes a un género o especie específica en relación con la totalidad de aislamientos recuperados:

$$DR(\%) = \left(\frac{\text{Número de aislamientos de un género o especie}}{\text{Número total de aislamientos}} \right) \times 100$$

3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En la provincia del Carchi existen 9 empresa dedicadas a la fabricación de quesos amasados de acuerdo con la información levantada en el año 2021, los cuales se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Empresas dedicadas a la fabricación de quesos amasados en la provincia del Carchi

Empresa	Tipo de producto	Marca del Producto	Ubicación
Prodalsan	Queso Amasado	Queso amasado Donnel	Montufar
Lácteos Jhonny	Queso Amasado	Queso Lácteos Jhonny	Huaca
Lácteos San Miguel	Queso Amasado	Queso San Miguel	Tulcán
La Delicia	Queso Amasado	Queso San Gabriel	Montufar
Liderlac	Queso Amasado	Queso Liderlac	Montufar
Montulac	Queso Amasado	Queso montulac	Montufar
Marcello	Queso Amasado	Queso Marcello	Montufar
Centenario	Queso Amasado	Queso Centenario	Montufar
Q' Señor	Queso Amasado	Queso Q' Señor	Espejo

El muestreo se realizó teniendo en cuenta que las variables dependientes a medir eran cuantitativas y se consideró el total de plantas procesadoras.

Se tomo en cuenta que la vida útil de los quesos es de 10 a 15 días y, por ende, los cambios microbiológicos se evaluarán cada 5 días, desde el inicio de la adquisición de las muestras, en consecuencia, se analizan los días 0, 5, 10, 15 y 20 días. En el transcurso de la investigación las muestras fueron almacenadas en condiciones de refrigeración a 4°C.

Fueron adquiridas 6 muestras de 250g por cada empresa en total de plantas procesadoras de queso amasado para el estudio, las muestras fueron adquiridas en las plantas de procesamiento el mismo día de producción y fueron trasladadas a las instalaciones de los Laboratorios de Microbiología de la Universidad Politécnica Estatal del Carchi para su análisis.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1 Pruebas bioquímicas

En la tabla 10 se muestran las bacterias identificadas de la familia *Enterobacteriaceae*. Entre las especies identificadas se tuvieron a *Hafnia alvei* y *Pantoea* spp., ambas con una frecuencia de 33.33% y una densidad relativa de 27.27%.

Tabla 10. Bacterias identificadas en galerías API 20E

Bacteria Identificada	Frecuencia (%)	Densidad Relativa (%)
<i>Hafnia alvei</i>	33.33%	27.27%
<i>Pantoea</i> spp.	33.33%	27.27%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	22.22%	18.18%
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	11.11%	9.09%
<i>Cronobacter</i> spp.	11.11%	9.09%
<i>Yersinia pestis</i>	11.11%	9.09%

Por otro lado, *Enterobacter aerogenes* registró los valores máximos de presencia, alcanzando una frecuencia del 22,22% y una densidad relativa del 18,18%. En contraste, los valores mínimos de presencia correspondieron a *Raoultella ornithinolytica*, *Cronobacter* spp. y *Yersinia pestis*, identificadas con una frecuencia del 11,11% y una densidad relativa del 9,09%.

En la tabla 11 se detalla los resultados de la frecuencia y densidad relativa de las bacterias Gram negativas identificadas, pertenecientes a las familias *Pseudomonadaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Aeromonadaceae* y *Moraxellaceae*.

Los valores máximos de prevalencia correspondieron a *Pseudomonas luteola* (77,78% de frecuencia; 28,26% de densidad relativa) y *Sphingomonas paucimobilis* (55,56%; 17,39%). En rangos intermedios se detectaron *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Vibrio metschnikovii* y *Pseudomonas fluorescens* (33,33% de frecuencia), además de

Brevundimonas vesicularis, *Pasteurella* spp., *Burkholderia cepacia* y *Sphingobacterium spiritivorum* (22,22%). Los valores mínimos (11,11% de frecuencia; 2,17% de densidad), *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter junii/johnsonii*, *Mannheimia haemolytica*, *Aeromonas salmonicida*, *Rhizobium radiobacter* y *Ochrobactrum anthropi*.

Tabla 11. Bacterias identificadas con galerías API 20NE

Bacteria Identificada	Frecuencia (%)	Densidad Relativa (%)
<i>Pseudomonas luteola</i>	77.78%	28.26%
<i>Shingomonas paucimobilis</i>	55.56%	17.39%
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	33.33%	8.70%
<i>Vibrio metschnikovii</i>	33.33%	6.52%
<i>Pseudomonas fluorescences</i>	33.33%	6.52%
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	22.22%	6.52%
<i>Pasteurella</i> spp.	22.22%	4.35%
<i>Burkholderia cepacia</i>	22.22%	4.35%
<i>Shingobacterium spiritivorum</i>	22.22%	4.35%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	11.11%	2.17%
<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>	11.11%	2.17%
<i>Mannheimia haemolytica</i>	11.11%	2.17%
<i>Aeromona salmonicida</i>	11.11%	2.17%
<i>Rhizobium radiobacter</i>	11.11%	2.17%
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	11.11%	2.17%

Nota: Los datos presentados en la tabla 11 muestran los resultados de las bacterias ácido lácticas identificadas.

Tabla 12. Bacterias identificadas en galerías API 50CH con Medium 50CHL

Bacteria Identificada	Frecuencia (%)	Densidad Relativa (%)
<i>Lactococcus lactis</i> spp.	88.89%	40.00%
<i>Lactobacillus paracasei</i>	44.44%	30.00%
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	44.44%	20.00%
<i>Lactobacillus plantarum</i>	11.11%	5.00%
<i>Lactococcus delbrueckii</i> spp.	11.11%	5.00%

Lactococcus lactis registró los valores máximos de presencia y densidad relativa respectivamente (88,89%; 40,00%). En rangos intermedios se tuvieron a *Lactobacillus paracasei* (44,44%; 30,00%), y *Leuconostoc mesenteroides* (44,44%; 20,00%), correspondieron para *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus delbrueckii* (11,11% de frecuencia y 5,00% de densidad).

4.1.2 Dinámica de crecimiento

Aerobios mesófilos

En la figura 4 se puede observar la evolución del recuento de aerobios mesófilos en UFC/g a lo largo del tiempo de 0, 5, 10, 15 y 20 para 9 empresas diferentes, la tendencia de las muestras es creciente en el tiempo, lo que indica proliferación

microbiana progresiva en todos los casos. Siendo D047 la de mayor proliferación con 6.08 UFC/g y un incremento abrupto entre los días 5 y 10. Le siguen C049, L048 y J042 superando las 5 UFC/g, en contraste con M045 mostro el menor crecimiento correspondiente a 2.16 UFC/g siendo más estable microbiológicamente durante todo el periodo evaluado.

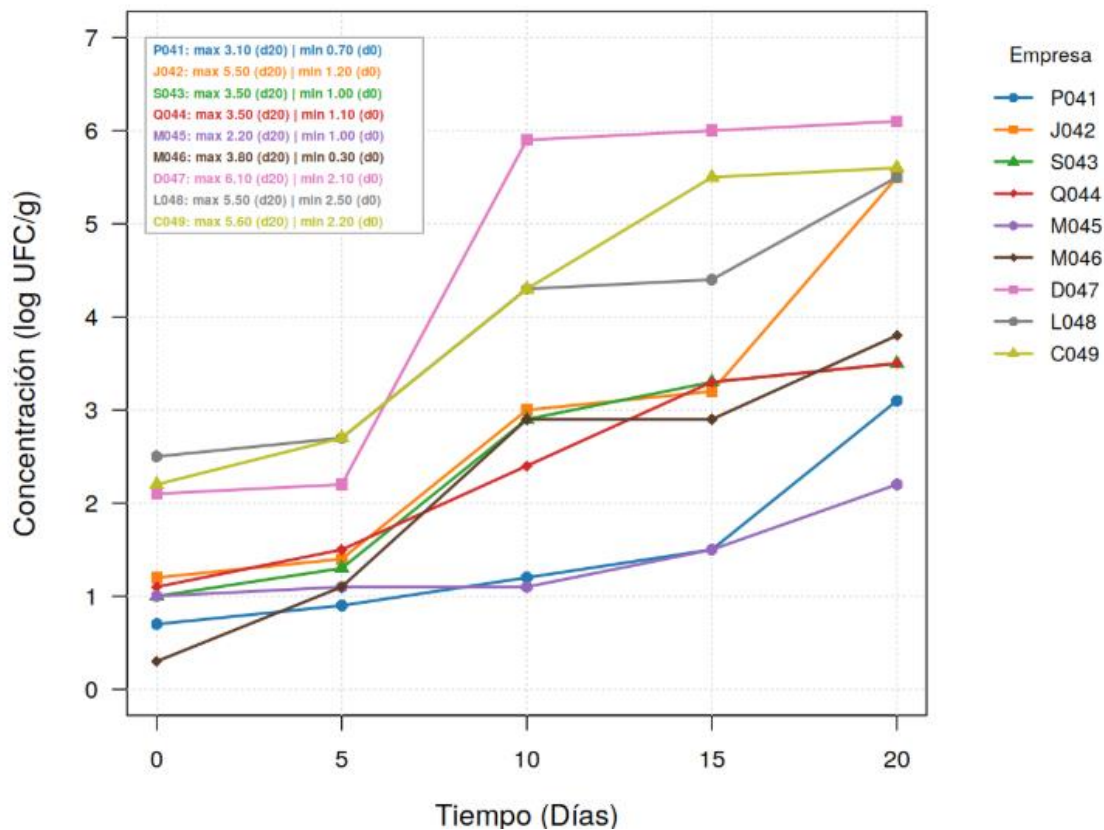


Figura 4. Curva de crecimiento aerobios mesófilos en queso amasado.

Proteolíticas

En la figura 5 se muestra el recuento de las bacterias proteolíticas expresadas en UFC/g de las 9 empresas durante un periodo de 20 días evaluados. El crecimiento para la empresa D047 muestra el valor más bajo con 2.76 UFC/g, mientras que M046 registra el más bajo con 1.11 UFC/g. A lo largo del tiempo, todos los mercados muestran una tendencia ascendente progresiva hasta el día 20. En día 20 la empresa C049 alcanza el valor máximo de 5.3 UFC/g, seguido de la empresa Q044 con 4.99 y M046 con 4.65 UFC/g en comparación a L048 que muestra un aumento más discreto finalizando en 2.72 UFC/g.

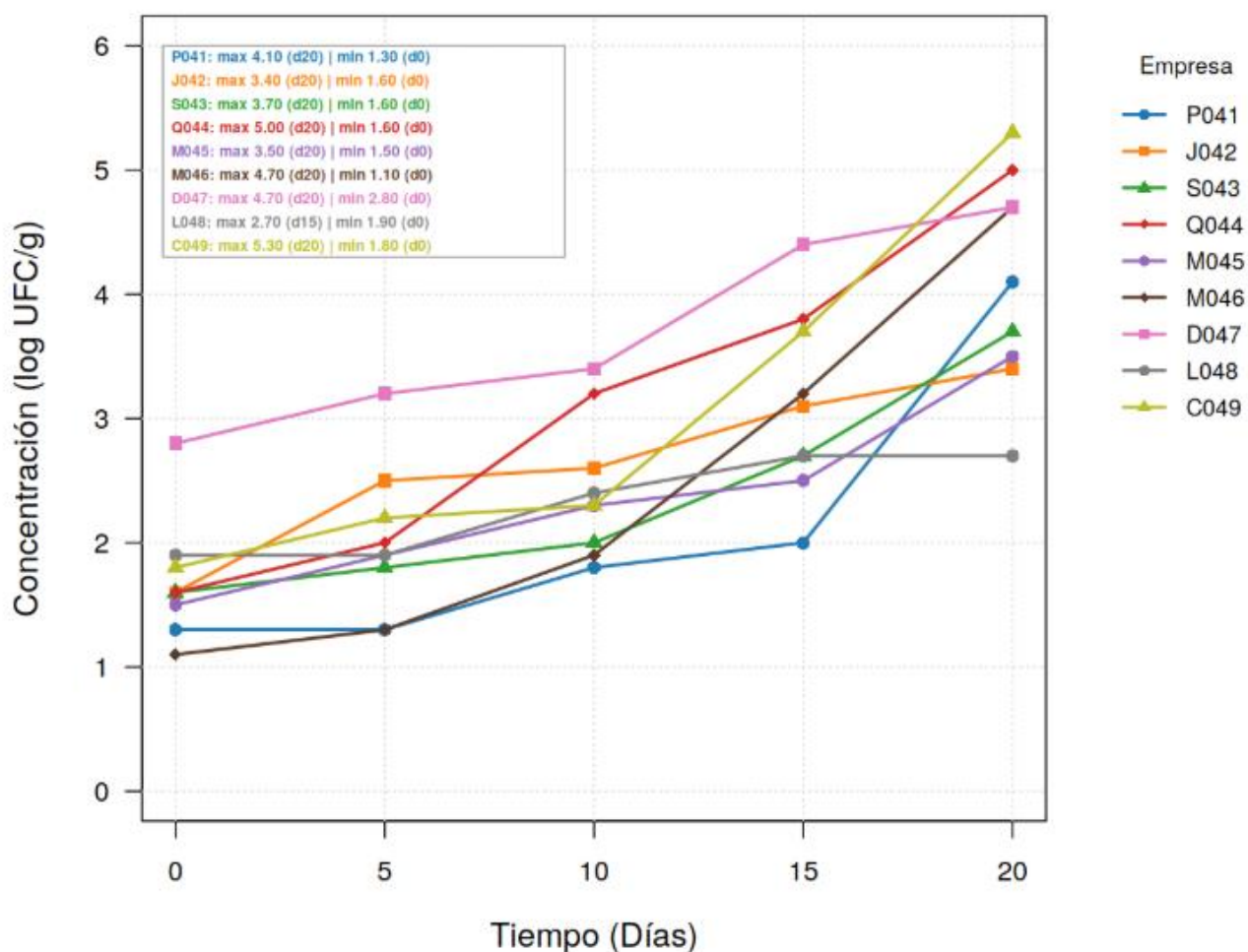


Figura 5. Curva de crecimiento Bacterias proteolíticas en queso amasado.

Bacilos ácidos lácticos termófilos

En la figura 6 se muestra el crecimiento de bacilos ácido lácticos termófilos desde el día 0 la planta M046 sobresale con el valor más elevado de 5.83 UFC/g, manteniéndose relativamente estable hasta el día 20 con 7.38 UFC/g, lo que sugiera una carga bacteriana inicial alta, mientras que P041 y S043 comienzan con los valores más bajos, de 0.07 y 0.10 UFC/g respectivamente. Entre los días 10 y 20 el crecimiento de las BAL en las empresas D047 y L048 fue más pronunciado, alcanzado 8.71 y 8.00 UFC/g respectivamente, siendo D047 la que registra el valor final más alto. La empresa J042 también muestra un crecimiento considerable, llegando a 7.61 UFC/g, mientras que Q044 y M045 mantienen comportamientos moderados en 2.99 y 1.92 UFC/g y S043 permanecen con el recuento más bajo de 0.52 UFC/g al día 20.

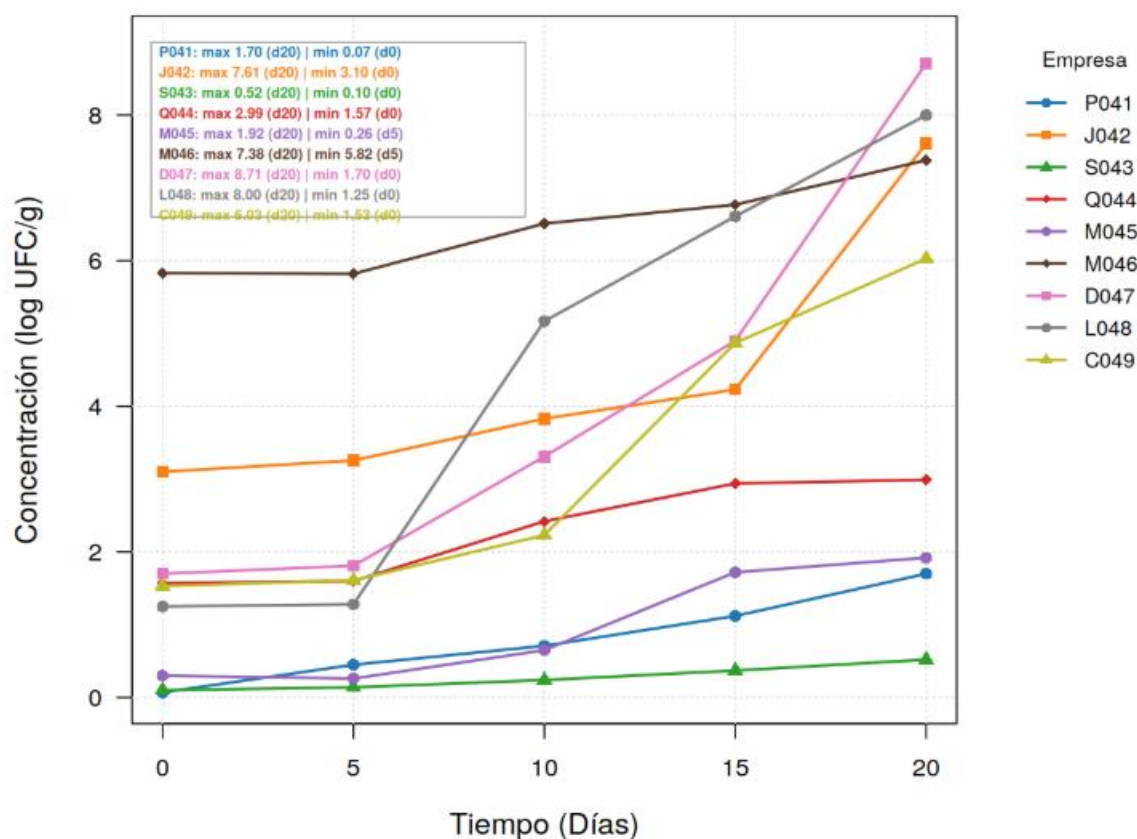


Figura 6. Curva de crecimiento de Bacilos ácidos lácticos termófilos en queso amasado.

Lipolíticas

En la figura 7 se muestra el crecimiento de las bacterias lipolíticas en queso amasado a lo largo del periodo de 0 a 20 días. Al inicio de la evaluación la empresa D047 presentó el valor más alto con 2.40 UFC/g, mientras que P041 registró el más bajo con 0.85 UFC/g. A lo largo de periodo, la mayoría de las empresas exhibieron un crecimiento gradual; sin embargo, D047 destaca con un incremento exponencial, alcanzando 8.3 UFC/g al día 20, en comparación a las empresas J042 con 5.39 y Q044 con 5.13 UFC/g, mientras que C049 presenta el crecimiento más moderado en 2.61 UFC/g.

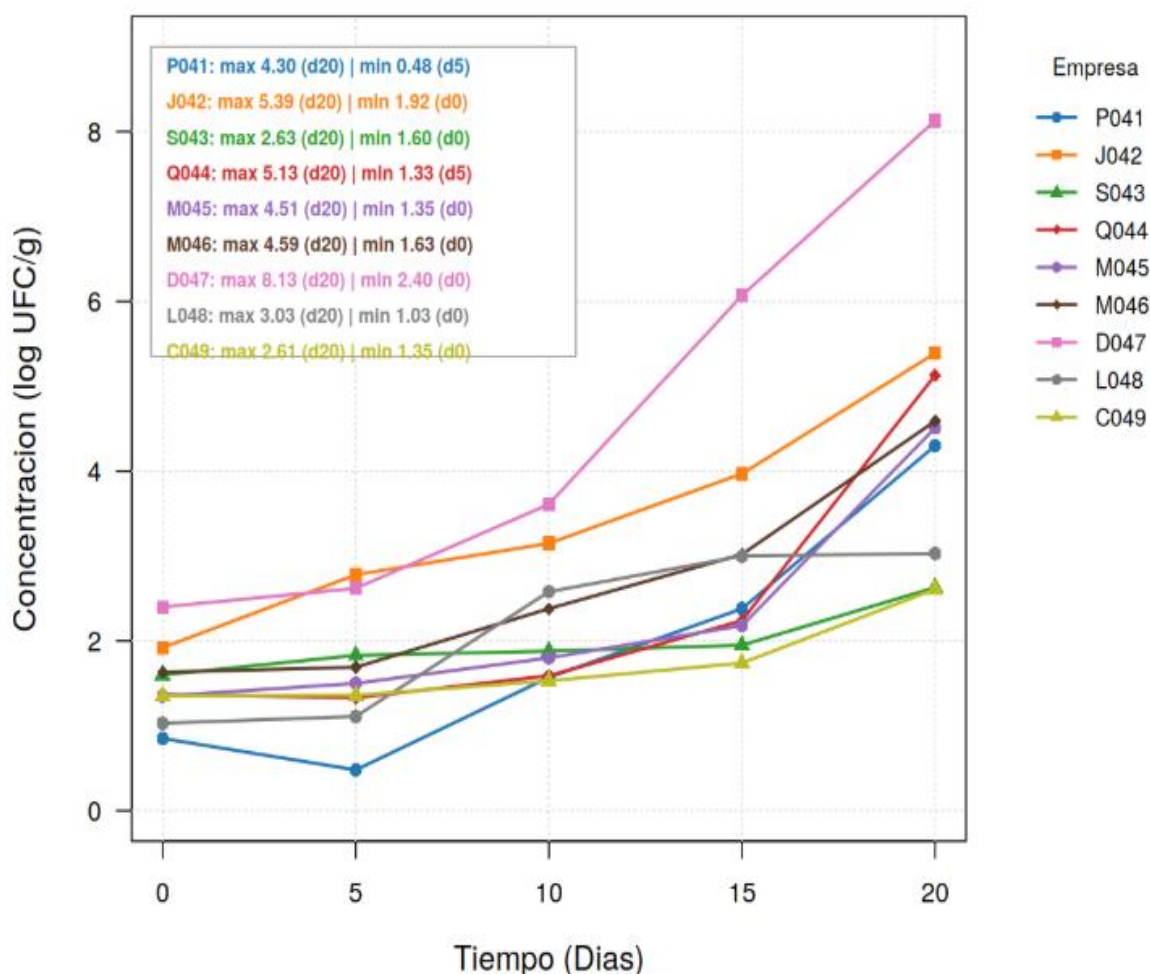


Figura 7. Curva de crecimiento de bacterias lipolíticas en queso amasado.

Streptococcus ácidos lácticos

En la figura 8 se muestra el crecimiento de *Streptococcus* ácidos lácticos en 9 muestras de queso amasado durante 20 días. Todas las empresas mostraron un crecimiento progresivo a lo largo del tiempo. La empresa M046 alcanzó el valor más alto con 6.73 log UFC/g, seguida de J042 en 6.36 log UFC/g y C049 con 6.12 log UFC/g, evidenciando un crecimiento bacteriano acelerado especialmente entre los días 10 y 20, en comparación de la empresa P041 muestra el crecimiento más lento de 2.29 log UFC/g. Este comportamiento ascendente generalizando indica condiciones favorables para la proliferación de bacterias lácticas durante el almacenamiento del queso.

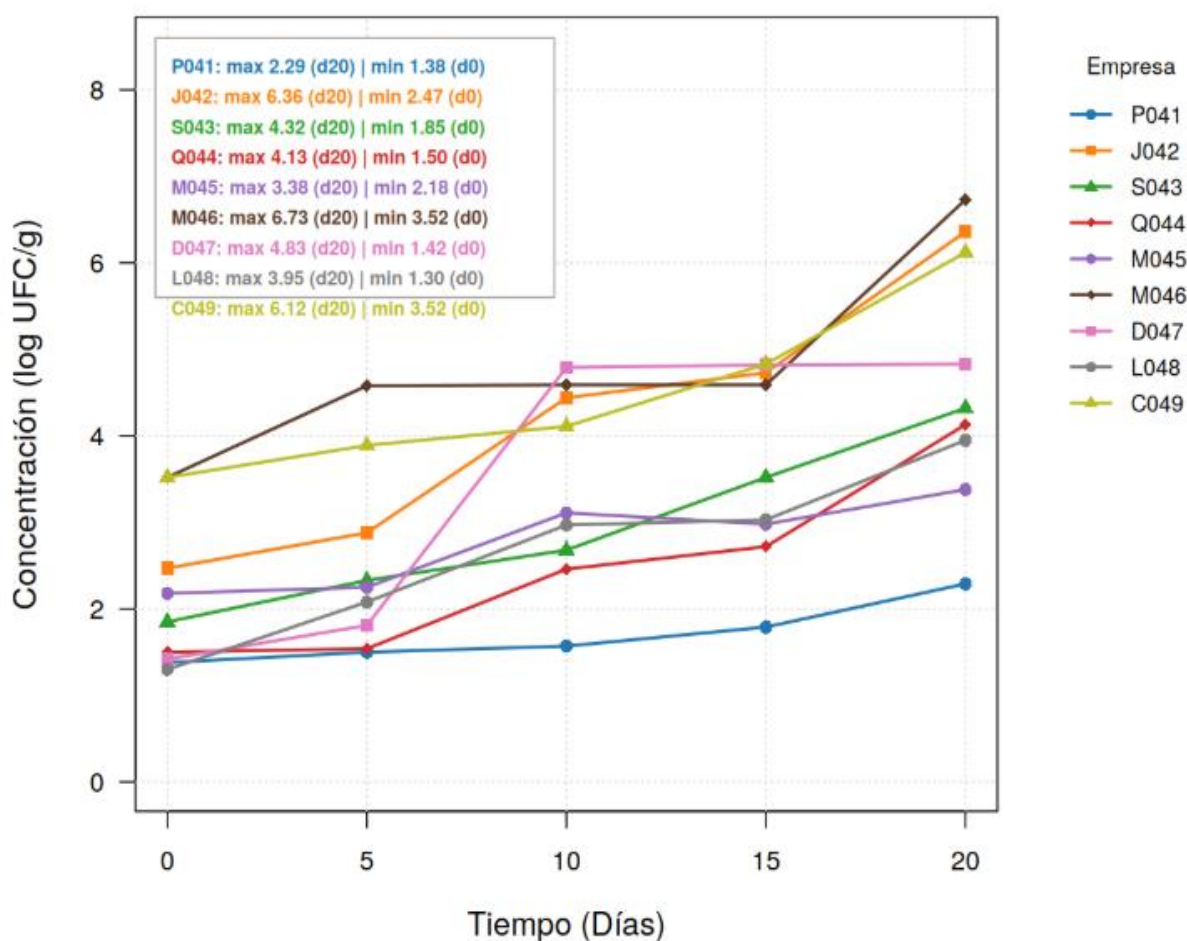


Figura 8. Curva de crecimiento de streptococcus ácidos lácticos en queso amasado.

Aeromonas spp

Durante los 20 días de almacenamiento los recuentos de *Aeromonas* spp mostraron un comportamiento heterogéneo entre empresas como se muestra en la figura 9. La mayoría mantuvo valores bajos inferiores a 5 UFC/g hasta el día 15, con incrementos moderados al final del periodo. Sin embargo, M045 presentó un crecimiento exponencial acelerado, alcanzando 21.1 UFC/g al día 20, seguido de D047(11.3 UFC/g) y M046 (9.2 UFC/g). J042 registró los valores más bajos durante todo el tiempo de análisis de 0.5 UFC/g, mientras que L048 mantuvo el crecimiento más estable y controlado, evidenciando diferencias significativas en las condiciones higiénicas de producción entre establecimientos.

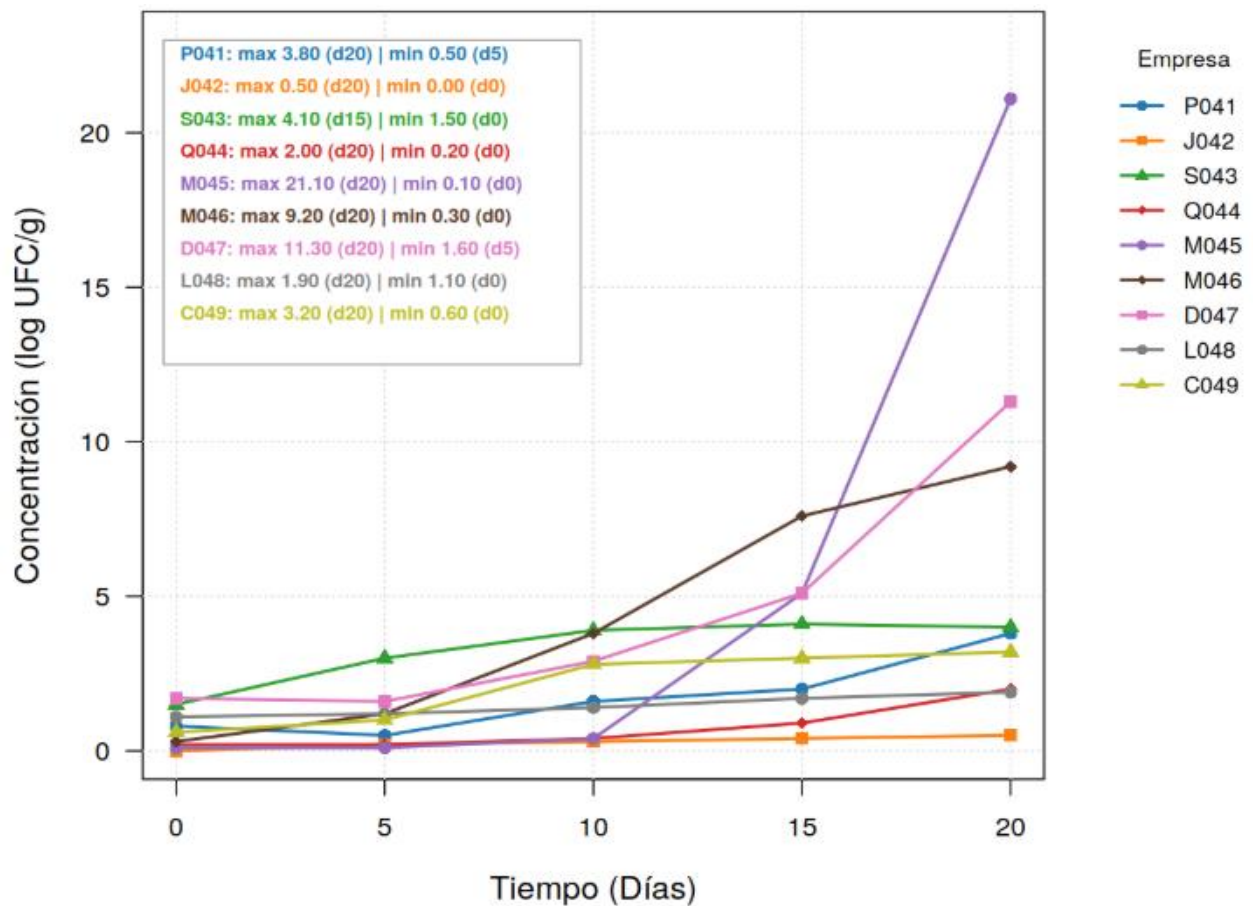


Figura 9. Curva de crecimiento de bacterias *Aeromonas* spp en queso amasado.

E. coli

En la figura numero 10 se observa un comportamiento heterogéneo entre las empresas evaluadas, durante los 20 días de seguimiento, la empresa M046 presentó la mayor proliferación bacteriana, alcanzando 12,63 UFC/g, seguida de D047 con 12,17 UFC/g, ambas con incrementos pronunciados hacia el día 20, lo que representa un riesgo sanitario significativo. J042 y S043 mostraron crecimientos moderados y sostenidos. En contraste, L048 y C049 mantuvieron los valores más bajos (0,70 y 3,10 UFC/g respectivamente), sugiriendo mejores prácticas de higiene. P041, Q044 y M045 no registraron datos cuantificables en ningún período.

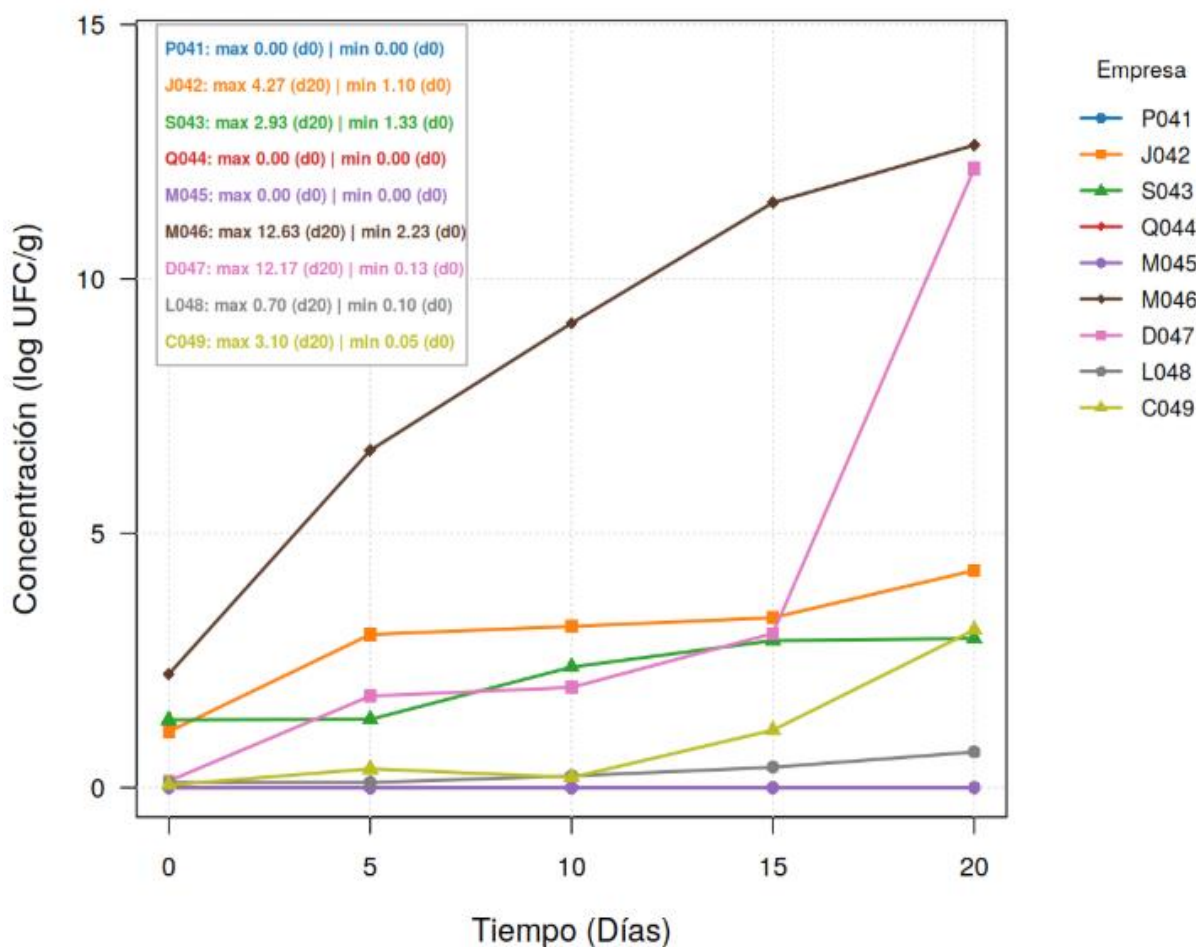


Figura 10. Curva de crecimiento *E. coli* en queso amasado.

4.2. DISCUSIÓN

4.2.1. Identificación de bacterias

Los resultados obtenidos muestran que *Hafnia alvei* y *Pantoea* spp. fueron los microorganismos predominantes, cada uno con frecuencia del 33.33%. Esto coincide con lo reportado por Hanzelová y otros (2024), quienes señalan que las enterobacterias suelen ser el grupo dominante dentro de la microbiota en quesos artesanales, debido a su capacidad para adaptarse a ambientes con alta humedad. Por otro lado, se observó una frecuencia notablemente alta de *Pseudomonas luteola* 77.78%; densidad de 28.26% junto a la presencia de *Pseudomonas fluorescens* 33.33%. Estos hallazgos son consistentes con lo descrito por Ávila y otros (2025), quienes refuerzan la idea de que persisten especies psicotrofas en entornos lácteos con refrigeración.

Mientras que bacterias ambientales de presencia común como *Pantoea* spp. o *Sphingomonas paucimobilis* reflejan contaminación de la materia prima, especies con alta actividad proteolíticas y lipolíticas como *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas fluorescens* y *Hafnia alvei* actúan como alterantes críticos mediante la producción de enzimas extracelulares termoestables como la proteasa (metalodependiente aprX) y lipasas, que permanecen activas durante el almacenamiento refrigerado (Ávila et al., 2025).

Se detectaron simultáneamente varios microorganismos de origen ambiental e hídrico como *Enterobacter aerogenes* (22.22%), *Sphingomonas paucimobilis* (55.56%), *Aeromonas hydrophila/caviae* (33.33%), *Vibrio metschnikovii* (33.33%), *Burkholderia cepacia* (22.22%) y *Acinetobacter baumannii* (11.11%). Esto sugiere que el agua del proceso y las superficies de contacto pueden ser una vía de contaminación hacia el queso durante la coagulación y el moldeado. La presencia de *Burkholderia cepacia* y *Acinetobacter baumannii* puede con llevar a la formación de biopelículas, así mismo tiene la capacidad de tolerar a los desinfectantes comerciales habituales, lo que conlleva a problemas en los entornos de procesamiento y la posterior contaminación de alimentos (Valdez, 2021).

A esto se suma la presencia de *Cronobacter* spp. (11.11%) y *Yersinia* spp. (11.11%), que representan un riesgo para la inocuidad y calidad del queso, estas bacterias pueden estar presentes en quesos debido a inconsistencias en la limpieza y manejo de equipos en el área de ordeño como también de producción, provocando una contaminación cruzada además tienen la capacidad de resistir bajas temperaturas lo que, sumado a la humedad y pH neutro del queso, crea un ambiente favorable para su desarrollo y crecimiento (Ávila et al., 2025).

El consumo de alimentos que puedan estar contaminados con *Cronobacter* spp. puede causar meningitis, sepsis y enterocolitis necrotizante, siendo especialmente peligroso para neonatos, lactantes e inmunocomprometidos, mientras que *Yersinia* provoca yersiniosis, con síntomas como diarrea, dolor abdominal que puede simular apendicitis y fiebre, afectando sobre todo a niños pequeños (Díaz et al., 2023).

La calidad y vida útil se ven afectadas por cambios en su textura y aroma como lo reporta Vásquez y otros (2018), cambios sensoriales por la actividad metabólica de las bacterias como *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas hydrophila/caviae*, *Aeromona salmonicida*, *Burkholderia cepacia* y *Pseudomonas luteola*. Mediante

proteólisis de la caseína lo cual conlleva al ablandamiento de textura y producción de sabores amargos, además lipólisis y la descarboxilación de aminoácidos producen aminas biógenas como histamina y putrescina lo que representa un riesgo tóxico.

El metabolismo no controlado de la lactosa y los aminoácidos por parte de enterobacterias como *Enterobacter aerogenes* y *Hafnia alvei* deriva en la generación de gas sulfhídrico (H_2S) y dióxido de carbono (CO_2). La acumulación de CO_2 genera la hinchazón de empaques y la aparición de hoyos en la masa, mientras que la intensa degradación proteica ablanda y deforma la estructura física del queso como se muestra en el anexo 2.

La acumulación de péptidos cortos, ácidos grasos libres y compuestos sulfurados produce la formación de olores indeseables y sabores amargos (Condori y Fuentes, 2023). Esto ocasiona la pérdida de los atributos organolépticos característicos del alimento, reduciendo drásticamente su vida útil y generando pérdidas comerciales para los productores artesanales.

4.2.2. Dinámica de crecimiento de bacterias deteriorativas

4.2.2.1. Aerobios mesófilos

El crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos en las nueve plantas productoras de queso amasado de la provincia del Carchi mostró una tendencia ascendente continua a lo largo de los 20 días de evaluación este comportamiento coincide con lo reportado por Pozo, (2021), este grupo microbiano es un indicador general de la calidad e higiene microbiológica en matrices alimentarias Jay et al. (2014). La proliferación progresiva observada puede reflejar condiciones inadecuadas de elaboración y falta de limpieza en las plantas lo que aumenta el riesgo de contaminación. De acuerdo con Losito y otros (2014), la actividad metabólica de estos microorganismos se manifiesta en defectos visuales como opacidad, pérdida de brillo, aparición de manchas irregulares de tonalidad amarillenta y beige, y formación de ligera mucosidad superficial. A nivel estructural, se produce una pérdida de elasticidad, ablandamiento de la masa y consistencia arenosa.

La vida útil del queso en la empresa D047 registró el mayor recuento de aerobios mesófilos, alcanzando un valor de 6.08 Log UFC/g al día 20. El incremento más marcado se observó entre los días 5 y 10. Este comportamiento en la planta D047 puede estar asociado a deficiencias en la aplicación de las Buenas Prácticas de

Manufactura (BPM), fallas en el control en el manejo de ordeño y contaminación cruzada durante el procesamiento (Merchán et al., 2019).

La empresa M045 presentó el menor crecimiento de aerobios mesófilos durante todo el periodo evaluado, alcanzando únicamente 2.16 Log UFC/g al día 20 y manteniendo estabilidad en los recuentos. Esta estabilidad poblacional podría atribuirse a un control más riguroso de las prácticas de higiene durante el moldeo y manejo de la materia prima. Resultados análogos fueron reportados por Rodríguez-Pacheco y otros (2018) en quesos frescos artesanales de la región andina, donde las plantas con mayor nivel de estandarización e higiene operacional mantuvieron niveles reducidos de indicadores microbianos a lo largo del tiempo de vida útil de los quesos.

4.2.3.2. Bacterias proteolíticas

En el análisis de bacterias proteolíticas se observó que la empresa D047 inicia con un valor elevado de 2.76 Log UFC/g alcanzando el máximo de 5.3 Log UFC/g en el día 20, seguida de la empresa Q044 con 4.99 Log UFC/g. Las bacterias proteolíticas son responsables de la degradación de las proteínas lácteas, generando defectos en el sabor y textura. Su incremento progresivo en las plantas evaluadas indican que el queso amasado es un sustrato adecuado para su desarrollo, especialmente conforme avanza en tiempo de vida útil (Ünal et al., 2024).

La presencia y crecimiento de bacterias proteolíticas en el queso amasado tiene implicaciones directas sobre su calidad organoléptica y vida útil. La proteólisis acelerada produce ablandamiento de la pasta, desprendimiento de suero y desarrollo de sabores indeseables que afectan la aceptabilidad del producto, por parte del consumidor, la empresa L048 presento el crecimiento más bajo en este grupo, finalizando en 2.72 Log UFC/g, lo cual indica condiciones de producción más higiénica o un microbiota inicial menor activa, controlar la proteólisis es fundamental para garantizar la calidad del queso amasado durante su vida comercial, que en Ecuador suele ser de 15 a 21 días (Duchi, 2021).

4.2.3.3. Bacilos ácidos lácticos termófilos

El análisis de los bacilos lácticos termófilos evidenció variaciones significativas en las cargas iniciales y en las dinámicas de crecimiento entre las distintas plantas evaluadas. La empresa M046 registró un recuento inicial de 5.83 Log UFC/g el cual incrementó de manera progresiva hasta alcanzar 7.38 al día 20. Esta concentración

elevada en el inicio del análisis de la vida útil, sugiere la presencia de estos microorganismos en el entorno de fabricación atribuyéndose a una posible contaminación ambiental persistente en las instalaciones de acuerdo a lo mencionado por Vásquez y otros (2012).

Las bacterias pertenecientes a este grupo, como *Lactobacillus helveticus* y *Streptococcus thermophilus*, pueden causar problemas en los quesos como es el caso de acidificación y participan en los procesos de proteólisis secundaria (Mullan, 2014).

Por otra parte, las empresas D047 y L048 presentaron las tasas de crecimiento más marcadas, alcanzando valores finales de 8.17 y 8.00 Log UFC/g al día 20, respectivamente. Ambas plantas mostraron una fase de aceleración poblacional entre los días 10 y 20, lo que refleja una fase exponencial tardía, comportamiento característico de microorganismos que requieren una etapa de adaptación fisiológica previa antes de iniciar una multiplicación activa. En contraste, la planta S043 mantuvo el recuento más bajo a lo largo del estudio, finalizando con 0.52 Log UFC/g al día 20. Este restringido desarrollo se asocia a condiciones ambientales o fisicoquímicas favorables en dicha planta, tales como un pH y actividad de agua (a_w) adecuados que limitaron el metabolismo de este grupo microbiano (Ünal et al., 2024).

4.2.3.4. Bacterias lipolíticas

Las bacterias lipolíticas constituyen un grupo alterante determinante en la estabilidad de matrices lácteas con alto contenido graso, como el queso amasado. La empresa D047 registró la carga más elevada del estudio, alcanzando 8.30 Log UFC/g al día 20, cifra significativamente superior a la observada en las demás plantas evaluadas y caracterizada por una fase de crecimiento exponencial a partir del día 10. Desde el punto de vista bioquímico, la lipólisis bacteriana cataliza la hidrólisis de los triacilglicéridos, liberando ácidos grasos libres de cadena corta y media. La acumulación de estos compuestos volatilizados induce defectos organolépticos como rancidez, aromas penetrantes y sabores desagradables que comprometen la calidad sensorial del producto. De acuerdo con González y otros (2015), el recuento elevado de bacterias lipolíticas aceleran el deterioro del queso, reduciendo su vida útil.

Las empresas J042 y Q044 también mostraron un desarrollo considerable de este grupo microbiano, finalizando el periodo de almacenamiento con 5.39 y 5.13 log UFC/g, respectivamente. En contraste, la planta C049 registró la menor

proliferación, alcanzando 2.61 Log UFC/g al día 20. Esta variabilidad entre muestras puede atribuirse a diferencias en la carga microbiana autóctona de la leche cruda o a divergencias en las prácticas de manufactura e higiene operacional. Tal como señala Anand (2011) en investigaciones sobre productos lácteos regionales, existe una marcada heterogeneidad en la abundancia de bacterias lipolíticas en función del origen, la calidad microbiológica inicial y las condiciones de almacenamiento de la materia prima.

4.2.3.5. *Streptococcus* ácidos lácticos

La presencia de bacterias ácido lácticas en quesos frescos es fundamental ya que son parte su microbiota bacteriana tales como *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* entre otros ya que se pueden encontrar en el origen de la materia prima pero una vez pasteurizada la leche gran parte de estas bacterias desaparecen, pero también pueden estar presentes en el ambiente y contaminar el queso lo cual es un peligro para la producción debido a que una gran presencia de estos microorganismos pueden alterar el equilibrio microbiano e intensificar procesos de proteólisis secundaria, afectando la textura final y el perfil de sabor del queso amasado, este comportamiento se atribuye a factores condicionantes del medio de elaboración, variaciones en los parámetros fisicoquímicos del queso o una menor disponibilidad de sustratos fermentables para el metabolismo bacteriano (Robinson, 2002).

El crecimiento de las bacterias ácido-lácticas del grupo *Streptococcus* mostró un incremento progresivo en todas las plantas evaluadas a lo largo de los 20 días de determinación de vida útil. La empresa M046 registró la concentración más elevada, alcanzando 6.73 Log UFC/g al día 20, seguida por J042 con 6.36 Log UFC/g y C049 con 6.12 Log UFC/g. Este grupo bacteriano, integrado por especies clave en matrices lácteas como *Streptococcus thermophilus* y cocos afines, constituye un componente fundamental y contribuye a la acidificación de la cuajada y a la síntesis de compuestos volátiles aromáticos Castañeda y otros (2025). En contraste con las concentraciones más elevadas, la empresa P041 presentó el desarrollo más pronunciado para este grupo, alcanzando 2.29 Log UFC/g al día 20.

4.2.3.6. *Aeromonas* spp

Durante los 20 días de evaluación de la vida útil del queso amasado, las poblaciones de *Aeromonas* spp. mostraron un comportamiento heterogéneo entre las empresas

analizadas; no obstante, la mayoría mantuvo recuentos por debajo de 5.00 log UFC/g hasta el día 15, registrando incrementos moderados hacia el final del periodo. El género *Aeromonas* es reconocido como un patógeno oportunista emergente de alta relevancia en matrices lácteas, capaz de causar infecciones gastrointestinales en poblaciones vulnerables. Desde la perspectiva higiénico sanitaria y cálida, la presencia de este microorganismo en la matriz del queso se encuentra asociada a la contaminación del agua de proceso o a deficientes condiciones ambientales durante la elaboración, constituyendo un indicador directo de fallas en la gestión sanitaria y en la desinfección de las instalaciones (Choi et al., 2016).

Al analizar las variaciones entre instalaciones, la empresa J042 registró la menor carga de *Aeromonas* spp., manteniéndose en niveles mínimos que no superaron los 0.50 log UFC/g a lo largo del estudio, mientras que la planta L048 exhibió la cinética de crecimiento más estable y controlada. Dichos resultados concuerdan con lo reportado en estudios sobre quesos artesanales de la región andina, donde la fluctuación en los recuentos de patógenos hídricos y ambientales responde directamente al grado de control sanitario y a la calidad de las fuentes de agua empleadas en cada unidad productiva.

4.2.3.7. *E. coli*

La presencia de *Escherichia coli* en alimentos como el queso fresco es un indicador de contaminación fecal ya que es una bacteria que vive en los intestinos de los animales y personas siendo un agente de riesgo sanitario, además puede tener efectos negativos en la vida útil del queso como consecuencia producción de gas por la fermentación de lactosa por la enzima beta-galactosidasa lo que lleva a la hinchazón temprana del queso y a producir olores fuerte (Marrella et al., 2022).

La empresa M046 registró el mayor recuento, alcanzando 12.63 Log UFC/g al día 20, seguida de la planta D047 con 12.17 Log UFC/g presentando ambas un marcado incremento hacia la etapa final de tiempo de vida útil. La Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1528 para queso fresco establece un límite máximo permitido de <10 Log UFC/g para *E.coli*; por consiguiente, los niveles reportados en estas plantas superan considerablemente los parámetros microbiológicos reglamentarios, representando un riesgo sanitario para el consumidor (Sharma et al., 2019).

Por otra parte, las plantas J042 y S043 presentaron incrementos moderados durante el tiempo de análisis de vida útil, situándose en valores intermedios. La presencia de

E. coli en estas plantas de lácteos se puede asociar con el mal manejo de la leche cruda, así como con el uso de agua no potable para la limpieza de utensilios y zonas de contacto con el queso, como mesas, marmitas y cuchillos. Otro factor puede ser la falta de limpieza de manos y el seguimiento de las normas de bioseguridad por parte de los trabajadores, de acuerdo con Solera (2022). En contraste, las plantas L048 y C049 mantuvieron concentraciones de 0,70 y 3,10 UFC/g, respectivamente, lo cual sugiere la aplicación de un mayor control de higiene durante la fabricación.

En el caso de las plantas P041, Q044 y M044 se encontraron valores interiores <10 UFC/g, que pudieran deberse al tratamiento térmico aplicado, calidad adecuada de la materia prima, la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y de normas de sanitización en plantas (Páez y Rodríguez, 2024).

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Al realizar el análisis del queso amasado elaborado en Tulcán, se observó que su vida útil comercial se limita a 10 días ya que a partir de este día super el valor máximo permitido para aerobios mesófilos de 10^5 UFC/g. Debido a la pérdida de calidad por la presencia de un ecosistema de 26 especies bacterianas identificadas. Se identificaron como agentes principales, pertenecientes al grupo de las bacterias ácido-lácticas a *Lactococcus lactis* con un 88.89% de frecuencia, bacterias psicrótrofas con alta capacidad proteolítica y lipolítica (*Pseudomonas luteola* en un 77.78% y *Pseudomonas fluorescens* en un 33.33%), además de enterobacterias e indicadores de contaminación fecal (*Hafnia alvei*, *Pantoea* spp., *Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli*). Las enzimas que producen estos microorganismos degradan rápidamente las proteínas y grasas del queso, lo que genera problemas como cambios en la acidez, pérdida de agua (sinéresis), ablandamiento de la pasta, malos olores/sabores y acumulación de CO_2 que conlleva al hinchamiento de los empaques.
- Mediante el uso de galerías bioquímicas API (20E, 20NE y 50CH), se identificó a nivel de género y especie a los microorganismos responsables del deterioro al final del tiempo evaluado. Se encontraron enterobacterias ambientales e hídricas como *Hafnia alvei* (33.33%), *Pantoea* spp. (33.33%) y *Enterobacter aerogenes* (22.22%), además de bacterias no fermentadoras deteriorativas como *Pseudomonas luteola* (77.78% de frecuencia y 28.26% de densidad relativa). Por otro lado, se identificaron bacterias asociadas a flora láctica, las especies más comunes fueron *Lactococcus lactis* (88.89%) y *Lacticaseibacillus paracasei* (44.44%).
- Los conteos microbiológicos realizados a los 0, 5, 10, 15 y 20 días, mostraron un aumento progresivo de la carga bacteriana en las nueve plantas evaluadas (P041, J042, S043, Q044, M045, M046, D047, L048 y C049), superando los rangos permitidos, las bacterias proteolíticas pasaron de 1,1 log UFC/g iniciales a valores de hasta 5,3 log UFC/g (C049) y 5,0 log UFC/g (Q044) al día 20, con un

comportamiento similar en las bacterias lipolíticas y ácido lácticas, como consecuencia de la actividad enzimática de microorganismos que pueden alterar y degradar proteínas y grasas. Además, los niveles de *E. coli* superaron el límite máximo permisible de la NTE INEN 1528 (<10 UFC/g), evidenciando un incumplimiento a la normativa. Aunque esta norma no fija un límite específico para mesófilos, proteolíticas, lipolíticas y bacterias lácticas, su crecimiento progresivo confirma una carga inicial elevada y un control higiénico insuficiente en la elaboración y conservación del queso. El comportamiento poblacional de las bacterias mostró un crecimiento continuo a lo largo del tiempo de vida útil. Se mostro que entre los días 10 y 20 la multiplicación bacteriana se aceleró (fase exponencial), trayendo como consecuencia defectos de textura, olor y sabor. Con base en los datos analizados, acepta la hipótesis alternativa (H_1) y rechazamos la hipótesis nula (H_0). Demostramos que la carga de bacterias deteriorativas e indicadores de contaminación aumenta progresivamente con los días de almacenamiento, alterando de forma directa la calidad microbiológica y la vida útil del queso amasado elaborado en Tulcán.

- Esta investigación aporta información clave y actualizada para el sector lácteo del Carchi, ya que identifica por primera vez de forma detallada qué bacterias específicas que deterioran al queso amasado. Conocer la presencia de especies como *Pseudomonas* spp. y enterobacterias, conlleva a que los fabricantes de queso amasado apliquen correctas prácticas de pasteurización de la leche, controlar la calidad del agua de proceso e implementar rigurosamente Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y POES. A nivel económico y ambiental, aplicar estas mejoras ayudará a reducir pérdidas por producto devuelto, reducir el desperdicio de alimentos (alineado con el ODS 12) y darles mayor competitividad a los pequeños y medianos productores de la región.

5.2. RECOMENDACIONES

- Para garantizar la reproducibilidad y validez de los análisis microbiológicos, es indispensable seguir estrictamente los protocolos de manipulación, transporte y almacenamiento de muestras, así como mantener un control riguroso de reactivos, medios de cultivo y galerías API.

- A las empresas productoras se recomienda fortalecer las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) mediante capacitaciones periódicas al personal, implementar de manera prioritaria la pasteurización de la leche cruda, verificar la calidad microbiológica del agua utilizada en el proceso, establecer Procedimientos Operativos Estandarizados de Sanitización (POES) para equipos y utensilios comprobados mediante análisis de superficie, y mantener una cadena de frío estricta desde la elaboración hasta la comercialización del producto, con el fin de ralentizar la cinética de la microbiota deteriorativa y prolongar la calidad y estabilidad comercial del queso amasado artesanal.
- Continuar con investigaciones de microbiología molecular de la vida útil del queso las bacterias deteriorarías y los patógenos que puedan estar afectando la calidad e inocuidad del queso amasado.
- Realizar capacitaciones con programas de vinculación a medianos y pequeños productores de quesos con el fin de incentivar mejoras en la calidad de los quesos y a los riesgos, en el ser humano debido a la posible presencia de patógenos que pueden afectar la salud del consumidor.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarquero, D., Fernández, D., Delgado, D., Bueno, F., Fresno-Baro, J. M., y Tornadijo-Rodríguez, M. E. (october de 2025). Physico-chemical and microbiological characteristics of Zamorano-Leonés donkey milk, a Spanish donkey breed. *Food Bioscience*, 72(107549). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2212429225017262?via%3Dihub>
- Adams, M. R., y Moss, M. O. (2008). *Food Microbiology* (3th ed.). The Royal Society of Chemistry. <https://repository.poltekkes-kaltim.ac.id/1145/1/food-microbiology-3rd-ed.pdf>
- Anchundia, M. (2019). *Evaluación nutricional y fisicoquímica del queso amasado fabricado en la provincia del Carchi, Ecuador*. Tulcán: UPEC.
- Anchundia, M., Jácome, C., Domínguez, F., y Torres, F. (2019). Evaluación nutricional y fisicoquímica del queso amasado fabricado en la provincia del Carchi, Ecuador. *Revista Bases de la Ciencia*, 56-57.
- Andrade, D. A. (2019 de Febrero de 2019). *Repocitorio UTN*. Repositorio UTN: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/<https://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/8937/1/04%20IND%20146%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf>
- Atlas, R. (2010). *Handbook of Microbiological Media* (4th edition ed.). Boca Raton: CRC Press. doi:<https://doi.org/10.1201/EBK1439804063>
- Ávila, M., Sánchez, C., Calzada, J., Briega, I., Bailo, P., Berruga, M., . . . Garde, S. (febrero de 2025). Diversity and spoilage potential of *Pseudomonas* spp. from Spanish milk and dairy products: Impact on fresh cheese and milk quality. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996925000365>
- bioMérieux. (2009). *Api 20NE*. Francia: bioMérieux. https://www.meritay.co.nz/media/15781/om_biomerieux_test-kits_ot-20050_package_insert-20050.pdf
- bioMérieux. (2010). *Api 20E*. Francia: bioMérieux. api 20E: <https://quios.com.co/wp-content/uploads/2017/05/API-20E-FT.pdf>

- bioMérieux. (2011). *Api 50CHL Medium*. Francia: bioMérieux.
https://www.merilab.com/media/15797/om_biomerieux_test-kits_ot-50410_package_insert-50410.pdf
- bioMérieux. (2020). *API 50CH*. Francia: bioMérieux.
<https://share.google/ZTDc9CWw7KgCy0JCE>
- Calderón , V., y González , M. (2024). *Microbiología Alimentaria* (3era ed.). España: Diaz dos Santos.
<https://www.editdiazdesantos.com/libros/9788490525340/Pascual-Anderson-Microbiologia-alimentaria.html>
- Calderón, V., y Pascual , M. (2000). *Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas* (2da ed.). Madrid: Diaz de Santos.
<https://rebiun.baratz.es/OpacDiscovery/public/catalog/detail/b2FpOmNlbGVicmF0aW9uOmVzLmJhcmF0ei5yZW4vMTcxMDkyNTA?tabId=1778739089477>
- Casasola Bado , M. J. (2022). La importancia de realizar una correcta tinción de Gram en la identificación bacteriana. *Revista Colegio de Microbiólogos de Costa Rica*, 89-98. <https://revista.microbiologos.cr/wp-content/uploads/2023/11/Volumen-27-No2-Articulo-3-89-98.pdf>
- Demera, F., Macías, E., Ortega, L., Choez, M., y Bermeo, J. (junio de 2025). Valoración microbiológica de quesos frescos artesanales no pasteurizado y su relación con el cumplimiento de las prácticas sanitarias. *El Higo. Revista de ciencia y Tecnología*, 15(1), 35-49. <https://ribuni.uni.edu.ni/6611/>
- Dubach, J. (1988). *dspace.esPOCH.edu.ec*. dspace.esPOCH.edu.ec: chrome-extension://kdpelmjpfafjppnhbloffcjpeomlnpah/<https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/df094b33-3c08-46d4-9169-4841661ff553/content>
- Enríquez, D. (2019). *El queso amasado, un producto con sabor a historia y tradición*. Montúfar: El Productor.
- Farber, J. M., y Peterkin, P. I. (S.F). *Listeria monocytogenes, a food-borne pathogen*. ASM Journals.
- Farfán, K., Romero, G., y Ortiz, J. (2017). *Identificación y susceptibilidad a los antibióticos de bacterias cultivables deterioradoras aisladas de queso ranchero fresco*. Cuenca: Anatomía Digital.
- Forsythe, S. (2020). *The Microbiology of Safe Food* (3th ed.). Willey Blackwell. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/339659618_The_Microbiology_of_Safe_Food_3rd_Edition
- Hanzelová, Z., Dudriková, E., Lovayová, V., Výrostková, J., Regecová, I., Zigo, F., y Bartáková, K. (14 de July de 2024). Occurrence of Enterococci in the Process of Artisanal Cheesemaking and Their Antimicrobial Resistance. (R. Roila, y S. Primavilla, Edits.) *Life*, 14(7). doi:<https://doi.org/10.3390/life14070890>

- Hough, G. (2010). *Sensory Shelf Life Estimation of Food Products*. Boca Raton, Florida: CRC Press. doi:<https://doi.org/10.1201/9781420092943>
- Huasipungo. (31 de Enero de 2019). huasipungoecu.wordpress.com.
<https://huasipungoecu.wordpress.com/2019/01/31/los-quesos-del-ecuador/>
- INEN. (2003). *Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30°*. Quito: Normativa Técnica Ecuatoriana. <https://es.scribd.com/document/832332179/Nte-Inen-Iso-4833-Microbiologia-de-Los-Alimentos-Para-Consumo-Humano-y-Animal>
- INEN. (2006). *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos Aerobios Mesófilos*. Rep. Instituto Ecuatoriano de Normalización, Quito. <https://www.studocu.com/ec/document/universidad-tecnica-de-cotopaxi/microbiologia/toaz-analisis-microbiologico-en-alimentos/119399130?sid=37532989-db6f-4443-8049-07c0c413510d1786045072>
- INEN. (2012). *Norma General para quesos frescos no madurados*. NTE INEN 1528:2012. Norma Técnica Ecuatoriana. QUITO: INSTITUTO ECUATORINANO DE NORMALIZACION. <https://es.scribd.com/document/208472907/Norma-Inen-1528-Queso-Fresco>
- James, J. (2002). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Jay, J., Loessner, M., y Golden, D. (2005). *Modern Food Microbiology*. Food Science Text Series. <https://link.springer.com/book/10.1007/b100840>
- Lahouar, A., Crespo-Sempere, A., Marín, S., Saïd, S., y Sanchiś, V. A. (july de 2015). Toxigenic molds in Tunisian and Egyptian sorghum for human consumption. *Journal of Stored Products Research*, 63, 57-62. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022474X15300199?via%3Dihub>
- Liepa, M., Zagorska, J., Galoburda, R., y Kostascuka, S. (june de 2018). Effect of High-Pressure Processing on Microbial Quality of Skimmed Milk. *The Journal of Latvian Academy of Sciences*, 72(2), 118-122. <https://reference-global.com/article/10.2478/prolas-2018-0019?tab=download>
- López Muñoz, L. G., Barrera-Rojas, L. M., Ospina Ladino, M. C., Beltran Jimenez, S. S., y Aguilar Ortiz, J. D. (2024). Determinación de la vida útil de un queso fresco con adición de aceite esencial de romero (*Salvia rosmarinus*) a partir del cumplimiento de la normativa Colombiana vigente. *Dialnet*, 2. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=10415438>
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., y Stahl, D. A. (2021). *Brock Biology of Microorganisms* (16th ed.). Pearson. <https://www.pearson.com/en-us/subject-catalog/p/brock-biology-of-microorganisms/P200000006867?view=educator>

- Martínez, L. (2018). *Repositorio digital Universidad de las Ámericas*. Tesis, niversidad de las Ámericas, Posgrados. Repositorio digital Universidad de las Ámericas: <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/9340/1/UDLA-EC-TMACSA-2018-11.pdf>
- Mestanza-Buenaño, J. R. (2024). *Evaluación de la composición microbiana de humus y compost producidos en el centro de bioconocimiento Epoch mediante técnicas de caracterización microbiológica de abonos orgánicos sólidos*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <https://dspace.esPOCH.edu.ec/items/10a7d71f-65da-47f4-8364-6d935d7349dc>
- Mladenović, K. G., Muruzović, M. Ž., Petrović, T. Ž., Stefanović, O. D., y Čomić, L. R. (2018). Isolation and identification of Enterobacteriaceae from traditional Serbian cheese and their physiological characteristics. *Journal of food safety*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfs.12387>
- Montville, T., y Matthews, K. (2008). *Microbiología de los alimentos: Fundamentos y fronteras*. Barcelona: Reverté.
- Moreano Terán, N. F., Arias Palma , G. B., Martínez Martínez, E. N., y Cevallos Carvajal , E. R. (2024). Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal: un enfoque en la seguridad alimentaria y la preservación de métodos tradicionales. *Reincasol*, 3(6), 2443-2468. <https://www.reincisol.com/ojs/index.php/reincisol/article/view/321>
- Pakbin, B., Wolfram, M., y A Rossen, J. W. (14 de september de 2021). Virulence Factors of Enteric Pathogenic Escherichia coli: A Review. (T. D. Blaauwen, Ed.) 22(18). <https://doi.org/10.3390/ijms22189922>
- Paredes, C., Cadena, V., y Bolaños, C. (2022). *Caracterización del perfil sensorial del queso amasado de la provincia del Carchi*. Tulcán: Tierra Infinita.
- Pelczar, M., Chan, E., y Krieg, N. (2000). *Microbiología*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Pozo Rosero, P. M., y Salcedo Viana, M. J. (2021). *Determinación de la vida útil de los quesos amasados de las PYMES del Carchi, mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos*. Repositorio UPEC: <https://repositorio.upec.edu.ec/server/api/core/bitstreams/b6bd4907-9818-415b-ab69-0183e2164450/content>
- Pozo, P. (2021). *Determinación de la vida útil de los quesos amasados de las PYMES del Carchi, mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos*. Tulcán: UPEC.
- Ramesh, B., Kishore, S., y Rajan, A. (2024). Purification, characterization, and industrial applications of thermostable microbial enzymes. En J. N. Sachs. <https://link.springer.com/journal/12010/volumes-and-issues/196-8>
- Ramírez Infante, A. E., Montesdeoca Tamay, J. A., y Torres Segarra, S. M. (2024). Determinación de Coliformes spp y Escherichia coli en quesos frescos del

mercado 9 de Octubre, Cuenca. *Tesla Revista Científica*, 4(1).
<https://tesla.puertomaderoeditorial.com.ar/index.php/tesla/es/article/view/294>

Ray, B., y Bhunia, A. (2025). *Fundamental Food Microbiology* (6 ed.). Boca Raton: CRC Press.

<https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781003346616/fundamental-food-microbiology-bibek-ray-arun-bhunia>

Romero, L., Huaraca, B., Valencia, W., y María, C. (2023). Microbiological evaluation of cheese production in a company certified in good manufacturing, hygiene and sanitation practices. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 63(2).
<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20230274937>

Salcedo M, y Pozo Rosero, P. (2021). *eterminación de la vida útil de los quesos amasados de las PYMES del Carchi, mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos*. Tulcán: UPEC.

Sánchez, Carmen; Ávila, Marta; Calzada, Javier; Briega, Iván; Bailo, Pablo; Berruga, Isabel; Tomillo, Javier; Rodríguez, Eva; Picon, Antonia; Garde, Sonia;. (2025). *Diversity and spoilage potential of Pseudomonas spp. from Spanish milk and dairy products: Impact on fresh cheese and milk quality*. España: INIA-CSIC.

Sanders, E. (2012). Aseptic laboratory techniques: plating methods. *Journal of visualized experiments*, 63(3064). <https://www.jove.com/t/3064/aseptic-laboratory-techniques-plating-methods>

Sapkota, A. (7 de september de 2023). *Micro Notes*. Obtenido de Serial dilution, as the name suggests, is a series of sequential dilutions that are performed to convert a dense solution into a more usable concentration.:
<https://microbenotes.com/serial-dilution/>

Swistock, B. R. (5 de septiembre de 2023). Bacterias Coliformes. (T. P. 2025, Ed.) *Penn State Extension*, 1-5. Obtenido de <https://extension.psu.edu/bacterias-coliformes>

Tortora, G. J., Funke, B. R., y Case, C. L. (2019). *Microbiology: An Introduction* (15th ed.). Pearson. <https://www.pearson.com/en-us/subject-catalog/p/microbiology-an-introduction/P200000006850/9780135789377>

Tripathi, N., Zubair, M., y Sapra, A. (2025). Gram Staining. *ational Center for Biotechnology Information*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562156/>

Ulloa Morejón, J. P. (2018). *Estudio y análisis del sector quesero de la región Sierra del Ecuador, para la elaboración de un plan de mejora industrial enfocado en el desarrollo socioeconómico de las queseras*. Quito: Universidad Católica del Ecuador.

UMEC. (6 de enero de 2025). *UMEC*. Descubre el impacto de la leche en tu microbioma, según una nueva investigación científica:

<https://umec.com.ar/descubre-el-impacto-de-la-leche-en-tu-microbioma-segun-una-nueva-investigacion-cientifica/>

- Vargas-Salas, M. B., y Toro, M. (2020). INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS PRODUCTOS LÁCTEOS. En R. Valenzuela B., y F. d. Pecuarias (Ed.), *Lácteos Nutrición y Salud* (págs. 1-12). Chile. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/181877>
- Veselá, K., Kumherová, M., Kłodová, I., Solichová, K., Horáčková, Š., y Plocková, M. (2019). Selective culture medium for the enumeration of *Lactobacillus plantarum* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *LWT-Food Science and Technology*, 114. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643819307078>
- Vijayakumar, T., Divya, B., Vasanthi, V., Narayan, M., Kumar, A., y Krishnan, R. (2023). Diagnostic Utility of Gram Stain for Oral Smears – A Review. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 11(3), 130-134. https://journals.lww.com/jmdu/fulltext/2023/11030/diagnostic_utility_of_gram_stain_for_oral_smears__2.aspx
- Wu, k.-Y., y Yang, T.-X. (2020). A Novel Improved Gram Staining Method Based on the Capillary Tube. *Polish journal of microbiology*, 69(4), 503-508. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7812360/>
- Zheng, X., Kaixiong, L., Shi, X., Ni, Y., Li, B., y Zhuge, B. (february de 2018). Potential characterization of yeasts isolated from Kazak artisanal cheese to produce flavoring compounds. *Microbiology Open*, 7(1). <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mbo3.533>

VII. ANEXOS

Anexo 1. Certificado del abstract por parte de idiomas



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI FOREIGN AND
NATIVE LANGUAGES CENTER

ABSTRACT- EVALUATION SHEET				
NAME: Ambar Nayesska Vázquez Valverde - Jhonatan Marcelo Chamorro Rayo				
DATE: Thursday, June the 18th of 2026				
Topic: <i>"Identification, quantification, and growth dynamics of spoilage bacteria by conventional methods during the shelf life of kneaded cheese made in Tulcán, Carchi Province, Ecuador"</i>				
MARKS AWARDED		QUANTITATIVE AND QUALITATIVE		
VOCABULARY AND WORD USE	Use new learnt vocabulary and precise words related to the topic	Use a little new vocabulary and some appropriate words related to the topic	Use basic vocabulary and simplistic words related to the topic	Limited vocabulary and inadequate words related to the topic
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
WRITING COHESION	Clear and logical progression of ideas and supporting paragraphs.	Adequate progression of ideas and supporting paragraphs.	Some progression of ideas and supporting paragraphs.	Inadequate ideas and supporting paragraphs.
De	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
ARGUMENT	The message has been communicated very well and identify the type of text	The message has been communicated appropriately and identify the type of text	Some of the message has been communicated and the type of text is little confusing	The message hasn't been communicated and the type of text is inadequate
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
CREATIVITY	Outstanding flow of ideas and events	Good flow of ideas and events	Average flow of ideas and events	Poor flow of ideas and events
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
SCIENTIFIC SUSTAINABILITY	Reasonable, specific and supportable opinion or thesis statement	Minor errors when supporting the thesis statement	Some errors when supporting the thesis statement	Lots of errors when supporting the thesis statement
	EXCELLENT: 2 ☐	GOOD: 1,5 ☐	AVERAGE: 1 ☐	LIMITED: 0,5 ☐
TOTAL/AVERAGE	9 - 10: EXCELLENT 7 - 8,9: GOOD 5 - 6,9: AVERAGE 0 - 4,9: LIMITED		TOTAL 9	



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL
CARCHI- FOREIGN AND NATIVE LANGUAGES
CENTER**

**Informe sobre el Abstract de Artículo Científico
o Investigación.**

Autor: Ambar Nayesska Vázquez Valverde - Jhonatan Marcelo Chamorro Rayo

Fecha de recepción del abstract: Miércoles, 17 de junio de 2026

Fecha de entrega del informe: Jueves, 18 de junio de 2026

El presente informe validará la traducción del idioma español al inglés si alcanza un porcentaje de: 9 – 10 Excelente.

Si la traducción no está dentro de los parámetros de 9 – 10, el autor deberá realizar las observaciones presentadas en el ABSTRACT, para su posterior presentación y aprobación.

Observaciones:

Tras evaluar el resumen presentado, se concluye que la traducción al inglés es adecuada y fiel al contenido. De acuerdo con la rúbrica aplicada para su valoración, se le asigna una calificación de 9, por lo que el trabajo queda aprobado.

Atentamente



MA. Martha Viveros
RESPONSABLE CIDEN

Anexo 2. Hinchazón del empaque



Figura 11. Hinchazón de empaque