

evolución de diferentes poblaciones microbianas durante la elaboración y maduración de queso dambo

dra. graziella verger
dra. maya piñeiro
ing. quim. osiris paez
q.f. alfredo dovato

monografías tecnológicas

serie microbiología

2



EVOLUCION DE DIFERENTES POBLACIONES MICROBIANAS DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE QUESO DAMBO

RESUMEN

Se estudió la evolución de diferentes poblaciones microbianas (microorganismos mesófilos totales, coliformes totales, coliformes fecales y estafilococos) durante la elaboración y maduración de queso de pasta semiblanda, tipo Dambo. Se determinó la contaminación en productos procesados en tres plantas industriales de diferente nivel higiénico-sanitario, y en la Planta Piloto del LATU donde se observaron estrictamente las “Buenas Prácticas de Manufactura” (GMP).

Los resultados obtenidos indican que el nivel de contaminación del queso con gérmenes coliformes y coliformes fecales está directamente condicionado por las características higiénico-sanitarias de su elaboración. Se determinaron los puntos de contaminación más frecuentes y las etapas más favorables para su reproducción.

De estos resultados se puede concluir que, observando las GMP, el nivel de contaminación final del queso Dambo puede ser controlado.

ABSTRACT

A study was conducted on the development of different microbial populations (total mesophilic organisms, total coliforms, fecal coliforms and staphylococci) during the manufacture and ripening of Dambo, a semisoft cheese. The microbial contamination was analysed on cheeses produced in three factories with different sanitary levels and in LATU's Pilot Plant where “Good Manufacturing Practices” (GMP) were strictly observed.

The results obtained indicate that the contamination level of cheese with coliform bacteria and fecal coliforms is directly related to the hygienic and sanitary conditions of its manufacturing process. The most frequent sources of contamination and the most favourable steps for microbial reproduction were determined.

From these results it can be concluded that, if GMP are observed, the final level of Dambo cheese contamination can be controlled.

RESUME

On a étudié l'évolution de différentes populations microbiennes (germes mésophiles totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux et staphylocoques) pendant l'élaboration et maturation de fromage à pâte molle, type Dambo. On a déterminé la contamination dans des produits industrialisés dans trois usines de différent niveau hygiénique-sanitaire, et dans l'Usine Pilote du LATU où on a observé strictement les "Good Manufacturing Practices" (GMP).

Les résultats obtenus montrent que le niveau de contamination du fromage Dambo par germes coliformes et coliformes fécaux est directement conditionné par les caractéristiques hygiénique-sanitaires de son élaboration. On a déterminé le lieu de contamination le plus fréquent et les étapes les plus favorables pour leur développement. -

D'après ces résultats on peut conclure que, en observant les GMP, le niveau de contamination final du fromage Dambo peut être contrôlé.

INTRODUCCION

El establecimiento de normas o especificaciones microbiológicas para un alimento debe tener en cuenta primordialmente el riesgo potencial que este producto puede significar para la salud del consumidor. Este riesgo depende de la naturaleza del alimento y del proceso de elaboración.

Si bien durante muchos años el queso fue considerado como un alimento con poco riesgo para la seguridad del consumidor, en las últimas décadas se han reportado muchos casos de toxi-infecciones alimentarias causadas por el consumo de estos productos, habiéndose reconocido como responsables cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* y de estafilococos.

El primer caso documentado que involucra cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* data del año 1973 y fue provocado por la ingestión de queso Camembert en los Estados Unidos (7). Cepas enteropatógenas de este germen fueron asociadas durante el mismo año a toxi-infecciones provocadas por el consumo de queso involucrando tanto a niños como a adultos (12), y a gastroenteritis producidas en el año 1974 por el consumo de estos productos en los Estados Unidos (13).

Otro serio riesgo para la salud del consumidor de queso es la presencia de enterotoxina producida por el crecimiento de estafilococos coagulasa positivos durante la elaboración de este producto. La información existente

sobre los niveles de estafilococos considerados como potencialmente peligrosos es importante en lo referente a quesos duros y semiduros, pero se necesita mayor información para el caso de los quesos blandos y semiblandos en cuanto a niveles y cambios en el número durante la elaboración y maduración (5).

Las bases para el control microbiológico de alimentos deben ser dadas, principalmente, a través de la aplicación de códigos de prácticas, y la aplicación de una norma microbiológica se establece solamente ante una necesidad concreta. Esta norma debe ser obtenida a través de "Buenas Prácticas de Manufactura" (Good Manufacturing Practices), única manera de impedir el uso de tratamientos objetables al pretender reducir el número de microorganismos a niveles aceptables.

Uruguay ha incrementado en los últimos años sus exportaciones de productos lácteos, y ya en el año 1980 nuestro país exportó más de 3.000 toneladas de queso (6) a diferentes países que poseen sus propias especificaciones microbiológicas. No existen normas o especificaciones microbiológicas universalmente aceptadas para quesos y los criterios difieren considerablemente de un país a otro (3, 4, 8, 9, 10).

Hasta la fecha, Uruguay no dispone de datos que puedan servir de base para la preparación de especificaciones microbiológicas para quesos a nivel nacional y que puedan ser un aporte de utilidad para la elaboración de normas a ser aplicadas en el comercio internacional.

Los objetivos de este trabajo tienden a determinar la evolución de diferentes poblaciones microbianas durante la elaboración y maduración de quesos de pasta semiblanda, tipo Dambo, las posibilidades de su control y la calidad microbiológica del producto resultante.

Para encarar este trabajo fueron realizados controles en nueve elaboraciones de rutina en tres diferentes plantas industrializadoras de historial conocido y de diferente nivel higiénico-sanitario, en períodos regulares durante 18 meses, y en dos elaboraciones realizadas en la Planta Piloto del LATU en las que se observaron estrictamente las "Buenas Prácticas de Manufactura".

Los parámetros estudiados fueron el recuento total de gérmenes mesófilos en leche cruda y pasteurizada, y los gérmenes coliformes, coliformes fecales y estafilococos en todas las etapas del proceso.

MATERIALES Y METODOS

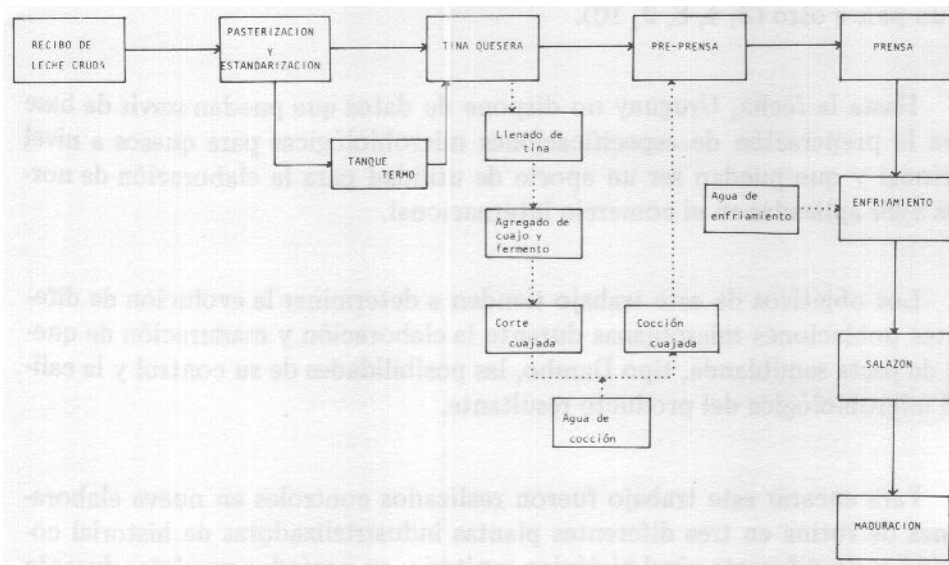
1. Obtención de las muestras

Fueron realizados dos grupos de experiencias. El primer grupo se desarrolló en tres fábricas que llamaremos A, B, y C, y consistió en el control de elaboración de tres partidas diferentes de queso Dambo para cada usina, con extracción de muestras en las distintas etapas del proceso, totalizando 180 unidades de muestra. El segundo grupo de experiencias se desarrolló en la Planta Piloto del LATU y comprendió la elaboración de dos partidas, con extracción de muestras en las mismas etapas del proceso que en las elaboraciones en plantas industriales, totalizando 40 unidades de muestra.

1.1 Elaboración en plantas industriales

Los procesos de elaboración en las tres fábricas estudiadas responden al esquema general que se describe en el cuadro 1:

CUADRO 1.- ESQUEMA GENERAL DE LAS ETAPAS DE FABRICACION DE QUESO DAMBO.



- 1) Recepción de leche cruda en tarros con temperaturas variables entre 18° C y 30° C.
- 2) Higiene, estandarización y pasterización durante 15 segundos a 72°C.
- 3) Enfriamiento de la leche y distribución a las tinas queseras a una temperatura comprendida entre 28 y 34° C.

- 4) Adición de fermento láctico (1.2 - 1.5%) y agitación a 31 - 32° C durante 15 - 25 minutos.
- 5) Adición de cuajo en cantidad suficiente como para producir coagulación en 20 a 30 minutos y corte de la cuajada con agitación a 32° C.
- 6) Desuerado de un tercio del volumen total de suero, y cocción de la cuajada durante 45 minutos por agregado de agua a 60 - 70° C con agitación, elevando la temperatura de la cuajada a 38° - 40° C.
- 7) Prepresado de la cuajada durante 30 minutos con una temperatura de salida de la prensa de 36 - 37° C.
- 8) Presado de los quesos, con 4 vueltas de prensa realizadas cada hora, con un descenso de la temperatura de la masa a 32 - 33° C.
- 9) Enfriamiento de los quesos por inmersión en agua a 10 - 12° C durante 12 a 14 horas.
- 10) Salazón de los quesos por inmersión en salmuera a 20 - 22° Baumé (Bé) durante 48 horas a 12° C.
- 11) Maduración en cámara a 10° C.

1.2 Elaboración en Planta Piloto

El segundo grupo de experiencias se desarrolló en la Planta Piloto del LATU y comprendió la elaboración de dos partidas de queso Dambo. Se utilizó una tina quesera experimental de 120 litros de capacidad útil, construída en acero inoxidable, e instrumentos de corte manual y moldes plásticos con tela para desuerar en poliéster puro de 250 x 130 x 160 mm con una capacidad de 2 Kg aproximadamente. La partida identificada como N° 1 fue elaborada con leche seleccionada de excelente calidad recibida directamente del establecimiento productor. La partida identificada como N° 2 fue elaborada con leche de mezcla proveniente de una fábrica, higienizada y enfriada previamente a ser elaborada en la Planta Piloto. Antes de su utilización todos los equipos y útiles fueron lavados e higienizados con una solución de hipoclorito con 30 ppm de cloro residual.

La leche fue pasteurizada 30 minutos a 63 - 65° C, luego enfriada a 31° C, temperatura a la cual se agregó 1,25% de fermento láctico provisto por el Banco de Fermentos del LATU y posteriormente se adicionaron 2,5 g de cuajo en polvo para producir la coagulación.

Luego de realizado el corte de la cuajada y desuerado parcial, se realizó la cocción con agregado de agua a 68° C, manteniendo la temperatura de cocción a 38° C. Se prepresó durante 40 minutos, descendiendo la temperatura de la masa de 38° C a 29° C en la elaboración N° 1 y a 33° C en la elaboración N° 2.

Se introdujo la masa en los moldes y se prensó durante 2 horas. La temperatura final de la masa fue en la elaboración N° 1 de 27° C y en la N° 2 de 30,5° C.

Se mantuvieron los quesos en agua a 6° C durante 12 horas y en salmuera de 18° Bé a 10° C durante 48 horas.

Los quesos se maduraron a 10° C durante 60 días.

2. *Extracción de muestras*

La extracción de muestras fue realizada en diversas etapas del proceso, teniendo en cuenta los posibles puntos de contaminación y las temperaturas y los tiempos transcurridos en estas etapas.

- 2.1 Las muestras de leche y cuajada fueron extraídas asepticamente en recipientes estériles, enfriadas inmediatamente entre 0 y 4° C y transportadas al Laboratorio en embalaje isotérmico con hielo, donde fueron analizadas antes de transcurridas las 8 horas desde el momento de la extracción.
- 2.2 Desde el momento de la salida de la prensa, se muestrearon hormas completas de queso, muestras que luego de enfriadas entre 0 y 4° C fueron transportadas al Laboratorio en embalaje isotérmicos y analizadas dentro de las 8 horas siguientes.
- 2.3 Los puntos de extracción fueron los siguientes, dependiendo de las condiciones de cada fábrica:
 - leche cruda de mezcla a la llegada a la usina.
 - leche pasteurizada a la salida de pasteurizador.
 - leche a la entrada a la tina quesera.
 - tina llena de leche.
 - final de la cocción de la cuajada.
 - salida de la pre prensa.
 - salida de la prensa.
 - salida de la salmuera.
 - diferentes tiempos de maduración a 10° C (15, 30 y 45 días)

3. *Metodología analítica*

3.1 *Preparación de las muestras*

3.1.1 *Muestra de leche:*

Se procedió a agitar vigorosamente la muestra de acuerdo a las indicaciones del "Standard Methods for the Examination of Dairy Products" (2).

Inmediatamente se transfirieron asepticamente 11 mililitros de leche a 99 mililitros de agua fosfatada tamponada estéril (2) agitando como ya descrito, de manera de obtener una dilución de 1 en 10. Se prepararon las sucesivas diluciones transfiriendo asepticamente 11 mililitros de la dilución anterior a 99 mililitros de agua fosfatada tamponada.

3.1.2 Muestras de cuajada y de queso:

De cada unidad de muestra, mediante caladores estériles, y eliminando la capa superficial, se procedió a tomar 11 gramos representativos de la misma.

Se colocó esta cantidad en bolsas especiales de polietileno estériles, se agregaron 99 mililitros de una solución acuosa al 2% de citrato de sodio estéril como diluyente, de manera de obtener una dilución de 1 en 10, y se homogenizó la muestra durante 1 minuto en un Stomacher Lab Blender 400 (11). Luego de un tiempo de revivificación de 30 minutos se prepararon las sucesivas diluciones, transfiriendo asépticamente 11 ml de la dilución anterior a 99 ml del mismo diluyente.

3.2 Recuento total de microorganismos mesófilos (Rto. total)

En placas de Petri estériles (10 x 100 mm) se colocó, por duplicado, 1 ml de las diferentes diluciones de la muestra de leche homogenizada como en 3.1.1. De inmediato se adicionaron aproximadamente 10 a 12 ml de Agar para Cuenta Standard (2) a 45 - 50° C. Se mezcló la muestra plaqueada por suave agitación, se dejó enfriar sobre una superficie fresca y horizontal, y una vez solidificado se cubrió la superficie con 3 a 5 ml de suspensión de agar agar estéril al 15 por 1000 a 45 - 50° C.

Luego de solidificado el medio, se invirtieron las placas y se incubaron a 32° C durante 48 horas.

Terminada la incubación, se contaron las placas que presentaron entre 30 y 300 colonias. Se multiplicó el resultado del promedio de las placas en duplicado por el factor dilución, y se expresó este resultado por mililitro de leche.

3.3 Recuento total de gérmenes termodúricos

Las muestras de leche fueron sometidas a una pasterización a 62,8° C durante 30 minutos. Se enfriaron inmediatamente y se procedió como en 3.2.

3.4 Determinación del Número Más Probable (NMP) de Coliformes Totales

Se procedió a la preparación de la muestra y de las sucesivas diluciones como descrito en el numeral 3.1.2 . Se empleó como medio de cultivo el Caldo Lauril Sulfato Triptosa (1) distribuido en tres series de tres tubos, conteniendo cada uno 10 ml de medio y campana de Durham. En la primera serie se sembró 1 ml de la dilución 1:10, en la segunda serie 1 ml de la dilución 1:100 y en la tercera serie 1 ml de la dilución 1:1000.

Se agitaron los tubos y se incubaron a 32° C durante 48 horas. Al término de este período se consideraron positivos todos los tubos que mostraron formación de gas. Se calculó el Número Más Probable empleando las tablas correspondientes, referido a un gramo de producto.

3.5 Determinación del Número Más Probable (NMP) de Coliformes Fecales

Se procedió a la determinación del NMP de coliformes totales como ya descrito en 3.4. De cada tubo que mostró formación de gas se transfirió un ansa a un tubo conteniendo 10 ml de Caldo E-C (1) y campana de Durham. Se agitaron los tubos y se incubaron en baño María a 44,5° C durante 48 horas.

Al término de este período se consideraron positivos todos los tubos que mostraron formación de gas. Se calculó el Número Más Probable de coliformes fecales empleando las tablas correspondientes, referido a un gramo de producto.

3.6 Recuento total de gérmenes Coliformes

Se procedió a la preparación de las muestras y de las sucesivas diluciones como en 3.1.1 y 3.1.2 . En placas de Petri estériles (10 x 100 mm) se colocó, por duplicado, 1 ml de las diferentes diluciones de la muestra. De inmediato se adicionaron aproximadamente 10 a 12 ml de Agar Lactosado Biliado al Cristal Violeta y al Rojo Neutro (2) a 45 - 50° C. Se mezcló la muestra plaqueada con el medio por suave agitación, se dejó enfriar sobre una superficie fresca y horizontal, y una vez solidificado se cubrió la superficie con 3 a 5 ml del mismo medio estéril.

Luego de solidificado el medio, se invirtieron las placas y se incubaron a 32° C durante 18 a 24 horas.

Terminada la incubación, se contaron las placas que presentaron entre 30 y 300 colonias rojas de diámetro mayor a 0,5 mm.

Se multiplicó el resultado del promedio de las placas en duplicado por el factor de dilución, y se expresó este resultado por mililitro o por gramo de producto.

3.7 Determinación del Número Más Probable (NMP) de Estafilococos

Se procedió a la preparación de la muestra y de las sucesivas diluciones como en 3.1.1 y 3.1.2. Se empleó como medio de cultivo el Caldo Trypticase Soja con 10% de NaCl (1) distribuido en tres series de tres tubos conteniendo cada uno 10 ml de medio. En la primera serie se sembró 1 ml de la dilución 1:10, en la segunda 1 ml de la dilución 1:100, y en la tercera 1 ml de la dilución 1:1000. Se agitaron los tubos y se incubaron durante 48 horas a 35° C. Al término de este período se consideraron como positivos todos los tubos que mostraron crecimiento.

De cada tubo positivo se transfirió un ansa a una placa independiente de agar Vogel-Johnson (1) sembrándola por estría.

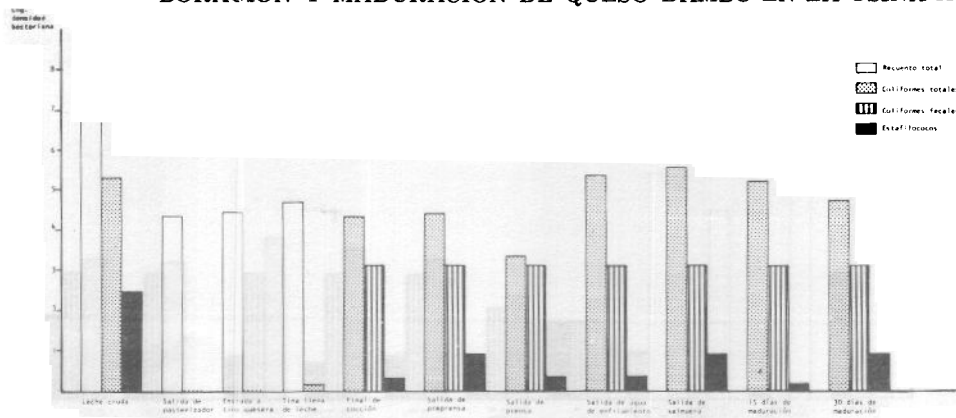
Se incubaron las placas a 35° C durante 48 horas. Se consideraron como positivas todas las placas que mostraron colonias típicas de estafilococos que hubieran fermentado el manitol y reducido el telurito. A partir de las placas positivas se calculó el Número Más Probable de Estafilococos empleando las tablas correspondientes y refiriéndolo a un mililitro o a un gramo de producto.

RESULTADOS

1. Primer grupo de experiencias

El *GRAFICO 1* muestra la evolución de las diferentes poblaciones estudiadas durante la elaboración y maduración de queso Dambo, realizada en la usina A en condiciones similares a las de las elaboraciones regulares de esa fábrica. El agua de cocción y de enfriamiento no fueron cloradas, presentando la primera una contaminación de 3 gérmenes coliformes por 100 mililitros, y el agua de enfriamiento más de ($>$) $1,1 \times 10^3$ gérmenes coliformes totales y fecales por 100 ml.

GRAFICO 1.- EVOLUCION DE DIFERENTES POBLACIONES DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE QUESO DAMBO EN LA USINA A.



Recuento total: La pasteurización disminuye la contaminación total de 3×10^7 gérmenes por ml en la leche cruda a 3×10^4 ger/ml, número que se mantiene en los resultados de los análisis realizados sobre las muestras extraídas de la tina llena de leche, no existiendo contaminación agregada ni reproducción significativa en esta etapa.

Coliformes totales: El número de coliformes disminuye por la pasteurización de 3×10^5 ger/ml en la leche cruda a niveles no detectables, pero comienzan a ser detectados nuevamente en la tina llena de leche. Luego de la cocción de la cuajada detectamos 3×10^4 ger/g, número que se eleva hasta 3×10^5 ger/g a la salida del enfriamiento y hasta 5×10^5 ger/g a la salida de la salmuera.

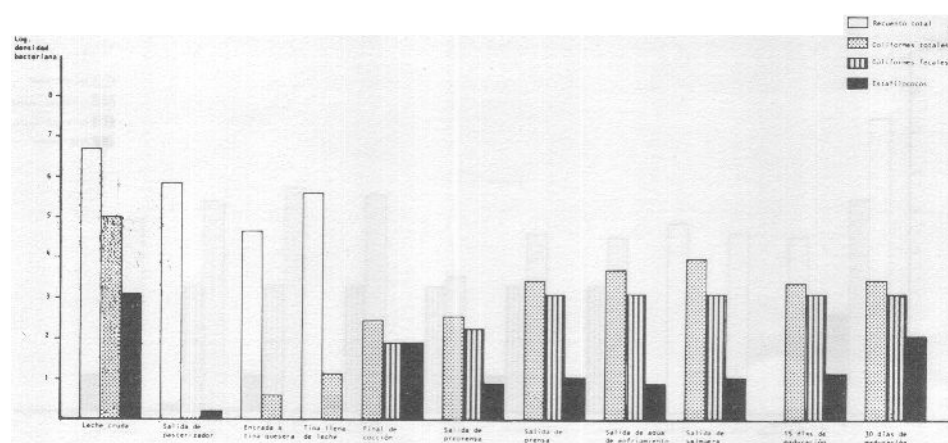
Durante la maduración, este número disminuye hasta llegar a 7×10^4 ger/g a los 30 días de almacenamiento a 10° C.

Coliformes fecales: Se comienzan a detectar al final de la cocción, donde observamos $>1,1 \times 10^3$ /g, límite superior de la técnica analítica utilizada. Este número se mantiene hasta los 30 días de maduración.

Estafilococos: La pasteurización disminuye el número de $4,6 \times 10^2$ ger/ml en la leche cruda a niveles no detectables. Comienzan a aparecer al final de la cocción y se mantienen en niveles bajos hasta los 30 días de maduración.

El **GRAFICO 2** muestra la evolución de las mismas poblaciones estudiadas durante la elaboración y maduración de queso Dambo, realizada en la usina B. En este proceso se higienizaron las tinas y utensilios con agua clorada (30 p.p.m.) y se cloró el agua de cocción y de enfriamiento. El resto de la línea de producción funcionó de manera similar a las elaboraciones regulares de esa fábrica, sin otro tratamiento especial.

GRAFICO 2.- EVOLUCION DE DIFERENTES POBLACIONES DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE QUESO DAMBO EN LA USINA B.



Recuento total: La pasteurización disminuye la contaminación total solamente de 7×10^6 ger/ml en la leche cruda a 8×10^5 ger/ml; número que se mantiene en las muestras extraídas de la tina llena de leche. Vemos que la reducción de microorganismos durante la pasteurización es poco significativa, de donde surge el importante rol que juega la presencia de gérmenes termodúricos (que en la leche cruda correspondiente totalizaron 5×10^4 ger/ml) sobre la mayor o menor eficacia de la pasteurización.

Coliformes totales: El número de coliformes disminuye por acción de la pasteurización de 1×10^5 ger/ml en la leche cruda a niveles no detectables. Comenzamos a detectarlos nuevamente a la salida de la cañería que llena la tina quesera, de donde surge la importancia de una buena higiene de cañerías que impida el agregado de microorganismos luego de la pasteurización. Los coliformes van aumentando progresivamente hasta llegar a niveles de 1×10^4 ger/g a los 15 y 30 días de maduración.

Coliformes fecales: Se comienzan a detectar al final de la cocción, donde observamos 9×10^1 ger/g, llegando a los valores máximos detectables ($> 1,1 \times 10^3$ ger/g) a la salida de la prensa, manteniéndose en estos niveles hasta los 15 y 30 días de maduración.

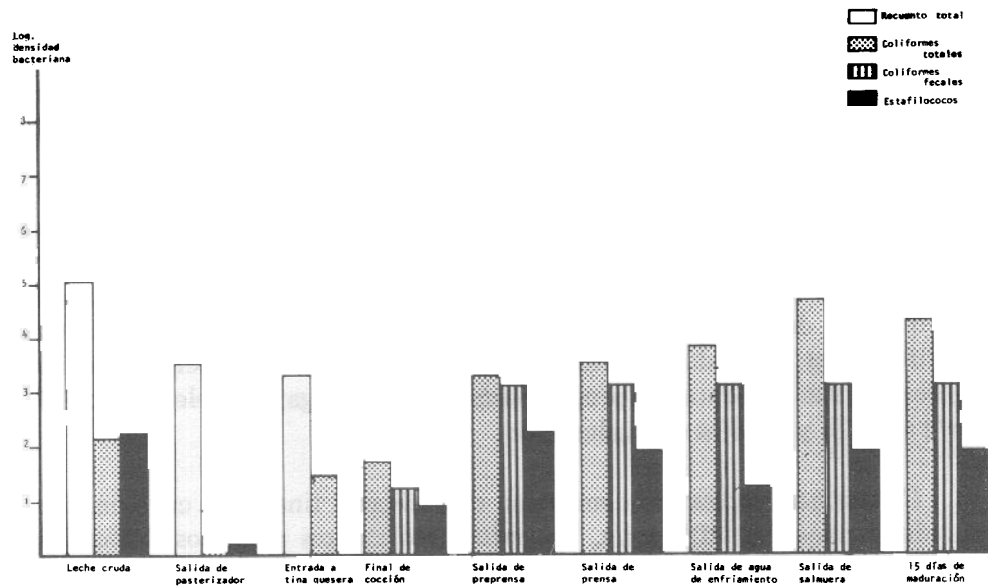
Estafilococos: En este caso, la pasteurización disminuye el número de $1,1 \times 10^3$ ger/ml en la leche cruda a niveles no detectables a la salida del pasteurizador. Se comienzan a detectar nuevamente al final de la cocción (9×10^1 ger/g). Esta población se comporta irregularmente durante las diferentes etapas de la elaboración alcanzando valores de 1×10^2 ger/g a los 30 días de maduración.

El *GRAFICO 3* muestra la evolución de las mismas poblaciones durante la elaboración y maduración de queso Dambo en la usina C. En este proceso se higienizaron las tinas y utensilios con agua clorada (30 p.p.m.) y se efectuó la limpieza de las cañerías. El agua de cocción y de enfriamiento no fueron cloradas, presentando el agua de fábrica una contaminación de $6,4 \times 10^1$ coliformes totales por 100 ml y de $3,9 \times 10^1$ coliformes fecales por 100 ml.

Recuento total: Con la pasteurización disminuye la contaminación total de 1×10^5 ger/ml en la leche cruda a 5×10^3 ger/ml, número que se mantiene a la entrada de la tina quesera, no existiendo contaminación agregada en esta etapa.

Coliformes totales: La pasteurización reduce los coliformes totales de $1,5 \times 10^2$ ger/ml en la leche cruda a valores no detectables a la salida del pasteurizador.

GRAFICO 3.- EVOLUCION DE DIFERENTES POBLACIONES DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE QUESO DAMBO EN LA USINA C.



Comenzamos a detectar nuevamente gérmenes coliformes a la entrada de la tina quesera ($4,8 \times 10^1$ ger/ml), los que van aumentando progresivamente en las distintas etapas del proceso, para alcanzar 3×10^4 ger/g a los 15 días de maduración.

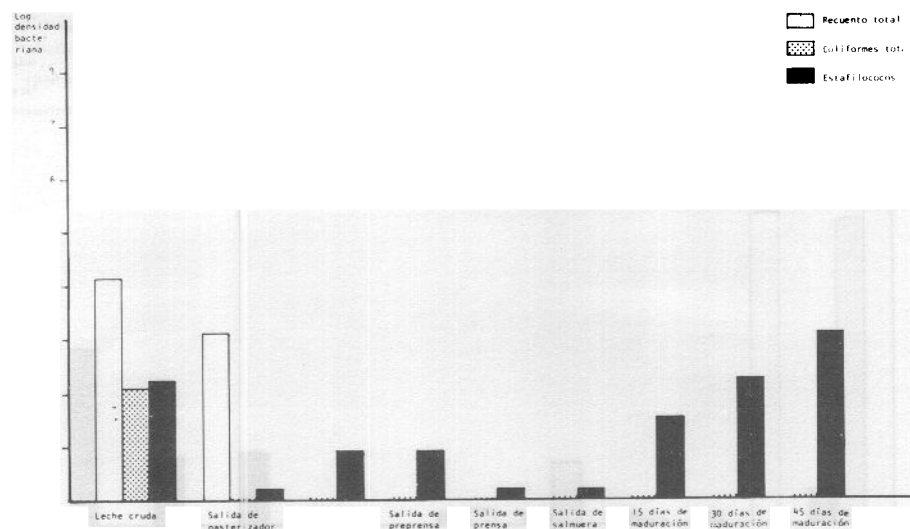
Coliformes fecales: Comenzamos a detectarlos al final de la cocción, donde encontramos valores de $2,3 \times 10^1$ ger/g, de donde surge la importancia de disponer en las fábricas de agua de buena calidad bacteriológica que no agregue gérmenes indeseables al ser incluida en el proceso de elaboración.

Estafilococos: La contaminación por estafilococos disminuye por acción de la pasteurización de $2,4 \times 10^2$ ger/ml en la leche cruda a niveles no detectables. Comenzamos a detectarlos nuevamente en las muestras extraídas al final de la cocción ($0,9 \times 10^1$ ger/g), aumentan a $2,4 \times 10^2$ ger/g a la salida de la prerensa, para luego descender a 9×10^1 ger/g a la salida de la prensa y mantenerse en estos valores hasta el final de la maduración.

2. Segundo grupo de experiencias

El GRAFICO 4 muestra los resultados obtenidos durante la elaboración y maduración de la partida N° 1 de queso Dambo realizada en la Planta Piloto del LATU.

GRAFICO 4.- EVOLUCION DE DIFERENTES POBLACIONES DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE LA PARTIDA No. 1 DE QUESO DAMBO EN LA PLANTA PILOTO DEL LATU.



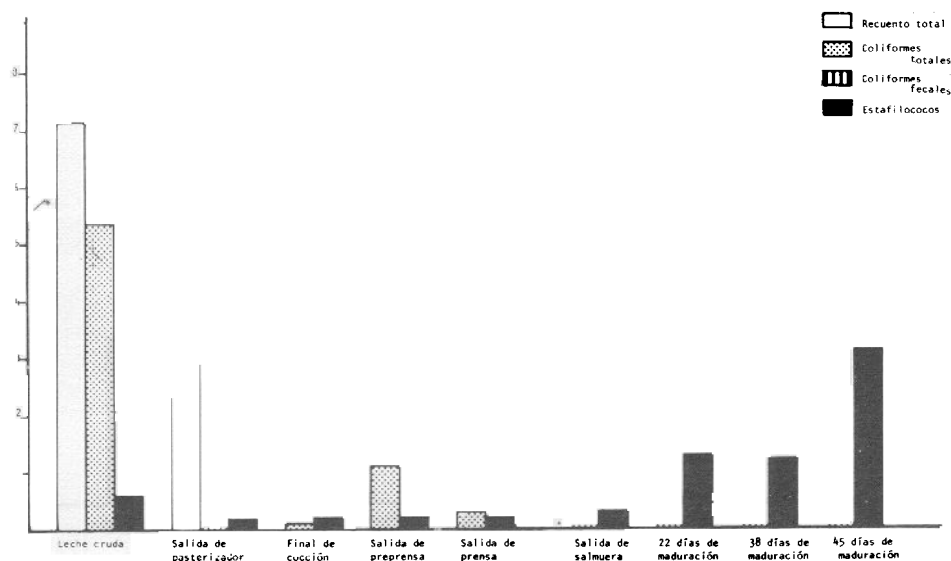
Recuento total: Observamos que la leche cruda utilizada es de excelente calidad microbiológica, con un recuento de gérmenes totales de $1,5 \times 10^4$ /ml. La pasteurización disminuye la contaminación total a $1,2 \times 10^3$ ger/ml.

Coliformes totales: La pasteurización disminuye el número de coliformes totales de 1×10^2 /ml en la leche cruda a niveles no detectables. En el transcurso de la elaboración y maduración observamos que los coliformes totales permanecen siempre en niveles no detectables.

Estafilococos: En este caso la pasteurización disminuye el número de estafilococos de $2,4 \times 10^2$ /ml en la leche cruda a niveles no detectables. Comenzamos a detectarlos nuevamente en la cuajada al final de la cocción, donde se registran valores de $0,9 \times 10^1$ ger/g. Los estafilococos se mantienen en niveles bajos hasta los 15 días de maduración ($5,3 \times 10^1$ ger/g), para luego aumentar paulatinamente hasta alcanzar más de 1.1×10^3 ger/g a los 45 días de maduración.

El **GRAFICO 5** muestra los resultados obtenidos durante la elaboración y maduración de la partida N° 2 de queso Dambo realizada en Planta Piloto. En esta experiencia no se cloró el agua de enfriamiento ni la salmuera, demostrando los análisis microbiológicos que eran de excelente calidad.

GRAFICO 5.- EVOLUCION DE DIFERENTES POBLACIONES DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE LA PARTIDA No. 2 DE QUESO DAMBO EN LA PLANTA PILOTO DEL LATU.



Recuento total: La contaminación total de la leche cruda disminuye por acción de la pasteurización de $1,3 \times 10^7$ ger/ml a $4,6 \times 10^5$ ger/ml. Observamos una mayor contaminación inicial de la leche cruda que en la utilizada para la elaboración de la partida No. 1, ya que en este caso no se utilizó leche de un productor seleccionado sino leche de mezcla proveniente de una usina.

Coliformes totales: La pasteurización disminuye la cuenta de coliformes totales de $3,7 \times 10^5$ /ml en la leche cruda a niveles no detectables. Comenzamos a detectarlos nuevamente en la cuajada al final de la cocción, llegando a niveles de $1,1 \times 10^1$ ger/g a la salida de la pre prensa. Disminuyen nuevamente a la salida de la prensa, donde detectamos $0,3 \times 10^1$ ger/g, para luego permanecer en niveles no detectables desde la salida de la salmuera hasta los 45 días de maduración.

Coliformes fecales: Se analizaron solamente en las muestras provenientes de la salida de la pre prensa, donde no se detectaron.

Estafilococos: La pasteurización disminuye el número de estafilococos de $0,6 \times 10^1$ /ml en leche cruda a niveles no detectables. Comenzamos a detectarlos nuevamente a la salida de la salmuera con valores de $0,3 \times 10^1$ ger/g, que se incrementan paulatinamente hasta alcanzar valores máximos de más de $1,1 \times 10^3$ ger/g a los 45 días de maduración.

El **CUADRO 2** muestra el número de muestras y nivel de contaminación por gérmenes coliformes durante la elaboración y maduración de queso Dambo. Los valores fueron obtenidos de tres elaboraciones regulares de queso realizadas en cada una de las usinas estudiadas durante 18 meses.

CUADRO 2.- NUMERO DE MUESTRAS Y NIVEL DE CONTAMINACION POR GERMENES COLIFORMES DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE QUESO DAMBO.

Microorganismos por mililitro o por gramo	Leche Cruda	NUMERO DE MUESTRAS (*)								
		Salida Pasterizador	Entrada Tina Quesera	Tina Quesera Llena	Cuajada Final Cocción	Salida Pre - Prensa	Salida de Prensa	Salida del Enfriamiento	Salida de Salmuera	30 días de Maduración
< 3	1	6	6	3	1	0	0	0	0	0
3 - 99	1	2	2	5	4	0	0	0	0	1
100 - 4.999	1	1	1	1	3	7	5	3	3	4
5.000 - 49.999	0	0	0	0	1	2	4	4	4	3
50.000 - 499.999	4	0	0	0	0	0	0	2	1	1
≥ 500.000	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0
TOTAL	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9

(*) Valores obtenidos en los controles de tres elaboraciones de queso, realizadas en cada una de las tres usinas estudiadas.

1. En la columna correspondiente a la leche cruda observamos que del total de 9 muestras, 4 presentaron entre 50.000 y 499.999 coliformes por ml, 2 muestras más de 500.000 por ml, y sólo 3 muestras menos de 5.000 por ml, independientemente de la época del año.
2. En la leche pasterizada observamos que del total de 9, 6 muestras no contenían coliformes detectables por ml (67% del total), 2 muestras contenían menos de 100 por ml, y sólo 1 muestra entre 100 y 4.999 por ml.

Vemos, entonces, que aún con valores elevados de contaminación por coliformes en la leche cruda, obtenemos en la mayoría de los casos valores aceptables en la leche pasterizada.

3. Durante la permanencia en la tina quesera y durante la coagulación de la cuajada, los coliformes se mantuvieron entre <3 y 4.999 por ml o por g, hecho que demuestra que en esta etapa del proceso la contaminación agregada y la reproducción no fueron significativas.
4. Entre el final de la cocción y la salida de la preprensa ocurre un aumento apreciable en el número de coliformes por gramo.
5. A la salida de la preprensa, de las 9 muestras analizadas 7 presentaron una contaminación entre 100 y 4.999 coliformes por gramo, mientras que 2 muestras contenían entre 5.000 y 49.999 coliformes por gramo.

6. A partir de la salida de la prensa, y hasta los 30 días de maduración, el nivel de contaminación por coliformes se mantiene casi constante, distribuido entre 100 y 50.000 gérmenes por gramo.

El CUADRO 3 muestra el número de muestras y nivel de contaminación por coliformes fecales durante la elaboración y maduración de queso Dambo. Los valores fueron obtenidos durante las elaboraciones de queso analizadas en el CUADRO 2. Los datos obtenidos figuran a partir de la cocción de la cuajada, ya que los valores de coliformes fecales anteriores a esta etapa no fueron detectables por la técnica utilizada.

CUADRO 3.- NUMERO DE MUESTRAS Y NIVEL DE CONTAMINACION POR COLIFORMES FECALES DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE QUESO DAMBO.

Microorganismos por mililitro o por gramo	NUMERO DE MUESTRAS (*)					
	Cuajada final cocción	Salida pre-prensa	Salida de prensa	Salida de enfriamiento	Salida de salmuera	30 días de maduración
<3	1	0	0	0	0	0
3 - 49	4	3	0	2	1	1
50 - 149	2	0	2	0	0	0
150 - 499	1	3	1	0	0	0
500 - 1.100	0	2	1	1	0	1
> 1.100	1	1	5	6	8	7
TOTAL	9	9	9	9	9	9

(*) Valores obtenidos en los controles de tres elaboraciones de queso, realizadas en cada una de las tres usinas estudiadas.

1. En la columna correspondiente al final de la cocción, observamos que 7 de 9 muestras presentaban contaminación por coliformes fecales menor a 150 ger/g.
2. A la salida de la pre-prensa, 6 de 9 muestras presentaban una contaminación mayor de 150 ger/gramo, de donde se deduce que un gran desarrollo de coliformes fecales o contaminación agregada por estos gérmenes se produciría en esta etapa.

3. A la salida de la prensa, 5 de 9 muestras presentaban una contaminación mayor de 1.100 ger/gramo, siendo por lo tanto las etapas comprendidas entre el final de la cocción y la salida de la prensa las más favorables para el desarrollo de estos gérmenes.
4. Desde la salida del agua de enfriamiento, más del 65% de las muestras presentaban una contaminación por coliformes fecales de más de 1.100 ger/g. porcentaje que, con ligeras oscilaciones, se mantiene hasta los 30 días de maduración.

El CUADRO 4 muestra el número de muestras y nivel de contaminación por estafilococos durante las elaboraciones de queso analizadas en los CUADROS 2 y 3.

CUADRO 4.- NUMERO DE MUESTRAS Y NIVEL DE CONTAMINACION POR ESTAFILOCOCOS DURANTE LA ELABORACION Y MADURACION DE QUESO DAMBO.

Microorganismos por mililitro o por gramo	NUMERO DE MUESTRAS (*)								
	Leche Cruda	Salida Pasterizador	Cujada final cocción	Salida pre-prensa	Salida de prensa	Salida del enfriamiento	Salida de salmuera	30 días de maduración	
<3	0	6	3	0	1	1	3	0	
3 - 49	1	3	4	6	6	8	5	5	
50 - 149	0	0	1	0	1	0	1	2	
150 - 499	4	0	1	3	1	0	0	2	
500 - 1.100	1	0	0	0	0	0	0	0	
> 1.100	3	0	0	0	0	0	0	0	
TOTAL	9	9	9	9	9	9	9	9	

(*) Valores obtenidos en los controles de tres elaboraciones de queso, realizadas en cada una de las tres usinas estudiadas

1. La leche cruda presenta una contaminación por estafilococos que oscila entre 150 y más de 1.100 ger/ml para el 89% de las muestras.
2. Luego de la pasterización, en el 67% de las muestras no se detectan estafilococos viables. El 78% de las muestras contiene menos de 50 ger/ml, porcentaje que aproximadamente se mantiene hasta el final de la cocción de la cuajada.
3. A la salida de la preprensa, en las etapas posteriores y hasta los 30 días de maduración, los estafilococos se mantienen en niveles no muy elevados, sin una tendencia definida.

DISCUSION

Los resultados obtenidos durante las tres elaboraciones regulares en usinas y las dos elaboraciones en la Planta Piloto del LATU demuestran:

1. La pasterización disminuye la contaminación inicial de la leche cruda, independientemente de su calidad.

Recuento total: disminuye de manera variable, entre 10 a 1000 veces, coincidiendo con los resultados de gérmenes termodúricos obtenidos en nuestro laboratorio sobre la leche cruda correspondiente. Se demuestra el importante rol que juega la presencia de gérmenes termodúricos sobre la mayor o menor eficacia de la pasterización y sobre la obtención de leche pasterizada de buena o mala calidad.

Coliformes totales y estafilococos: La pasterización disminuye el recuento de coliformes y de estafilococos a valores no detectables en la mayoría de los casos (67%).

2. En las etapas comprendidas entre la pasterización y la cocción de la cuajada, las diferentes poblaciones estudiadas se comportan de la manera siguiente:

Coliformes totales: En estas etapas comienzan a detectarse los gérmenes coliformes, en algunas elaboraciones ya desde la cañería que llena la tina, en otras en la cuajada al final de la cocción.

Solamente en la elaboración de la partida No. 1 de la Planta Piloto, en la que se observaron estrictas medidas de higiene, y en la que la cloración abarcó el agua de cocción, el agua de enfriamiento y la salmuera, los coliformes no se detectaron en ninguna etapa del proceso.

Coliformes fecales: Comienzan a detectarse al final de la cocción de la cuajada, excepto en las 2 elaboraciones de Planta Piloto, en las cuales los coliformes fecales no son detectables en ninguna etapa del proceso.

Surge entonces la importancia de trabajar con estrictas condiciones de higiene y de disponer en las fábricas de agua de buena calidad bacteriológica.

Estafilococos: Se nota un ligero aumento de los estafilococos en estas etapas.

3. En las etapas comprendidas entre el preensado y el final de la maduración, las diferentes poblaciones estudiadas se comportan de la manera siguiente:

Coliformes totales: Aumentan progresivamente llegando a valores máximos a la salida de la salmuera, con un ligero descenso durante la maduración. Durante la elaboración de la partida No. 2 en Planta Piloto, los coliformes aumentan ligeramente a la salida de la pre prensa, para disminuir luego hasta hacerse no detectables desde la salida de la salmuera.

Coliformes fecales: En la mayoría de las muestras analizadas durante las elaboraciones en usinas, los coliformes fecales llegan al máximo detectable a la salida de la prensa, pareciendo ser las etapas de preensado y de prensado las más favorables para el desarrollo de los coliformes fecales.

Estafilococos: Se mantienen de forma irregular, generalmente en niveles bajos, hasta el final de la maduración, excepto en las experiencias piloto del LATU en las que aumentan progresivamente hasta alcanzar los valores máximos detectables al final de la maduración. La evolución de los estafilococos durante la elaboración y maduración de queso Dambo deberá ser estudiada más exhaustivamente para poder extraer conclusiones significativas.

CONCLUSIONES

1. La calidad microbiológica inicial de la leche cruda condiciona la calidad del producto final, sobre todo por la presencia de gérmenes termodúricos que disminuyen la eficacia de la pasteurización.
2. El nivel de contaminación del queso con gérmenes coliformes y coliformes fecales está íntimamente relacionado con las condiciones higiénico-sanitarias de su elaboración. Los puntos de contaminación más frecuentes parecen ser las cañerías y el agua de cocción, y las etapas más favorables para su reproducción las de preensado y prensado.
3. Si se observan estrictamente las "Buenas Prácticas de Manufactura" se podría controlar el nivel de contaminación final del queso Dambo, sobre todo en lo que respecta a gérmenes coliformes y coliformes fecales.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Sr. César Mario Gretter la colaboración prestada durante la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - American Public Health Association, Inc. 1976. Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods.
- 2 - American Public Health Association, Inc. 1978. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Fourteenth edition.
- 3 - Collins, D.L., et al. 1977. Microbiological standards for cheese: survey and view point of the Canadian Health Protection Branch. Journal of Food Protection 40:411.
- 4 - Garbarska, T. 1973. Criteria for the evaluation of dairy products submitted for award of quality mark. Przegląd Mleczarski, Poland 22:9.
- 5 - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1978.
- 6 - Laboratorio Tecnológico del Uruguay. 1981. Exportaciones de Productos Lácteos en 1980. Circular informativa No. 69.
- 7 - Marier, R., Wells, J.G., Seanson, R.C., Callahan, W., and I.J. Mehlman. 1973. An outbreak of enteropathogenic *Escherichia coli* foodborne disease traced to imported French cheese. Lancet 2:1376.
- 8 - Microbiological Specifications for Foods. Report of the Second Joint FAO/WHO Expert Consultation. 1977.
- 9 - Ministerio de Salud de Chile. Proyecto de Reglamento Sanitario de Alimentos. 1978.
- 10 - Nielsen, V.H. 1976. More research needed on contamination by coliform bacteria. American Dairy Review 38:50.
- 11 - Sharpe, A.N., and A.K. Jackson. 1972. Stomaching: a new concept in bacteriological sample preparation. Applied Microbiology 24: 175.

MONOGRAFIAS PUBLICADAS

Serie Microbiología

Efecto de la irradiación sobre la contaminación
microbiológica de los productos chacinados.
G. Verger, M. Piñeiro, E. Marchelli, A.M.
Dovat. Agosto 1980.

**Comisión del Papel - Edición impresa al amparo del Art. 79 de la Ley 13.349
Depósito Legal 176.380/82**

**Imprenta rosgal s.a.
Gral. Urquiza 3090
Teléfono 80 05 29**

LABORATORIO TECNOLÓGICO DEL URUGUAY (LATU)

DIRECCION: GALICIA 1133

TELEFONOS: 98 44 32 y 90 63 86

MONTEVIDEO — URUGUAY