



REPÚBLICA DEL ECUADOR
UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTA DE POSGRADO
INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:
MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

TEMA:

Evaluación de la eficacia de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) para reducir la contaminación microbiana en una quesera de Santo Domingo de los Tsachilas - Ecuador

AUTOR:

Ponce Altamirano Darwin Rolando

TUTOR:

MSc. María Fernanda Garcés Moncayo

Milagro, 2024

Derechos de Autor

Sr. Dr.

Fabricio Guevara Viejó

Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Yo, **Darwin Rolando Ponce Altamirano**, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de este informe de investigación, mediante el presente documento, libre y voluntariamente cedo los derechos de Autor de este proyecto de desarrollo, que fue realizada como requisito previo para la obtención de mi Grado, de **Magíster en Biotecnología**, como aporte a la Línea de Investigación de conformidad con el Art. 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, concedo a favor de la Universidad Estatal de Milagro una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservo a mi favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Milagro para que realice la digitalización y publicación de este Proyecto de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.

Milagro, 30 de octubre del 2024



Firmado electrónicamente por:
**DARWIN ROLANDO
PONCE ALTAMIRANO**

Darwin Rolando Ponce Altamirano

C.I.: 1718147190

Aprobación del Tutor del Trabajo de Titulación

Yo, **María Fernanda Garcés Moncayo**, en mi calidad de tutor del trabajo de titulación, elaborado por **Darwin Rolando Ponce Altamirano**, Evaluación de la eficacia de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) para reducir la contaminación microbiana en una quesera de Santo Domingo de los Tsachilas - Ecuador, que aporta a la Línea de Investigación **Soberanía alimentaria y agrobiodiversidad**, previo a la obtención del Grado **Magíster en Biotecnología**. Trabajo de titulación que consiste en una propuesta innovadora que contiene, como mínimo, una investigación exploratoria y diagnóstica, base conceptual, conclusiones y fuentes de consulta, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos necesarios para ser sometido a la evaluación por parte del tribunal calificador que se designe, por lo que lo **APRUEBO**, a fin de que el trabajo sea habilitado para continuar con el proceso de titulación de la alternativa de Informe de Investigación de la Universidad Estatal de Milagro.

Milagro, 30 de octubre del 2024



MSc. María Fernanda Garcés Moncayo

C.I.: 1803571577

Certificación de Defensa



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO FACULTAD DE POSGRADO CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA**, presentado por **BQF. PONCE ALTAMIRANO DARWIN ROLANDO**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ORÉGANO (ORIGANUM VULGARE) Y ROMERO (ROSMARINUS OFFICIALIS) PARA REDUCIR LA CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN UNA QUESERA DE SANTO DOMINGO DE LOS TSACHILAS - ECUADOR", las siguientes calificaciones:

TRABAJO ESCRITO	56.00
SUSTENTACIÓN	40.00
PROMEDIO	96.00
EQUIVALENTE	Excelente



GUSTAVO ELIAS
MARTINEZ VALENZUELA

MARTINEZ VALENZUELA GUSTAVO ELIAS
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL



DELIA DOLORES
NORIEGA VERDUGO

Dra. NORIEGA VERDUGO DELIA DOLORES
VOCAL



CHRISTIAN MIGUEL
VILLAVICENCIO YANOS

Mgs VILLAVICENCIO YANOS CHRISTIAN MIGUEL
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL

Dedicatoria

A Dios, por darme la oportunidad de seguir alcanzando mis sueños académicos, es el quien nos guía, nos protege y nos otorga la sabiduría para tomar siempre las mejores decisiones.

A mi familia: a mi querida esposa Josselyn, a mi amado hijo Liam Emiliano y a mis padres, quienes han sido mi fuente de inspiración para superarme cada día.

Siempre están a mi lado, en los momentos difíciles, en las tristezas y en los logros.

Son testigos del sacrificio y el esfuerzo que he invertido durante estos años de estudio.

A mis valiosos y apreciados profesores, por su dedicación y por compartir conmigo su conocimiento y orientación.

Y a todas las personas que, de alguna manera, contribuyeron en la realización de este trabajo de investigación.

Agradecimientos

A la UNEMI

A la Mgs. María Fernanda Garces Moncayo
quien tiene una pasión por la enseñanza,
me guio con sus conocimientos de investigadora
para culminar la tesis con éxito.

A mis maestros, por sus sabias enseñanzas y
orientación que contribuyeron en mi formación
académica durante este año de estudio.

A todas las personas que colaboraron de diferentes
maneras en la elaboración de este trabajo de investigación.

Resumen

La contaminación microbiana en la industria alimentaria, especialmente en productos lácteos como el queso, representa un problema grave a nivel global. Factores como malas prácticas de higiene y almacenamiento inadecuado aumentan el riesgo de proliferación de microorganismos patógenos, lo que provoca enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) que afectan a millones de personas cada año. En América Latina, pequeños productores de queso artesanal, como en Ecuador, enfrentan desafíos para cumplir con estándares de seguridad alimentaria debido a la falta de acceso a tecnologías avanzadas y prácticas adecuadas de higiene. Este estudio se centró en evaluar la efectividad de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*), que presentaban una densidad de 0,973 g/cm³, pH 6 y 43 GL. Las pruebas microbiológicas demostraron que estos aceites son eficaces en la reducción de la carga microbiana en el queso fresco, mostrando una disminución significativa de patógenos peligrosos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en muestras tratadas con ellos. La implementación de estos aceites esenciales en la producción de queso fresco puede mejorar la seguridad alimentaria en la quesera estudiada. Dado que la contaminación microbiana es un problema crítico en la producción de lácteos, el uso de estos extractos naturales representa una solución sostenible para mitigar riesgos para la salud pública asociados con el consumo de queso artesanal, contribuyendo así a la calidad del producto y la competitividad del mercado.

Palabras clave: Contaminación microbiana, aceites esenciales, queso.

Abstract

Microbial contamination in the food industry, especially in dairy products such as cheese, represents a serious problem globally. Factors such as poor hygiene practices and inadequate storage increase the risk of proliferation of pathogenic microorganisms, causing foodborne illnesses (FBIs) that affect millions of people every year. In Latin America, small artisanal cheese producers, such as in Ecuador, face challenges in meeting food safety standards due to lack of access to advanced technologies and proper hygiene practices. This study focused on evaluating the effectiveness of oregano (*Origanum vulgare*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils, which had a density of 0.973 g/cm³, pH 6 and 43 GL. Microbiological tests demonstrated that these oils are effective in reducing the microbial load in fresh cheese, showing a significant decrease in dangerous pathogens such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in samples treated with them. The implementation of these essential oils in fresh cheese production can improve food safety in the studied cheese factory. Since microbial contamination is a critical problem in dairy production, the use of these natural extracts represents a sustainable solution to mitigate public health risks associated with the consumption of artisanal cheese, thus contributing to product quality and market competitiveness.

Keywords: Microbial contamination, essential oils, cheese

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Esquema del proceso de fabricación del queso fresco (Baque, 2018)	16

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Declaración de las variables (Operacionalización).....	9
Tabla 2. Evaluación Microbiológica de Aceites Esenciales de Orégano y Romero en Superficies y Queso: Reducción de Enterobacterias.....	30
Tabla 3. Evaluación Microbiológica de Aceites Esenciales de Orégano y Romero en Superficies y Queso	31
Tabla 4. Evaluación Microbiológica de Aceites Esenciales de Orégano y Romero en Superficies y Queso: Reducción de Staphylococcus aureus.....	31
Tabla 5. Evaluación Microbiológica de Aceites Esenciales de Orégano y Romero en Superficies y Queso	32
Tabla 6. Prueba de normalidad según el día de la muestra (DÍA 0 y DÍA 2)..	33
Tabla 7. Prueba de normalidad de Concentración de aceites esenciales.....	33
Tabla 8. Prueba de normalidad tipo de muestra.....	34
Tabla 9. Efectividad antimicrobiana de los aceites esenciales según su concentración.....	34
Tabla 10. Medición bacteriana en tipos de muestra.....	35

Índice / Sumario

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE FIGURA	viii
LISTA DE TABLAS.....	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO.....	10
III. METODOLOGÍA.....	23
IV. RESULTADOS.....	30
V. DISCUSIÓN.....	37
VI. CONCLUSIONES.....	38
VII. RECOMENDACIONES.....	39
REFERENCIAS	40
ANEXOS	

Introducción

En los últimos años, la contaminación microbiana en la industria alimentaria ha representado uno de los problemas más serios a nivel global. Los productos de origen animal, como el queso, son especialmente vulnerables a la proliferación de microorganismos patógenos debido a factores como malas condiciones de higiene, almacenamiento y manejo durante la producción y distribución (González et al., 2022). La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que anualmente, más de 600 millones de personas en todo el mundo padecen enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), siendo una parte considerable de estos casos atribuible a la contaminación bacteriana en productos lácteos y sus derivados, como el queso (Vásquez et al., 2018).

La contaminación microbiana no solo afecta la salud pública, sino que también genera importantes repercusiones económicas para los productores, ya que los productos contaminados deben ser retirados del mercado, resultando en pérdidas directas (Lampert, D., & Porro, S, 2020). Además, los brotes de enfermedades vinculados a alimentos contaminados disminuyen la confianza del consumidor y ponen en riesgo la viabilidad económica de la industria local. Para mitigar estos riesgos, se están explorando soluciones innovadoras que integren métodos tradicionales con alternativas naturales para el control microbiológico (Ríos et al., 2018)

En América Latina, los pequeños y medianos productores de queso artesanal enfrentan una creciente presión para elevar los estándares de seguridad alimentaria (Montero, 2017). Frecuentemente, los productores locales no tienen acceso a tecnologías avanzadas para el control microbiológico, lo que los hace susceptibles a la proliferación de microorganismos patógenos como *Salmonella*, *Listeria* y *Escherichia coli* (Moreno et al., 2024). En particular, en países como Ecuador, la producción de queso artesanal es fundamental para la economía, pero la falta de infraestructura adecuada, un control de higiene ineficaz y prácticas de fabricación deficientes aumentan el riesgo de contaminación.

La contaminación de quesos frescos puede ocurrir debido a varios factores, como la higiene del personal involucrado en el proceso, la selección, recepción y almacenamiento de la materia prima, fallos en los procesos térmicos destinados a eliminar patógenos, contaminación cruzada, manipulación del producto sin las debidas protecciones, uso de utensilios contaminados y temperaturas inadecuadas durante el almacenamiento del producto final (Arteaga et al., 2021)

Las enfermedades transmitidas por alimentos resultan de una amplia variedad de productos alimenticios contaminados por microorganismos patógenos, toxinas o sustancias químicas. Mantener una buena calidad y control de los alimentos se traduce en un ahorro significativo en costos sociales, individuales para los consumidores y para los propietarios de las industrias productoras (Benavides, 2015).

Investigaciones han señalado que el consumo de queso artesanal ha llevado a un incremento en los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) (Ríos et al., 2018), debido a deficiencias en su proceso de producción, especialmente en aspectos críticos como el uso de leche cruda, problemas en la manipulación, transporte, almacenamiento y un aumento en la humedad. Estas cuestiones dificultan el mantenimiento de un adecuado nivel de higiene, lo que impide ofrecer un producto seguro para el consumo humano.

Santo Domingo, situada en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, es conocida por su producción de quesos artesanales. Sin embargo, los productores locales se enfrentan a diversos problemas en relación con la higiene y la seguridad alimentaria. La mayoría de las queserías de la zona carecen de sistemas de refrigeración adecuados y de controles microbiológicos rigurosos. Además, la falta de conocimiento sobre prácticas de bioseguridad y la carencia de capacitación en la gestión de riesgos microbiológicos son factores que incrementan la contaminación de los productos (Merchán et al., 2019).

En este contexto, las alternativas naturales han ganado importancia. La aplicación de aceites esenciales de plantas como el orégano (*Origanum vulgare*) y el romero (*Rosmarinus officinalis*) ha demostrado ser eficaz para disminuir el crecimiento bacteriano en varios alimentos, incluyendo los productos lácteos (Nazzaro, 2017). Estas plantas contienen compuestos activos como carvacrol, timol

y ácido rosmarínico, reconocidos por sus propiedades antimicrobianas (Ortega, 2018). El uso de aceites esenciales no solo mejora la seguridad alimentaria, sino que también representa una opción sostenible y accesible para los productores locales, quienes a menudo carecen de recursos para implementar tecnologías más avanzadas (Burt, 2004). El objetivo general de esta investigación fue evaluar la eficacia de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) para reducir la contaminación microbiana en una quesera de Santo Domingo de los Tsachilas

CAPÍTULO I: El Problema de la Investigación

1.1. Planteamiento del problema

En el ámbito de la producción de queso artesanal en Ecuador, uno de los principales retos que enfrentan los pequeños productores es la contaminación microbiana, la cual impacta de manera directa la seguridad alimentaria y la calidad del producto (Sánchez, J., & Pérez, J. 2016). Este problema es persistente en los productos lácteos, especialmente en los quesos, debido a factores como un manejo inadecuado durante la producción, la ausencia de controles microbiológicos eficaces y condiciones de almacenamiento inadecuadas (Saltos et al., 2018). A pesar de que el queso artesanal es muy valorado por su sabor y calidad, también es vulnerable a la proliferación de bacterias patógenas, que pueden causar enfermedades gastrointestinales y, en algunos casos, brotes epidémicos.

Los métodos tradicionales de conservación, como la pasteurización, no siempre son accesibles ni económicamente viables para los productores locales (Merchán et al., 2019). La dependencia de conservantes artificiales o el uso de técnicas básicas no asegura la eliminación de todos los patógenos y puede afectar la calidad sensorial del queso, lo que a su vez reduce su competitividad en el mercado (Solorzano, 2021). En el caso de las queserías artesanales en ciudades como Santo Domingo, Ecuador, la falta de acceso a tecnologías avanzadas de conservación y el escaso conocimiento sobre prácticas de higiene en el proceso de producción contribuyen a que la contaminación microbiana siga siendo un problema persistente.

Un área emergente de interés en la biotecnología alimentaria es la utilización de extractos naturales con propiedades antimicrobianas, como los de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*). Estos extractos son reconocidos por sus compuestos activos, como el carvacrol, el timol y el ácido rosmarínico, que han demostrado ser efectivos contra microorganismos en diversos alimentos (Tofiño et al., 2017). Esto resalta la necesidad de realizar

estudios que validen su efectividad, optimicen las condiciones de uso y analicen su impacto en la seguridad alimentaria y la calidad del producto.

1.2. Delimitación del problema

La investigación se realizará en Santo Domingo de los Tsáchilas, una provincia de Ecuador, enfocándose en una quesera artesanal representativa de la región. Aunque se reconoce que la contaminación microbiana es un problema que afecta a muchas queserías locales, este estudio se concentrará en una en particular para obtener resultados específicos y concretos. La zona es reconocida por su producción de queso artesanal, lo que la convierte en un contexto ideal para llevar a cabo el estudio.

El periodo de estudio será de tres meses, durante los cuales se realizarán las siguientes fases:

- Evaluación inicial de la contaminación microbiana (primeros meses),
- Pruebas de actividad antimicrobiana de los extractos naturales (primer mes y segundo mes),
- Pruebas de aplicación y optimización de condiciones (mes 3),

El objetivo principal del estudio es evaluar la efectividad antimicrobiana de los aceites esenciales de orégano y romero en la prevención y disminución de la contaminación microbiana en el queso artesanal. Este estudio no considerará otros métodos de conservación de alimentos ni técnicas de control microbiológico que no utilicen aceites esenciales.

Se recogerán muestras utilizando un hisopo de los utensilios, la mesa, los moldes utilizados en la elaboración del queso y del queso ya producido en una quesera en Santo Domingo, centrándose en las principales cepas bacterianas patógenas presentes en la producción local. Los aceites esenciales se obtendrán de un laboratorio con registro sanitario, y las pruebas de actividad antimicrobiana se llevarán a cabo mediante técnicas microbiológicas reconocidas, como la técnica de

difusión en agar y la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias. (CMI).

1.3. Formulación del problema

La contaminación microbiana en los quesos elaborados en queserías representa una amenaza considerable para la salud pública y la competitividad de los productores locales (López et al., 2024). A pesar del aumento en la demanda de productos artesanales, la falta de tecnologías efectivas para el control microbiológico, como la pasteurización o el uso de conservantes artificiales, limita la capacidad de los productores para asegurar la inocuidad de sus productos (Rodríguez et al., 2019). Esta situación pone en peligro no solo la salud de los consumidores, sino también la viabilidad de la industria láctea artesanal.

Hay una carencia de estudios sobre la utilización de extractos naturales, como los de orégano y romero, para disminuir la contaminación microbiana en el queso artesanal en Ecuador. A pesar de que investigaciones anteriores han mostrado las propiedades antimicrobianas de estos extractos, su efectividad no ha sido evaluada en el contexto particular de la producción de queso en Santo Domingo. Asimismo, no se han definido parámetros claros respecto a las condiciones óptimas de uso y concentración (Sarango, 2020).

1.4. Preguntas de investigación

¿Cuál es la concentración más eficaz de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) para reducir la contaminación microbiana en los utensilios y superficies de trabajo de una quesera en Santo Domingo, Ecuador?

¿Qué impacto tienen los aceites esenciales de orégano y romero en la reducción de la contaminación microbiana en los utensilios, superficies de trabajo de una quesera y queso fresco?

1.5. Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Evaluar la eficacia de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) para reducir la contaminación microbiana en queso fresco, en una quesera de Santo Domingo – Ecuador

1.5.2 Objetivos específicos

1. Establecer la concentración óptima de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) (0.4%, 0.6%) para reducir la contaminación microbiana en los utensilios, superficies de trabajo y queso fresco en la quesera.
2. Determinar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a los patógenos identificados en el queso fresco.

a. Hipótesis

"Los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) tienen un efecto antimicrobiano significativo en la reducción de la contaminación microbiana en el queso fresco y en los utensilios, mesa y molde que se utiliza para elaborar el queso en una quesera de la ciudad de Santo Domingo - Ecuador."

b. Justificación

La elaboración de queso artesanal en Ecuador, especialmente en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, es una actividad que posee un gran significado económico y cultural. Este tipo de queso es parte del patrimonio alimenticio del país y es altamente apreciado tanto a nivel local como internacional (Anchundia et al., 2019). No obstante, uno de los desafíos más serios que enfrentan los productores de queso artesanal es la contaminación microbiana, la cual impacta directamente la seguridad alimentaria y la calidad del producto (Paredes et al., 2018). Esta contaminación puede provocar enfermedades gastrointestinales, lo que representa

un riesgo para la salud pública, particularmente en productos lácteos no pasteurizados, como sucede con el queso artesanal en varias regiones de Ecuador (Rodríguez et al., 2019).

En las queserías artesanales, la carencia de acceso a tecnologías avanzadas de conservación y la falta de sistemas adecuados de control microbiológico agravan esta situación (Solorzano, 2021). Si bien el uso de conservantes sintéticos podría ser una solución, este enfoque resulta costoso y afecta negativamente la percepción de los consumidores, quienes prefieren productos naturales y saludables (Vinocunga et al., 2023). Por lo tanto, es crucial encontrar alternativas que disminuyan la carga microbiana sin afectar la calidad sensorial del queso, ya que esto es esencial para la aceptación por parte de los consumidores.

El uso de aceites esenciales naturales, como los de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*), en la conservación de alimentos ha cobrado relevancia en la investigación científica por sus propiedades antimicrobianas. Estos aceites contienen compuestos bioactivos como el carvacrol, el timol y otros terpenoides, los cuales han demostrado ser eficaces contra diversos microorganismos patógenos en los alimentos (González et al., 2016). Investigaciones han evidenciado que tanto el orégano como el romero poseen propiedades bactericidas y fungicidas que pueden inhibir el crecimiento de bacterias patógenas en productos lácteos, lo que los convierte en una alternativa prometedora para el control microbiológico en la elaboración de queso artesanal (Sarango, 2020).

El uso de aceites esenciales naturales no solo mejora la seguridad alimentaria, sino que también podría ofrecer beneficios económicos a los pequeños productores de queso artesanal. Estos aceites son relativamente accesibles, especialmente en países como Ecuador, donde el orégano y el romero se cultivan localmente. Su aplicación podría representar una solución sostenible y económica para las queserías artesanales, eliminando la necesidad de tecnologías costosas o conservantes artificiales (Tofiño, 2017). Esto es particularmente relevante en un contexto en el que los pequeños productores enfrentan limitaciones económicas y, a menudo, carecen de acceso a tecnologías avanzadas de conservación.

La adopción de soluciones naturales podría ser fundamental para aumentar la competitividad del queso artesanal en el mercado, al coincidir con las tendencias globales hacia el consumo de alimentos orgánicos y naturales. Los consumidores muestran un creciente interés por productos sin aditivos sintéticos y producidos de manera sostenible, lo que crea nuevas oportunidades tanto en el mercado local como internacional (Brito et al., 2020).

Tabla Nro. 1 Declaración de las variables (Operacionalización)

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de Medición
Contaminación Microbiana	Presencia de microorganismos (bacterias) en las superficies de trabajo (mesa) y utensilios (cuchillos, moldes, etc.) utilizados en la producción de queso fresco.	Evaluación de la presencia o ausencia de microorganismos en superficies y utensilios mediante cultivos en medios de agar selectivos, antes y después de la aplicación de extractos.	1. Superficies de trabajo (mesa de trabajo) 2. Utensilios (cuchillos, moldes, batidores) 3. Producto final queso fresco.	1. Presencia/ausencia de colonias bacterianas, en cultivos 2. Comparación entre las superficies y utensilios tratados y no tratados 3. Comparación entre el queso fresco tratado y no tratado	Cualitativa (Presencia/Ausencia)
Aplicación de aceites esenciales	Aplicación de aceites esenciales de orégano y romero sobre superficies y utensilios con el fin de reducir la contaminación microbiana sin afectar las características sensoriales del queso.	Los aceites esenciales se aplicarán en el producto final el queso y las superficies (mesas) y utensilios (cuchillos, moldes, etc.) utilizando pulverización o aplicación directa antes de cada ciclo de producción de queso.	1. Concentración del aceite esencial 0,4%, 0,6%) 2. Método de aplicación (pulverización, aplicación directa)	1. Concentración de aceites esenciales 2. Método de aplicación (pulverización o aplicación directa) 3. Frecuencia de aplicación (diaria)	Cualitativa (Presencia/Ausencia)

CAPÍTULO II: Marco Teórico Referencial

2.1. Antecedentes Referenciales

A nivel mundial, el queso se encuentra entre los productos lácteos más consumidos y comercializados. De acuerdo con la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en 2018 se produjeron más de 22 millones de toneladas de queso a nivel global, siendo Estados Unidos el mayor productor, seguido de Alemania y Francia. La seguridad alimentaria representa una preocupación importante, ya que patógenos como *E. coli* y *Listeria monocytogenes* pueden contaminar los productos lácteos, lo que resalta la necesidad de implementar controles microbiológicos rigurosos (Moreno et al. 2024).

Un estudio realizado en las Américas entre 2007 y 2016 reveló una alarmante presencia de patógenos en el queso fresco, con un 43,71% de *Staphylococcus aureus*, un 18,51% de *Escherichia coli* y un 16,26% de *Listeria monocytogenes*. Estos microorganismos son capaces de causar enfermedades transmitidas por alimentos, lo que enfatiza la necesidad urgente de implementar medidas efectivas para controlar la contaminación microbiana en este tipo de producto lácteo (Merchán et al. 2019).

A nivel nacional, investigaciones recientes han demostrado que los quesos frescos producidos en Ecuador presentan una alta carga microbiana, con importantes prevalencias de patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Un estudio realizado en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo evidenció que las condiciones higiénicas durante el proceso de producción son inadecuadas, lo que resalta la necesidad urgente de implementar medidas efectivas para controlar la contaminación microbiana. Asimismo, se ha sugerido que el uso de extractos naturales podría ser una estrategia viable para mejorar la seguridad microbiológica sin comprometer las características sensoriales del producto final (Haro, 2016).

Investigaciones han demostrado que extractos de plantas como el orégano (*Origanum vulgare*) y el romero (*Rosmarinus officinalis*) cuentan con destacadas

propiedades antimicrobianas. Un estudio específico evidenció que el aceite esencial de orégano es eficaz contra diversos patógenos, incluidos *E. coli* y *Salmonella*, lo que sugiere su potencial aplicación en la conservación de productos lácteos (Sánchez, 2015). Además, el romero ha mostrado efectos antioxidantes que podrían reforzar su papel como conservante natural en quesos frescos.

En Santo Domingo y otras áreas de Ecuador, el queso fresco es un elemento fundamental en la dieta local. Sin embargo, muchas queserías presentan deficiencias en sus condiciones higiénicas. Estudios han revelado que las prácticas inadecuadas en el proceso de producción pueden resultar en una carga microbiana elevada en estos productos, como señalan Vásquez et al. (2018). Esta situación se ve agravada por la ausencia de regulaciones efectivas en los mercados informales.

Los extractos naturales, como los de orégano y romero, se están investigando como opciones para potenciar la seguridad microbiológica del queso fresco sin comprometer sus características sensoriales. Estudios realizados en la región han comenzado a analizar estas alternativas, resaltando el potencial de estos ingredientes naturales para enfrentar patógenos frecuentes en productos lácteos (Moreno et al. 2024).

2.2. Marco Conceptual

2.2.1 Aceite esencial de Orégano y Romero

El orégano (*Origanum vulgare*) es una planta reconocida por sus propiedades antimicrobianas, gracias a los compuestos fenólicos y aceites esenciales que ayudan a combatir diversos patógenos. Según Jara y Fernández (2024), el aceite esencial de orégano ha mostrado eficacia en la inhibición de microorganismos como *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* Esto sugiere que el orégano podría ser utilizado como un conservante natural en productos alimenticios, lo que contribuiría a mejorar su seguridad microbiológica.

El romero (*Rosmarinus officinalis*) también posee propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Estudios han demostrado que el aceite esencial de romero puede reducir la carga microbiana en productos lácteos, sin afectar las características organolépticas del alimento (Rios et al., 2018). Esto resalta su potencial como una alternativa natural para el control de la contaminación microbiana en la industria alimentaria.

2.2.2 Contaminación Microbiana

La contaminación microbiana en productos lácteos es un problema serio que puede provocar enfermedades transmitidas por alimentos. Patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* son responsables de varios brotes de estas enfermedades. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020), esta contaminación representa un riesgo considerable para la salud pública, lo que subraya la necesidad de implementar estrategias de control efectivas.

2.3. Marco Teórico

El marco teórico, se realizó partiendo de la revisión de contenidos de artículos publicados en revistas indexadas en bases de datos como: Dialnet, Ebsco, Redalyc, Scielo y Scopus del 2017 al 2024, en torno a los antecedentes que hay con respecto a las variables estudiadas, con el propósito de esbozar bases teóricas.

Según la OMS, cada año millones de personas sufren enfermedades causadas por alimentos, siendo los productos lácteos una fuente frecuente de estas infecciones (WHO, 2023), la contaminación microbiana en productos lácteos representa un problema importante que puede afectar tanto la seguridad alimentaria como la calidad de estos productos. La leche cruda puede contener diversos patógenos, y si no se maneja adecuadamente, puede favorecer el crecimiento de microorganismos indeseables (Vinocunga et al., 2023).

Como antecedentes internacionales tenemos el estudio realizado por Lampert & Porro (2020) fue realizado en Argentina, en la provincia de Buenos Aires, que

determinaron las enfermedades transmitidas por alimentos son un problema grave de salud pública, afectando de manera especialmente dura a grupos vulnerables como los niños menores de cinco años. A nivel mundial, estas enfermedades causan aproximadamente 2,2 millones de muertes al año, lo que subraya la urgente necesidad de establecer medidas efectivas de seguridad alimentaria para proteger la salud pública (Lampert & Porro, 2020).

Idarraga et al. (2023) en un estudio realizado en el departamento de Quindío, Colombia, se llevó a cabo un análisis microbiológico del queso cuajada, donde se detectó la presencia de *E. coli* en al menos una muestra de cada municipio, así como en el queso comercial, encontrándose en el 72.22% de las muestras. Estos resultados indican que los quesos analizados presentan condiciones higiénicas deficientes. Por lo tanto, es necesario implementar controles microbiológicos en las queserías ecuatorianas para establecer estrategias biotecnológicas que reduzcan la contaminación microbiológica existente.

Vásquez et al. (2018) en el estudio realizado a cinco empresas de Cajamarca, Perú, sobre la evaluación de calidad bacteriológica de quesos, determino que, de las 30 muestras de queso fresco recolectadas de 5 empresas en Cajamarca, se encontró un alto porcentaje de muestras contaminadas con microorganismos, lo que indica condiciones higiénicas inadecuadas en su producción, transporte o venta. Es necesario que las empresas que elaboran quesos implementes BPM y que garanticen que el queso no contenga microorganismos patogénesis que causan problemas de salud a sus consumidores.

Merchán et al. (2019) en un estudio sobre 31 muestras de queso artesanal recogidas en tiendas registradas en la cámara de comercio de Tunja, Colombia, se determinó que el 96.7% de las muestras de quesos frescos artesanales (queso campesino y queso de hoja) excedieron los límites permitidos de coliformes totales. Además, el 38.7% de las muestras mostraron niveles de *Staphylococcus aureus* superiores a lo permitido. La prevalencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhi* fue de 3.6% y 3.1%, respectivamente, siendo el queso campesino el más afectado por ambos microorganismos, por último, el 90% de los quesos presentaron recuentos de aerobios mesófilos.

Cándida Díaz y Bedirva González (2016) en un estudio realizado en la ciudad de Mérida, Venezuela, se analizaron 72 muestras de queso blanco fresco clasificado como semiduro según la normativa venezolana, tomadas en diferentes puntos de venta, se detectó la presencia de *S. aureus* en 50 de las 72 muestras estudiadas, lo que representa el 69.44%. Además, los coliformes totales superaron el 97.22% en los quesos analizados. Las condiciones de las queseras y los equipos de producción, así como la higiene de las manos de los trabajadores y la limpieza de las superficies, son fundamentales para prevenir la contaminación.

Ramírez et al. (2018) se realizaron estudios microbiológicos en muestras de quesos artesanales producidos a pequeña escala en tres estados de Venezuela, donde se detectó la presencia de colonias presuntivas de *Salmonella* spp. en dos muestras de fincas diferentes del municipio Miranda, una de leche y otra de suero drenado. La presencia de *Salmonella* spp. en el queso constituye un riesgo significativo para la salud pública, ya que esta bacteria puede provocar salmonelosis, una enfermedad gastrointestinal que se manifiesta con síntomas como diarrea, fiebre y cólicos abdominales, además, su detección en productos lácteos sugiere fallos en las prácticas de higiene durante la producción, procesamiento, almacenamiento o transporte, lo que compromete la seguridad alimentaria del producto.

Benavides (2015) en su estudio realizado en Ecuador, la provincia de Carchi, determinaron que hay pequeñas y medianas plantas de procesamiento que todavía utilizan métodos artesanales para la producción de queso amasado y su posterior venta. Estas industrias suelen elaborar estos productos de manera empírica, empleando técnicas rudimentarias, procesos sin control y con un mínimo de supervisión en la calidad durante el procesamiento y manejo del queso. Que las queseras no cuenten con una infraestructura adecuada, talento humano capacitado, tecnología actual que puedan realizar controles de calidad esto desencadena a que no puedan garantizar quesos de calidad.

2.3.1. Queso de mesa

Es un producto que se consume en gran cantidad a nivel del país. Su elaboración se realiza a través de la acidificación de leche fresca cruda, se realiza la coagulación, de manera natural, gracias a su microbiota local. Esto le otorga características sensoriales particulares, a diferencia de los quesos elaborados con leche pasteurizada (Merchán et al., 2019).

Vinocunga et al. (2023), en su estudio de desarrollado en la provincia de Chimborazo, sobre el Diseño del proceso de obtención de queso fresco en el software SuperPro Designer, determino que, en el Ecuador, gran parte de la producción de queso fresco se realiza de manera artesanal, lo cual implica insuficientes condiciones higiénico-sanitarias y un escaso control para asegurar la obtención de productos de calidad comercial. Es necesario a nivel nacional se implementen políticas públicas de control de elaboración del queso y se implementen estrategias para mitigar la contaminación microbiana que en la actualidad tiene el queso que expende en los mercados ecuatorianos.

2.3.2. Elaboración del Queso de mesa

La elaboración del queso de mesa se fundamenta en siete etapas claves: recepción de la materia prima, tamización, coagulación, cortado y batido, desuerado y salado, moldeado, empacado y almacenamiento (Arteaga et al., 2019). A continuación, se describen estas fases del proceso de producción del queso (grafico Nro. 1).

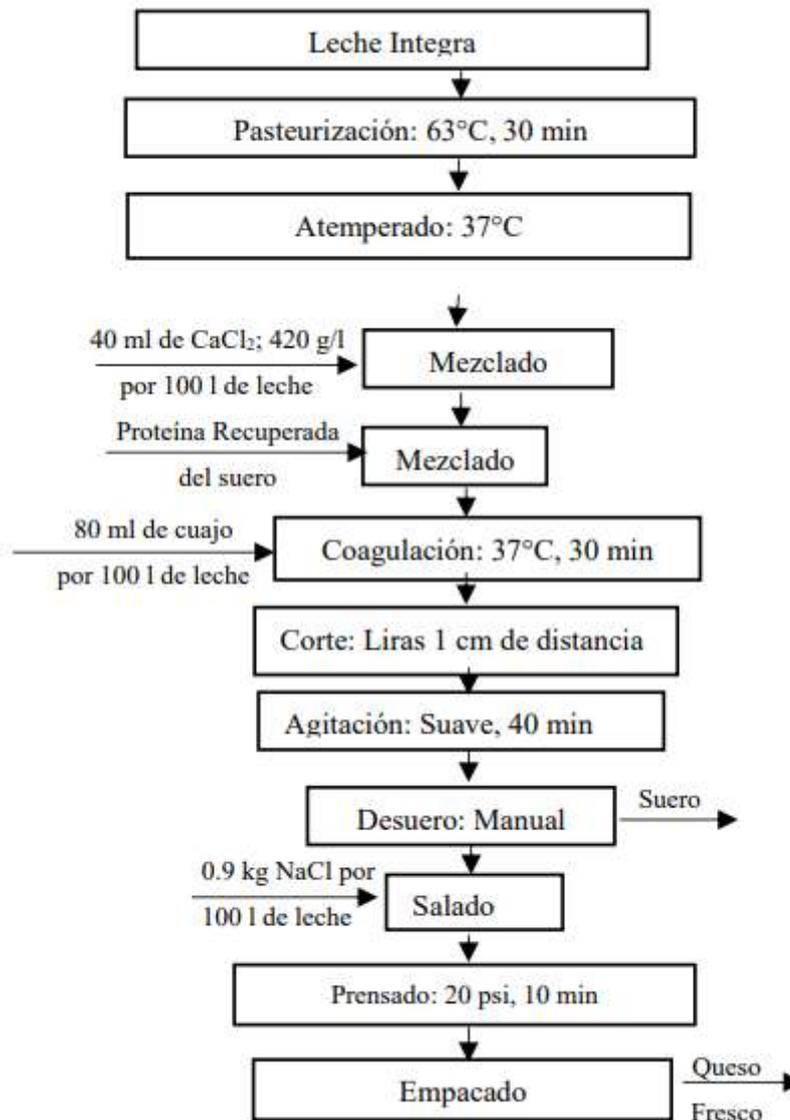


Figura N.1 Esquema del proceso de fabricación del queso fresco (Baque, 2018)

De acuerdo a Solórzano (2021) en su estudio realizado en Manabí, Ecuador, que evaluó las principales fincas productoras de queso fresco artesanal, en relación con la preferencia sensorial, así como la calidad fisicoquímica y microbiológica, se indica que el queso artesanal puede estar expuesto a la contaminación de diversas maneras, esto comienza desde el proceso de ordeño, sigue con la elaboración del producto que incluye la higiene y el uso de utensilios y concluye con el transporte hacia los puntos de venta. Es fundamental asegurar la calidad del queso para prevenir problemas de salud en los consumidores. Las queserías deben llevar a cabo estudios microbiológicos e implementar estrategias innovadoras para evitar la contaminación microbiológica.

Arteaga et al. (2021) en su estudio realizado en Manabí, Ecuador, sobre la evaluación de las buenas prácticas en la elaboración de queso artesanal, encontraron que existen serias deficiencias en las operaciones de obtención de la materia prima y de elaboración del queso fresco relacionadas con la higiene y la manipulación de los utensilios, no tienen sistemas de registros, ni plan de limpieza y desinfección. El no contar con buenas practicas de manufacturas implementadas ocasiona que el producto final el queso cuente con gran cantidad de microorganismos que pone en juego la salud de la población

La adopción de procedimientos estandarizados (POE y POES) en la línea de producción de queso fresco de la Cooperativa de Producción Agropecuaria Chone LTDA resultó en la eliminación del *Staphylococcus aureus* con una alta probabilidad de éxito (Saltos et al., 2018). Los POE son fundamentales para asegurar que se implementen prácticas seguras en la producción, manejo y almacenamiento del queso, lo que ayuda a disminuir el riesgo de contaminación microbiológica.

2.3.3. Principales orígenes de contaminación en la elaboración del queso

La leche se obtiene principalmente de las vacas, y en sus ubres pueden encontrarse bacterias como *S. aureus*, *Streptococcus* y coliformes, además, la infección en la ubre puede ocurrir a través de la sangre a través de los capilares mamarios, lo que permite la entrada de *Salmonellas*, *Brucellas* y *Mycobacterium tuberculosis*, es relevante mencionar que en el aire pueden estar presentes patógenos como *Micrococcus*, *Streptomyces* y *Aspergillus*, también hay diversas fuentes de agua, como corrientes, tanques y depósitos, que a menudo pueden estar contaminadas, esta agua se utiliza para la higiene y el consumo de los animales, así como en la producción de queso, específicamente para el lavado de utensilios, mesas y otros equipos (Solorzano, 2021). La adopción de prácticas estrictas de higiene, limpieza y control en las queserías es fundamental para evitar la contaminación y asegurar la seguridad alimentaria.

El personal desempeña un papel crucial en la calidad higiénica del producto; sin embargo, (Saltos et al., 2018) enfatiza que, por lo general, los ordeñadores y vendedores de queso artesanal no están familiarizados con las medidas adecuadas

de higiene. Al centrarse en la capacitación del personal, el monitoreo microbiológico y la utilización de materias primas de alta calidad, las queserías pueden reducir los riesgos relacionados con la producción de queso, estas medidas no solo salvaguardan la salud de los consumidores, sino que también mejoran la reputación de la industria y fomentan la confianza en los productos lácteos.

Buñay y Peralta, (2015) en un estudio realizado en Cuenca, Ecuador sobre el recuento de aerobios mesófilos en la leche cruda que llega a la industria Lacto Ochoa - Fernández Cia. Ltda., se mencionó la importancia de transportar productos como la leche y el queso a temperaturas óptimas, esto es crucial, ya que puede afectar la actividad microbiana y potencialmente provocar contaminación, para lograrlo, se utilizan vehículos equipados con sistemas de refrigeración que mantienen una temperatura de 4 °C, lo que previene la proliferación de microorganismos. La implementación de procedimientos operativos estandarizados (POE) y sistemas de trazabilidad, con esto la industria no solo cuida la salud de los consumidores, sino que también eleva la calidad de sus productos y refuerza su reputación en el mercado.

Guzmán (2016) En un estudio sobre la evaluación de parámetros físicos, químicos y microbiológicos del queso fresco en Junín, Perú, se señala que la presencia de microorganismos patógenos en el queso está relacionada con la baja calidad de la leche, atribuida a prácticas inadecuadas en el ordeño, un manejo deficiente de la leche y condiciones inapropiadas de almacenamiento y transporte, también se menciona el desconocimiento de las normativas actuales, la falta de capacitación, la deficiencia en la infraestructura y las instalaciones de procesamiento, el uso de equipamiento inadecuado, la falta de control sobre la materia prima y los insumos, la ausencia de controles en los procesos, el manejo ineficiente de registros, la implementación insuficiente de sistemas de aseguramiento de la inocuidad, la contaminación postproceso y el uso de leche cruda, entre otros requisitos establecidos por las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

2.3.4. Almacenamiento del Queso

Anchundia et al. (2019), en su estudio sobre la evaluación nutricional y fisicoquímica del queso amasado producido en la provincia del Carchi, Ecuador, indican que los quesos frescos tienen una vida útil de 10 días cuando se almacenan a 4 °C. Se observa que algunos quesos se elaboran de manera empírica, utilizando técnicas rudimentarias y sin los controles necesarios, lo que provoca incumplimientos de las normativas, variaciones en la calidad y una vida útil más corta (Espinoza et al., 2020). Es importante destacar que la mayoría de las queserías no aseguran la cadena de refrigeración, ya que no cuentan con cuartos fríos.

Díaz et al (2019) en su estudio realizado en Toluca, México, un estudio que analizó 64 muestras de queso fresco en los mercados de la ciudad Toluca, se determinó que la calidad fisicoquímica de los quesos está afectada por la calidad de la leche, así como por la reducción del pH debido a la acidificación que ocurre antes del cuajado. La capacitación del personal en métodos apropiados y el cumplimiento de las normativas son fundamentales para elevar la calidad del producto final, al implementar estas acciones, se puede garantizar un queso fresco de mejor calidad, lo que resulta beneficioso tanto para los productores como para los consumidores.

Quinde (2017) indica que la evaluación sensorial de los quesos se basa en un promedio de los atributos analizados a través de la interpretación de las respuestas a los estímulos percibidos por los sentidos humanos. Para los quesos, se requiere una interacción entre los componentes reológicos, estructurales y químicos, que son percibidos a través de la vista, el tacto, el olfato, el oído y el gusto, esto ha llevado a la creación de una metodología estandarizada que establece descriptores específicos para cada atributo identificado en el queso. Es importante promover una interacción más efectiva entre los componentes reológicos, estructurales y químicos no solo facilitará una producción más uniforme y de mayor calidad, sino que también mejorará la satisfacción del consumidor.

Rodas et al (2017) en el estudio realizado en la ciudad de Milagro, Ecuador, se investigó la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos comercializados en la zona. Se analizaron 54 muestras, que incluían 18 quesos artesanales, 18 quesos

pasteurizados y 18 quesos mozzarella, y se encontró contaminación por *Staphylococcus aureus* en 30 de los quesos evaluados (55%). Este hallazgo resalta la contaminación por este microorganismo, la cual se atribuye a deficientes condiciones higiénicas durante la elaboración, manejo y venta de los productos, es necesario la implementación de buenas prácticas de manufactura en las queseras.

Un estudio Rodríguez et al. (2019) reveló que el crecimiento de *E. coli* en quesos frescos almacenados a temperatura ambiente fue significativamente superior al de quesos refrigerados, lo que resalta la importancia de las condiciones de almacenamiento para prevenir la proliferación microbiana. Además, las condiciones de la quesera y los equipos de producción, como la higiene de las manos de los operarios y la limpieza de las superficies, juegan un papel crucial en la prevención de la contaminación Anchundia et al. (2019).

2.3.5. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son extractos concentrados obtenidos de plantas, los cuales preservan sus compuestos volátiles y aromáticos. Estos aceites incluyen una variedad de compuestos químicos que tienen propiedades terapéuticas, antimicrobianas y antioxidantes, lo que los convierte en recursos valiosos para diferentes usos, como la alimentación, la aromaterapia y la cosmética (Burt, 2004)

2.3.6. Aceite de Orégano (*Origanum vulgare*)

El aceite de orégano es un aceite esencial que se obtiene de las hojas y flores de la planta *Origanum vulgare*. Se destaca por sus potentes propiedades antimicrobianas y antioxidantes, gracias a compuestos como el carvacrol y el timol. Este aceite se utiliza en la cocina y en aplicaciones medicinales, siendo eficaz contra diversos patógenos, lo que lo convierte en una opción interesante para la conservación de alimentos, como el queso fresco (Sokovic et al., 2010).

Por su parte, Guagrilla (2022) en su estudio la utilización de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) como antimicrobiano en queso mozzarella, determino que el orégano se considera un conservante natural notable por su capacidad antimicrobiana, la cual ayuda a prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos., es reconocido como el primer antiséptico natural con potentes

propiedades bactericidas. Es fundamental que cualquier aditivo o conservante no altere negativamente las propiedades organolépticas del queso, ya que el sabor, el aroma y la textura son factores determinantes para la aceptación por parte de los consumidores.

Por su parte Sarango (2020) en su estudio realizado cuyo tema fue el aceite de orégano como bioconservador en la carne de pollo, menciona que los componentes activos más relevantes del aceite esencial de orégano son el carvacrol y el timol, que actúan sinérgicamente para conferir propiedades antisépticas. Existen numerosas investigaciones que demuestran que estos compuestos pueden inhibir o inactivar microorganismos al afectar sus células; sin embargo, este efecto puede variar según la concentración del aceite.

Guagrilla (2022), estableció que la concentración del aceite esencial de orégano la concentración más efectiva fue del 0.6 %, ya que no mostró presencia de Enterobacterias hasta el día 14, en el caso de *Staphylococcus aureus*, demostró efectividad a lo largo de todo el periodo de evaluación, lo que indica que el aceite esencial de orégano puede utilizarse como conservante natural para inhibir el crecimiento bacteriano en el producto. Además de utilizar el orégano es necesario capacitar al personal en buenas prácticas de higiene y uso adecuado de conservantes, implementar un monitoreo microbiológico regular para asegurar la calidad del producto, mejorar las prácticas de almacenamiento para prolongar la vida útil del queso, y investigar otros conservantes naturales que complementen el uso del orégano.

2.3.7. Aceite de Romero (*Rosmarinus officinalis*)

El aceite de romero se obtiene de las hojas de la planta *Rosmarinus officinalis* y es apreciado por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Contiene compuestos como el ácido rosmarínico y el 1,8-cineol, que favorecen su eficacia contra varios microorganismos. Además de su uso en la cocina, el aceite de romero se utiliza en la medicina natural y en productos cosméticos, y se considera

beneficioso para la conservación de alimentos al ayudar a preservar su calidad microbiológica (Clevenger, 2009).

López et al (2024) en su estudio sobre la vida útil de un queso fresco al que se le agregó aceite esencial de romero, encontraron que este aceite fue el que mostró menor contaminación por los microorganismos analizados, incluyendo colonias de *E. coli*, *Salmonella* spp, mohos, *Staphylococcus* spp. coagulasa positiva y *Listeria monocytogenes*, La adición de aceite esencial de romero en la producción de queso fresco se muestra como una estrategia efectiva para prolongar la vida útil del producto, ya que reduce significativamente la contaminación por diversos microorganismos patógenos.

CAPÍTULO III: Diseño Metodológico

3.1. Tipo y diseño de investigación

El estudio tiene un enfoque experimental, en el que se realizaron análisis microbiológicos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Salmonella, Enterobacterias) para evaluar las dos formulaciones 0,4%, 0,6% que contienen aceite esencial de orégano y romero, las cuales se aplicaron en los utensilios, la mesa y el molde empleados en la elaboración del queso.

En el marco de este informe de investigación, se elige un diseño de investigación cuantitativa. Este enfoque es crucial para evaluar de forma objetiva y sistemática la efectividad de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) en la disminución de la contaminación microbiana en el queso fresco. La investigación cuantitativa permite la recopilación de datos numéricos que pueden ser analizados estadísticamente, ofreciendo resultados medibles y precisos (Creswell, 2014).

La investigación cuantitativa se enfoca en medir variables específicas, como la carga microbiana antes y después de la aplicación de los aceites esenciales. Esto permite obtener datos concretos que demuestran la efectividad de las intervenciones (Hernández et al., 2014).

La investigación cuantitativa proporciona un mayor control sobre las variables que pueden afectar los resultados. Esto se logra a través de un diseño experimental riguroso, que incluye un grupo de control y la aplicación de condiciones estandarizadas para reducir sesgos (Creswell, 2014).

3.2. La población y la muestra

La población de estudio fue una quesería artesanal ubicada en Santo Domingo de los Tsáchilas. Se recogerán muestras de la superficie mediante un hisopo de los utensilios, la mesa y los moldes empleados en la producción de queso que se

colocara en un medio de transporte Stuart, lo que asegura un enfoque particular en los puntos críticos de contaminación (González et al., 2016).

3.3. Los métodos y las técnicas

Dado que la investigación se realizará en una única quesería, se empleará la técnica de muestreo por conveniencia. Esta técnica consiste en elegir los sitios de muestreo que sean accesibles y pertinentes para el estudio. En este caso, se recogerán muestras de:

- Utensilios: Se recogerán muestras de utensilios utilizados en el proceso de elaboración del queso, como cuchillos, cucharas y recipientes.
- Superficie de Trabajo: Se tomarán muestras de la mesa donde se manipula el queso.
- Moldes: Se evaluarán los moldes utilizados en la formación del queso fresco.

Se realizarán análisis microbiológicos para determinar la carga microbiana en las muestras recolectadas. Las técnicas a utilizar incluirán:

- Detección de *Escherichia coli*, enterobacterias y *Staphylococcus aureus*: Se realizarán pruebas específicas para identificar estos patógenos, utilizando técnicas como la siembra en medios selectivos.
- Detección de *Salmonella* spp.: Se emplearán métodos de enriquecimiento y aislamiento para identificar la presencia de *Salmonella* en las muestras.

Se aplicarán los aceites esenciales de orégano y romero en los utensilios, la mesa y los moldes, y se realizarán análisis comparativos de la carga microbiana antes y después de su aplicación.

3.3.1. *Staphylococcus aureus*

La determinación de *Staphylococcus aureus* se llevó a cabo siguiendo las directrices de la (NTE INEN 1529 - 14, 2013, pp. 1-11), con el siguiente procedimiento:

- Esterilizar los materiales (tubos de ensayo, puntas, etc.) en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
- Preparar el medio de cultivo (agar sangre de cordero), realizando los cálculos necesarios según las especificaciones y esterilizar el agar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.
- Dejar enfriar el agar a aproximadamente 50 °C, mezclar bien y verterlo en placas Petri estériles.
- Se procede a realizar la siembra directa (muestras tomadas con medio de stuart de forma directa) en las cajas petris.
- Incubar las placas, invertidas a temperatura de 37 °C durante 24 horas a 48 horas, periodo óptimo de incubación.
- Dependiendo del crecimiento entre 24 a 48 horas, se examinó el crecimiento en las placas, que debía aparecer de color amarillo dorado con puntos negros.
- Si el crecimiento observado no era conforme a lo esperado, se procedió a realizar una tinción de Gram Coco Gram Positivo color doradas o amarillo para facilitar su identificación.

3.3.1.1. **Procedimiento de Tinción de Gram**

El procedimiento se realizó de acuerdo con las indicaciones de (Toro, 2005, pp. 14-17), siguiendo los siguientes pasos:

- Se abrió cuidadosamente la placa Petri y, utilizando un asa de siembra esterilizada, se tomó una pequeña porción de las colonias bacterianas, que se colocó en un portaobjetos junto con una gota de agua destilada.
- Se pasó el portaobjetos por la llama para fijar la muestra, asegurándose de no quemar las células, ya que esto impediría obtener resultados válidos.
- Luego, se colocó el portaobjetos sobre varillas de vidrio en el lavabo.
- Se añadió unas gotas de cristal violeta y se dejó actuar durante un minuto, tras lo cual se lavó la muestra con agua utilizando una piseta.
- A continuación, se agregaron unas gotas de lugol y se dejó reposar durante un minuto, seguido de un nuevo lavado con la piseta.

- Se vertieron unas gotas de alcohol cetona durante 30 segundos y, una vez más, se lavó la muestra con la piseta.
- Después, se aplicaron unas gotas de safranina y se dejó reposar durante un minuto antes de realizar otro lavado.
- Finalmente, se secó el portaobjetos y se añadieron unas gotas de aceite de inmersión para su observación al microscopio.

3.3.2. Salmonella

La determinación de *salmonella* se realizó siguiendo el protocolo indicado en la (NTE INEN 1529 - 8, 2016, pp. 6-8), con los siguientes pasos:

- Esterilizar los materiales (como tubos de ensayo y puntas) en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
- Preparar el agar (MacConkey), realizar los cálculos necesarios según lo especificado, y esterilizarlo en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
- Dejar enfriar el agar hasta alcanzar una temperatura aproximada de 50 °C, luego coloca en cajas Petri estériles.
- Se procede a realizar la siembra directa (muestras tomadas con medio de stuart de forma directa) en las cajas petris.
- Incubar las placas, invertidas, a temperatura de 37 °C durante 24 horas a 48 horas periodo óptimo de incubación.
- Dependiendo del crecimiento entre 24 a 48 horas, examinar las placas; las colonias de *Salmonella* se caracterizan por un color rojo o amarillo, a su vez se realiza una tinción de Gram para su observación. (Bacilos Gram Negativo)

3.3.3. E. coli

La determinación de *E. coli* se realizó siguiendo el protocolo indicado en la (NTE INEN 1529 - 8, 2016, pp. 6-8), con los siguientes pasos:

- Esterilizar los materiales (como tubos de ensayo y puntas) en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
- Preparar el agar (MacConkey), realizar los cálculos necesarios según lo especificado, y esterilizarlo en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

- Dejar enfriar el agar hasta alcanzar una temperatura aproximada de 50 °C, luego coloca en cajas Petri estériles.
- Se procede a realizar la siembra directa (muestras tomadas con medio de stuar de forma directa) en las cajas petris.
- Incubar las placas, invertidas, a temperatura de 37 °C durante 24 horas a 48 horas periodo óptimo de incubación.
- Dependiendo del crecimiento entre 24 a 48 horas, examinar las placas; las colonias de *E. coli* se caracterizan por un color negro con un brillo metálico verde, a su vez se realiza una tinción de Gram para su observación. (Bacilos Gram Negativo)

3.3.4. Enterobacterias

La siembra para Enterobacterias se lo realizó de acuerdo con la (NTE INEN 1529 - 13, 2013, pp.1-3), donde se procede a:

- Esterilizar los materiales en la autoclave por 15 minutos a 121 ° C (tubos de ensayo, puntas).
- Se continúa con el pesaje de las muestras (1 g) para 9 ml de agua.
- Encender la cámara de flujo laminar para la eliminación de posibles contaminantes en el aire.
- Rotular las placas Petrifilm 3M y colocar 1 ml de solución en el centro de la placa con la ayuda de una micropipeta, en posición inclinada
- Correr la película superior hacia abajo, evitando la formación de burbujas de aire.
- Presionar con el aplicador el círculo del cultivo.
- Tiempo de incubación de las placas Petrifilm 3M a 37 ° C durante 24 h a 48 h.

El análisis estadístico de los datos es crucial para evaluar la efectividad de los aceites esenciales de orégano y romero en la disminución de la contaminación microbiana en el queso fresco. A continuación, se detallan los procedimientos y métodos que se aplicarán para el análisis de los datos obtenidos en esta investigación.

3.3. Procesamiento estadístico de la información

Los parámetros microbiológicos a evaluar incluirán: La recopilación de datos se llevará a cabo utilizando métodos microbiológicos que permitirán medir la carga microbiana en las muestras de queso fresco, tanto antes como después de la aplicación de los aceites esenciales. Los parámetros microbiológicos que se evaluarán son los siguientes:

- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella* spp.
- *Enterobacterias*

Cada muestra se analizará en duplicado o triplicado para asegurar la precisión y consistencia de los resultados.

3.4.2. Procesamiento de Datos

Una vez recolectados los datos, se procederá a su procesamiento mediante el programa estadístico SPSS que permitiría analizar las diferencias en la contaminación bacteriana entre los grupos de tratamiento (control, aceite esencial de orégano y romero).

• **Organización de los Datos:** Los resultados de los análisis microbiológicos se organizarán en tablas con el fin de facilitar su interpretación y análisis. Cada tabla incluirá información sobre las concentraciones de microorganismos antes y después de aplicar los aceites esenciales.

3.4.3. Análisis Estadístico

Para determinar la efectividad de los aceites esenciales en la reducción de la carga microbiana, se emplearán los siguientes métodos estadísticos:

3.4.3.1. Prueba de Kruskal-Wallis: Es una herramienta muy útil para comparar tres o más grupos cuando los datos no siguen una distribución normal o cuando no se puede suponer que las varianzas son homogéneas. Resulta especialmente conveniente en tu tesis si estás evaluando distintos tratamientos (como varios aceites esenciales) y no puedes asumir que los datos tienen una distribución normal.

3.4.3.2. Correlaciones: Se examinarán las correlaciones entre las concentraciones de los aceites esenciales y la disminución de los microorganismos, lo que permitirá establecer la relación entre estas dos variables.

CAPÍTULO IV: Análisis e Interpretación de Resultados

4.1. Análisis e Interpretación de Resultados

4.2. Microbiológicos

4.2.1. Enterobacterias

Tabla 2: Evaluación Microbiológica de Aceites Esenciales de Orégano y Romero en Superficies y Queso: Reducción de Enterobacterias

Parámetro microbiológico	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO Y ROMERO						
	0%			0,40%			0,60%
	Mesa	Utensilios	Queso	Mesa	Utensilios	Queso	Mesa, utensilios y queso
Enterobacterias día 0 UFC.g-1	100	100	100	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Enterobacterias día 2 UFC.g-1	300	200	300	200	100	200	Ausencia

Realizado Por: Ponce, Darwin, 2024

En ausencia de aceites esenciales, las Enterobacterias no solo permanecieron en los utensilios, mesa y queso, sino que incluso aumentaron en número, lo que indica la falta de control microbiológico.

El aceite esencial de orégano y romero tiene un impacto positivo en la reducción de enterobacterias, y la concentración de 0.6% fue la más efectiva para eliminar completamente las enterobacterias en las superficies de trabajo y el queso fresco

López et al. (2018) demostraron que concentraciones más altas de aceites esenciales de orégano y romero, en el rango de 0,5% a 1%, son considerablemente más efectivas para inhibir las Enterobacteriaceae en productos alimenticios, lo que apoya la observación de que el aceite esencial al 0,60% resulta ser más eficaz para eliminar estas bacterias.

Tabla 3: Evaluación Microbiológica de Aceites Esenciales de Orégano y Romero en Superficies y Queso.

Parámetro microbiológico	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO Y ROMERO						
	0%			0,40%			0,60%
	Mesa	Utensilios	Queso	Mesa	Utensilios	Queso	Mesa, utensilios y queso
E. coli día 0 UFC	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
E. coli día 2 UFC	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Realizado Por: Ponce, Darwin, 2024

El hecho de que no se haya detectado *E. coli* ni al inicio del estudio (día 0) ni después de 2 días de haber aplicado los aceites esenciales sugiere que, en este caso particular, los aceites de orégano y romero no fueron necesarios para evitar la contaminación por *E. coli*. Es probable que no hubiera una presencia significativa de esta bacteria en los utensilios, moldes, mesas ni en el queso fresco al inicio del estudio.

Tabla 4: Evaluación Microbiológica de Aceites Esenciales de Orégano y Romero en Superficies y Queso: Reducción de Staphylococcus aureus.

Parámetro microbiológico	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO Y ROMERO						
	0%			0,40%			0,60%
	Mesa	Utensilios	Queso	Mesa	Utensilios	Queso	Mesa, utensilios y queso
Staphylococcus aureus día 0 UFC	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Staphylococcus aureus día 2 UFC	200	100	200	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Realizado Por: Ponce, Darwin, 2024

A 0% de aceite esencial (sin tratamiento), *Staphylococcus aureus* crece y se multiplica en el ambiente de la quesera, lo que indica que, sin tratamiento antimicrobiano, la bacteria sigue proliferando.

Tanto el tratamiento con 0.4% como con 0.6% de aceite esencial son igualmente efectivos para eliminar completamente *Staphylococcus aureus* en las superficies y el queso. Sin embargo, es importante señalar que incluso a 0.4% ya se logra la eliminación total de esta bacteria, lo que sugiere que esta concentración podría ser suficiente para un efecto antimicrobiano efectivo.

Según Burt (2004), el aceite esencial de orégano presenta una fuerte actividad antimicrobiana, especialmente contra bacterias Gram-positivas como *S. aureus*, debido a la presencia de compuestos como el carvacrol. Por otro lado, Sarango, C. (2020) demostraron que el aceite esencial de romero también posee propiedades bactericidas notables, lo que respalda los resultados de este estudio, ya que la ausencia del microorganismo en ambos tratamientos indica una actividad antimicrobiana similar.

Tabla 5: Evaluación Microbiológica de Aceites Esenciales de Orégano y Romero en Superficies y Queso.

Parámetro microbiológico	NIVELES DE ACEITE ESCENCIAL DE ORÉGANO Y ROMERO						
	0%			0,40%			0,60%
	Mesa	Utensilios	Queso	Mesa	Utensilios	Queso	Mesa, utensilios y queso
Salmonella día 0 UFC	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Salmonella día 2 UFC	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Realizado Por: Ponce, Darwin, 2024

Se detectó la ausencia de *Salmonella* en los utensilios, el molde, la mesa y el queso fresco. Esta falta de *Salmonella* en las muestras sugiere que no hubo crecimiento de la bacteria en este grupo a lo largo de los dos días de observación,

incluso sin la aplicación de aceites esenciales. Esto podría indicar que las condiciones iniciales eran adecuadas y que no hubo problemas de contaminación microbiana durante ese período.

Tabla 6: Prueba de normalidad según el día de la muestra (DÍA 0 y DÍA 2)

	Día de la muestra	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
El valor de la medición bacteriana.	DIA 0	,503	24	,000	,454	24	,000
	DIA 2	,309	24	,000	,780	24	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

En la tabla 11 considerando que H_0 (Día 0 y Día 2): Los valores de la medición bacteriana tienen un comportamiento normal, H_1 , los valores de la medición bacteriana no tienen un comportamiento normal, de la prueba de Shapiro-Wilk: Día 0: $p=0.000$ $p=0.000 \rightarrow$ Rechazamos H_0 . Interpretación: Los datos del Día 0 no tienen un comportamiento normal. Día 2: $p=0.000$ $p=0.000 \rightarrow$ Rechazamos H_0 . Interpretación: Los datos del Día 2 no tienen un comportamiento normal.

Tabla 7: Prueba de normalidad de Concentración de aceites esenciales

	Concentración de aceites esenciales de orégano y romero	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
El valor de la medición bacteriana.	0,00%	,197	16	,096	,880	16	,039
	0.40%	,449	16	,000	,577	16	,000
	0.60%	.	16	.	.	16	.

a. Corrección de significación de Lilliefors

En la tabla 12 considerando que H_0 (por concentración): Los valores de la medición bacteriana para una concentración específica tienen un comportamiento normal, H_1 : Los valores de la medición bacteriana para una concentración específica no tienen un comportamiento normal de la prueba de Shapiro-Wilk donde a una concentración 0.00%: $p=0.039$ $p=0.039 \rightarrow$ Rechazamos H_0 interpretación los datos

para la concentración del 0.00% no tienen un comportamiento normal 0.40%: $p=0.000$ $p=0.000 \rightarrow$ Rechazamos H_0 , los datos para la concentración del 0.40% no tienen un comportamiento normal, a la concentración de 0.60%: No se presenta en los resultados, pero debe analizarse si se incluye en nuevos cálculos.

Tabla 8. Prueba de normalidad tipo de muestra

	Tipo de muestra	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
El valor de la medición bacteriana.	Utensilios	,400	12	,000	,674	12	,000
	Mesa	,399	12	,000	,680	12	,001
	Molde	,399	12	,000	,680	12	,001
	Queso Fresco	,388	12	,000	,668	12	,000

a. Corrección de significación de Lilliefors

En la tabla 13 si consideramos que H_0 (por tipo de muestra): Los valores de la medición bacteriana para un tipo de muestra específico tienen un comportamiento normal, H_1 : Los valores de la medición bacteriana para un tipo de muestra específico no tienen un comportamiento normal, de acuerdo la prueba de Shapiro-Wilk utensilios: $p=0.000$ $p=0.000 \rightarrow$ Rechazamos H_0 , los datos para utensilios no tienen un comportamiento normal, Mesa: $p=0.001$ $p=0.001 \rightarrow$ Rechazamos H_0 , Los datos para la mesa no tienen un comportamiento normal, Molde: $p=0.001$ $p=0.001 \rightarrow$ Rechazamos H_0 , los datos para el molde no tienen un comportamiento normal, queso fresco: $p=0.000$ $p=0.000 \rightarrow$ Rechazamos H_0 , los datos para el queso fresco no tienen un comportamiento normal.

Tabla 9. Efectividad antimicrobiana de los aceites esenciales según su concentración.

Concentración de aceites esenciales de orégano y romero	
H de Kruskal-Wallis	20,178
gl	3
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis
b. Variable de agrupación: El valor de la medición bacteriana.

En la tabla 14 se considerando que la H_0 : La mediana del valor de la medición bacteriana es igual entre las distintas concentraciones de aceites esenciales de orégano y romero (0%, 100%, 200% y 300%), **H_1** : Al menos una de las medianas del valor de la medición bacteriana es diferente entre las distintas concentraciones de aceites esenciales de orégano y romero.

Los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis mostraron un valor de $H=20.178$ $H=20.178$ con 3 grados de libertad y un p-valor de 0.000. Este p-valor es menor que el nivel de significancia comúnmente utilizado de 0.05, lo que lleva al rechazo de la hipótesis nula (**H_0**).

Esto indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas del valor de la medición bacteriana según las concentraciones de aceites esenciales de orégano y romero. En particular, se observó que las concentraciones más altas (200% y 300%) están asociadas con rangos promedio más bajos, lo que sugiere un mayor efecto antimicrobiano en comparación con concentraciones menores o la ausencia de tratamiento.

Estos hallazgos resaltan la efectividad de los aceites esenciales como agentes antimicrobianos, evidenciando que su capacidad para reducir la carga bacteriana aumenta conforme se incrementa la concentración. Esto aporta valor al uso de estos aceites en procesos donde la desinfección y la reducción bacteriana son críticas, como en la industria alimentaria o la limpieza de superficies contaminadas.

Tabla 10. Medición bacteriana en tipos de muestra.

	El valor de la medición bacteriana.
H de Kruskal-Wallis	,124
Gl	3
Sig. Asintótica	,989

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Tipo de muestra

Fuente: Matriz de datos microbiológicos anexo 1

En la tabla 15 considerando que H_0 : La mediana del valor de la medición bacteriana es igual entre los cuatro tipos de muestras. Mediana (Utensilios) = Mediana (Mesa) = Mediana (Molde) = Mediana (Queso Fresco)

H_1 : Al menos una de las medianas del valor de la medición bacteriana es diferente entre los cuatro tipos de muestras. Mediana (Utensilios) \neq Mediana (Mesa) \neq Mediana (Molde) \neq Mediana (Queso Fresco)

Los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis mostraron un p-valor de 0.989, el cual es superior al nivel de significancia comúnmente utilizado de 0.05. Por lo tanto, no se pudo rechazar la hipótesis nula H_0 .

Esto indica que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas del valor de la medición bacteriana de los cuatro tipos de muestras evaluados (utensilios, mesa, molde y queso fresco).

Este hallazgo sugiere que los aceites esenciales de orégano y romero tuvieron un efecto antimicrobiano similar, independientemente del tipo de superficie en la que se aplicaron. Esto simplifica la aplicación y control del tratamiento con los aceites, pues su efectividad no se vería afectada por el elemento al que se aplican en el proceso de elaboración del queso fresco.

CAPÍTULO V: Conclusiones, Discusión y Recomendaciones

5.1. Discusión

La investigación actual se enfoca en detectar microorganismos patógenos en el queso fresco elaborado en una quesera de Santo Domingo, Ecuador, así como en evaluar la eficacia antimicrobiana de los aceites esenciales de orégano y romero. Los resultados obtenidos respaldan la hipótesis formulada, que sostiene que estos aceites esenciales tienen un impacto considerable en la disminución de la contaminación microbiana tanto en el queso fresco como en los utensilios empleados durante su producción (Rios et al., 2018; Moreno et al., 2024).

La identificación de microorganismos patógenos en el queso fresco es fundamental para comprender los riesgos vinculados a su consumo. Mediante técnicas microbiológicas, se logró identificar la presencia de patógenos comunes como las Enterobacterias y *Staphylococcus aureus*. Estos microorganismos son responsables de diversas enfermedades transmitidas por alimentos y representan una amenaza considerable para la salud pública, especialmente en productos lácteos no pasteurizados (González et al., 2016; Chapa, 2018). La detección de estos patógenos subraya la urgencia de establecer prácticas adecuadas de higiene y control de calidad en la elaboración de queso artesanal.

Los resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de orégano y romero evidencian su efectividad para reducir la carga microbiana. Esto se alinea con investigaciones anteriores que han reportado propiedades antimicrobianas similares de estos extractos naturales (Asensio, 2013; Vilela, 2019). En particular, se constató que las concentraciones de 0,4% y 0,6% de aceite esencial de orégano tenían una capacidad notable para inhibir el crecimiento de patógenos como *E. coli* y *Staphylococcus aureus*. Este hallazgo sugiere que los aceites esenciales pueden funcionar como alternativas naturales a los conservantes sintéticos, ofreciendo una opción viable para mejorar la seguridad alimentaria en la producción de queso fresco.

La identificación de las condiciones óptimas de aplicación es crucial para maximizar la efectividad antimicrobiana de los aceites esenciales. Los resultados muestran que factores como la concentración, el tiempo de exposición y el método de aplicación son decisivos para lograr una reducción de la contaminación microbiana. Estos hallazgos son consistentes con la literatura existente, que indica que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales puede variar significativamente dependiendo de las condiciones de uso (López et al., 2014; Rios et al., 2018). Esta información resulta muy valiosa para los productores locales, quienes podrían implementar estas prácticas para mejorar la seguridad de sus productos.

La incorporación de aceites esenciales en la elaboración de queso fresco no solo impacta la salud pública, sino que también proporciona ventajas económicas para los pequeños productores. Al disminuir la carga microbiana, se puede extender la vida útil del queso, lo cual es esencial para aumentar su competitividad en el mercado (Chapa, 2018; Haro, 2016). Además, el uso de opciones naturales puede satisfacer la creciente demanda de productos saludables y sostenibles entre los consumidores.

5.2. Conclusiones

Se determinó que la concentración más efectiva para reducir la carga bacteriana fue del 0,60% de aceites esenciales de orégano y romero. Aunque a concentraciones más bajas, como el 0,40%, se observó una disminución en la cantidad de bacterias, no se alcanzó una eliminación total. Estos resultados indican que, para obtener un efecto antimicrobiano óptimo, es necesario utilizar concentraciones superiores al 0,40% de estos aceites en la producción de queso fresco.

En ausencia de aceites esenciales, se registró un aumento en la cantidad de enterobacterias y *Staphylococcus aureus*, lo que indica una falta de control microbiológico, lo cual representa una preocupación en la industria alimentaria. No obstante, al aplicar los aceites esenciales en concentraciones de 0,40% y 0,60%, se consiguió una disminución considerable de estas bacterias, lo que

resalta el potencial de estos aceites para fortalecer la seguridad alimentaria en la producción de queso.

Los aceites esenciales de orégano y romero surgen como una opción natural y efectiva para el control microbiológico en la elaboración de queso fresco. Su habilidad para eliminar patógenos como las enterobacterias y *Staphylococcus aureus*, así como su efecto bacteriostático sobre otros microorganismos, los posiciona como una alternativa prometedora frente a los antimicrobianos tradicionales, especialmente en un contexto de creciente interés por la producción de alimentos más saludables y sostenibles.

5.3. Recomendaciones

Es importante analizar el comportamiento de las bacterias durante un periodo de tiempo más prolongado, ya que la contaminación podría no limitarse únicamente a los dos días, sino también presentarse durante el proceso de almacenamiento.

Sería conveniente analizar el impacto de los aceites esenciales de orégano y romero en diversas concentraciones, no solo en 0.40% y 0.60%, sino también en dosis más bajas o más altas, con el fin de identificar la concentración mínima que sea efectiva.

Se tiene que investigar si los aceites esenciales afectan las propiedades sensoriales del queso, como el sabor, aroma y textura, ya que estos factores podrían influir en su aceptación por parte de los consumidores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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 Científica*, 4 (3), 55-66. Recuperado de: <https://revistas.utm.edu.ec/index.php/Basedelaciencia/article/view/1857>

Arteaga-Solorzano, R.A., M. Armenteros-Amaya, D. Quintana-Garcia and A. Martinez-Vasallo, «Evaluación de las buenas prácticas en la elaboración de queso artesanal en Manabí, Ecuador», *Revista de Salud Animal*, vol. 43, n.o 2, pp. 1-10, 2021.

Asensio Claudia Mariana, (2013) Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos cottage, ricota y aceite de oliva. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, pp. 6-88. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/72040547.pdf>

Benavides, E. G. (2015). Evaluación de la calidad sanitaria de quesos amasados elaborados artesanalmente en el cantón Tulcán. Repositorio del centro de investigación, Transferencia Tecnológica y Emprendimiento (CITTE-UPE) Artículo Investigación Código: (CI-06-2015). Recuperado de <http://repositorio.upec.edu.ec:8080/handle/123456789/469>.

BAQUE, Evelyn & Chugchilan, Katina, (2018) Evaluación de la Calidad Microbiológica de Quesos Frescos Comercializados en un Mercado de la Provincia del Guayas y Producidos en una Quesera Artesanal de la Provincia de Chimborazo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador: ESPOCH, 2018. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/9716>.

Buñay, C; y Peralta, K. (2015). Determinación del recuento de aerobios mesófilos en leche cruda que ingresa a industrias lacto Ochoa (tesis maestría). Universidad de Cuenca. Repositorio de la Institución. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/21584>.

Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.

Clevenger, T. (2009). Chemical composition of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 21(1), 5-9.

Creswell, J. W. (2014). *Research design: Qualitative, quantitative, and mixed methods approaches*. SAGE Publications.

Chapa, B. A. (2018). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) sobre *Listeria monocytogenes* en queso fresco (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas-UNTRM).

Díaz Rivero C, González de García B. Staphylococcus aureus en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos P, Contreras A, Forsyth S. Inocuidad microbiológica de quesillos comerciales y artesanales expendidos en chillan. *Rev. chil. nutr.* 2016;43(2):172-9.

Díaz, E; Valladares B; Gutiérrez A; Arriaga C; Quintero B; Cervantes P; Velázquez, V. (2017). Caracterización de queso fresco comercializado en mercados fijos y populares de Toluca, Estado de México. *Rev Mex Cienc Perú*, 8(2):139-146. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S07177518201900030028800013&lng=en

Espinoza, J. (2016). Evaluación Sensorial de los Alimentos. Ciudad de la Habana. Editorial Universitaria. 7 (8) 476–483. Recuperado de: <http://revistas.Panamericana.edu.cu/EDUNIV/legalcode-ar/98>.

FAO. (2014). Productos lácteos.

<http://www.fao.org/docrep/008/y9492s/y9492s09.htm#TopOfPage>

Guagrilla, J. (2022). Utilización de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) como antimicrobiano en queso mozzarella. [Tesis de grado, Escuela

Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional.
<http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/18781/1/27T00573.pdf>.

Guzmán, R. (2016). Mexican unpasteurised fresh cheeses are contaminated with *Salmonella* ssp.non -O157 Shiga toxin producing *E. coli* and potential uropathogenic *E. coli* strains. A public health risk. *International journal of food microbiology*. 23, (7) 10-16. Recuperado de: <https://doi.org/10.18259/acs.2015039>.

González, M. (2016). Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso para la obtención de queso fresco en la planta procesadora "papa juan" situada en el cantón "Flavio Alfaro" de la provincia de Manabí (tesis Doctoral), Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Repositorio de la Institución. Recuperado de: <http://190.15.134.12/bitstream/43000/1844/1/TUTEQ0018.pdf>.

Haro, J. (2016). Análisis Microbiológico de los quesos frescos comercializados en el mercado Simón Bolívar (San Alfonso) de la ciudad de Riobamba (Tesis de pregrado). Recuperado de: <http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/4986>

Idarraga M, Delgado V, León AM, Osorio JA. Análisis microbiológico de queso cuajada en municipios del departamento del Quindío. Análisis Microbiológico de Queso cuajada en Municipios del Departamento del Quindío. *Rev. ion*. 2018;31(1):49-54. <http://dx.doi.org/10.18273/revion.v31n1-2018008>.

Jara Puentestar Emily Anied y Fernández Paredes Manuel Enrique, (2024), evaluación del efecto de la adición de un microencapsulado de orégano (*Origanum Vulgare* L.) en el retardo de la oxidación lipídica en un queso crema durante su almacenamiento acelerado, Universidad Técnica de Cotopaxi, <https://repositorio.utc.edu.ec/handle/123456789/12421>

Lampert, D., & Porro, S. (2020). La enseñanza de las enfermedades transmitidas por alimentos y el desarrollo del pensamiento crítico. *Tecné, Episteme y Didaxis: TED*, 48. <https://doi.org/10.17227/ted.num48-12377>

López, L., Barrera, L., Ospina, M., Beltrán, S., Aguilar, J. (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, revista Investigación e Innovación en Ingenierías, doi: <https://doi.org/10.17081/invinno.12.2.7052>.

Merchán, N., Zurymar, S., Niño, L., Urbano, E. (2019). Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas, Rev Chil Nutr. 2019;46(3):288-294, <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000300288>.

Montero, M. (2017). Los procesos administrativos y su incidencia en la producción de la microempresa artesanal de productos lácteos "Don Jorge", en la ciudad de Santo Domingo de los Colorados, año 2014 (Tesis de maestría). Recuperado de dspace.uti: <https://goo.gl/ZkfzBF>.

Moreno et al. (2024). "Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal: un enfoque en la seguridad alimentaria y la preservación de métodos tradicionales" Reincisol, [https://doi.org/10.59282/reincisol.V3\(6\)2443-2468](https://doi.org/10.59282/reincisol.V3(6)2443-2468).

Nazzaro, F., et al. (2017). Essential oils and their bioactive compounds: Antimicrobial activity against foodborne pathogens. *Foodborne Pathogens and Disease*, <https://doi.org/10.3390/ph10040086>.

Olivas-Méndez, P.; Chávez-Martínez, A.; Santellano-Estrada, E.; Guerrero Asorey, L.; Sánchez-Vega, R.; Rentería-Monterrubio, A.L.; Chávez-Flores, D.; Tirado-Gallegos, J.M.; Méndez-Zamora, G. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and Garlic (*Allium sativum*) Essential Oils and Chipotle Pepper Oleoresin (*Capsicum annum*) on Beef Hamburgers. *Foods* 2022, 11, 2018. <https://doi.org/10.3390/foods11142018>.

Ortega, A. (2018). Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600 (Tesis de pregrado). Recuperado de dspace.ups <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16043>.

Quinde, M. (2017). El análisis sensorial de alimentos y bebidas aplicado a quesos frescos (tesis Doctoral). Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias de la

Hospitalidad Carrera de Gastronomía. Repositorio de la institución. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27299/1/%20.pdf>.

Ramírez, B; Medina, E; Escalona, J; Rodríguez, A; Olivares, J; y Thomas, A. (2018). Quesos artesanales venezolanos: evaluación de la calidad bacteriológica e identificación de bacterias ácido lácticas como componentes bacterianos de interés biotecnológico. *Revista Científica*, XXVI (2), 65-70 Recuperado de: <https://redalyc.org/jatsRepo/959/95945988002/html/index.html>.

Ríos, S; Benítez, D; y Soria, S. (2018). Cadenas agroalimentarias territoriales. Tensiones y aprendizajes desde el sector lácteo de la Amazonía ecuatoriana, 84 179-208. Recuperado de: <http://scielo.org.co/pdf/le/n84/n84a6.pdf>.

Rivas Vera, L. A., & Mero Zambrano, P. P. (2024). Efectos anticontaminantes de concentraciones de aceites esenciales de orégano y romero en queso fresco no pasteurizado (Bachelor's thesis, Calceta: ESPAM MFL).

RODAS PAZMIÑO, Karen; et al. "Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos comercializados en la Ciudad de Milagro, Octubre –Noviembre 2013". *Revista Cumbres [en línea]*, 2017, (Ecuador) 2(2), p. 25, 28. [Consulta:11-07-2021]. ISSN 1390-9541. Disponible en: <http://oaji.net/articles/2017/3933-1491599854.pdf>.

Rodríguez, H; Salinas, T; Aquino-C; Ortiz, I; Pérez, M; Jiménez, G; Hernández, J. (2019). Rendimiento y características organolépticas del queso fresco elaborado con leche positiva a la prueba del alcohol. *Revista de Agroproductividad*. 12 (8): 29-34. Recuperado de: <https://www.revistaagroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1447/1177>.

Solorzano, V. (2021). Evaluación de las principales fincas productoras de queso fresco artesanal manaba sobre la preferencia sensorial, calidad fisicoquímica y microbiológica. [Tesis de posgrado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/1586/TTMAI28D.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Saltos, J; Márquez, Y; López, A; Martínez, J; y Guerrero, D. (2018). La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos conteo microbiológico del *S. aureus* en quesos frescos. *Revista de Scielo*, 4 (9), 372-381. Recuperado de: <https://analytics.scielo.org/?journal=1665-2738&collection=mex>.

Sarango, C. (2020). El aceite de orégano como bioconservador en la carne de pollo. [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio Institucional. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15551/1/27T00504.pdf>

Sánchez, J., y Pérez, J. (2016). Vida útil sensorial del queso mantecoso por pruebas aceleradas. *Scientia Agropecuaria*, 7(2), 215-222. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172016000400008.

Saltos, J., Márquez, Y., López, A., Martínez, J., y Guerrero, D. (2018). La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos. Conteo microbiológico del *Staphylococcus aureus* en quesos frescos. *Revista Médica Electrónica*, 40(2), 371-382. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S168418242018000200013&script=sci_arttext&tlng=en.

Sokovic, M., Vukojevic, J., Marin, P. D., & Brkić, D. (2010). Antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species. *Food Control*, 21(4), 332-338.

Tofiño, A.D., Ortega, M.N., Herrera, B.K., Fragoso, P.O., y Pedraza, B.A. (2017). conservación microbiológica de embutido cárnico artesanal con aceites esenciales *Eugenia caryophyllata* y *Thymus vulgaris*. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(spe2), 30- 41. [https://dx.doi.org/10.18684/bsaa\(v15\)ediciónespecial2.576](https://dx.doi.org/10.18684/bsaa(v15)ediciónespecial2.576)

Vinocunga, D., Romero, A., Sánchez, C. (2023). Diseño del proceso de obtención de queso fresco en la provincia de Chimborazo en el software SuperPro Designer, revista ingenio: <https://doi.org/10.29166/ingenio.v6i1.4220>

Vásquez VA, Salhuana JG, Jiménez LA, Abanto LM. Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecol.* 2018;17(1):45-51. <https://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172>.

VILELA CÓRDOVA, Yeselia Estefany. Evaluación de 4 tecnologías de producción de quesos en la asociación agroforestal de CANAÁN-AGROECAN para su comercialización en la ciudad de Chachapoyas. [En línea] (Trabajo de Titulación) (Ingeniería). (Tesis de Pregrado) Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Perú. 2019. pp. 36-38 [Consulta: 2022-10-13]. Disponible en: <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/2082/Vilela%20Cordova%20Yeselia%20Estefany.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Viteri, L. D., y Prado, J. A. (2017). Efecto de la sustitución del nitrito de sodio con aceite de romero en la calidad final de una jamonada. (Tesis de pregrado). Recuperado de: <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/657>

ANEXOS

Anexo 1. Datos microbiológicos obtenidos de las muestras procesadas

Bacteria	Concentración de aceites esenciales de oregano y romero (%)	Día 0				Día 2				
		Utensilios	Mesa	Molde	Queso Fresco	Utensilios	Mesa	Molde	Queso Fresco	
Enterobacterias		100	100	100	100	0%	200	300	300	300
Staphylococcus aureus	0%	0	0	0	0		100	200	200	200
Enterobacterias		0	0	0	0		100	200	100	200
Staphylococcus aureus	0.40%	0	0	0	0	0.40%	0	0	0	0
Enterobacterias		0	0	0	0		0	0	0	0
Staphylococcus aureus	0.60%	0	0	0	0	0.60%	0	0	0	0

Realizado Por: Ponce, Darwin, 2024

Anexo 2. Datos de Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Desviación	Varianza
El valor de la medición bacteriana.	48	0	300	58,33	94,155	8865,248
N válido (por lista)	48					

Realizado Por: Ponce, Darwin, 2024

Anexo 3. Foto de toma de muestras en la mesa



Anexo 4. Foto de toma de muestra de utensilios



Anexo 5. Instalaciones de la quesera



Anexo 6. Cultivo microbiológico de los utensilios



Anexo 7. Cultivo microbiológico de la mesa



Anexo 8. Cultivo microbiológico del queso

