



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS**

### **CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

#### **“CONTROL DE CALIDAD DE UN CENTRO DE ACOPIO DE LECHE CRUDA CA1. EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”**

##### **Trabajo de Titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

##### **BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:** DIGNA MARILÚ CHIMBORAZO ASHQI

**DIRECTORA:** DRA. ANA KARINA ALBUJA LANDI

Riobamba - Ecuador

2020

**©2020, Digna Marilú Chimborazo Ashqui**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Digna Marilú Chimborazo Ashqui, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 27 de febrero del 2020

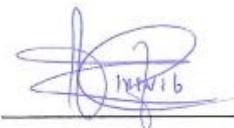
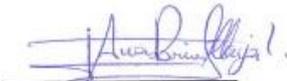


**Digna Marilú Chimborazo Ashqui**

**180446247-9**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de titulación tipo: Proyecto de investigación, “**CONTROL DE CALIDAD DE UN CENTRO DE ACOPIO DE LECHE CRUDA CA1. EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO**”, realizado por la señorita **DIGNA MARILÚ CHIMBORAZO ASHQUI**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dra. Irene del Carmen Gavilánes Terán Ph.D <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2020/02/27
Dra. Ana Karina Albuja Landi <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		2020/02/27
Dra. Sandra Noemí Escobar Arrieta <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2020/02/27

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado al principal forjador de mi camino, **DIOS**, por ser mi soporte para seguir adelante a pesar de las adversidades, por bendecirme día tras día y permitirme cumplir con uno de mis anhelos.

A **mi angelito** hermoso que me regalo Dios, quien llegó a completar mi vida de alegrías y desvelos, que a sido mi motor para seguir adelante a pesar de todas las dificultades que se presentaron.

A **mi familia** por su apoyo brindado durante mi trayecto de vida universitaria.

**Digna**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por haberme dado salud y fuerza para obtener uno de mis sueños más anhelados.

A mis padres María y Segundo, por su sacrificio y apoyo incondicional durante el transcurso de mi preparación académica.

A mis hermanos Nancy, Juan y Luis por su compañía durante todos los momentos de mi vida, siendo ellos mi inspiración para seguir adelante.

A ti, Stalin compañero, amigo y amor de mi vida, por confiar en mí y siempre tener una palabra para hacerme sonreír, por tu cariño y amor incondicional, siendo mi sostén en todo momento.

Mi agradecimiento a la Dra. Ana Karina Albuja, Dra. Sandra Escobar y BQF. Yolanda Buenaño por su ayuda incondicional y valiosos conocimientos que contribuyeron al desarrollo del presente trabajo.

A mis amigas y amigos quienes sin esperar nada a cambio compartieron conmigo alegrías y tristezas apoyándome a que este sueño se haga realidad.

**Digna**

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPÍTULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. La leche.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2. Leche cruda.....</b>	<b>4</b>
<i>1.2.1. Composición de la leche.....</i>	<i>4</i>
<i>1.2.2. Flora microbiana de la leche cruda.....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.2.1. Microorganismos presentes en la leche cruda.....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.3. Fuentes de contaminación de la leche.....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.3.1. Contaminantes químicos.....</i>	<i>9</i>
<i>1.2.3.2. Contaminantes biológicos.....</i>	<i>9</i>
<b>1.3. Calidad de la leche.....</b>	<b>9</b>
<i>1.3.1. Control de calidad de la leche.....</i>	<i>10</i>
<i>1.3.1.2. Calidad físico-química de la leche.....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.1.3. Calidad sanitaria de la leche cruda.....</i>	<i>14</i>
<b>1.4. Ganado Lechero y la producción de leche en el Ecuador y la Región 3.....</b>	<b>16</b>
<b>1.5. Industrias lácteas.....</b>	<b>17</b>
<i>1.5.1. Centros de acopio.....</i>	<i>18</i>
<i>1.5.1.1. Funciones de los Centros de Acopio.....</i>	<i>18</i>
<i>1.5.1.2. Requisitos que debe cumplir los Centros de Acopio Lechero.....</i>	<i>18</i>
<i>1.5.1.3. Equipamiento del Centro de Acopio.....</i>	<i>20</i>

### CAPÍTULO II

<b>2. MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>21</b>
<b>2.1. Lugar de la investigación.....</b>	<b>21</b>
<b>2.2. Factores de estudio.....</b>	<b>21</b>

2.2.1.	<i>Población</i> .....	21
2.2.2.	<i>Muestra</i> .....	22
2.3.	<b>Materiales, equipos y reactivos</b> .....	22
2.4.	<b>Metodología</b> .....	23
2.4.1.	<i>Levantamiento de línea base</i> .....	23
2.4.2.	<i>Revisión de las Prácticas Correctas de Higiene</i> .....	23
2.4.3.	<i>Recolección y transporte de muestras</i> .....	23
2.4.4.	<i>Muestreo de la leche cruda</i> .....	23
2.5.	<b>Análisis de la leche cruda</b> .....	24
2.5.1.	<i>Análisis sensorial de la leche cruda</i> .....	24
2.5.2.	<i>Análisis físico-químico de la leche</i> .....	24
2.5.2.1.	<i>Prueba de antibióticos</i> .....	24
2.5.2.2.	<i>Prueba de peróxidos</i> .....	25
2.5.2.3.	<i>Prueba de cloruros</i> .....	25
2.5.3.	<b>Análisis microbiológico</b> .....	26
2.5.3.1.	<i>Preparación de diluciones</i> .....	26
2.5.3.2.	<i>Determinación de bacterias aerobios mesófilos</i> .....	26
2.5.3.3.	<i>Determinación de Staphylococcus aureus</i> .....	27
2.5.3.4.	<i>Determinación de Enterobacterias</i> .....	28
2.5.3.5.	<i>Determinación de hongos y levaduras</i> .....	28
2.5.3.6.	<i>Determinación de bacterias ácido lácticas-Lactococcus</i> .....	29
2.5.3.7.	<i>Determinación de bacterias ácido lácticas-Lactobacillus</i> .....	29

### **CAPÍTULO III**

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.</b>	31
3.1.	<b>Resultados del check list. Transporte de leche cruda</b> .....	31
3.2.	<b>Resultados del check list. Requisitos de los centros de acopio</b> .....	34
3.3.	<b>Resultados del análisis físico-químico de la leche cruda</b> .....	37
3.4.	<b>Resultados del análisis microbiológico de la leche cruda</b> .....	40
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	43
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	44
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Componentes de la leche cruda .....	5
<b>Tabla 2-1:</b> Requisitos físico-químicos de la leche cruda.....	11
<b>Tabla 3-1:</b> Número de cabezas de ganado bovino por raza.....	16
<b>Tabla 4-1:</b> Cantidad de vacas ordeñadas y producción de leche en la zona 3 del Ecuador durante el período 2015-2017.....	17
<b>Tabla 1-2:</b> Equipos, materiales y reactivos utilizados para la evaluación físico-química y microbiológica .....	22
<b>Tabla 1-3:</b> Resultados del Check list realizado a los transportistas del centro de acopio CA1.31	
<b>Tabla 2-3:</b> Resultados del Check list de cumplimiento, realizado al centro de acopio CA1. ..	34
<b>Tabla 3-3:</b> Resultados físico-químicos de los tres muestreos realizados en el centro de acopio CA1. en diciembre del 2019. ....	37
<b>Tabla 4-3:</b> Resultados microbiológicos de tres muestreos realizados en el centro de acopio CA1. en diciembre del 2019.....	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-2:</b> Mapa de ubicación del Centro de Acopio CA1. ....	21
<b>Figura 2-2:</b> Interpretación de resultados de la prueba de antibióticos .....	25

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Evaluación de la lista de chequeo de los requisitos de medios de transporte de la leche cruda para el centro de acopio CA1. en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo. ....	33
<b>Gráfico 2-3:</b>	Evaluación de la lista de chequeo de los requisitos para el centro de acopio CA.1 en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo. ....	36

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RECONOCIMIENTO DEL CENTRO DE ACOPIO CA1. Y LAS RUTAS DE RECOLECCIÓN DE LECHE CRUDA.
- ANEXO B:** RECOLECCIÓN, TRANSPORTE DE MUESTRAS Y ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LECHE CRUDA
- ANEXO C:** ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA LECHE CRUDA
- ANEXO D:** RECUENTO EN PLACA DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA LECHE CRUDA.
- ANEXO E:** CATEGORÍAS DE CUMPLIMIENTO DENTRO DEL CHECK LIST.
- ANEXO F:** CRITERIOS DE CUMPLIMIENTO PARA EL CHECK LIST DE MEDIOS DE TRANSPORTE DE LECHE CRUDA.
- ANEXO G:** CRITERIOS DE CUMPLIMIENTO PARA EL CHECK LIST DE LOS CENTROS DE ACOPIO DE LECHE CRUDA.
- ANEXO H:** CÁLCULOS EMPLEADOS PARA LOS RECUENTOS DE MICROORGANISMOS INDICADORES.
- ANEXO I:** REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS ESTABLECIDOS POR LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-243-SSA1-2010.

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se efectuó el control de calidad de un centro de acopio de leche cruda CA1., ubicado en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo con la participación de 27 productores de leche que generan entre 1.800 a 2.000 litros diariamente. Se encontró que la mayor parte de los productores no contaban con un protocolo de rutina de ordeño de acuerdo al seguimiento realizado. Se realizaron los análisis de laboratorio en la leche cruda utilizando el equipo Lactoscan para determinación de parámetros físico-químicos y se aplicó la técnica de recuento en placa en superficie y en profundidad para determinación microbiológica, dando como resultado alto contenido de los siguientes microorganismos: bacterias aerobias mesófilas (7,34 a 8,38 log UFC/ml), *Staphylococcus spp.* (5,82 a 7,79 log UFC/ml), enterobacterias (6,19 hasta 7,75 log UFC/ml), mohos y levaduras (6,18 a 7,15 log UFC/ml), siendo estas perjudiciales para la salud del consumidor a diferencia de las bacterias lácticas que son beneficiosas en la industria láctea y en el metabolismo del ser humano. En conclusión, se verificó que existe malas condiciones higiénicas-sanitarias en la leche cruda para lo cual se recomienda capacitar al personal y a los productores del centro de acopio sobre las correctas prácticas de higiene mencionadas en el Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda-Resolución DAJ-2013461-0201.0213, desde el ordeño hasta la recepción a la planta de almacenamiento de leche garantizando la idoneidad e inocuidad del producto.

**Palabras clave:** <EVALUACIÓN HIGIÉNICO, SANITARIA>, <BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS>, <MICROORGANISMOS PATÓGENOS>, <INOCUIDAD ALIMENTARIA>, <LECHE CRUDA>.



## SUMMARY

In the present investigation, the quality control of a raw milk collection center CA1., was carried out located in Riobamba canton, Chimborazo province, with the participation of 27 milk producers that generate between 1,800 to 2,000 liters daily. It was found that most of the producers did not have a routine milking protocol according to the monitoring carried out. Laboratory analyses were carried out on the raw milk using Lactoscan equipment to determine physical-chemical parameters and the surface and deep plate rendezvous technique were applied for microbiological determination, resulting in a high content of the following microorganisms: aerobic mesophilic bacteria (7,34 to 8,38 log UFC/mL), Staphylococcus spp. (5,82 to 7,79 log UFC/mL), whole bacteria (6,19 to 7,75 log UFC/mL), moulds and yeasts (6,18 to 7,15 log UFC/mL), being these harmful to the health to the consumer, unlike lactic bacteria which are beneficial in the dairy industry and human metabolism. In conclusion, it was verified that there are bad hygienic-sanitary conditions in raw milk; for this reason, it is recommended that the personnel and producers of the collection center be trained in the good hygienic practices mentioned in the Manual of Procedures for the Surveillance and Control of the Safety of raw milk – Resolution DAJ-2013461-0201.0213, from milking to reception at the milk storage plant, guaranteeing the suitability and safety of the product.

**Keywords:** <HYGIENIC, SANITARY EVALUATION>, <LACTIC ACID BACTERIA>, <PATHOGENIC MICROORGANISMS>, <FOOD SAFETY>, <RAW MILK>.



## INTRODUCCIÓN

La leche y sus derivados son alimentos de mayor importancia en muchos países del mundo por su gran valor nutricional, que no pueden ser fácilmente reemplazados y mucho menos desplazados por otros productos. Son ricos en proteínas y calcio, nutrientes fundamentales en etapas de crecimiento y desarrollo, así como para el mantenimiento de la masa ósea y muscular. Por ende, es un alimento indispensable en la alimentación del ser humano (Abril Torres, y otros, 2013).

Sin embargo, se estima que cada año en la Región de las Américas, 77 millones de personas se enferman y más de 9000 mueren, de ellas 31 millones son menores de 5 años a causa del consumo de agua y alimentos contaminados con bacterias, virus, parásitos, productos químicos y/o toxinas. En el Ecuador durante el 2018, las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAS) alcanzaron alrededor de los 24.000 casos manifestándose con trastornos gastrointestinales, como dolor abdominal, diarreas, náuseas, vómitos, fiebre y enfermedades graves. A diferencia del 2019 hasta la semana epidemiológica 23 se han reportado 5.859 casos por intoxicaciones alimentarias bacterianas. Este número de afectados aumentó debido a algunos brotes suscitados en 3 provincias del país entre los cuales se encuentran Pichincha con 1.767, Guayas con 904 y Chimborazo con 430 casos durante el mes de junio. Dichos brotes fueron causados por el consumo de alimentos (carne bovina, huevos, carne porcina, carne de aves, pescado, crustáceos, moluscos, leche o productos lácteos) que tuvieron una mala manipulación, cocción y/o conservación, transmitiendo las bacterias patógenas (*Salmonella*, *Shigella*) a los consumidores (MSP, 2019).

En el caso de la leche cruda, ésta tiene 150 veces más oportunidades de producir una ETA, en comparación a la leche que ha pasado por un proceso de pasteurización (FDA, 2012).

Una de las causas del origen de las ETAS se debe a que en el Ecuador se ha incrementado de manera significativa la producción de leche, y con ello un sin número de prácticas que logran optimizar el proceso productivo. Según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2007), la producción lechera se encuentra concentrada en la región interandina, observándose que el 73% corresponde a la región Sierra, el 19% a la región Costa y un 8% al resto del país. Del total de la producción a nivel nacional el 75% de leche generada en las fincas corresponde a pequeñas y medianas explotaciones de 1 hasta menos de 100 ha, en donde no existen las condiciones adecuadas de manejo para la obtención y transporte de la leche, por lo que se ve en desventaja (Contero, 2008).

No obstante, este alimento cuando no es manejado de manera adecuada, es un excelente vehículo para la transmisión de enfermedades al hombre pudiendo ser estas de carácter zoonótico como las ocasionadas por patógenos que se producen por la contaminación de los productos durante los procesos de obtención y transformación de la leche, además se debe tomar en cuenta que también puede ser causada durante el transporte, en el que se presentan factores ambientales, el personal

con poca higiene que interviene en el proceso de obtención de leche y la contaminación cruzada que podrían alterar la calidad de la leche (Andrade, 2011).

Díaz (2015), argumenta que a toda esta problemática se suma la ineficacia de organismos de control a nivel de expendio hacia las plantas procesadoras de leche y uso de fármacos en las producciones ganaderas. Por lo cual es de vital importancia realizar el análisis de calidad de la leche cruda como materia prima de una planta procesadora de la provincia de Chimborazo para procesos posteriores en la elaboración de derivados lácteos, porque es una forma de apoyo a todo el proceso de manufactura y a la calidad final.

La presente investigación se llevó a cabo mirando la importancia que tiene la leche como materia prima para la industria láctea por lo que es necesario que los técnicos y productores ofrezcan a la colectividad un producto sano, libre de impurezas, agentes patógenos y biológicos, que puedan atentar contra la seguridad alimentaria, por ende cuanto mayores sean los cuidados aplicados a la obtención higiénica de la leche y a la sanidad de los animales productores de leche, menores serán los contenidos microbianos en la misma (Díaz, 2015).

Hoy en día la exigencia de los mercados a la producción lechera se ha centrado en la inocuidad alimentaria, además del cuidado del medio ambiente y el bienestar animal, buscando un producto que no cause daño a la salud; lo que permite valorar la calidad microbiológica de leche cruda, que es uno de los requisitos más importantes para la industria láctea. Los elevados recuentos bacterianos pueden incidir negativamente en el procesamiento industrial, y por ende disminuir tanto la vida útil como la calidad organoléptica y nutricional de los productos elaborados; razón por la cual su análisis fisicoquímico y microbiológico debe realizarse cumpliendo las normas de seguridad alimentaria (INEN), el cual establece los requisitos que debe cumplir la leche cruda de vaca, destinada al procesamiento y de esa manera se permita ofrecer al consumidor un producto de calidad. Para lo cual, se evaluaron las condiciones higiénico sanitarias y la calidad de la leche cruda del centro de acopio CA1 del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo mismos que se llevaron a cabo en los laboratorios del Grupo de Investigación “SAGID” y en el laboratorio de bromatología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, determinándose de tal manera si la leche es de calidad, adecuada para los procesos post recolección y apta para el consumo humano, cumpliendo con los requisitos que establece la (NTE INEN 9, 2012) “Leche cruda. Requisitos”.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Realizar el control de calidad de un centro de acopio de leche cruda CA1. en la provincia de Chimborazo.

### **Objetivos Específicos**

1. Identificar el cumplimiento del Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda. Resolución DAJ-2013461-0201.0213 del Centro de Acopio.
2. Analizar mediante parámetros de calidad físico-químicos las muestras de leche cruda y determinar el cumplimiento con la norma NTE INEN 9: 2012 (Leche cruda. Requisitos)
3. Cuantificar bacterias aerobias mesófilas y bacterias indicadoras de calidad higiénica-sanitaria (*Staphylococcus spp.* y Enterobacterias) presentes en las muestras de leche cruda.
4. Realizar el recuento de bacterias ácido lácticas (*Lactococcus* y *Lactobacillus*) presentes en la leche cruda del Centros de Acopio

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

### 1.1. La leche

La leche es un compuesto de color blanco o marfil, líquido, de sabor dulce obtenido del ordeño higiénico de un animal sano y bien alimentado. Es un producto con alta calidad nutritiva siendo apto para el consumo humano, además debe estar libre de microorganismos, sustancias tóxicas y/o calostro que causen la contaminación y modificación en su composición (Galeano, 2017).

### 1.2. Leche cruda

Refiere a la leche que no ha sufrido ningún tratamiento o calentamiento, es decir, una vez extraído de la ubre de la vaca su temperatura no ha sido superior a los 40°C (NTE INEN 9, 2012).

Existen algunos factores que determinan cuando una leche cruda no es idónea para su consumo, como:

- Proviene de animales desnutridos, cansados, enfermos o estén siendo manipulados por personas con enfermedades contagiosas
- La presencia de sustancias ajenas al contenido del producto, tales como adulterantes, neutralizantes, colorantes, conservantes o residuos de antibióticos que superen los límites permitidos
- El contenido de sangre o calostro producto del ordeño entre 12 días antes y 7 días después del parto
- Presenta toxinas microbianas, metales pesados, residuos de pesticidas o carga microbiana superior a lo permitido (NTE INEN 9, 2012).

#### 1.2.1. Composición de la leche

La leche es uno de los alimentos con alto grado de valor nutricional debido a sus componentes que presenta:

**Tabla 1-1:** Componentes de la leche cruda

Componentes	% (fracción de masa)
Agua	87 - 88
Grasa	3,2 - 4,2
Proteínas	2,8 - 3,5
Lactosa	4,7 - 5,2
Cenizas	0,7

Fuente: (Villegas de Gante, 2009)

a) Agua

El agua forma la fase continua de la leche en donde se encuentran componentes sólidos y gaseosos. Aproximadamente el 87,5% de la leche es agua y un 12,5% son los sólidos totales. Se puede encontrar en dos estados:

- Agua de enlace. - sirve como elemento de cohesión de componentes no solubles, de difícil eliminación debido a que es adsorbida en la superficie de los componentes
- Agua libre. - mantiene en solución a la lactosa y a las sales debido a que se encuentra en mayor proporción. Se la conoce como suero cuando sale de la cuajada (Keating, 2002).

El agua permite mantener a las proteínas solubles, la lactosa y los minerales en solución, a las grasas en emulsión y a las proteínas en dispersión. A su vez su contenido en leche es regulada por la presencia de lactosa y por las fluctuaciones en el contenido graso que ocurren en el período de lactación. La producción de leche puede verse afectada cuando disminuye el agua (López, 2016).

b) Proteínas

Son sustancias nitrogenadas de la leche, dispersas en forma de micelas en estado coloidal. La mayor parte se encuentran formando parte de los prótidos (holoprótidos y heteroprótidos). Dentro de los holoprótidos están la lactoalbúmina presente en mayor proporción cuando la leche de las vacas presenta mastitis, o calostro, coagula por acción del calor a 72°C y más no por los ácidos o el cuajo. También se encuentra en mayor proporción que la anterior la lactoglobulina que precipita a los 70°C. La principal proteína de la leche es la caseína que se encuentra dentro del grupo de los heteroprótidos, formada por 20 aminoácidos y representa el 78% de los prótidos. Para determinar la estabilidad de la leche al calor se realiza la prueba de alcohol y se puede apreciar si se corta o no la leche, es decir, si se flocula o no la caseína. Además, se puede precipitar la caseína por acción de una enzima (renina) produciendo la formación de un gel, o a su vez sometiéndola a temperatura superior a 130°C por varias horas (Keating, 2002).

Existe relación entre la cantidad de proteínas con la cantidad de grasa, es decir mientras mayor cantidad de proteínas exista en la leche menor será la cantidad de grasa (Santiago, 2009).

#### c) Grasas

El contenido de materia grasa en la leche suele ser variable debido a varios factores como la edad, la raza, la genética, estación del año, la alimentación, estado de lactación del animal, número de partos o por alguna enfermedad que presente el animal (López, 2016).

La grasa en la leche se encuentra en forma de glóbulos dispersos en la fase acuosa, recubiertos de una membrana que cumple la función de protección y en cuyo interior se encuentran los triglicéridos. Dichos glóbulos tienden a subir debido a la baja densidad de 0,92 que es menor a la leche descremada de 1,035 y se unen rápidamente por tener un grande diámetro. En cuanto a la membrana resulta de fácil alteración dando origen a sabores y olores desagradables que son fuertes cuanto mayor sea el contenido de materia grasa (Keating, 2002; López, 2016).

La materia grasa se compone de dos grupos, los lípidos como monoglicéridos, triglicéridos, lecitinas, cerebrósidos, cefalinas y estinogomelina; también de grasas no saponificables como los betacarotenos, xantofilinas, neobetacarotenos, colesterol ergosteroles y vitaminas A, D, E y K. Los pigmentos que dan la coloración amarilla a la grasa son los alfa y betacarotenos (Keating, 2002).

#### d) Lactosa

Es el componente más estable en cuanto a variación de concentración, motivo por el cual ayuda a determinar el aguado de la leche o cualquier alteración similar. La leche contiene un azúcar denominado lactosa que se encuentra en dispersión molecular; dicha lactosa al ser un disacárido conformado por glucosa y galactosa, puede ser fermentada por bacterias ácido lácticas al producir ácido láctico (Keating, 2002).

La determinación del agudo de leche se realiza mediante el índice de refracción, cuyo valor en lacto suero cálcico o suero comprende entre 37,5-42°C, con una densidad de 1,0244-1,0290 en suero de la leche, entonces valores < 36,7 y densidad de 1,0236 muestran más del 10% de contenido de agua en la leche (Keating, 2002). Otro factor importante de variación de lactosa es debido a la infección de la ubre la cual disminuye la secreción de la misma y de acuerdo a la regulación osmótica el contenido de lactosa es inversamente proporcional a las sales (Alais, 1985).

#### e) Vitaminas

La leche es considerada con gran valor nutritivo por sus componentes sobre todo vitaminas que presentan tanto liposolubles como hidrosolubles tales como:

- Liposolubles. - Vit. A, Provitamina D3, Vit. E y trazas de Vit. K;
- Hidrosolubles. - Vit. B1, B2, trazas de Vit. B12 y Vit. C

Las vitaminas permiten la regulación y adecuado funcionamiento del metabolismo debido a que estas funcionan en el organismo como coenzimas o precursores de coenzimas (Santiago, 2009).

#### f) Sales y minerales

Son importantes en la nutrición y en la regulación metabólica, tanto en forma de componente esencial o en forma iónica soluble. Las sales se encuentran en dispersión iónica, representando del 0,6 hasta el 1% en la leche. Dentro de los minerales tenemos al potasio, calcio, sodio, fósforo, zinc, cloro, rubidio, flúor, sílice, hierro, litio, cobalto, molibdeno, magnesio, manganeso, yodo y níquel; de las cuales el calcio es fundamental por su valor nutricional y se encuentra en mayor cantidad, siendo de fácil asimilación por el ser humano; mientras que un incremento de cloruros es un indicativo de presencia de mastitis en la leche (Keating, 2002; Santiago, 2009).

#### g) Enzimas y gases

La leche contiene enzimas como las hidrolasas y las oxido-reductasas. En el grupo de las hidrolasas están las lipasas, fosfatasa, amilasa, lactasa y dentro de las oxido-reductasas tenemos las peroxidasa y catalasas (Keating, 2002).

Dentro de los principales gases presentes en la leche están el oxígeno, hidrogeno y bióxido de carbono (Keating, 2002).

### **1.2.2. Flora microbiana de la leche cruda**

La leche tiene alto valor nutricional y es considerado estéril cuando se encuentra en las ubres del bovino, pero una vez ordeñada se convierte en un foco de contaminación física, química y como medio idóneo para el crecimiento y desarrollo microbiano el cual va a modificar las características del producto dependiendo de las condiciones de almacenamiento, su tiempo, clase de organismo, y la temperatura en el que estén expuestos siendo lo ideal 35°C para el crecimiento bacteriano. La procedencia de los microorganismos es diversa, generalmente se generan cuando la leche entra en contacto directo o indirecto con el interior del pezón, cuerpo de la vaca, los materiales o

equipos de ordeño, tanques o bidones, agua de lavado, sala de ordeño, aire, basura, pasto, estiércol o del mismo del ordeñador (Quigley L. et al., 2013).

#### **1.2.2.1. Microorganismos presentes en la leche cruda**

Por el alto porcentaje de contenido de agua en la leche, su pH cercano a la neutralidad y la composición nutritiva, hacen de este medio propicio para el desarrollo de bacterias, hongos, levaduras y virus. De entre todos estos se los puede clasificar en dos grupos: unos son banales (inocuos) como las bacterias ácido lácticas y otros microorganismos son patógenos o perjudiciales para la salud dependiendo de la concentración del producto y la persona que lo ingiera (López, 2016).

Dependiendo del efecto beneficioso o causantes de patogenia podemos encontrar los siguientes microorganismos:

- En tecnología de los alimentos: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*;
- Los beneficiosos para la salud: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* y ciertas levaduras;
- Los causantes de deterioro en el producto lácteo: *Pseudomonas*, *Acnobacter*, *Chryseobacterium* y *Clostridium*;
- Perjudiciales en la salud del ser humano: son portados por leche a través del estiércol, saliva, vías respiratorias, falta de higiene, entre otros, como: la *Salmonella*, causante de la tifoidea; *Shigella* que produce disentería bacteriana, *Corynebacterium* que ocasiona la difteria, la *Listeria* causante de listeriosis, *Staphylococcus* originan infecciones cutáneas o intoxicaciones alimentarias, *Escherichia coli* producen afecciones gastrointestinales, *Campylobacter* causante de enteritis, *Mycobacterium tuberculosis* originarios de la tuberculosis, la *Brucella abortus* causante de la brucelosis y ciertos hongos productores de aflatoxinas (Quigley L. et al., 2013).

#### **1.2.3. Fuentes de contaminación de la leche**

Las principales fuentes de contaminación de la leche pueden ser el estiércol, el interior del pezón de la vaca, el cuerpo de la vaca, los materiales y equipos utilizados, el agua, el aire, personal, entre otros. La leche tiene alto valor de nutrientes, pero puede verse afectado por la presencia accidental de diversos contaminantes, sean estos de origen químico o biológico (Villegas de Gante, 2009).

#### *1.2.3.1. Contaminantes químicos*

Las vacas se encuentran expuestas ya sea directa o indirectamente a ciertos químicos, es así que los contaminantes que frecuentemente se detectan son: herbicidas, antibióticos, insecticidas, fungicidas e higienizantes (Villegas de Gante, 2009).

En el campo utilizan frecuentemente plaguicidas para controlar plagas sean estos animales o plantas indeseables, dichos biocidas tienen un grado de toxicidad. Dentro del grupo de medicamentos veterinarios podemos encontrar estreptomicina, penicilina, clorotetraciclinas, antiparasitarios, antiinflamatorios y los promotores de crecimiento, generalmente utilizados para incrementar la producción, pero pueden ser peligrosos debido a que en ocasiones se los pueden encontrar íntegros. También se pueden encontrar contaminantes ambientales como los metales pesados, bifenilos policlorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos producto de labores industriales; mismos que al ser ingeridos por los animales a través de agua o suelo contaminado, afectan al producto y a la salud de sí mismos (Villegas de Gante, 2009).

#### *1.2.3.2. Contaminantes biológicos*

La leche desde el momento del proceso de ordeño ya puede ser contaminada con microorganismos. La clase y cantidad dependerá de las prácticas de higiene y salud implementados en el manejo del producto, partiendo desde la producción, transporte, procesamiento hasta la venta del producto (Keating, 2002).

Los grupos comúnmente encontrados en la leche son las bacterias, hongos, virus, amibas, rickettsias; de los cuales unos son saprofitos y otros patógenos para el hombre. Los primeros se expresan de acuerdo al tratamiento higiénico que tenga con la leche, mismo que puede afectar en la calidad de la leche y sus derivados. Por otro lado, la presencia de microorganismos patógenos son el reflejo de la sanidad (Keating, 2002).

### **1.3. Calidad de la leche**

La calidad de la leche hay que contemplarlo como un conjunto de caracteres que determinan la idoneidad e inocuidad para los fines previstos. Se trata de varios factores de calidad que van a influenciar en las propiedades nutritivas, higiénicas, tecnológicas y de utilización de la leche cruda y de sus derivados (López, 2016).

Los aspectos nutritivos de la leche y los derivados lácteos la colocan entre los alimentos básicos por excelencia, debiendo estos conservar su calidad desde los hatos hasta la llegada al consumidor garantizando la confianza del mismo, a pesar de ello puede verse afectado negativamente por

microorganismos, enfermedades de los animales productores, las sustancias químicas (pesticidas, antibióticos, restos de detergente, desinfectantes, otros) o por la presencia de olores, olores y sabores extraños. De acuerdo al contenido de microorganismos presentes en la leche y la composición química, resulta difícil tener un producto con características constantes, por lo cual es indispensable realizar una estandarización de los procesos con el fin de generar productos de calidad sin afectar a la salud del consumidor (Galeano, 2017; López, 2016).

### ***1.3.1. Control de calidad de la leche***

El Estado ha creado una serie de normas, leyes y reglamentos que ayuden a mejorar la calidad de la leche y de sus derivados. Una de las normas a seguir es para Leche cruda (requisitos) correspondiente a la NTE INEN 9: 2012; cuya norma orienta sobre los parámetros a reunir para ser una leche de calidad, como son: provenir de animales sanos y limpios, ser pura, limpia y libre de sustancias extrañas, que cumplan con las características organolépticas, encontrarse dentro de los valores normales en sus parámetros físicos-químicos, no coagular por ebullición, no contener sangre o pus, tener una reacción negativa a la prueba de alcohol a 68%, ser negativa a pruebas de inhibidores y sacarocinta. Estos análisis resultan difíciles de determinar en pequeñas o medianas empresas debido a su costo, por ello deben determinar lo principal que son densidad, grasa y acidez diariamente para garantizar un producto de calidad (Villegas de Gante, 2009).

#### ***1.3.1.1. Calidad sensorial***

##### ***1.3.1.1.1. Color***

Debe ser de color marfil o blanco (MAG, 2006).

##### ***1.3.1.1.2. Olor***

Suave, lácteo característico propio de la leche; es considerado como anormal cuando éste presente otro olor ajeno a lo normal (MAG, 2006).

##### ***1.3.1.1.3. Aspecto***

El aspecto de la leche debe ser uniforme salvo si la leche no esté homogenizada, la grasa formara una capa de color amarillo ligero cuando se encuentre en reposo. No debe existir variación en la viscosidad normal de la leche o desfase del estado líquido opaco coloidal (MAG, 2006).

### 1.3.1.2. Calidad físico-química de la leche

La leche cruda para ser procesado en las industrias lácteas debe cumplir con los siguientes requisitos físico-químicos que se establecen en la siguiente Tabla 2-1.

**Tabla 2-1:** Requisitos físico-químicos de la leche cruda.

Requisitos	Unidad	Mín.	Máx.	Método de ensayo
Densidad relativa: a 15°C a 20°C	--	1,029 1,028	1,033 1,032	NTE INEN 11
Materia grasa	%	3,0	--	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	%	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	%	11,2	--	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	%	8,2	--	*
Cenizas	%	0,65	--	NTE INEN 14
Punto de congelación**	°C °H	-0,536 -0,555	-0,512 -0,530	NTE INEN 15
Proteínas	%	2,9	--	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa***	H	3	--	NTE INEN 018
Reacción de estabilidad proteica (Prueba de alcohol)	Para leche destinada a pasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen; y para la leche destinada a ultrapasteurización: No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en peso o 78 % en volumen			NTE INEN 1500
Presencia de: Conservantes <sup>1)</sup> , Neutralizantes <sup>2)</sup> , Adulterantes <sup>3)</sup> , Grasas vegetales	--	Negativo		NTE INEN 1500
Suero de leche	--	Negativo		NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis	--	Negativo		Prueba de anillo PAL
RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS <sup>5)</sup>	ug/l	--	MRL/ establecidos en el CODEX Alimentarius CAC/MRL2	Los establecidos en el compendio de métodos de análisis identificados como idóneos para respaldar los LMR del codex <sup>6)</sup>
<p>* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.  ** °C= °H . f, donde f= 0,9656  *** Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento  1) Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidosa adicionada y dióxido de cloro.  2) Neutralizantes: orina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.  3) Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, leche en polvo, suero de leche, grasas vegetales.  4) “Fracción de masa de B, W<sub>B</sub>: Esta cantidad se expresa frecuentemente en por ciento, %. La notación “% (m/m)” no deberá usarse”.  5) Se refiere a aquellos medicamentos veterinarios aprobados para uso en ganado de producción lechera.  6) Establecidos por el comité del Codex sobre residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos</p>				
<p>NOTA 1. Se podrán presentar variaciones en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación, pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas.</p>				

Fuente: Norma (NTE INEN 9, 2012)

#### *1.3.1.2.1. Acidez titulable como ácido láctico*

La acidez se realiza mediante el método de titulación con NaOH. Por lo general la leche cruda posee una acidez de 0,13 a 0,17%, los valores inferiores a 0,13% pueden deberse a leches con mastitis, aguadas o hayan sufrido alteración con algún producto alcalinizante; en cambio valores mayores a 0,17% son indicativos de contaminantes bacterianos o por la degradación microbiana de la lactosa y de los lípidos (Keating, 2002; Alais, 1985).

#### *1.3.1.2.2. pH*

La leche fresca presenta un pH de 6,5-6,7. Los valores superiores hacen referencia al estado sanitario de la glándula mamaria e inferiores a la cantidad de CO<sub>2</sub> disuelto en la leche, el desarrollo de microorganismos que al desdoblarse la lactosa promueven la producción de ácido láctico, descomposición bacteriana o la presencia de calostro (Keating, 2002).

#### *1.3.1.2.3. Densidad*

La densidad de la leche va a depender de las densidades de otros componentes tales como el agua (1,000), grasa (0,931), proteínas (1,346), lactosa (1,666), minerales (5,500) y S.N.G. (1,616). De ahí que la leche cruda tendría una densidad promedio de 1,032; a diferencia de una leche aguada reporta valores menores a 1,029 (Keating, 2002). La leche individual varía entre 1,030 hasta 1,033, mientras que en mezcla alcanza un valor de 1,032; una leche desnatada presenta una densidad mayor a 1,035 a diferencia que si le adicionan agua se disminuye la densidad, entonces una leche desnatada y aguada presentan densidad normal por tal razón el valor sólo de la densidad no revela fraude tiene que interpretarse con los otros componentes mencionados anteriormente (Alais, 1985).

#### *1.3.1.2.4. Grasa*

La determinación de la grasa se puede realizar por diferentes métodos, pero el método Gerber o Badcock es el más utilizado. El porcentaje de grasa en la leche de vaca puede variar notablemente debido a varios factores como la raza, la edad, la alimentación y la salud del animal. Los valores más comunes de grasa son de 32 y 42 g/L. La grasa de la leche puede presentar un olor a pescado producto de la oxidación de fosfolípidos y llevando a la formación de trimetilamina (Keating, 2002).

#### *1.3.1.2.5. Prueba de alcohol*

Su principio se basa en que las proteínas de la leche pierden su estabilidad en medio ácido, frente al alcohol etílico de 68°. La acidez es producto de las distintas rutas metabólicas que hacen las bacterias en la leche durante fermentaciones (heteroláctica, homoláctica, ácido mixta o acetoácida) incrementen la acidez titulable de 0,12% a 0,18%; entonces se dice que la prueba de alcohol es positiva. También puede ser fácilmente observable por sus cambios organolépticos (Gaviria).

De acuerdo con un estudio realizado por el Dr. Pastor Ponce denominado Síndrome de leche alterada “SILA”, en la que se observó que, en las vacas alimentadas con forrajes altos en fibra, bajos en proteína y recién ordeñadas presentan una acidez titulable del 0,12%, proteínas menos del 2,8%, grasa máxima del 3%, estable en la ebullición y sin cambios de sabor y olor. Este síndrome se observó al final de las heladas o del verano. Por otro lado, se hizo una comparación con cambio en la nutrición es decir con alta dieta en proteína y baja en fibra dando como resultado una leche alcohol positiva y acidez normal (Gaviria).

#### *1.3.1.2.6. Sólidos totales*

La materia seca está conformada por los compuestos sólidos de la leche. Estos sólidos comprenden un 11,2% en la leche de vaca y pueden ser determinados de manera directa o indirectamente mediante la aplicación de calor para evaporar toda la fase acuosa de la leche (Keating, 2002).

#### *1.3.1.2.7. Prueba de antibióticos*

La prueba de antibióticos es un análisis rápido para conocer si la vaca presenta antibióticos circulados desde la sangre hasta la leche como un fluido. Las vacas con enfermedades infecciosas son tratadas con antibióticos, mismos que pueden originar residuos de antimicrobianos que sobrepasen los límites de seguridad legales (MAGAP, 2013).

Los bovinos se deben tratar únicamente con medicamentos veterinarios autorizados legalmente, de tal manera no afecten en la idoneidad e inocuidad de la leche, esto incluye que se deseche la leche contaminada y se respete la etapa de suspensión prescrito (OMS y FAO, 2011).

#### *1.3.1.2.8. Prueba de peróxidos ( $H_2O_2$ )*

Es prohibido e ilegal el uso de peróxidos para la conservación de la leche debido a su ataque a los microorganismos que descomponen la leche. La determinación de  $H_2O_2$  permite detectar si a la

leche le han añadido agua oxigenada, de tal manera aumentando la conservación del producto desde el ordeño hasta el lugar de distribución (MAGAP, 2013).

#### 1.3.1.3. Calidad sanitaria de la leche cruda

La leche es de calidad cuando cumple con los estándares de calidad siendo así apta para el consumo humano. La calidad se genera desde el ordeño de vacas bien alimentadas hasta la calidad y cantidad de componentes sólidos que contengan como: lactosa, grasa, proteína, vitaminas y minerales; libre de sedimentos, sustancias químicas, inhibidores, olores extraños y bacterias causantes de enfermedades o a su vez con baja carga microbiana y sin células somáticas (Galeano, 2017).

La inocuidad de la leche se lo expresa con el número de bacterias por mililitros de leche sin la presencia de inhibidores microbianos

##### 1.3.1.3.1. Recuento total de bacterias mesófilas

Las bacterias aerobias mesófilas se desarrollan fácilmente a temperatura de 25-37°C, mismas que se pueden encontrar en agua, aire o suelo (Bohórquez, 2015).

El recuento de las bacterias mesófilas es un indicador de calidad microbiológica más utilizado en alimentos. En la norma ecuatoriana (NTE INEN 9: 20112) se menciona los límites permitidos es de  $1,5 \times 10^{-6}$  UFC/cm<sup>3</sup> para la leche cruda; si la ubre de la vaca está sana el contenido de microorganismos en la leche es baja; pero si presenta alguna enfermedad o se ha realizado un incorrecto proceso de ordeño e inclusive no se ha enfriado la leche luego del ordeño se incrementa este contenido de bacterias (Bohórquez, 2015).

##### 1.3.1.3.2. Recuento de enterobacterias

Las *Enterobacteriaceae* se encuentran normalmente en el intestino del hombre y de los animales, en el heno, las plantas, el polvo, etc.; es así que su presencia en agua o leche es sinónimo de contaminación fecal, ocasionando acidificaciones y por ende daño de la leche y de sus derivados. Estas enterobacterias se encuentran con menor frecuencia en la leche como otras bacterias Gram negativas debido a su patogenicidad; sin embargo dentro de las más peligrosas esta la *Salmonella*, seguida de las causantes de trastornos gastrointestinales (*E. coli*, *Yersinia*, *Shigella*) (Keating, 2002). Las bacterias más comunes presentes en la leche cruda están: *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter aerógenes*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, y *Serratia*. Su crecimiento es óptimo a los 37°C, pero pueden desarrollarse entre los 10-42°C, resistentes a los 60°C en los

15 minutos y por 1 hora a los 55°C; al momento de su desarrollo fermentan la lactosa produciendo ácido láctico (Keating, 2002).

#### *1.3.1.3.3. Recuento de Staphylococcus sp.*

Las bacterias *Staphylococcus aureus* son anaerobios facultativos, pero pueden crecer en presencia de aire a 37°C y seguir desarrollándose hasta los 10°C o menos. Microscópicamente se observan como cocos Gram (+) en forma de racimos de uvas (Padilla, 2007). Generalmente la especie de *Staphylococcus aureus* son muy fermentadores, se encuentran en bajas cantidades en la leche cruda. Las bacterias de *Staphylococcus* pueden producir una toxina (enterotoxinas estafilococales=SE) que es común encontrarla en vacas con mastitis o a su vez la mala práctica higiénica del personal como en el mal lavado de manos, utensilios y equipos pueden generar la toxina, incrementando los recuentos de esta bacteria. Según la FDA los niveles altos de esta bacteria presentan un riesgo para la salud ocasionando intoxicaciones; por su termorresistencia no pueden ser destruidas con la pasteurización (Galeano, 2017).

Los síntomas de la intoxicación alimentaria estafilocócica se manifiestan de 1 a 6 horas después del consumo del producto con presencia de náuseas, diarrea, malestar, vómito y debilidad en general (Padilla, 2007).

#### *1.3.1.3.4. Recuento total de mohos y levaduras*

No tienen mucha importancia la presencia de mohos y levaduras en la leche fluida sino en sus derivados, porque una vez sometido a temperatura de pasteurización estas se destruyen fácilmente (Pinzón, 2006). Su presencia en leche suele deberse a las condiciones higiénico sanitarias deficientes, causando deterioro de la leche o de los derivados (Heer, 2007).

El micelo de hongo es de color blanco cremoso con una parte basal pigmentos de color rosa, rojo, amarillo o café; las hifas de este micelo son tubos de pared transparentes. La temperatura óptima para su desarrollo es de 25-30°C y pueden tolerar pH ácido que básico. Se diferencian de las levaduras ya que estas son de importancia económica por la producción de ácido láctico, alcohol y ácido acético (Keating, 2002).

#### *1.3.1.3.5. Recuento total de bacterias lácticas: Lactococcus y Lactobacillus*

Las bacterias ácido lácticas (BAL) forman un grupo de microorganismos benignos con capacidad de producir ácido láctico por fermentación anaeróbica de los azúcares (lactosa). Son idóneas en la textura y en dar las condiciones adecuadas para la elaboración de algunos productos lácteos.

Las BAL dan sabor y aroma, ya que gracias a su proceso fermentativo producen acetaldehído, acetoina, diacetilo, acetona, lactonas, alcohol, ácidos volátiles y gas. Tiene efecto de biopreservación, propagando la vida útil de los productos en los que se utilizaron los cultivos y en cuanto a su efecto probiótico son beneficiosos para la salud de los consumidores previniendo o reduciendo los síntomas diarreicos, se menciona que tienen acción preventiva en tumores, antiolesterolémico y como modulador del sistema inmune (Heer, 2007).

Las características de las BAL es que son bacterias esféricas o alargadas, aisladas o agrupadas en cadenas, Gram (+), catalasa (-), anaerobios facultativos, se presentan con poco crecimiento en superficie ya que estos se desarrollan en profundidad debido a que la coagulación de la leche inicia en el fondo, no reducen nitratos, la actividad proteolítica es lenta y se nutren de componentes nitrogenados y vitamínicos. (Alais, 1985).

Las BAL son las causantes de la gelificación natural por agriado o cortado de la leche cruda (acidificación); estas bacterias una vez aisladas, seleccionadas y debidamente preparadas se las expenden para el comercio como cultivos lácticos, listos para ser inoculados o sembrados en leche pasteurizada para la producción de diferentes derivados. En el grupo de las bacterias acidolácticas se encuentran los *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Leuconostoc* (Villegas de Gante, 2009).

#### 1.4. Ganado Lechero y la producción de leche en el Ecuador y la Región 3

En el año 2018 se establecen las estadísticas de la existencia de ganado vacuno por regiones del país, la que ocupa el primer lugar es la región Andina con 48,4% de la cantidad total, la región costa con 42,4%, en el Oriente con 9,1% y otras zonas no delimitadas con 0,03% de ganado. En cuanto a la raza de ganado vacuno que predomina es la mestiza con 1,5 millones de cabezas, que representan el 37,7% seguido del 23,8% de la raza criolla, presente en la siguiente tabla:

**Tabla 3-1:** Número de cabezas de ganado bovino por raza

Año	Mestiza	Criolla	Brahman o Cebú	Holstein-Friesian	Brown-Swiss	Jersey	Otras
2017	1.317	1.164	642	441	307	104	216
2018	1.528	964	602	365	277	95	226

Fuente: (El Instituto Nacional de Estadística y Censos, 2018)

En cuanto a la producción lechera a nivel nacional fue de 5.0 millones de litros correspondiente a 832.528 cabezas de ganado ordeñadas en el año 2018, en el cual la región sierra presenta mayor producción con 3.843 litros de leche, seguido de la región costa con 944 litros y la región Amazónica con 233 litros. Dicha producción va ser destinada a diferentes sitios como el 16,6% es procesada en industrias lácteas para la elaboración de los derivados lácteos, en cambio el 73,2%

será vendida en líquido como leche pasteurizada, el 2% lo utiliza para consumo directo y el 0,3% se destina a otros fines (El Instituto Nacional de Estadística y Censos, 2018).

A nivel nacional existe seis empresas lácteas que se destacan por la elevada producción de leche diaria, detalladas de la siguiente manera: en la Sierra con 300.000 litros la encabeza Nestle-DPA seguido de Andina con 110.000 litros, Nutrileche con 140.000-160.000 litros y la Pasteurizadora Quito con 160.000-180.000 litros; en cambio en la región Costa: con 160.000 a 180.000 litros están Rey leche y Tony (Contero, 2008).

En la tabla 4-1, se detalla el número de vacas ordeñadas y la producción de leche entre los años 2015 a 2017 en las cuatro provincias correspondientes a la zona tres del Ecuador. Chimborazo ocupa el segundo lugar luego de Cotopaxi con más de 431000 litros de leche en el año 2017 (Salazar D. et al., 2017).

**Tabla 4-1:** Cantidad de vacas ordeñadas y producción de leche en la zona 3 del Ecuador durante el período 2015-2017.

Provincia	Vacas ordeñadas			Producción lechera		
	2015	2016	2017	2015	2016	2017
<b>Cotopaxi</b>	65673	61179	63932	529614	483699	514759
<b>Chimborazo</b>	59990	72524	64846	405036	458181	431325
<b>Tungurahua</b>	39505	40470	34103	330239	355679	297060
<b>Pastaza</b>	2781	2835	1992	18793	18632	11223

Fuente: (Salazar D. et al., 2017).

### 1.5. Industrias lácteas

De acuerdo con la calidad de materiales con la que está fabricada una industria de alimentos se la cataloga como una industria vigilada por entes de control gubernamental, mismo que está obligada a cumplir con ciertas normas legales para garantizar la calidad de los productos que en ella se elaboren. En el Ecuador todas las empresas que se dediquen a la elaboración de productos alimenticios deben tener certificación de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), la inocuidad de los alimentos refiere a que, durante todo el proceso de manufactura, es decir, la obtención de materia prima, almacenamiento, elaboración y venta no representen un riesgo para la salud del consumidor (Monge, 2017).

Es de carácter masivo el consumo de alimentos y las empresas que se dedican a la elaboración de los mismos, son de importancia para la producción y en el desempeño económico social. En el año 2007 las industrias de alimentos del Ecuador aportaron con 7,83% del producto interno bruto siendo de esta manera lo más importante del sector manufacturero y que además contribuye con un 55,9% (Carrillo, 2019).

### ***1.5.1. Centros de acopio***

Un establecimiento puede ser considerado como un Centro de Acopio Lechero, siempre y cuando este conste con áreas definidas para la recepción, el enfriamiento y entrega de leche. No se podrán efectuar operaciones distintas para los cuales fueron creados. Además, todo centro de acopio debe cumplir con los requisitos establecidos para su funcionamiento y será registrado ante Agrocalidad (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013).

#### ***1.5.1.1. Funciones de los Centros de Acopio***

Los centros de acopio de leche antes de su recepción realizarán primero el control diario de todos los proveedores incluido el transporte recolector del cual llevará un registro para controlar la trazabilidad del producto mediante las siguientes pruebas:

- Comprobar mediante análisis sensorial si cumple con las características organolépticas propias de la leche;
- Verificar si cumple con los requerimientos estipulados en la noma INEN 9: 2012 para leche;
- Comprobar con la normativa vigente si contiene adulterantes, neutralizantes o algún tipo de conservante;
- Realizar la prueba de antibióticos por lo menos uno por tanque, en caso de ser positivo, el Centro de Acopio determinara la forma para identificar la fuente del problema y así tomar medidas correctivas;
- Llevar el control de la temperatura durante el almacenamiento de la leche, para lo cual deberá disponer de termómetros funcionales y calibrados;
- Verificar y registrar la temperatura de refrigeración para el transporte desde centro de acopio a la industria y en el momento de recepción a la industria (Ponce, 2013).

La leche enfriada en tanques de enfriamiento en los centros de acopio, solo se destinará a las industrias lácteas, que aseguren la inocuidad de los productos y no para la venta directa al consumidor. Además, el centro de acopio deberá cumplir con condiciones higiénico sanitarias y contar con un laboratorio o con los servicios de algún laboratorio acreditado para los análisis físico, químico y microbiológico (Ponce, 2013).

#### ***1.5.1.2. Requisitos que debe cumplir los Centros de Acopio Lechero***

Un establecimiento que conste de áreas de recepción, enfriamiento, y entrega de leche se lo considerara como un Centro de acopio lechero, en el cual no se podrán llevar a cabo ningún tipo de actividades para el que fueron destinados y debe cumplir con múltiples requisitos:

- El centro de acopio debe controlar diariamente la leche cruda de todos los proveedores;
- Se realice un control de trazabilidad de la leche cruda;
- Realizar los análisis sensoriales para verificar si cumple con las características organolépticas propias;
- Llevar a cabo pruebas de verificación en la leche para ver si cumple con los requisitos de la normativa vigente;
- Los tanques de depósito y almacenamiento de leche entera cuenten con termómetros funcionales y calibrados;
- Se debe confirmar y llevar un registro de la temperatura de refrigeración desde el centro de acopio a la industria y en el momento de recepción de la leche a la industria;
- Una vez enfriada la leche en el centro de acopio, sólo se destinará a las plantas procesadoras y no ser de venta directa, garantizando la inocuidad del producto;
- Debe contar con un laboratorio básico o con los servicios de un tercero que sea acreditado para realizar los análisis sensorial, físico, químico y microbiológico;
- Es necesario que cuente con las diferentes áreas para recepción, análisis, enfriamiento, y entrega de la leche;
- El establecimiento sea exclusivamente para el fin previsto;
- La ubicación geográfica donde se ubique el centro de acopio esté libre de fuentes contaminantes;
- Debe contar con espacio suficiente que facilite el desembarque de leche, con pendientes del 2% para su rápido drenaje;
- Tiene que contar con un sistema de drenaje de aguas servidas y de lluvia al alcantarillado;
- En el establecimiento exista un andén de recepción para fácil carga y descarga, elaborado de cemento y revestida con material resistente al ácido láctico, de fácil lavado, con pendiente y evacuación al alcantarillado;
- Cuento con un área cerrada para almacenamiento de tanques de refrigeración y equipos auxiliares, con ventilación y protegida con malla plástica;
- Tenga un área solo para la desinfección, limpieza y almacenamiento de recipientes. A su vez, el centro de acopio provea los materiales necesarios realizar el aseo de los recipientes de los medios de transporte una vez que dejen la leche cruda;
- El área de almacenamiento de recipientes debe tener protección contra agentes externos. Además, contar con un espacio suficiente dependiendo el número de recipientes que se utilice;
- El área destinada para el aseo y el almacenamiento de recipientes que estén en excelentes condiciones, ordenados y separadas el área limpia del área sucia;
- Contar con vestidores y servicios sanitarios fuera del área de manipulación de la leche;

- El área de vestidores y servicios sanitarios estén en buenas condiciones, limpios y ordenados;
- El área para el almacenamiento de insumos, esté rotulada y separada del área de manipulación de la leche;
- Debe estar el área de almacenamiento de insumos ordenada, seca y limpia de material extraño;
- La manipulación en la medición del volumen de leche debe ser correcto evitando alteración de la leche;
- El centro de acopio debe contar con un sistema higiénico permitiendo medir con exactitud el volumen de leche recibida;
- Se encuentre el establecimiento abastecida permanentemente de agua potable;
- Tratar adecuadamente el agua de almacenamiento antes de proceder a utilizarla;
- Debe contar con registros que indiquen la calidad del agua utilizada (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013).

#### *1.5.1.3. Equipamiento del Centro de Acopio*

El centro de acopio lechero a más de reunir todos los requisitos, deberá contar con ciertos equipamientos:

- Recipientes higiénicos para medir el volumen de leche recibida;
- Para el caso de los centros de acopio que receipten mayor a 10.000 litros diarios, deberán tener una máquina lavadora mecánica o manual y un enfriador de placas o tubular para asegurar un rápido enfriamiento de leche;
- En caso de un centro de acopio que receipte volúmenes menores a 10,000 litros diarios, podrán enfriar la leche en tanques de enfriamiento individuales, siempre y cuando este en excelentes condiciones para alcanzar la temperatura conforme lo cita la norma técnica;
- Para los casos en que el establecimiento utilice placas de enfriamiento, se deberá disponer de tanques de acero inoxidable con agitación mecánica, debidamente aislados, garantizando de tal forma el mantenimiento de la temperatura de 4°C hasta que sea retirada por el tanquero;
- Se deberá contar con agua potable permanentemente para realizar todas las operaciones. En el caso de los tanques de almacenamiento de agua potable, estos deben ser de gran capacidad para realizar la limpieza de todas las instalaciones y equipos. Absolutamente todos los centros de acopio independientemente del tamaño deberán usar productos de limpieza y desinfección adecuados y que hayan sido aprobados por Agrocalidad (Ponce, 2013).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de la investigación

La recolección de las muestras se realizó en el centro de acopio de leche cruda CA1, ubicado en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo.



**Figura 1-2:** Mapa de ubicación del Centro de Acopio CA1.

Fuente: <https://www.google.com/maps/place/San+Andres>

Se verificó el cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene para el centro de acopio según la Resolución DAG-2013461-0201.0213 emitida por Agrocalidad. Los análisis físicos, químicos y microbiológicos se efectuaron en el laboratorio del Grupo de Seguridad Alimentaria “SAGID” y en el laboratorio de Bromatología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Carrera de Bioquímica y Farmacia.

#### 2.2. Factores de estudio

##### 2.2.1. Población

La población de estudio fue la leche cruda que ingresa al centro de acopio CA1., donde se recibe diariamente entre 1.800 a 2.000 litros de leche de sus 27 proveedores, ubicado en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo, en el cual se recolectaron las muestras para determinar los parámetros físicos, químicos y microbiológicos de la leche.

### 2.2.2. Muestra

Las muestras se recolectaron en tres semanas aleatorias. Para los análisis microbiológicos se recogió la leche cruda por duplicado del tanque de enfriamiento; mientras que para los análisis físico-químicos se tomaron muestras individuales de cada proveedor y de los bidones de los tres transportistas, en un total de 27 muestras.

### 2.3. Materiales, equipos y reactivos

En la siguiente tabla 1-2, se puede observar los diferentes equipos, materiales y reactivos utilizados en el proceso de evaluación físico-química y microbiológica de la leche cruda.

**Tabla 1-2:** Equipos, materiales y reactivos utilizados para la evaluación físico-química y microbiológica

MATERIALES		EQUIPOS
Asa de inoculación	Lámpara de alcohol	Lactoscan
Aguja de inoculación	Cajas Petri	Balanza analítica
Hidrogel (hielo)	Micropipetas de 100 y 1000ul	Reverbero
Cooler	Placas porta y cubreobjetos	Autoclave
Matraz Erlenmeyer de 250 y 500ml	Gradilla	Incubadora bacteriológica
Pipetas graduadas de 10ml	Espátula	Cámara de flujo laminar
Balón de aforo de 25ml	Pera de succión	Cronómetro
Probeta de 100ml	Papel aluminio	Refrigeradora
Piseta	Puntas para micropipeta	pH-metro
Tubos de ensayo	Toallas absorbentes	
Gasas	Vaso de precipitación de 100ml	
Cotonetes estériles	Pinza de cirugía	
Frascos estériles	Algodón	
	Huevo de gallina	
REACTIVOS		MEDIOS DE CULTIVO
Agua destilada		Agua de peptona
Ácido acético (5M)		Agar Baird Parker base
Alcohol potable		Agar Sabouraud
Tiras para antibióticos		Agar MacConkey
Tiras para cloruros		Caldo MRS
Tiras para peróxidos		Caldo M17
		Agar Bacto
		Telurito
		Agar Plate Count o PCA

Elaborado por: Digna Chimborazo, 2020

## **2.4. Metodología**

### ***2.4.1. Levantamiento de línea base***

La socialización llevada a cabo por el Grupo de Seguridad Alimentaria “SAGID” de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, permitió que se desarrolle el control de calidad de la leche cruda acopiada en la zona 3 del país, siendo en este caso el centro de acopio de leche cruda CA1. Ubicada ciudad de Riobamba provincia de Chimborazo. Se pudo llevar a cabo la evaluación sanitaria de dicho establecimiento mediante el reconocimiento tanto del centro de acopio como de los proveedores, de tal manera ir recopilando datos cualitativos como cuantitativos desde el proceso de ordeño, la recepción, los análisis, el almacenamiento hasta la infraestructura del establecimiento.

### ***2.4.2. Revisión de las Prácticas Correctas de Higiene***

Se procedió a verificar las Prácticas Correctas de Higiene mediante una lista de chequeo de requisitos tanto de los medios de transporte como del centro de acopio para la leche cruda establecidos en el Manual de Procedimientos para la Vigilancia y Control de la Inocuidad de leche cruda, en su resolución DAG-2013461-0201.0213 del (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013).

### ***2.4.3. Recolección y transporte de muestras***

Las muestras se recolectaron en base a la normativa (NTE INEN 4, 1983) para Muestreo de Leche y Productos lácteos; se desarrolló el programa de recolección de muestras en el centro de acopio de leche para los diferentes análisis a realizarse.

Se realizaron tres muestreos aleatorios en el centro de acopio CA1., de leche cruda, donde se inició a las 8:00 am con la toma de muestras de cada proveedor y de los transportistas, tomando las debidas precauciones y bajo condiciones asépticas para evitar contaminación. Una vez recopilado, se transportaron las muestras en el cooler con hielo e hidrogel hacia el laboratorio a una temperatura de refrigeración entre 0-10°C.

### ***2.4.4. Muestreo de la leche cruda***

Para las muestras individuales se homogenizó la leche cruda en sus respectivos recipientes y se recogió 100ml de leche en cada envase estéril debidamente etiquetado para los análisis físico-químicos. Se homogenizó el tanque de enfriamiento con aproximadamente 2,000 litros de leche

cruda con agitador mecánico una vez recogido la leche de todos los proveedores y se tomó las muestras por duplicado, 1000ml de leche en los envases de vidrio estéril para los análisis microbiológicos y se trasladaron hacia el Laboratorio de Bromatología y del Grupo de investigación SAGID de la Carrera de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH, respectivamente.

## **2.5. Análisis de la leche cruda**

### **2.5.1. Análisis sensorial de la leche cruda**

El análisis sensorial se llevó a cabo al mismo instante que se recogían las muestras de leche de cada proveedor en los envases estériles. Se observó los siguientes caracteres:

- Color: blanco opalescente o ligeramente amarillo;
- Olor: lácteo, suave u otro olor extraño;
- Aspecto: homogéneo y libre de sustancias extrañas (NTE INEN 9, 2012).

### **2.5.2. Análisis físico-químico de la leche**

Los análisis de grasa, sólidos no grasos, densidad, lactosa, sales, proteínas, sólidos totales, pH, punto de congelación se ejecutaron por medio del equipo Milk Analyzer LACTOSCAN MCCW del laboratorio de bromatología. Los resultados fueron comparados con los límites permisibles de los requisitos físico-químicos establecidos en la normativa (NTE INEN 9, 2012).

El equipo se encuentra calibrado lo que garantiza la fiabilidad de los resultados. Milk Analyzer LACTOSCAN MCCW es un analizador de leche ultrasónico con sistema operativo de Windows y aplicación de base de datos, puede medir hasta trece parámetros de la leche con tan poca cantidad de muestra (Lactoscan, 2019).

#### **2.5.2.1. Prueba de antibióticos**

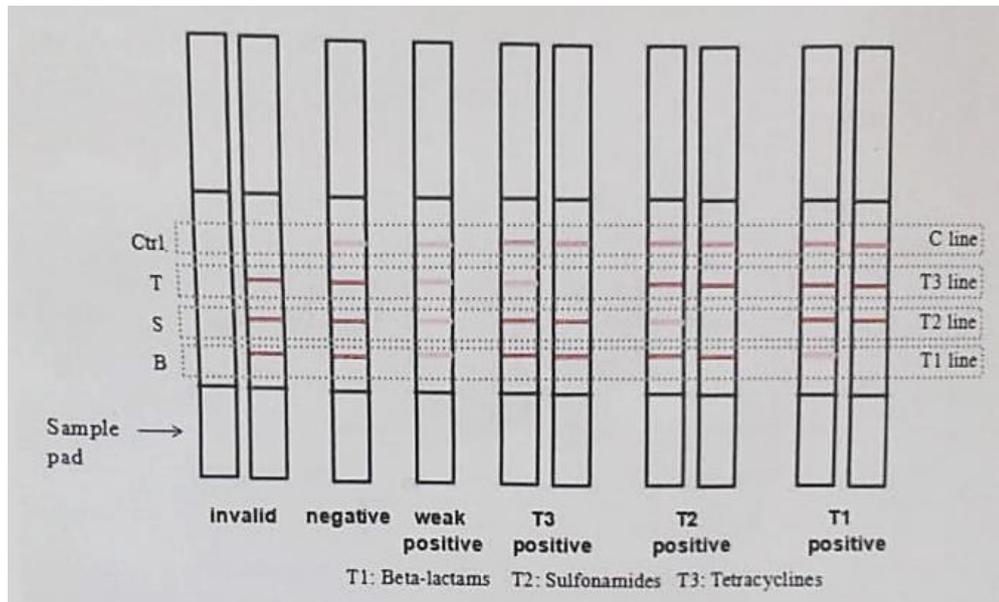
Para realizar la prueba de antibióticos primero se debe preparar los materiales siguientes:

- Encender la incubadora y esperar hasta que alcanza una temperatura de 40°C;
- Sacar del refrigerador el kit a utilizar y calentarlo hasta temperatura de 30°C;
- Tomar solamente el número de pocillos a utilizar, los demás guardar en refrigeración;
- Homogenizar bien la muestra leche antes de empezar con la prueba;

A continuación, se detalla el procedimiento para realizar el test:

- Colocar el pocillo en la incubadora
- Añadir con una micropipeta 200µl de la muestra de leche cruda en el micropocillo;

- Mezclar bien con el reactivo contenido en el micropocillo, succionando y expulsando por 5 a 10 veces;
- Incube el micropocillo por 3 minutos a 40°C
- Sumergir una tira reactiva en el micropocillo e incubarlo a 40°C por 6 minutos;
- Retirar la tira y dar lectura de acuerdo con la siguiente figura 2-1.



**Figura 2-2:** Interpretación de resultados de la prueba de antibióticos

**Fuente:** (Shenzhen Bioeasy Biotechnology)

#### 2.5.2.2. Prueba de peróxidos

El procedimiento de peróxidos se detalla a continuación:

- Colocar la muestra de leche en un vaso o tubo;
- Sumergir la tira reactiva en la muestra por 1 segundo;
- Sacar la tira, retire el exceso de muestra y espere 15 segundos;
- Leer los resultados y expresar su contenido en ppm

#### 2.5.2.3. Prueba de cloruros

La determinación de cloruros se realizó de la siguiente manera:

- Adicionar la muestra de leche en un vaso o tubo;
- Sumergir la tira reactiva de cloruros en la muestra de leche por un segundo;
- Sacar la tira, retire el exceso de leche y espere 1 minuto;
- Leer e interpretar los resultados

### 2.5.3. Análisis microbiológico

En la leche cruda recogida del tanque de enfriamiento de centro de acopio CA1., se determinaron:

- Bacterias aerobias mesófilas de acuerdo a la norma (NTE INEN 9, 2012);
- *Staphylococcus aureus* de acuerdo a la normativa del (MAG, 2006);
- *Enterobacterias*, Hongos y levaduras en base a (Mallet A. et al., 2012).

Mientras que para las bacterias ácido láctico como *Lactococcus* y *Lactobacillus* no se aplica ninguna norma debido a que estas bacterias no son patógenas y no se han establecido ningún límite permisible.

#### 2.5.3.1. Preparación de diluciones

**Medio de cultivo:** Agua de peptona 0,1g

**Volumen:** 100mL

**Procedimiento:**

Las diluciones se preparan de acuerdo a la norma (NTE INEN 1529-5, 2006). En primer lugar antes de efectuar las diluciones se debe agitar la muestra 25 veces durante 5 segundos, una vez homogenizado se tomará y colocará 10ml de muestra de leche en un erlenmeyer con 90ml de agua de peptona estéril, se debe agitar bien hasta su completa homogenización, misma que corresponderá a la dilución 1:10. Se debe tomar con la micropipeta 1ml de la dilución 1:10 y transferirla a un tubo con 9ml de agua de peptona, obteniéndose así la dilución 1:100. Continuar realizando el mismo proceso hasta obtener una dilución 1:10.000.000. Se llevarán a cabo varias diluciones dependiendo de los ensayos a realizarse y de la carga microbiana resultante del primer muestreo.

#### 2.5.3.2. Determinación de bacterias aerobias mesófilas

**Medio de cultivo:** Plate Count Agar (PCA)

**Preparación del medio:** 23.5g en 1000mL

Primero realizar el cálculo para el número de cajas a utilizar, volumen de medio a ocupar y la cantidad de medio a pesar. Pesar el medio de cultivo y colocarlo en agua destilada con el volumen a realizar. Seguido de ello disuelvo bien a calor y se lo lleva a esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos. Sacar y añadir en las cajas de Petri, conservar en refrigeración.

**Procedimiento de siembra:**

- Codificar las cajas Petri con la fecha, medio de cultivo y el número de dilución correspondiente.

- Colocar 100µl de cada dilución a realizarse sobre la superficie del medio PCA.
- La siembra es directa, estriando sobre la superficie del medio de cultivo con el asa de Drigalsky.
- Invertir las placas e incubarlos

**Incubación:** en aerobiosis a temperaturas de 30°C ± 2°C por 24-48 horas.

**Lectura de resultados:**

Las colonias son de color blanco cremoso de aproximadamente 2-3mm de diámetro. Hay que contabilizar todas las colonias y reportarlas como UFC/ml.

2.5.3.3. *Determinación de Staphylococcus aureus*

**Medio de cultivo:** Baird Parker Agar Base

**Preparación del medio:** 63g en 950mL

Realizar los cálculos correspondientes tanto para la cantidad de medio a pesar, la cantidad de telurito a utilizar y la cantidad de yema de huevo a adicionar para este medio de cultivo. Pesar y suspender la cantidad de agar calculado en un matraz Erlenmeyer con agua destilada. Calentar y agitar frecuentemente hasta la completa disolución, una vez disuelto se procede a esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Sacar y enfriar a 45-50°C, se le añade a este 25 ml de emulsión de yema de huevo y los 10 ml de una solución de telurito. Mezclar bien y añadirlo en las cajas de Petri, esperar que se solidifique para guardar en refrigeración.

- EMULSION DE YEMA DE HUEVO: Lavar y desinfectar bien un huevo criollo. Colocar el huevo en un recipiente con alcohol al 95% durante una hora. Sacar el huevo y pesar solo la yema, multiplicar por 4 el peso de la yema de huevo; el resultado será la cantidad de agua destilada a adicionar a la yema. Mezclar bien evitando la formación de burbujas.
- SOLUCIÓN DE TELURITO: Pesar 1g de polvo de telurito y añadir en un erlenmeyer con 100ml de agua destilada. Disolver y esterilizar en autoclave a 121°C por 15 min. Dejar enfriar a 45°C para su adición en la solución de Baird Parker.

**Procedimiento de siembra:**

- Sacar de refrigeración las cajas previamente realizadas
- Etiquetar las placas de Petri según corresponda
- Coger con la micropipeta 100µl de muestra diluida y colocarla en cada caja Petri
- En superficie de las cajas adicionar la muestra diluida que será estriada por agotamiento con el asa de Drigaslsky
- Incubar las placas de Petri de forma invertida

**Incubación:** en aerobiosis, a temperatura de 35-37°C por 24-48 horas.

**Lectura de resultados:**

Se observan colonias negras o transparentes con presencia o no de halo alrededor de las colonias. Su tamaño varía entre 2 hasta 5 mm de diámetro.

**2.5.3.4. Determinación de Enterobacterias**

**Medio de cultivo:** MacConkey Agar

**Preparación del medio:** 51.5g en 1000mL

Realizar los cálculos respectivos de acuerdo a la cantidad requerida de medio de cultivo. Se debe pesar el medio y colocar en un Erlenmeyer con agua destilada requerida. Posterior a ello hay que calentar o hervir el medio hasta su completa disolución. Llevar a la autoclave por 15 minutos a 121°C, dejar que se enfríe a temperatura ambiente y repartir en cada una de las cajas Petri. Se puede conservar en refrigeración hasta el momento de su utilización.

**Procedimiento de siembra:**

- Codificar las cajas Petri respectivamente.
- De las diluciones previamente realizadas se tomarán las que se va a proceder a sembrar
- Tomar con la micropipeta de 100µl cada una de las diluciones escogidas y colocarlas sobre la superficie del medio preparado
- Estriar la muestra por agotamiento con el asa de Drigalsky
- Invertir las cajas de Petri y proceder a incubar

**Incubación:** en aerobiosis, a temperatura de 35-37°C por 24-48 horas

**Lectura de resultados:**

Se obtienen colonias rosadas con o sin halo, pueden crecer también colonias incoloras. Se debe realizar el conteo de todas y reportarlas en UFC/mL.

**2.5.3.5. Determinación de hongos y levaduras**

**Medio de cultivo:** Sabouraud dextrose Agar

**Preparación del medio:** 65g en 1000mL

Realizar los cálculos según la cantidad de medio que se requiera. En una balanza analítica proceder a pesar la cantidad de medio a necesitar, se lo añade en un matraz Erlenmeyer con agua destilada y se disuelve sometiéndolo a calor. Esterilizar dicho medio por 15 minutos a 121°C en autoclave. Sacar y añadir en cada una de las cajas el medio de cultivo estéril, esperar que se solidifique y conservar en refrigeración.

**Procedimiento de siembra:**

- Retirar los medios de refrigeración y codificar según corresponda

- Añadir una alícuota de 100µl en cada una de las cajas codificadas
- Con el asa de Drigaslky, estriar por agotamiento la muestra diluida
- Se invierten las placas e incubar

**Incubación:** en aerobiosis, a temperatura de 22-25°C

**Lectura de resultados:**

Se pueden presentar hongos y/o levaduras; los hongos son secos miden 5mm aproximadamente a diferencia de las levaduras presentan coloraciones blanquecinas o ligeramente amarillas, son húmedas. Su recuento es la totalidad tanto de hongos y levaduras.

2.5.3.6. *Determinación de bacterias ácido lácticas-Lactococcus*

**Medio de cultivo:** Caldo M17 + Bacto Agar

**Preparación del medio:** 42,25g en 1000ml de caldo y 15g en 1000ml de agar

Hacer los cálculos correspondientes para el caldo M17 y el Agar Bacto. Se añade el caldo y el agar en un erlenmeyer con agua destilada requerida, proceder a calentar hasta disolver bien los componentes. Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

**Procedimiento de siembra:**

- Se realiza las diluciones previas y se coloca en cada caja Petri una alícuota de 1000µl de muestra diluida.
- Método a profundidad, se coloca el agar realizado anteriormente a temperatura de 35°C sobre la muestra colocada en la caja Petri
- Homogenizar la caja en movimientos de vaivén de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo
- Dejar que se solidifique el medio y colocar en forma invertida en un recipiente libre de aire, llevar a incubar

**Incubación:** en anaerobiosis a temperaturas de 35-37°C durante 24-48 horas

**Lectura de resultados:**

Se presentan como colonias blanquesinas que pueden medir de 1-2mm de diámetro

2.5.3.7. *Determinación de bacterias ácido lácticas-Lactobacillus*

**Medio de cultivo:** Caldo MRS + Bacto Agar

**Preparación del medio:** 55g en 1000ml de caldo y 15g en 1000ml de agar

Realizar los cálculos necesarios tanto para la adición de caldo como de agar. Adicionar en agua destilada el caldo y el agar, proceder a disolver por medio de calor. Este medio antes de llevar a esterilizar se debe acidificar hasta alcanzar un pH de 5,4 con ácido acético a 5M, una vez alcanzado la acidez se procede a esterilizar por 15 minutos a 121°C.

**Procedimiento de siembra:**

- Codificar las cajas de Petri a utilizar.
- Colocar con la micropipeta 1000µl de la muestra diluida previamente
- Adicionar el medio caliente (35°C) sobre la muestra de leche diluida.
- Mezclar correctamente haciendo movimientos de vaivén de arriba para abajo y de derecha a izquierda hasta su homogenización
- Esperar que se solidifique el medio
- Llevar a autoclave, colocando las cajas invertidas en un recipiente de anaerobiosis

**Incubación:** en anaerobiosis a temperatura de 35-37°C durante 24-48 horas

**Lectura de resultados:**

Realizar el conteo de colonias blancas cremosas cuyo diámetro está entre 1-2mm.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 3.1. Resultados del check list. Transporte de leche cruda

La lista de chequeo de requisitos expuesta por (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013), sirve para verificar si los medios de transporte de leche cruda del centro de acopio CA1., cumplen con los parámetros de calidad.

**Tabla 1-3:** Resultados del Check list realizado a los transportistas del centro de acopio CA1.

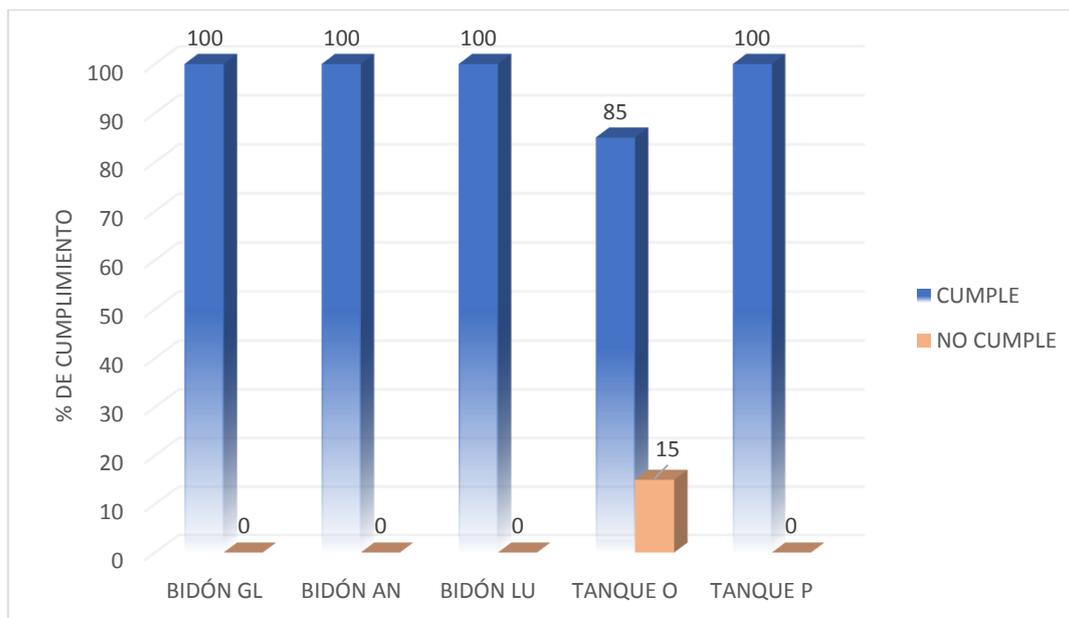
N°	REQUISITO	Trans	CUMPLE	NO CUMPLE	NO APLICA	CALIFICACIÓN	
						TANQUERO	BIDÓN
1	El tanque o bidón del medio de transporte deben ser de acero inoxidable y/o aluminio	GL	X				15
		AN	X				15
		LU	X				15
		O	X			15	
		P	X			15	
2	El tanque o bidón deben estar íntegros para evitar pérdida de leche, libre de algún contaminante	GL	X				5
		AN	X				5
		LU	X				5
		O	X			5	
		P	X			5	
3	Los tanqueros o camiones cisterna con tuberías de carga y descarga de leche que tengan ángulos deben estar provistos en sus uniones de codos con tapa.	GL			X		0
		AN			X		0
		LU			X		0
		O	X				10
		P	X				10
4	Los tanqueros con menos de 2000 litros de leche, las rutas de recolección se consideran de acuerdo a la distancia, tiempo y hora de recorrido a fin de mantener la inocuidad de la leche	GL			X		0
		AN			X		0
		LU			X		0
		O		X			0
		P	X				15
5	Los tanques cisterna deben tener un sistema para el	GL			X		0
		AN			X		0
		LU			X		0

	control de temperatura de la leche	O	X			10	
		P	X			10	
6	No se deben transportar otros materiales sean estos sólidos, líquidos o gases junto a la leche	GL	X				15
		AN	X				15
		LU	X				15
		O	X			15	
		P	X			15	
7	El transporte de leche debe contar con un rótulo demostrando su contenido	GL	X				5
		AN	X				5
		LU	X				5
		O	X			5	
		P	X			5	
8	Las tapas de los tanques o bidones deben ser de fácil lavado y desinfectado evitando acumulación de residuos	GL	X				10
		AN	X				10
		LU	X				10
		O	X			10	
		P	X			10	
9	El medio de transporte debe estar diseñado para la fácil eliminación de las aguas de lavado	GL	X				5
		AN	X				5
		LU	X				5
		O	X			5	
		P	X			5	
10	Se debe realizar la limpieza y desinfección de los recipientes utilizados. Los utensilios de limpieza definidos para este fin deben ser almacenados en condiciones respectivas	GL	X				10
		AN	X				10
		LU	X				10
		O	X			10	
		P	X			10	
<b>TRANSPORTISTAS</b>							
		<b>TOTAL</b>		<b>CUMPLE</b>		<b>NO CUMPLE</b>	
BIDÓN GL		65		100%		0%	
BIDÓN AN		65		100%		0%	
BIDÓN LU		65		100%		0%	
TANQUE O		85		85%		15%	
TANQUE P		100		100%		0%	

Fuente: Norma (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013)

Elaborado por: Digna Chimborazo, 2020

El gráfico 1-3, muestra el grado de cumplimiento de los requisitos de los medios de transporte de leche cruda establecida en el Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de la leche cruda



**Gráfico 1-3:** Evaluación de la lista de chequeo de los requisitos de medios de transporte de la leche cruda para el centro de acopio CA1., en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo.

Elaborado por: Digna Chimborazo, 2020

El comportamiento que se observa en la gráfica 1-3, refleja que la mayor parte de los transportistas de leche cumplen con los requisitos establecidos en la normativa del (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013), y solamente un transportista no cumple con un criterio que señala “*los tanqueros con menos de 2000 litros de leche, las rutas de recolección se considera de acuerdo a la distancia, tiempo y hora de recorrido a fin de mantener la inocuidad de la leche*”, lo que se expresa con un 15% de incumplimiento, ya que si se considera la ruta de recolección pero el transportista no cumple con dicho horario.

En un estudio similar, llevado a cabo en la Asociación de productores de leche de Sotará en el que se determinó el efecto del transporte de la leche cruda en la calidad higiénica, mediante una comparación entre la calidad de la leche entregada en las fincas al carro recolector y la calidad en el momento de recepción en la planta de enfriamiento, durante un seguimiento de seis meses. Para esta evaluación se analizaron 280 muestras procedentes de las 4 zonas de producción y recolección de leche cruda (Chapa, Piedra León, Ullucos y Paispamba). Los datos obtenidos fueron analizados por medias marginales para las cuatro rutas, permitiendo identificar que la zona de Ullucos tiene en promedio una excelente calificación de calidad de leche entregada en la ruta, además tiene una menor variación entre muestras tomadas en ruta y en el centro de acopio, indicando que existe una mejor conservación de la leche. También presenta un comportamiento independiente a las demás zonas debido al tiempo de transporte que se aproxima a 3 horas y a las condiciones climáticas que posee son bajas con temperatura de 8°C. En cambio, en la zona de

Chapa la calidad higiénica de la leche está por debajo de las demás zonas iniciando con una calificación promedio de 5,85 y una calificación final de 4,3; este cambio puede comprometer la calidad higiénica de la leche de las demás zonas que se almacenan en el tanque de enfriamiento (Zambrano, 2008).

### 3.2. Resultados del check list. Requisitos de los centros de acopio

La lista de chequeo de requisitos para los centros de acopio expuesta por (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013), sirve para verificar si éste cumple con los parámetros de calidad para la recepción, almacenamiento y despacho de leche cruda.

**Tabla 2-3:** Resultados del Check list de cumplimiento, realizado al centro de acopio CA1.

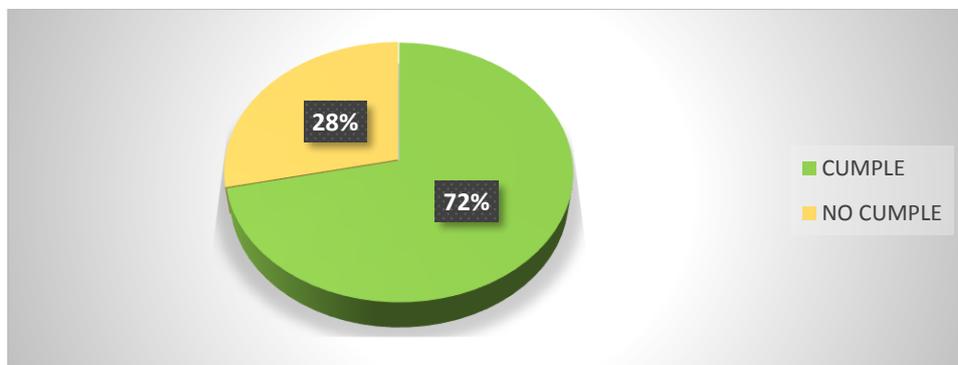
Nº	REQUISITO	CUMPLE	NO CUMPLE	CALIFICACIÓN
1	El centro de acopio controla diariamente la leche cruda de los proveedores	X		3
2	El centro de acopio realiza un control en la trazabilidad de la leche cruda		X	0
3	El centro de acopio determina las propiedades organolépticas de la leche mediante análisis sensorial	X		3
4	En el centro de acopio se realiza pruebas para verificar si la leche cumple con los requisitos de la normativa vigente		X	0
5	Los tanques de depósito y almacenamiento de leche cruda cuentan con termómetros funcionales y calibrados	X		4
6	Se confirma y registra la temperatura de refrigeración desde el centro de acopio a la industria y en la recepción a la industria	X		4
7	La leche enfriada en los centros de acopio sólo se destina a plantas procesadoras y no para la venta directa, garantizando la inocuidad del producto	X		4
8	El centro de acopio debe contar con laboratorio básico o con los servicios de un laboratorio acreditado para análisis sensorial, físico, químico y microbiológico	X		4
9	El centro de acopio cuenta con las diferentes áreas de: recepción, análisis, enfriamiento, y entrega de leche	x		3
10	Las instalaciones del centro de acopio son exclusivas para el fin previsto	x		4
11	La ubicación geográfica del centro de acopio está apartada de fuentes contaminantes	x		3
12	El centro de acopio cuenta con espacio suficiente para el fácil desembarque de leche, con pendientes del 2% para su rápido drenaje	x		3

13	En el centro de acopio existe un sistema de drenaje de aguas servidas y de lluvia al alcantarillado	x		2
14	El centro de acopio cuenta con un andén de recepción para fácil carga y descarga, fabricada de cemento y con revestimiento resistente al ácido láctico, de fácil lavado, con pendiente y evacuación al alcantarillado	x		3
15	El centro de acopio cuenta con un área cerrada para almacenar los tanques de refrigeración y equipos auxiliares, con ventilación y protegida con malla plástica		x	0
16	El centro de acopio cuenta con un área para la desinfección, limpieza, y almacenamiento de recipientes. El centro de acopio provee los materiales necesarios para limpieza y desinfección de los recipientes de los medios de transporte una vez que dejen la leche	x		3
17	El área de limpieza y almacenamiento de recipientes debe tener protección contra agentes externos. Además, contar con un espacio suficiente dependiendo el número de recipientes que se utilice		x	0
18	El área de limpieza y almacenamiento de recipientes que estén en excelentes condiciones, ordenados y separadas el área limpia del área sucia	x		0
19	Deben existir vestidores y servicios sanitarios fuera del área de manipulación de la leche		x	1
20	El área de vestidores y servicios sanitarios estén en buenas condiciones, limpios y ordenados	x		2
21	El centro de acopio consta de un área para el almacenamiento de insumos, rotulada y separada del área de manipulación de leche	x		2
22	El área de almacenamiento de insumos se encuentre ordenada, seca y limpia libre de material extraño	x		2
23	El sistema de manipulación en la medición del volumen de leche debe ser correcto evitando alteración de la leche	x		3
24	El centro de acopio debe contar con un sistema higiénico permitiendo medir con exactitud el volumen de leche recibida	x		3
25	El centro de acopio se encuentra abastecida permanente de agua potable	x		2
26	El centro de acopio trata adecuadamente el agua de almacenamiento antes de su utilización		x	0
27	Cuenta el centro de acopio con registros que indiquen la calidad del agua utilizada		x	0
<b>TOTAL</b>		20	7	<b>58</b>

Fuente: Norma (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013)

Elaborado por: Digna Chimborazo, 2020

Con respecto a las Prácticas Correctas de Higiene establecidas por (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013) para los centros de acopio de leche con capacidad menor a 2000 litros diarios, debe cumplir con 27 criterios correspondiente a un total de 81 puntos, el centro de acopio CA1., cumple con 20 criterios correspondiente al 72% y existen 7 criterios incumplidos correspondiente al 28%.



**Gráfico 2-3:** Evaluación de la lista de chequeo de los requisitos para el centro de acopio CA.1 en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo.

**Elaborado por:** Digna Chimborazo, 2020

Los criterios que no cumple conciernen a que el centro de acopio no realiza un control en la trazabilidad de la leche cruda; no realiza pruebas para verificar si la leche cumple con los requisitos de la normativa vigente; no cuenta con un área cerrada para almacenar los tanques de refrigeración y equipos auxiliares, con ventilación y protegida con malla plástica; el área de limpieza y almacenamiento de recipientes debe tener protección contra agentes externos. Además, contar con un espacio suficiente dependiendo el número de recipientes que utilice el cual no los tiene; no tiene un área de vestidores sólo cuenta con servicios sanitarios; el centro de acopio no trata adecuadamente el agua de almacenamiento antes de su utilización y por último no cuenta con registros que indiquen la calidad del agua utilizada, dando como resultado malas condiciones higiénicas, fallos en la infraestructura y por ende afectando la calidad del producto. Para que una leche sea calidad se debe seguir con una adecuada manipulación desde ordeño, el transporte, almacenamiento y en la elaboración de productos lácteos, ya que a lo largo de todo el proceso entran en contacto directo o indirecto con la leche varios manipuladores y materiales, por ello es necesario que se implementen métodos para un correcto manejo desde el momento del ordeño hasta el final de la cadena para garantizar una calidad higiénica óptima de la leche como materia prima (Posas, et al., 2013).

Según (Martínez A. et al., 2017) en su estudio sobre la calidad e inocuidad de la leche cruda en las condiciones actuales de Cuba, menciona que el mayor efecto fue el cambio en la tenencia del ganado del sector estatal al cooperativo y campesino con menos de 10 vacas, a esto se une la pérdida de la capacidad de refrigeración, con la que se logra cubrir solo el 15 % de las unidades

lecheras, generando varios problemas en el sector lácteo nacional; por tales motivos establece que la calidad de la leche se la garantiza con una correcta higiene y manipulación durante el ordeño y el agua que se utilice no debe estar contaminada, además se deberá filtrar la leche, utilizar envases limpios y lograr el enfriamiento rápido o usar Stabilak® con la tapa semiabierta; pero es necesario mejorar toda la ruta de acopio de leche cruda. El acopio debe ser rápido, en envases adecuados y no se debe mezclar leche caliente con leche fría; una vez llegada a la industria el procesamiento también debe ser rápido.

### 3.3. Resultados del análisis físico-químico de la leche cruda

Los resultados de los análisis físico-químicos llevados a cabo en las muestras de leche cruda, recolectadas de cada proveedor por tres muestreos aleatorios, se expresan en la tabla siguiente:

**Tabla 3-3:** Resultados físico-químicos de los tres muestreos realizados en el centro de acopio CA1., en diciembre del 2019.

Parámetro físico-químico	Límites establecidos	Centro de Acopio CA1.		
		Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 3
Grasa (%)	Mín. 3,0 <sup>1</sup>	4,43 ± 0,96	3,85 ± 0,83	4,13 ± 0,90
Sólidos no grasos (%)	Mín. 8,2 <sup>1</sup>	8,38 ± 0,37	8,51 ± 0,32	8,38 ± 0,38
Densidad a 20°C (g/mL)	1,028-1,032 <sup>1</sup>	1,028 ± 1,91	1,029 ± 1,45	1,028 ± 1,36
Lactosa (%)	Mín. 4,9 <sup>3</sup>	4,62 ± 0,20	4,69 ± 0,18	4,61 ± 0,21
Sales (%)	Mín. 0,9 <sup>3</sup>	0,69 ± 0,03	0,70 ± 0,03	0,69 ± 0,03
Proteína (%)	Mín. 2,9 <sup>1</sup>	3,05 ± 0,14	3,10 ± 0,12	3,05 ± 0,14
Punto de congelación	-0,536 - -0,512 <sup>1</sup>	-0,542 ± 0,03	-0,542 ± 0,02	-0,538 ± 0,03
Sólidos totales (%)	Mín. 11,2 <sup>1</sup>	12,81 ± 0,91	12,36 ± 0,87	12,51 ± 1,09
pH	6,5-6,8 <sup>2</sup>	6,98 ± 0,36	7,00 ± 0,27	7,08 ± 0,23
Prueba de antibiótico	Negativo <sup>1</sup>	Negativo	Negativo	Negativo
Prueba de cloruros (ppm)	1 ppm o 1mg/L <sup>3</sup>	1 ppm	1ppm	1ppm
Peróxido (mg/L)	Negativo <sup>1</sup>	Negativo	Negativo	Negativo

**Fuentes:** <sup>1</sup> Norma (NTE INEN 9, 2012); <sup>2</sup> Manual (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013); <sup>3</sup> Manual de Normas de Calidad de leche cruda (Santiago Vázquez, 2007)

Elaborado por: Digna Chimborazo, 2020

La leche cruda analizada presenta un contenido de grasa entre 3,85 y 4,43%. De acuerdo con la norma NTE INEN 9:2012 se establece que debe existir un mínimo del 3,0% de materia grasa pero no se menciona sobre el límite máximo; las variaciones en la cantidad de grasa de la leche pueden

deberse a diversas razas de ganado, entre ellas tenemos la Holstein la cual varía entre 3,5 a 4,7% teniendo como efecto la capacidad metabólica de cada vaca (García, 2014).

(Romero A. et.al., 2018), establece que un estudio llevado a cabo en las empresas ganaderas de Córdoba de Colombia, se obtuvo un contenido de grasa de 3,70%, a diferencia de otras tres regiones como el Golfo del Morrosquillo, Sabanas y San Jorge en Colombia expresaron un contenido de grasa de 3,64%, 3,75% y 3,37% respectivamente, cuyos valores tienen estrecha relación con la alimentación del bovino y la época del año sea esta seca o lluviosa.

El porcentaje de sólidos no grasos (SNG) para la leche cruda de los tres muestreos realizados se detallan en la tabla 3-3, con 8,38% y 8,51%; en la norma NTE INEN 9: 2012 se establece un valor mínimo de 8,2% deduciéndose que estos cumplen con este criterio; los SNG se puede obtener mediante la diferencia entre los sólidos totales y el contenido de materia grasa, mismo que puede verse influenciada por la alimentación del ganado o por la etapa de lactancia, como se menciona en un estudio efectuado en el Perú donde se determinó múltiples parámetros entre ellos sólidos no grasos se obtuvo una media de 8,18%, en comparación con 8,29% analizado por otra industria Láctea de Honduras, se demostró que los sólidos no grasos varían de acuerdo al tipo de alimentación que reciba el bovino, a su vez puede disminuirse cuando el ganado presente mayor edad o cuando presenta mastitis clínica o subclínica y se ve incrementado durante el primer mes de lactancia (Bolaños, 2004).

La densidad a 20°C de acuerdo a la tabla 3-3, se encuentran dentro de los valores permitidos de 1,028-1,032 para los tres muestreos llevados a cabo, los valores fuera del rango establecido puede ser indicativo de fraude por adición de agua, como se demuestra en una evaluación descriptiva de leche cruda en tres subregiones del departamento de Sucre en Colombia, donde el parámetro representativo es la densidad, en el cual muestran que los valores más altos de densidad se relacionan con altos porcentaje de proteína y sólidos totales. Además, se estableció que la densidad varía cuando existe un cambio de temperatura debido a que el agua y la grasa se expanden a medida del aumento de calor. Por el contrario, se puede observar la disminución en los valores de densidad cuando exista incorporación de agua, notándose los fraudes de adición de agua y bajo peso en la leche que se puede disimular incorporando sustancias como el almidón para compensar la densidad (Romero A. et.al., 2018).

Los valores de lactosa y sales obtenidos para los tres muestreos no se encuentran dentro de los valores de referencia de 4,9% y 0,9%, respectivamente. Según (Keating, 2002) menciona que la lactosa es uno de los componentes más estables de la leche, por ello es útil para determinar aguados de la leche o alteración similar a esta. Asimismo (Santos, 2000) hace referencia a que una reducción en la secreción de lactosa es debido a la infección de la mama del animal; a causa de la regulación osmótica su contenido puede ser inversamente proporcional al contenido de las sales.

En cuanto a la cantidad de proteínas que debe presentar la leche como mínimo es de 2,9% de acuerdo con lo establecido en la Norma INEN 9:2012; en los diferentes muestreos realizados se obtiene valores mayores al mínimo permitido de 3,05 hasta de 3,10% de proteínas. La variación en la cantidad de proteínas presentes en la leche puede ser por la diferencia de razas, presencia de mastitis o la edad del ganado. La proteína tiene una estrecha relación con el contenido de grasa en la leche, es decir, cuanto mayor sea la cantidad de grasa mayor será el contenido de proteínas (Keating, 2002; López, 2016).

Los límites establecidos para el punto de congelación están entre -0,536 hasta -0,512, en el cual ningún valor de los tres muestreos analizados (ver tabla 3-3) se encuentran dentro del rango permitido, determinándose que existe adulteración en leche como se menciona en la UNAD (Universidad Nacional Abierta y a Distancia, 2016), en el que manifiesta que el punto de congelación permite detectar si existe adulteración o adición de agua en la leche cruda. En el punto de congelación los componentes que influyen son la lactosa y las sales; un aumento de acidez va a producir que se reduzca la viscosidad.

Los porcentajes de sólidos totales de los muestreos de leche realizados se detallan en la tabla 3-3; en la norma ecuatoriana NTE INEN 9:2012 se establece el mínimo permitido de 11,2%, deduciendo dichos datos se determina que todas las muestras de leche cruda analizadas cumplen con este criterio. Al igual que los estudios llevados a cabo por (Viera, 2013), en los distritos de Concepción, Matahuasi y Apata en el Perú se obtuvieron un promedio de 11,91% de sólidos totales en la leche cruda. En cambio, en otra investigación por (Calderón, 2012), analizando el mismo parámetro se obtuvo una media de 11,45%. Dichas diferencias en los valores de sólidos totales pueden ser ocasionados por varios factores como la calidad del pasto, la raza del animal, época del año, período de lactancia y la cantidad de células somáticas.

En la tabla 3-3., se muestran los resultados promedios de pH en la leche cruda obtenidos de los tres muestreos. El dato mínimo arrojado por las muestras es de 6,98 y el máximo de 7,08. Según la UNAD (2016), las variaciones de pH dependen de los microorganismos capaces de convertir la lactosa en ácido láctico y de las condiciones de sanidad de la leche, en una vaca recién ordeñada y sana el pH es ligeramente ácido (6,5-6,8).

La prueba de antibióticos realizada para los tres muestreos resultó negativa (ver tabla 3-3) para todos encontrándose dentro de la norma legal (NTE INEN 9:2012), siendo este parámetro indicativo de la presencia de residuos antimicrobianos en la leche ya que los medicamentos veterinarios son empleados cuando el ganado presenta enfermedades infecciosas o en ciertos casos en el incremento de la producción lechera, es así que en una investigación realizada por (Llanos, 2002) en el Perú menciona que la leche que se expende en los mercados y otros sitios de comercialización no presentan ningún control sanitario por las autoridades y es un tema alarmante debido al alto contenido de residuos de antibióticos, mismos que originan un riesgo en la salud

de quien lo consuma, puesto que los antibióticos originan sensibilidad o resistencia, inclusive el cambio en la flora normal del intestino debido al uso irracional de estos, ya que en varias ocasiones son administrados por los mismos proveedores sin supervisión alguna de un veterinario.

En la prueba de cloruros los valores aceptables son de 1ppm en el cual los tres muestreos entran dentro de los valores permisibles debido a que todos presentan la misma cantidad como se puede observar en la tabla 3-3. De acuerdo con (Calderón A. et al., 2013) en su estudio de determinación de adulterantes en leches crudas acopiadas en Montería (Córdoba) señala que la adición de ciertos sólidos como cloruros, féculas o almidón en la leche, se los utilizan para restablecer los parámetros físico-químicos y de esta manera enmascarar la adición de agua.

El peróxido debe ser negativo para la leche cruda normal, en el caso de las tres muestras analizadas dieron cero o negativo para esta prueba. Según la norma del MAGAP, alude que es prohibido e ilegal el uso de peróxidos para la conservación de la leche debido a su ataque a los microorganismos que descomponen la leche. La determinación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> permite detectar si a la leche le han añadido agua oxigenada, de tal manera aumentando la conservación del producto desde el ordeño hasta el lugar de distribución (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013).

### 3.4. Resultados del análisis microbiológico de la leche cruda

Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo con muestras de leche cruda, recolectadas del tanque de almacenamiento en tres muestreos se expresan en la tabla 4-3.

**Tabla 4-3:** Resultados microbiológicos de tres muestreos realizados en el centro de acopio CA1., en diciembre del 2019.

Microorganismo	Límites permitidos (log UFC/ml)	Muestreo 1 (log UFC/ml)	Muestreo 2 (log UFC/ml)	Muestreo 3 (log UFC/ml)
Aerobios mesófilos	Máx. 6,18 <sup>1</sup>	7,47 ± 0,056	7,34 ± 1,44	8,38 ± 0,029
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 – 4 <sup>3</sup>	5,82 ± 0,051	6,82 ± 1,39	7,79 ± 0,041
<i>Enterobacterias</i>	Máx. 5,11 <sup>2</sup>	6,19 ± 0,024	7,75 ± 0,050	7,59 ± 0,064
<i>Lactobacillus</i>	n/a	6,41 ± 0,053	6,075 ± 1,50	7,11 ± 0,048
<i>Lactococcus</i>	n/a	6,56 ± 0,016	8,32 ± 0,026	8,28 ± 0,021
Mohos y levaduras	Máx. 4,48 <sup>2</sup>	6,18 ± 0,041	7,50 ± 0,13	7,15 ± 0,060
<b>Fuente:</b> <sup>1</sup> Norma (NTE INEN 9, 2012): 2012; <sup>2</sup> (Mallet A. et al., 2012); <sup>3</sup> Normativa (MAG, 2006)				

Elaborado por: Digna Chimborazo, 2020

Para el recuento de aerobios mesófilos los límites permitidos según la norma NTE INEN 9: 2012 de Ecuador establece que es de 6,18log UFC/ml, de acuerdo a la tabla 4-3, en los tres muestreos realizados ningún conteo se encuentra dentro de los límites permisibles (M1= 7,47±0.056; M2=

7,34±1,44; M3= 8,38±0,029), siendo indicativos de un mal proceso de ordeño, no se ha enfriado bien la leche después del ordeño o a su vez la vaca puede presentar alguna enfermedad, como lo muestra (Calderón, 2006) en su estudio efectuado en Colombia, que un factor principal del crecimiento de estos microorganismos es la temperatura cercana a la corporal, ya que en una zona con 4-7°C, el desarrollo microbiano es lento mientras que si la temperatura de conservación es alrededor de los 15°C existe crecimiento de hasta 15 veces más de bacterias mesófilas, dando como resultado pérdida de características nutricionales y organolépticas de la leche. Además, menciona que un recuento alto se debe a la falta de cumplimiento en las prácticas de higiene durante el proceso de ordeño ya sea las ubres sucias, falta de aseo de los instrumentos utilizados en el ordeño, desaseo en los baldes o bidones de almacenamiento y transporte de leche o que una vez extraída la leche no se haya llevado rápidamente a una temperatura de refrigeración.

La norma ecuatoriana no establece los límites para *Staphylococcus aureus* ni para enterobacterias, por tal motivo se tomó como referencia datos expuestos según (Mallet A. et al., 2012) y (MAG, 2006) realizando el cuadro comparativo (tabla 4-3) ningún conteo se encuentra dentro de lo especificado, (Biberstein, 1994) menciona que los *Staphylococcus aureus* son anaerobias facultativas, presentes como bacterias Gram (+), crecen en presencia o ausencia de oxígeno y se pueden transmitir por contacto directo o indirecto. (Saran, 2000) establece la causa principal de mastitis es la presencia de *S. aureus*, cuya transmisión puede deberse por la mano del operario durante el proceso de ordeño, la tela que utilizan para limpieza de la ubre de la vaca o el equipamiento para extracción de leche, en si refieren a todo lo que rodean de forma ambiental al momento del ordeño; y mencionan en cuanto a los resultados que obtuvieron en su estudio, la carga bacteriana reduce cuando los pezones del bovino son secadas con toallas desechables ya que de cierta manera disminuyen posibles afecciones intra-mamarias por parte de esta bacteria, a su vez el ordeñador debe darse cuenta que las ubres de la vaca no presenten ninguna lesión ya que ello sería una causa fatal de contagio hacia otros ganados, tornándose como foco de transmisión principal al operario que está en contacto directo. Además, cabe mencionar que un crecimiento elevado de bacterias mesófilas y *S. aureus* es significado de déficit en la calidad higiénica al momento del ordeño.

El contenido de enterobacterias > 5,11 log UFC/ml como se puede apreciar en los tres muestreos (tabla 4-3) es indicativo de contaminación fecal, siendo esto producto de un incorrecto aseo de las ubres de la vaca que están sucias con heces propias de ellas, en ciertos casos también puede ser el producto del lavado de las ubres o de los utensilios que se utiliza para el ordeño con agua contaminada por heces fecales de mamíferos, según lo expresa (Moreno, 2007). También menciona que los recuentos varían en las épocas lluviosas debido a que existe mayor exposición al ambiente contaminado con barro, estiércol, otros; elevando la carga microbiana con Enterobacterias como la *E.coli*.

Para el recuento de bacterias lácticas tanto *Lactococcus* como *Lactobacillus* no se han establecido un límite específico en leche por lo que según los recuentos para *Lactobacillus* se tiene un rango de 6,41-7,11 log UFC/ml mientras que para *Lactococcus* va de 6,52 a 8,32 log UFC/ml (ver tabla 4-3). Las BAL forman parte del contenido normal de la leche no son patógenas como las bacterias anteriormente mencionadas al contrario éstas muestran beneficios en la salud del consumidor y en la industria para la elaboración de derivados lácteos por su proceso fermentativo, como lo menciona (Vargas, 2018) en su estudio realizado en el queso de hoja tradicional elaborado en una planta industrial y en una artesanal de la ciudad de Latacunga, en el que revelaron unos recuentos altos en medios MRS y M17 para el queso de hoja artesanal, del cual aisló y seleccionó 32 cepas de bacterias ácido lácticas; mismo que resultaron ser bacilos (56,25%) y cocos (43,75%), Gram positivas, catalasa, oxidasa y movilidad negativas. Las pruebas de caracterización diferenciales, demostraron que el 50% de las cepas aisladas en MRS correspondían al género *Lactobacillus* y las cepas aisladas en M17 al género *Enterococcus*.

En la tabla 4-3, se muestra una cantidad mayor a 4,48 log UFC/ml de mohos y levaduras encontrándose fuera de los valores normales, pero según (Pinzón, 2006), estas se pueden eliminar con la temperatura de pasteurización. (Heer, 2007), establece que la presencia de hongos y levaduras en la leche se da por un déficit en las condiciones higiénico sanitarias. Según (Altamirano, 2018), en su estudio realizado acerca de la evaluación higiénico sanitaria en el centro de acopio de leche cruda CA1 en el cantón Mocha provincia de Tungurahua, destaca que por los recuentos de bacterias, hongos y levaduras, existe contaminación fúngica y bacteriana del aire ambiental debido a la falencia en la ubicación del centro de acopio CA.1, en la cual se observan fuentes de contaminación y déficits de estructura y ventilación.

Cabe mencionar que los resultados microbiológicos expuestos en la tabla 4-3, sobrepasan los límites especificados en la Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010 para productos y servicios, como: leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos; determinando de tal manera que no se cumplen especificaciones sanitarias para la leche cruda.

## CONCLUSIONES

- El check list realizado tanto a los transportistas como al centro de acopio CA1. ubicado en el cantón Riobamba provincia de Chimborazo, muestra un 28% de incumplimiento, evidenciando que existe deficiencias en la aplicación de las Prácticas Correctas de Higiene promoviendo el desarrollo de microorganismos y mostrándose la deficiente calidad sanitaria de la leche cruda.
- Se determinó que los parámetros físico-químico como las grasas, sólidos no grasos, densidad, proteínas, sólidos totales, cloruros, peróxidos y la prueba de antibióticos analizados en la leche cruda se encuentran dentro de los límites permisibles mientras que la lactosa, sales, punto de congelación y pH no están dentro del límite de aceptabilidad establecidos por la norma NTE INEN 9:2012, de tal manera se concluye que dichos parámetros varían debido a la adulteración de leche por adición de agua y por las condiciones de sanidad de la leche.
- Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas, enterobacterias y de *Staphylococcus* sobrepasan los límites especificados según las normas establecidas, determinando así que la leche cruda no es aceptable por la patogenicidad que pueden presentar sobretodo la presencia de *Staphylococcus spp.* y la *Escherichia coli*.
- Los resultados del recuento de bacterias lácticas en la leche cruda figuran que existe gran contenido de bacterias beneficiosas tipo *Lactococcus* y *Lactobacillus* que muestran crecimiento en medios específicos como los Agares MRS y M17.

## **RECOMENDACIONES**

- Se recomienda capacitar a los proveedores y verificar que cumplan con las Correctas Prácticas de Higiene durante el proceso de ordeño, para disminuir la carga microbiana.
- Instruir a los proveedores acerca del uso racional de antibióticos, las causas que pueden originar en la salud del consumidor y en planta de producción lechera.
- Aplicar el “Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda” en el centro de acopio CA1.
- Optimizar las condiciones de transporte y almacenamiento de leche con la finalidad de cumplir con los parámetros de calidad de correctas prácticas de higiene.
- Se recomienda que el centro de acopio debe contar con un técnico para solucionar los problemas en el funcionamiento de los equipos para evitar pérdidas en la producción de leche.

## BIBLIOGRAFÍA

**ABRIL, Andrea; & PILCO, Viviana.** *Calidad Fisicoquímica de la leche cruda que ingresa a la Ciudad de Cuenca, para su comercialización.* [En línea] 2013. [Citado el: 13 de Enero de 2020.] Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4825/1/TESIS.pdf>.

**ALAIS, C.** *Ciencia de la leche: principios de técnica lechera.* [trad.] Antonio Lacasa Godina. ilustrada. s.l. : Reverte, 1985. págs. 267, 365-390. ISBN 8429118152, 9788429118155.

**ALTAMIRANO, K.** *Evaluación higiénico-sanitaria en el centro de acopio de leche cruda CA.1* ubicado en el cantón Mocha provincia de Tungurahua. Riobamba, Ecuador : s.n., 2018. pp. 20-25.

**ANDRADE, C.** *Fuentes de Contaminación de la Leche Cruda* [En línea]. 2011 [Citado el: 13 de Enero de 2020]. Disponible en: <https://agroindustriacurc.files.wordpress.com/2011/09/fuentes-de-contaminacion-de-la-leche-cruda.pdf>.

**BIBERSTEIN, E.L; & ZEE C.** *Tratado de microbiología veterinaria.* Zaragoza : Acribia, 1994. pp. 10-30.

**BOHÓRQUEZ, P.** *Estudio estadístico de los datos obtenidos en el análisis microbiológico de leche cruda entre unidades IBC y UFC para obtener el cálculo del factor de conversión* [En línea] Noviembre de 2015. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6430/1/T-UCE-0008-107.pdf>.

**BOLAÑOS, F.** Efecto de la adición de sólidos no grasos sobre el rendimiento y características sensoriales del queso crema Zamorano. [En línea] Diciembre de 2004. [Citado el: 31 de Enero de 2020]. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1974/1/AGI-2004-T006.pdf>.

**CALDERÓN, A.; et al.** *Determinación de adulterantes en leches crudas acopiadas en procesadoras de quesos en Montería (Córdoba).* Colombia : Orinoquia, 27 de Noviembre de 2013. Vol. 17, 2. pp.11.

**CALDERÓN, A.; et al.** *Calidad fisicoquímica y microbiológica de leches crudas en empresas ganaderas del sistema doble propósito en Montería (Córdoba).* [En línea] 2012. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v15n2/v15n2a18.pdf>.

**CALDERÓN, A.; et al.** *Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia.* [En línea] Junio de 2006. [Citado el: 31 de Enero de 2020]. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-02682006000100006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682006000100006).

**CARRILLO, D.** *La industria de alimentos y bebidas en el Ecuador*. [En línea] Junio de 2019. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: <http://www.uasb.edu.ec/UserFiles/381/File/ALIMENTOS.pdf>.

**CONTERO, R.** *La calidad de la leche: un desafío en el Ecuador*. [En línea] 2008. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: <http://pdfs.semanticscholar.org/071b/a7bd307a939f43a99b82fb14071b8582d885.pdf>.

**DÍAZ, M.** *Leche y seguridad alimentaria*. [En línea] 2015. [Citado el: 21 de Enero de 2020]. Disponible en: [http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309238518005\\_2](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309238518005_2). ISSN 0212-1611.

**EL INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS, INEC.** *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. [En línea] 2018. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2018/Presentacion%20de%20principales%20resultados.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2018/Presentacion%20de%20principales%20resultados.pdf).

**FDA, ADMINISTRACIÓN DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS DE LOS EE.UU.** Información sobre Alimentos: Los peligros de la leche cruda. *La Leche sin Pasteurizar puede representar un riesgo grave para la Salud*. [En línea] Agosto de 2012. [Citado el: 21 de Enero de 2020.] <https://www.fda.gov/media/84522/download>.

**GALEANO, D.** Aislamiento e identificación de *Staphylococcus aureus* en muestras de leche cruda procedentes de diferentes predios del departamento de Risaralda. [En línea] 2017. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.unilibrepereira.edu.co:8080/pereira/bitstream/handle/123456789/832/AISLAMIENTO%20E%20IDENTIFICACION%20C3%93N%20.pdf?sequence=1>.

**GARCÍA, C.; et al.** *Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación*. [En línea] 19 de Junio de 2014. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/4083/8eaf07de28527b271fa5e5df6e47042c2954.pdf>.

**GAVIRIA, B.** Calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda. México D.F. pp. 119.

**HEER, G.** *Microbiología de la leche*. [En línea] 2007. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible: <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/tecnologialeche/informacion/microbiologia.pdf>.

**KEATING, P.F.; & RODRÍGUEZ, H.G.** *Propiedades físico-químicas de la leche*. [ed.] Grupo Noriega. *Introducción a la lactología*. Segunda. México, D.F. : Limusa, S.A. de C.V., 2002, 1.

**LACTOSCAN.** *Milkotronic LTD.* [En línea] 21 de Octubre de 2019. [Citado el: 06 de Febrero de 2020.] [m.mihneva@lactoscan.com](mailto:m.mihneva@lactoscan.com).

**LLANOS, G.** *Determinación de residuos de antibióticos en la leche fresca que consume la población de Cajamarca.* [En línea] 2002. [Citado el: 31 de Enero de 2020]. Disponible en: <https://www.unapiquitos.edu.pe/pregrado/facultades/alimentarias/descargas/vol3/4.pdf>. ISSN.

**LÓPEZ, A.; & BARRIGA D.** *La leche. Composición y características.* [ed.] Pesca y Desarrollo Rural Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura. Sevilla : s.n., 2016.

**MAG, Ministerio de Agricultura y Ganadería.** *Reglamento técnico: RTCR: 401-2006. Leche cruda y leche higienizada.* [En línea] 2006. [Citado el: 30 de Enero de 2020.] <http://www.mag.go.cr/legislacion/2007/de-33812.pdf>.

**MAGAP & AGROCALIDAD.** *Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda.* [En línea] 07 de Noviembre de 2013. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: <http://www.agrocalidad.gob.ec/documentos/dia/Manual-de-Leche-DAJ-2013461-0201.0213.pdf>.

**MALLET A.; et al.** *Quantitative and qualitative microbial analysis of raw milk reveals substantial diversity influenced by herd management practices.* International Dairy Journal. [En línea] 2012. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: <file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/mallet2012.pdf>.

**MARTÍNEZ A.; et al.** *Calidad e inocuidad de la leche cruda en las condiciones actuales de Cuba.* [En línea] Abril de 2017. [Citado el: 14 de Febrero de 2020.] ISSN 0253-570X.

**Monge, R.** *Diseño de un Centro de Acopio modelo para la leche cruda.* [En línea] 2017. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/7773/1/03%20EIA%20447%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf>.

**MORENO, F.; et al.** *Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá).* [En línea] 2007. [Citado el: 31 de Enero de 2020]. Disponible en: <file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/DialnetAnalisisMicrobiologicoYSuRelacionConLaCalidadHigie-4943762.pdf>.

**MSP, Ministerio de Salud Pública.** *Gaceta Epidemiológica Ecuador SIVE – Alerta N° 23-2019.* Subsistema de Vigilancia SIVE- Alerta Enfermedades Transmitidas por Agua y Alimentos Ecuador, SE 1-23, 2019. [En línea] 13 de Junio de 2019. [Citado el: 21 de Enero de 2020.] [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2018/11/gaceta\\_ETAS\\_SE\\_23.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2018/11/gaceta_ETAS_SE_23.pdf).

**NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-243-SSA1.** *Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.* [En línea] 2010. [Citado el: 27 de Febrero de 2020]. Disponible en: <http://dof.gob.mx/normasOficiales/4156/salud2a/salud2a.htm>.

**NTE INEN 1529-5, INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN.** *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. REP.* [En línea] 2006. [Citado el: 8 de Febrero de 2020]. Disponible en: <https://archive.org/details/ec.nte.0005.2006/page/n1/mode/2up>.

**NTE INEN 4, INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN.** *Leche y productos lácteos. Muestreo.* [En línea] 1983. [Citado el: 07 de Febrero de 2020]. Disponible en: <https://archive.org/details/ec.nte.0004.1984/page/n1/mode/2up>.

**NTE INEN 9, INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN.** *Leche cruda. Requisitos.* [En línea] Pichincha, Ecuador; 2012. [Citado el: 12 de Enero de 2020.] <http://181.112.149.204/buzon/normas/9-5.pdf>.

**OMS y FAO, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD Y ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA.** *Codex alimentarius: Leche y productos lácteos.* [En línea] 2011. [Citado el: 31 de Enero de 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf>. ISBN 978-92-5-305837-2.

**PADILLA, J.E.** *Validación secundaria del método de recuento en placa en superficie de Bacillus cereus y Staphylococcus aureus en muestras de alimentos en un laboratorio de referencia.* [En línea] 2007. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis15.pdf>.

**PASSALACQUA, N.; & CABRERA J.** *Microorganismos indicadores. Análisis microbiológico de los alimentos.* Córdoba, Noviembre de 2014. Vol. 3, pp. 30-34.

**PINZÓN, A.** *Determinación del índice de bacterias mesófilas aerobias presentes en la leche cruda versus leche pasteurizada que se comercializan en la zona urbana de la ciudad de Popayan.* [En línea] 2006. [Citado el: 30 de Enero de 2020]. Disponible en: [https://images.engormix.com/s\\_articles/Pinzon\\_leche\\_bacterias.PDF](https://images.engormix.com/s_articles/Pinzon_leche_bacterias.PDF).

**PONCE, J.; et al.** *Reglamento de control y regulación de cadena de producción de leche.* Cuba, Abril de 2013, pp. 37

**QUIGLEY L.; et al.** *The complex microbiota of raw milk*. [En línea] 18 de Junio de 2013. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/37-5-664.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAmIwggJeBqkqhkiG9w0BBwagggJPMIICSwIBADCCAkQGCSqGSIB3DQEHATAeBgIghkgBZQM EAS4wEQQMZe47DrAaquQIugqUAgEQgIICFcDy9lchgA75N\\_RH-87altN\\_ABYZHZHCAnSMyaIRc4o9s3](https://watermark.silverchair.com/37-5-664.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kKhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAmIwggJeBqkqhkiG9w0BBwagggJPMIICSwIBADCCAkQGCSqGSIB3DQEHATAeBgIghkgBZQM EAS4wEQQMZe47DrAaquQIugqUAgEQgIICFcDy9lchgA75N_RH-87altN_ABYZHZHCAnSMyaIRc4o9s3).

**ROMERO A.; et.al.** *Evaluación de la calidad de leches crudas en tres subregiones del departamento de Sucre, Colombia*. [En línea] 20 de Enero de 2018. [Citado el: 31 de Enero de 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/recia/v10n1/2027-4297-recia-10-01-00043.pdf>. ISSN.

**SALAZAR D.; et al.** *Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua*. [En línea] 2017. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac\\_2017/Informe\\_Ejecutivo\\_ESPAC\\_2017.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2017/Informe_Ejecutivo_ESPAC_2017.pdf).

**SANTIAGO, María Elena.** *Manual de Normas de control de calidad de leche cruda*. [En línea] 06 de Junio de 2007. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: [file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/MANUAL\\_DE\\_NORMAS\\_DE\\_CONTROL\\_DE\\_CALIDAD\\_D.pdf](file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/MANUAL_DE_NORMAS_DE_CONTROL_DE_CALIDAD_D.pdf).

**SANTIAGO, María Elena.** *Manual de Normas de calidad de producto terminado*. [En línea] 18 de Mayo de 2009. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: <http://www.liconsa.gob.mx/wp-content/uploads/2012/01/man-nor-cal-prod-ter-hist.pdf>.

**SANTOS, A.** *Leche y sus derivados*. Ed. Cuarta . México, D.F. : Trillas, 2000. pág. 34.

**SARAN, A.; & CHAFFER, M.** *Mastitis y calidad de leche*. Argentina : Intermédica, 2000.

**SHENZHEN BIOEASY BIOTECHNOLOGY, CO. LTD. BIOEASY.** *Milk antibiotic residues rapid test kit*. Shenzhen, Guangdong, China.pp.3-5.

**UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA, UNAD.** *Definición, composición, estructura y propiedades de la leche*. [En línea] 2016. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: [http://infolactea.com/wp-content/uploads/2016/01/301105\\_LECTURA\\_Revision\\_de\\_Presaberes.pdf](http://infolactea.com/wp-content/uploads/2016/01/301105_LECTURA_Revision_de_Presaberes.pdf).

**VARGAS, P.** *Evaluación microbiológica comparativa del queso de hoja tradicional elaborado en una planta industrial y en una artesanal de la ciudad de Latacunga*. Riobamba, Ecuador; 2018. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. pp.39.

**VIERA, M. A.** *Parámetros de calidad de leche de vacuno en los distritos de Apata, Matahuasi y Concepción en el Valle del Mantaro.* [En línea] 2013. [Citado el: 04 de Febrero de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1751/Q04.V665-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**VILLEGAS DE GANTE, A.** *Manual básico para elaborar productos lácteos.* México, D.F. : Trillas, S.A., 2009, 1, pág. 10 y 11.

**ZAMBRANO, J.; & GRASS J.** *Valoración de la calidad higiénica de la leche cruda en la Asociación de productores de leche de Sotará–Asproleso,* mediante las pruebas indirectas de resazurina y azul de metileno. 10 de Julio de 2008. Vol. 6, 2.

**ANEXOS**

**ANEXO A: RECONOCIMIENTO DEL CENTRO DE ACOPIO CA1. Y LAS RUTAS DE RECOLECCIÓN DE LECHE CRUDA.**



Reconocimiento de la ruta de los transportistas



Reconocimiento del centro de acopio de leche cruda CA1.



Transporte de leche cruda por los proveedores



Recolección de leche cruda



Limpieza y desinfección de bidones

**ANEXO B: RECOLECCIÓN, TRANSPORTE DE MUESTRAS Y ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE LECHE CRUDA**



Recolección de muestras



Transporte de muestras de leche cruda



Análisis físico-químico de leche cruda



Prueba de peróxidos en leche



Prueba de antibióticos

**ANEXO C: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA LECHE CRUDA**



Preparación de medios de cultivo



Preparación de diluciones

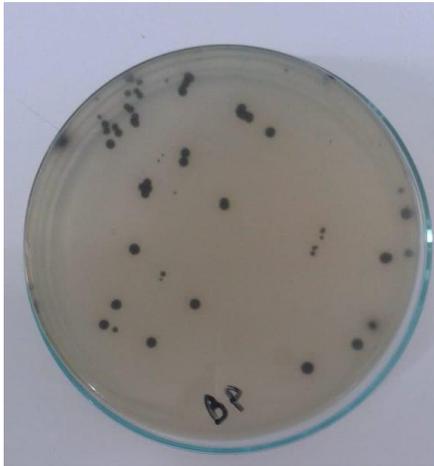


Siembra de muestras en superficie



Recuento de microorganismos

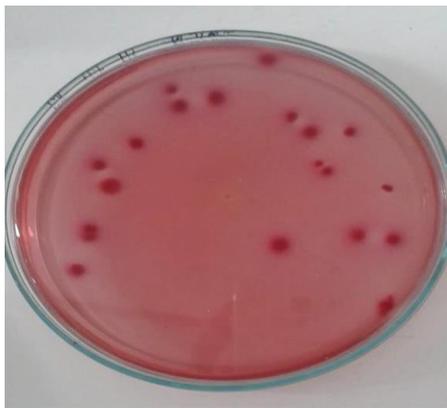
**ANEXO D: RECUENTO EN PLACA DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA LECHE CRUDA.**



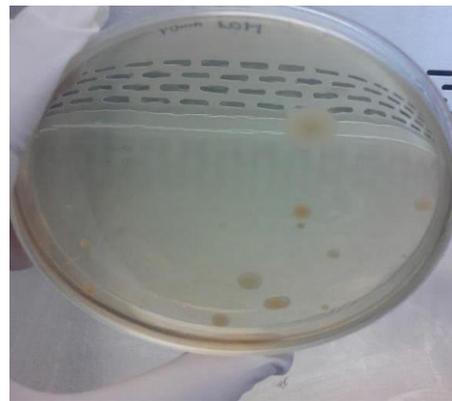
Recuento de colonias *Staphylococcus spp.* en agar Baird Parker



Recuento de colonias aerobios mesófilos en Plate Count Agar



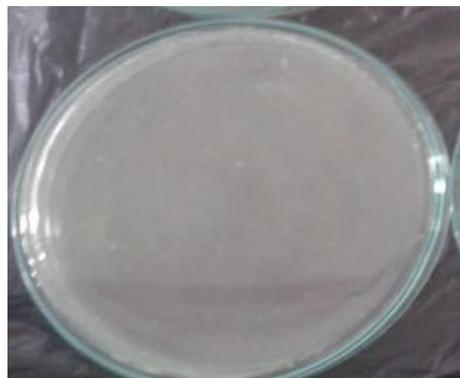
Recuento de enterobacterias en Agar MacConkey



Recuento de mohos y levaduras en Agar Sabouraud



Recuento de bacterias lácticas - *Lactococcus* en Agar M17



Recuento de bacterias lácticas - *Lactobacillus* en Agar MRS

## ANEXO E: CATEGORÍAS DE CUMPLIMIENTO DENTRO DEL CHECK LIST.

SIMBOLOGÍA				
Color	Afectación a la inocuidad de la leche	Categoría de cumplimiento	Plazo máximo de cumplimiento	Carácter de cumplimiento
Rojo	Grave	De cumplimiento obligatorio para emisión de certificado de registro y mantenimiento de registro	Inmediato	Obligatorio
Amarillo	Media	De cumplimiento obligatorio en un plazo acordado entre las partes	3 meses	Obligatorio
Verde	Leve	De cumplimiento obligatorio tras un año de operación (correspondiente a la inspección de vigilancia)	1 año	Obligatorio

Fuente: Manual (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013)

Elaborado por: Digna Chimborazo

## ANEXO F: CRITERIOS DE CUMPLIMIENTO PARA EL CHECK LIST DE MEDIOS DE TRANSPORTE DE LECHE CRUDA.

CRITERIO DE CUMPLIMIENTO	TANQUEROS	BIDONES
Cumplimiento obligatorio para emisión de certificado de registro y mantenimiento del registro	45	30
Cumplimiento obligatorio en un plazo acordado entre las partes	40	20
Cumplimiento obligatorio de un año (correspondiente a la inspección de vigilancia)	15	15
<b>TOTAL</b>	100	65

Fuente: Manual (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013)

Elaborado por: Digna Chimborazo

## ANEXO G: CRITERIOS DE CUMPLIMIENTO PARA EL CHECK LIST DE LOS CENTROS DE ACOPIO DE LECHE CRUDA.

CRITERIO DE CUMPLIMIENTO	Centro de Acopio de Leche Cruda		
	> 10.000 lt/día	>2.000lt/día	<2,000lt/día
Cumplimiento obligatorio para emisión de certificado de registro y mantenimiento del registro	44	36	28
Cumplimiento obligatorio en un plazo acordado entre las partes	42	39	39
cumplimiento obligatorio de un año (correspondiente a la inspección de vigilancia)	14	14	14
<b>TOTAL</b>	100	89	81

Fuente: Manual (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013)

Elaborado por: Digna Chimborazo

## ANEXO H: CÁLCULOS EMPLEADOS PARA LOS RECIENTOS DE MICROORGANISMOS INDICADORES.

- Cuando el recuento es < 300 colonias

$$N = \frac{\Sigma C}{V \times 1,1 \times d}$$

Dónde:

N = Número de UFC

ΣC = Sumatoria de las colonias en dos placas de dos diluciones consecutivas

V = Volumen del inóculo utilizado en la placa en mL.

d = Dilución correspondiente a la primera dilución escogida (Passalacqua, 2014).

- Cuando el recuento es > 300 colonias

$$N = \frac{C \times d}{V}$$

Dónde:

N = Número de UFC

C = Sumatoria de las colonias en dos placas de dos diluciones consecutivas

V = Volumen del inóculo utilizado en la placa en mL.

d = Dilución correspondiente a la primera dilución escogida (Passalacqua, 2014).

**ANEXO I: REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS ESTABLECIDOS POR LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-243-SSA1-2010.**

La Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, está determinada para productos y servicios, como: Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos, en la cual se muestra las disposiciones y especificaciones sanitarias.

Microorganismo	Límite máximo	Productos
<b>Organismos Coliformes totales</b>	≤100 UFC/g o mL	Helados y sorbetes. Quesos de suero
	≤50 UFC/g o mL	Bases o mezclas para helados.
	≤20 UFC/g o mL	En punto de venta: Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; pasteurizados.
	≤10 UFC/g o mL	En planta: Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; pasteurizados o deshidratados. Mantequilla, cremas, leche condensada azucarada, leche fermentada o acidificada, dulces a base de leche.
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	≤10 UFC/ mL por siembra directa	Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado pasteurizado.
	≤100 UFC/g o mL	Mantequilla, cremas, leche condensada azucarada, leche fermentada o acidificada, dulces a base de leche. Quesos madurados y quesos procesados
	1000 UFC/g	Quesos frescos y quesos de suero
<b><i>Salmonella spp</i></b>	Ausente en 25g o mL	Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado: pasteurizados y deshidratados. Quesos frescos, madurados y procesados. Quesos de suero. Cremas, leche fermentada o acidificada, dulces a base de leche*, helados, sorbetes y bases para helados. Mantequillas.
<b><i>Escherichia coli</i></b>	100 UFC/g o mL	Quesos frescos.
	≤ 3 NMP/g o mL	Leche utilizada como materia prima para la elaboración de quesos. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; deshidratados.
	≤ 10 NMP/g	Quesos madurados y procesados.
<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	Ausente en 25g o mL	Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado; pasteurizados ** Quesos. Quesos de suero. Helados, bases para helados y sorbetes.**.
<b><i>Vibrio cholerae</i>***</b>	Ausente en 25g	Quesos frescos. Helados, sorbetes y bases para helados.
	Ausente en 50g	Quesos de suero.
<b>Enterotoxina estafilococcica</b>	Negativa	Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado; deshidratados y la que se emplee como materia prima para elaboración de quesos. Quesos frescos, madurados y procesados. Helados, sorbetes y bases para helados.
<b>Toxina botulínica**</b>	Negativa	Quesos frescos, madurados y procesados, envasados al alto vacío.
<b>Mohos y levaduras</b>	500 UFC/g o mL	Quesos frescos, madurados*** y quesos de suero.
	100 UFC/g o mL	Quesos procesados.
	50 UFC/g o mL	Bases o mezclas para helados.
<b>Mesofílicos aerobios</b>	200,000 UFC/g o mL	Helados y sorbetes.
	100,000 UFC/g o mL	Bases para helado.

\* Para aquellos que contienen chocolate, cocoa, coco, huevo y semillas.

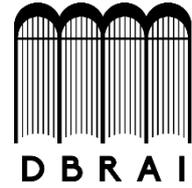
\*\* Se determinará únicamente en situaciones de emergencia sanitaria, cuando la SSA de acuerdo a los resultados microbiológicos detecte su presencia, y ordenará la realización de un plan de trabajo por parte del fabricante o importador para controlar la presencia.

\*\*\* Aquellos productos que para su maduración requieren de hongos, pudieran estar fuera de este límite.

**Fuente:** (NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1, 2010)



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE  
CHIMBORAZO**



**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS  
PARA EL APRENDIZAJE Y LA INVESTIGACIÓN**

**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS  
REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** / 03 / 2020

**INFORMACIÓN DE AUTORES**

**Nombres-Apellidos:** Digna Marilú Chimborazo Ashqui

**INFORMACIÓN INSTITUCIONAL**

**Facultad:** Ciencias

**Carrera:** Bioquímica y Farmacia

**Título a optar:** Bioquímica Farmacéutica

**f. Analista de Biblioteca responsable:**