



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

**“CONTROL DE CALIDAD DE UN CENTRO DE ACOPIO DE  
LECHE CRUDA CA2. EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”**

**Trabajo de titulación**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA:** ANA MARIBEL PAUCAR GUZMÁN

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

Riobamba – Ecuador

2021

**©2021, Ana Maribel Paucar Guzmán**

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, Ana Maribel Paucar Guzmán, declaro que el presente trabajo de titulación es mi autoría y los resultados de los mismos 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, 15 de Marzo 2021

A handwritten signature in blue ink, enclosed in a light blue oval. The signature is cursive and appears to read 'Ana Maribel Paucar Guzmán'.

**Ana Maribel Paucar Guzmán**

180424854-8

**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 CA2. EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO**”, realizado por la señorita **ANA MARIBEL PAUCAR GUZMÁN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros 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>
Ing. Violeta Maricela Dalgo Flores <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	 Firmado electrónicamente por: <b>VIOLETA MARICELA DALGO FLORES</b>	2021-03-15
Dra. Ana Karina Albuja Landi <b>DIRECTORA DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	 Firmado electrónicamente por: <b>ANA KARINA ALBUJA</b>	2021-03-15
Dr. Carlos Pilamunga Capus <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	 Firmado digitalmente por CARLOS PILAMUNGA CAPUS A CAPUS Fecha: 2021.03.29 15:09:26 -05'00'	2021-03-15

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado a Dios por brindarme muchas bendiciones y cumplir uno de mis metas más añorado en la vida.

A mis padres, mis abuelos quienes siempre me inculcaron los valores y el respeto hacia los demás.

Al amor de mi vida Elvis Javier y mi pequeño amor Alejandro, quienes llegaron a mi vida a llenarme de muchas alegrías.

A toda mi familia quienes me apoyaron con sus ánimos a continuar a pie de lucha hasta finalizar mi carrera profesional.

*Ana*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por regarme salud y vida para cumplir uno de mis anhelos más esperados.

A padres Víctor Arturo e Hilda por su apoyo incondicional durante toda mi carrera universitaria. A mi hermana María Elsa a mi querido sobrino Edwin quienes me inspiraron para seguir adelante con mis estudios. Al amor de mi vida Elvis Javier quien con sus palabras de aliento me ayudaron a esforzarme cada día.

Mi agradecimiento profundo a la Dra. Ana Karina Albuja, Dr. Carlos Pilamunga y BQF. Yolanda Buenaño por su ayuda incondicional y valioso conocimiento que contribuyeron al desarrollo del presente trabajo.

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

*Ana*

## TABLA DE CONTENIDO

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

## CAPÍTULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1. Concepto de leche.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2. Leche cruda.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3. Importancia de la leche.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Componentes principales de la leche.....</b>	<b>4</b>
<i>1.4.1. Factores que influyen la calidad de la leche cruda.....</i>	<i>5</i>
<b>1.5. Calidad de leche.....</b>	<b>8</b>
<i>1.5.1. Control de calidad de la leche.....</i>	<i>9</i>
<i>1.5.1.1. Características organolépticas.....</i>	<i>9</i>
<i>1.5.1.2. Pruebas físico- químicos.....</i>	<i>10</i>
<b>1.6. Calidad microbiológica de la leche cruda.....</b>	<b>13</b>
<i>1.6.1. Microorganismos patógenos de la leche cruda.....</i>	<i>13</i>
<i>1.6.1.1. Enterobacterias.....</i>	<i>14</i>
<i>1.6.1.2. Bacterias mesófilas.....</i>	<i>14</i>
<i>1.6.1.3. Bacterias Staphylococcus aureus.....</i>	<i>14</i>
<i>1.6.1.4. Mohos y levaduras.....</i>	<i>15</i>
<i>1.6.2. Microflora benéfica en la leche cruda.....</i>	<i>15</i>
<i>1.6.2.1. Bacterias ácido lácticas.....</i>	<i>15</i>
<b>1.7. Ganado vacuno en el Ecuador.....</b>	<b>16</b>
<i>1.7.1. Producción lechero en la Sierra Ecuatoriana.....</i>	<i>16</i>
<i>1.7.1.1. Producción lechera en la Zona 3 del Ecuador.....</i>	<i>17</i>
<b>1.8. Industria láctea.....</b>	<b>17</b>
<i>1.8.1. Centro de la Industria Láctea (CIL - Ecuador).....</i>	<i>18</i>
<b>1.9. Centro de acopio de leche cruda.....</b>	<b>18</b>

<b>1.9.1. Centros de acopio de leche cruda en la zona 3</b> .....	<b>19</b>
1.9.1.1. <i>Requisitos que debe cumplir los Centros de Acopio de Leche Cruda</i> .....	19

## **CAPÍTULO II**

<b>2. MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>21</b>
2.1. <b>Lugar de la investigación</b> .....	<b>21</b>
2.2. <b>Factores de estudio</b> .....	<b>21</b>
2.2.1. <i>Población</i> .....	21
2.2.2. <i>Muestra</i> .....	22
2.2.3. <i>Materiales, equipos y reactivos</i> .....	22
2.3. <b>Metodología</b> .....	<b>24</b>
2.3.1. <i>Levantamiento de línea base</i> .....	24
2.3.2. <i>Revisión de las prácticas correctas de higiene</i> .....	24
2.3.3. <i>Proceso de recolección y el transporte de las muestras de leche cruda</i> .....	24
2.3.4. <i>Muestreo de la leche cruda</i> .....	24
2.4. <b>Análisis de la leche cruda</b> .....	<b>25</b>
2.4.1. <i>Análisis organolépticos de la leche cruda</i> .....	25
2.4.2. <i>Análisis físico-químico de la leche cruda</i> .....	25
2.4.2.1. <i>Prueba de cloruros</i> .....	25
2.4.2.2. <i>Prueba de peróxidos</i> .....	26
2.4.2.3. <i>Prueba de antibióticos</i> .....	26
2.4.3. <b>Pruebas microbiológicos</b> .....	<b>27</b>
2.4.3.1. <i>Preparación de las diluciones</i> .....	27
2.4.3.2. <i>Determinación de Bacterias aerobios mesófilas</i> .....	28
2.4.3.3. <i>Determinación de Staphylococcus aureus</i> .....	29
2.4.3.4. <i>Determinación de Enterobacterias</i> .....	30
2.4.3.5. <i>Determinación de Mohos y Levaduras</i> .....	31
2.4.3.6. <i>Determinación de Bacterias ácido lácticas- Lactobacillus</i> .....	32
2.4.3.7. <i>Determinación de Bacterias ácido lácticas- Lactococcus</i> .....	33

## **CAPÍTULO III**

<b>3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
3.1. <b>Resultados de check list de requisitos de medios de transporte de leche cruda</b> ...	<b>34</b>
3.2. <b>Resultados check list de requisitos para el centro acopio CA2</b> .....	<b>36</b>

<b>3.3.</b>	<b>Resultados del análisis físico-químicos leche cruda del centro de acopio CA2. ...</b>	<b>40</b>
<b>3.4.</b>	<b>Resultados del análisis microbiológico de la leche cruda .....</b>	<b>44</b>
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>47</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>48</b>
	<b>GLOSARIO</b>	
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Composición de la leche cruda porcentaje en peso .....	6
<b>Tabla 2-1:</b> Requisitos físicos- químicos de la leche cruda .....	10
<b>Tabla 3-1:</b> Número de cabezas de ganado bovino, vacas ordeñadas y producción de lechera en la Zona 3 del Ecuador en el periodo 2015 al 2017 .....	17
<b>Tabla 1-3:</b> Resultados del Check list de acuerdo al Manual de Procedimientos para Vigilancia y Control de la inocuidad de la leche cruda de Agrocalidad en el Centro de Acopio CA2.....	34
<b>Tabla 2-3:</b> Resultados del Check list de acuerdo al Manual de Procedimientos para Vigilancia y Control de la inocuidad de la leche cruda de Agrocalidad en el centro de acopio CA2. ....	36
<b>Tabla 3-3:</b> Resultados físico-químicos de los tres muestreos realizados en el centro de acopio CA2.....	40
<b>Tabla 4-3:</b> Resultados microbiológicos de los muestreos realizados en el Centro de Acopio CA2.....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-2:</b> Mapa de la ubicación del centro de Acopio CA2. ....	21
<b>Figura 2-2:</b> Test de interpretación de antibióticos .....	27

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Evaluación del check list de requisitos de los medios de transporte de leche cruda del centro de acopio CA2. del cantón Riobamba de la provincia de Chimborazo .....	35
<b>Gráfico 2-3:</b>	Gráfica de resultados del check list de los requisitos para el centro de acopio CA2 .....	39

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A:** Reconocimiento de las rutas del medio de transporte y del centro de acopio CA2

**ANEXO B:** Recolección, transporte y análisis de físico químico de leche cruda

**ANEXO C:** Análisis microbiológicos de la leche cruda del centro de acopio CA2.

**ANEXO D:** Recuento en placa de los microorganismos presentes en la leche cruda

**ANEXO E:** Criterio de cumplimiento para el check list de medios de transporte del centro de acopio CA2.

**ANEXO F:** Criterio de cumplimiento para el check list del centro de acopio CA2.

**ANEXO G:** Fórmulas para los cálculos de los recuentos de los microorganismos

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se efectuó el control de calidad de un centro de acopio de leche cruda CA2., ubicado en la provincia de Chimborazo cantón Riobamba. Se verificó el cumplimiento del manual de procedimientos emitido por Agrocalidad, se realizó los análisis físico-químicos en el equipo de Lactoscan MCCW y para el análisis microbiológico se aplicó la técnica de recuento en placa en superficie y en profundidad. El análisis físico-químico muestra un incumplimiento a la norma NTE INEN 9:2012 en los parámetros: lactosa, sales, punto congelación y el pH. Los resultados del check list presentan un incumplimiento del 19% (centro de acopio) y 7,69% (transportista). El alto contenido de los microorganismos: enterobacterias (6,24 hasta 6,93 log UFC/ml), bacterias aerobias mesófilas (7,31 a 7,35 log UFC/ml), *Staphylococcus aureus*. (6,11 a 6,40 log UFC/ml), mohos y levaduras (5,08 a 5,23 log UFC/ml) evidencian deficiente calidad sanitaria de la leche cruda, por otro lado, las bacterias ácidas lácticas, *Lactobacillus* (6,28 hasta 6,49 log UFC/ml) y los *Lactococcus* (6,48 a 7,11 UFC/ml) son beneficiosas para la industria láctea. En conclusión, no existen buenas condiciones higiénicas-sanitarias en la leche cruda del centro de acopio CA2., para lo cual se recomienda capacitar al personal y productores sobre buenas prácticas de higiene, mismas que debe ser controlado desde el ordeño, recepción a la planta de almacenamiento de leche cruda para así garantizar la inocuidad del producto.

**PALABRAS CLAVES:** <LECHE CRUDA>, <CENTRO DE ACOPIO>, <ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS>, <MICROORGANISMOS>, <MICROFLORA>

LUIS ALBERTO  
CAMINOS  
VARGAS

Firmado digitalmente por LUIS  
ALBERTO CAMINOS VARGAS  
Nombre de reconocimiento (DN):  
c=EC, l=RIOBAMBA,  
serialNumber=0602766974, cn=LUIS  
ALBERTO CAMINOS VARGAS  
Fecha: 2021.03.24 10:50:19 -05'00'



0823-DBRAI-UPT-2021

## SUMMARY

In the present research work, the quality control of a milk collection center was carried out crude CA2., located in the province of Chimborazo canton Riobamba. Compliance was verified of the procedure's manual issued by Agrocalidad, the physical-chemical analyzes were carried out in the Lactoscan MCCW equipment and for the microbiological analysis the counting technique was applied in plate on surface and in depth. The physical-chemical analysis shows a breach of the standard NTE INEN 9: 2012 in the parameters: lactose, salts, freezing point and pH. The results of the check lists show a non-compliance of 19% (collection center) and 7.69% (carrier). The high content of microorganisms: Enterobacteriaceae (6.24 to 6.93 log CFU / ml), aerobic bacteria mesophilic (7.31 to 7.35 log CFU / ml), Staphylococcus aureus. (6.11 to 6.40 log CFU / ml), moulds and yeasts (5.08 to 5.23 log CFU / ml) show poor sanitary quality of raw milk, on the other side, lactic acid bacteria, lactobacillus (6.28 to 6.49 log CFU / ml) and lactococcus (6.48 at 7.11 CFU / ml) are beneficial for the dairy industry. In conclusion, there are no good hygienic-sanitary conditions in the raw milk of the CA2. collection center, for which it is recommended training staff and producers on good hygiene practices, which should be controlled from milking, reception to the raw milk storage plant in order to guarantee the safety of the product.

KEY WORDS: <BIOCHEMISTRY>, <RAW MILK>, <COLLECTION CENTER>, <PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSIS>, <MICROORGANISMS>, <MICROFLORA>

CARMITA  
EULALIA  
ROJAS  
CASTRO

Digitally signed  
by CARMITA  
EULALIA ROJAS  
CASTRO  
Date: 2021.03.25  
16:13:44 -05'00'



## INTRODUCCIÓN

La leche de vaca es considerado un alimento de primera necesidad; por ello existe gran demanda por su alto valor nutricional que se refleja en sus diferentes componentes, es considerada un alimento básico en la dieta de los infantes, ancianos, enfermos y la población en general (Agudelo;& Bedoya, 2005, p. 38).

La insalubridad de los alimentos ha representado un problema de salud para los humanos en todos los países del mundo, la existencia de enfermedades de transmisión alimentaria y de zoonosis sigue siendo un problema de salud significativo tanto en los países desarrollados como en los países en vía de desarrollo (Aguilera, 2014, p. 2).

La OMS en la Región de las Américas calcula que cada año 77 millones de personas se enferman y más de 9.000 mueren, de ellas 31 millones son menores de 5 años y mas de 2.000 mueren como consecuencia de enfermedades diarreicas atribuidas, en su mayoría, a la ingesta de agua o alimentos contaminados. Uno de los problemas de salud pública más importantes en el mundo lo constituyen las Enfermedades Trasmitidas por Alimentos (ETAs), que pueden afectar a la población en general, y en las cuales pueden estar potencialmente involucrados diversos agentes físicos, químicos y biológicos (Aguilera, 2014, p. 2).

Según datos del Ministerio de Salud Pública del Ecuador en la semana epidemiológico 53 del año 2020, las enfermedades transmitidas por agua y alimentos alcanzaron 19.487 casos; los alimentos pueden ser contaminados por bacterias en cualquier momento de la producción o del procesamiento las enfermedades más comunes son: enfermedades diarreicas, fiebre tifoidea y paratifoidea hepatitis A; las infecciones debido a Salmonella, intoxicaciones alimentarias Shigelosis y síndrome diarreico agudo; los síntomas más: náuseas, vómito, diarrea, dolor y calambres abdominales y fiebre.

En Ecuador durante el 2020 se reportaron 5.890 casos por intoxicaciones alimentarias bacterianas, demostrando un decrecimiento en comparación del 2019 que se registró 12.203 casos que fueron causados por el consumo de alimentos que tuvieron una mala manipulación, cocción, conservación y así transmitiendo las bacterias patógenas a los consumidores (MSP, 2020, p.p. 1-6). En la provincia de Pichincha fueron reportado la mayoría de los casos de intoxicación alimentaria

con 1.150 casos; en la provincia de Chimborazo existieron 731 casos durante el año por el (MSP, 2020).

Tomando en cuenta el alto consumo de leche y sus derivados por la población ecuatoriana y los datos referenciales intoxicación alimentaria por tal motivo fue importante desarrollar esta investigación con el fin de evaluar la calidad microbiológica de la leche cruda del Centros de Acopio CA2. ubicado en la provincia de Chimborazo que pertenece al cantón Riobamba.

Para ellos también se verificó en el Manual de Procedimientos para la Vigilancia y Control de la Inocuidad Resolución DAJ-2013461-0201.0213 de la leche cruda emitida por la entidad de Agrocalidad con la finalidad de establecer de manera estandarizada, el cumplimiento de los medios de transporte, centro de acopio de la leche cruda, los proveedores ganaderos lecheros (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p. 4).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- Realizar el control de la calidad de un centro de acopio de leche cruda CA2. en la provincia de Chimborazo.

### **Objetivo Específico**

- Verificar el cumplimiento del MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA VIGILANCIA Y CONTROL DE LA INOCUIDAD DE LECHE CRUDA RESOLUCIÓN DAJ-2013461-0201.0213 para el centro de acopio CA2.
- Analizar los parámetros de calidad físicos-químicos del CA2 y determinar el cumplimiento con la Norma NTE INEN 9:2012 Quinta revisión (Leche cruda. Requisitos)
- Cuantificar las bacterias indicadoras de la calidad higiénico-sanitaria (Enterobacterias, aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*. y mohos-levaduras) presentes en las muestras de leche cruda.
- Efectuar el recuento de las bacterias ácido láctico (*Lactococcus* y *Lactobacillus*) presentes en la leche cruda del CA2.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

### 1.1. Concepto de leche

La leche es un producto normal de secreción de la glándula mamaria de las hembras mamíferas es utilizada para la alimentación de sus crías durante las primeras etapas de su crecimiento (Villegas; & Santos, 2009, pp. 9-10).

### 1.2. Leche cruda

Leche que no ha sido sometido a ningún tipo de tratamiento o calentamiento, después de ser extraída de la ubre de la vaca y no supere los 40°C de temperatura (NTE INEN 9, 2012,p. 1).

### 1.3. Importancia de la leche

La leche de vaca es un alimento básico en la alimentación humana en todas las etapas de la vida, su procesamiento industrial ha permitido el acceso generalizado a su consumo por parte de la población, lo que contribuye mejorar el nivel de salud. Desde el punto de vista de su composición, la leche es un alimento completo y equilibrado, que proporciona un elevado contenido de nutrientes en relación con su contenido calórico, por lo que su consumo debe considerarse necesario desde la infancia hasta la tercera edad. Los beneficios de la leche constituyen un factor de prevención en determinadas patologías afluentes como: la enfermedad cardiovascular, la hipertensión arterial o en patología ósea y dental (Fernández et al., 2015, pp. 92-97).

### 1.4. Componentes principales de la leche

La leche es una mezcla compleja de distintas sustancias presentes en: emulsión (constituida por glóbulos de grasa), suspensión (caseína al estado coloidal) y en solución (lactosa, sales minerales, vitaminas y proteínas) a las cuales se les denomina extracto seco o sólidos totales. Los sólidos totales pueden variar por múltiples factores como: raza, tipo de alimentación, medio ambiente, época del año, sistema de ordeño de la vaca y el estado sanitario de la vaca entre otros (Agudelo; & Bedoya, 2005, pp. 38-42)

#### **1.4.1. Factores que influyen la calidad de la leche cruda**

Los factores que afectan la composición de la leche pueden ser:

**Endógena:** Que está relacionado directamente con el animal en sí.

- **Raza - biotipo:** El contenido de grasa y la proteína se relaciona positivamente dentro de una población de vacas lecheras, sin embargo, en las diferentes razas de ganado bovino varían en cuanto al promedio de cada componente.
- **Edad:** Tiene un mayor efecto sobre el volumen de producción y a través de este sobre el contenido de los sólidos totales. La disminución del porcentaje según la edad del animal es: 0,13% entre 2 a 4 años; 0,14% entre 4 - 6 años y 0,25% entre 6 y 8 años (Estrella, 2016, p. 8).
- **Estado de lactación:** En la fase calostrual la concentración de la grasa y la proteína posee un nivel alto en la leche y a medida que aumenta la producción de leche la concentración de proteína y grasa disminuyen (González, 2012, p. 12).
- **Estado sanitario:** La enfermedad de animal pueden afectar la producción y composición de la leche, la mastitis puede alterar la composición nutricional de la leche ya que es una reacción inflamatoria del tejido mamario en respuesta a una infección producida en la ubre, la cual posee un elevado recuento de células somáticas (González, 2012, p. 13).

**Exógena:** tiene relación con el animal y el entorno en el cual se desarrolla

- **Estacionalidad y ambiente:** puede ocurrir un cambio de una región a otra, la composición de la leche varía considerablemente a lo largo de las estaciones presentando un aumento de las concentraciones de grasa y proteína durante el otoño e invierno y disminuciones durante la primavera y verano. Las altas temperaturas provocan un aumento en los requerimientos de energía de mantención y reducen las tasas de crecimiento, producción de leche y comportamiento reproductivo en el animal (González, 2012, p. 13).
- **Manejo alimenticio:** Dependiendo de la etapa de lactancia, el manejo alimenticio puede afectar significativamente tanto el volumen como la concentración de nutrientes en la leche (Estrella, 2016, p. 10).

- **Manejo zootécnico:** Al alterar la rutina de ordeño puede provocar el estrés en ese momento, existiendo la descargas de catecolaminas que redirigen los flujos de nutrientes, afectando tanto el volumen como concentración de los nutrientes (Estrella, 2016, p. 11).

**Tabla 1-1:** Composición de la leche cruda porcentaje en peso

Componentes de la leche de vaca	% en fracción por cada 100 g
Agua	87
Grasa	3,5
Proteínas	3.2
Lactosa	4,7
Sales minerales	1
Vitaminas	<1
Vitaminas A Vitamina D Vitaminas del grupo B: B1 B2, B6 y B12 (Vitamina G) Riboflavina (Ácido nicotínico) Niacina (Vitamina C) ácido ascórbico	

**Fuente:** (García, 2013, p.34)

**Realizado:** Paucar Ana, 2020

#### A. Agua

Es el componente mayoritario de la leche cruda que oscila entre el 87 a 88 % y se debe a la cantidad de lactosa que se halle en la misma, el agua que contiene la leche es transportada a la glándula mamaria por el corriente circulatorio. La producción de leche se ve afectada rápidamente por una disminución de agua (López ; & Barriga , 2016, p. 5).

Por tal motivo es necesario a que las vacas para producir cada litro de leche beban 3.5 a 5.5 litros de agua (Lesur, 2005, p. 31).

#### B. Lactosa

Es el azúcar principal de la leche su valor oscila entre 4.7 - 5.5%. También es un disacárido formado por glucosa + galactosa; pertenece al grupo de los elementos nutritivos llamado carbohidratos los mismos que constituyen la mayor fracción de la materia seca de la leche frente a la acción microbiana. La lactosa puede ser fermentado por determinados microorganismos para producir ácido láctico, gas carbónico y otros compuestos importantes como el diacetilo, que interviene en la formación del aroma y sabor en los productos terminados (López; & Barriga, 2016, p . 10).

### C. Proteínas

Son las más importantes desde el punto de vista nutritivo, en la leche contiene un 3.5 % y puede variar entre (2.9 % a 3.9%), estas proteínas lácteas es la mezcla de numerosas fracciones proteicas con diferentes pesos moleculares que juegan un papel importante en la elaboración de los quesos. Las principales proteínas son: caseína, albuminas y las globulinas (López ; & Barriga , 2016, p . 5). La cantidad de las proteínas en la leche puede ser afectado por: el efecto genético y por la alimentación en las diferentes estaciones del año.

### D. Materia grasa

La materia grasa de la leche se presenta en forma de glóbulos, está constituida por los triglicéridos, en la leche se ha identificado más de 150 ácidos grasos de las cuales son ácidos grasos esenciales. La composición lipídica de la leche es muy compleja ya que constituye una fracción importante de la leche, debido a los aspectos económicos, nutritivos, características físicas y organolépticas. Los cambios de la composición relativa de ácidos grasos de la leche provocan modificaciones tecnológicas y sensoriales en los productos lácteos.

El contenido de la grasa puede variar por factores de la raza bovina, prácticas de la alimentación, periodo de lactación también se ve afectado por el estado sanitario de las ubre de la vaca se ve afectado la disminución de la grasa por los procesos inflamatorio o infecciosos (Anrique, 2012, pp. 11-13).

### E. Vitaminas

Las vitaminas son sustancias orgánicas de pequeño tamaño que se encuentran en la leche en pequeña cantidad pero que poseen gran importancia nutritiva ya que son necesarias para el desarrollo normal de los procesos vitales. El contenido vitamínico de la leche varía según sean la raza de la vaca, época del año su alimentación y el tratamiento que se someta la leche.

La leche de vaca contiene:

- Vitaminas liposolubles como: Vitaminas A, D, E, K
- Vitaminas hidrosolubles como: Vitaminas B1, B2, B6, B12 y C (Hodgson; & Reed, 1964, p.294).

### F. Sales minerales

Los minerales forman parte de la leche en una proporción muy pequeña (0,5–1 %) que son:

- **Macroelementos:** Están constituidas por cloruros, fosfatos y citratos de potasio, calcio, sodio y magnesio.

- **Oligoelementos:** Entre ellos figuran aluminio, zinc, manganeso, hierro y cobre y dependen en gran medida de la alimentación del animal, medio ambiente, etc (López; & Barriga, 2016, p . 11).

## G. Enzimas

Las enzimas son sustancias de naturaleza proteica que actúan como catalizadores en los procesos metabólicos a muy baja concentración y son específicas para cada reacción. Hay algunas presentes en la leche al tiempo de su secreción, otras producidas por los microorganismos que se hallan en la leche en el ordeño y otras por microorganismos que contaminan la leche después de su producción (López; & Barriga, 2016, p. 11).

Las enzimas existentes en la leche son:

- **Hidrolasas:** lipasas, amilasas, fosfatasa y lactasa
- **Óxido – reductasa:** Catalasa y peroxidasa (Keating & Rodriguez, 2002, p. 25)

## H. Gases

Los gases que están presentes en la leche son: bióxido de carbono, hidrógeno y oxígeno (Keating; & Rodriguez, 2002,p. 25).

## I. Pigmentos

Los pigmentos que se encuentran en la leche imparten las coloraciones amarillas a las grasas por la presencia de carotenoides aportados por la alimentación pastoril; color blanco opalescente por la presencia caseínas y sales (Ca - Mg), la coloración amarillo- verde por la presencia de Riboflavina (Keating & Rodriguez, 2002, p. 26).

### **1.5. Calidad de leche**

Es el conjunto de cualidades o características que establece la inocuidad de la leche y así como de todos sus derivados; depende de las condiciones de los animales, de las zonas de producción, del trato recibido, del transporte o de la conservación una vez en la industria láctea realicen una correcta manipulación y los controles de los parámetros requeridos son fundamentales para que la leche que se comercialice de manera segura y de calidad (Villegas & Santos, 2009, p. 17).

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

Involucra los requisitos que debe cumplir para ser aceptada para los propósitos de su utilización; debe poseer buena capacidad de conservación, estar exenta de microorganismos patógenos y aparte de ello, buena presentación, alto valor nutritivo, estar limpia y libre de materias extrañas y sedimentos.

La calidad de la leche y de sus derivados está relacionada con las prácticas de higiene en la finca y debe ser la principal responsabilidad del ganadero (Almonacid & Rodriguez, 2010, p. 28).

De acuerdo con los requisitos de la leche cruda basados en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012. Quinta revisión conforman tres aspectos bien definidos: características organolépticas, físico-químicas, y microbiológicas (NTE INEN 9, 2012, p.p . 2-3)

#### ***1.5.1.1. Características organolépticas***

##### **Color**

La coloración de la leche fresca es blanca opalescente o ligeramente amarillenta.

##### **Color**

Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños; la presencia de olores extraños pueden deberse a cambios químicos producidos en la leche, al contacto con superficies metálicas que alteran el olor (García, 2013, p 85)

##### **Aspecto**

Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas no debe contener impurezas (NTE INEN 9, 2012, p . 2-3).

##### **Sabor**

La leche cruda tiene un sabor dulce y agradable por la lactosa que contiene, la detección de sabores salados o ácidos es indicativo de una leche de mala calidad (Keating & Rodriguez, 2002)

1.5.1.2. Pruebas físico- químicas

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

Requisitos	Unidad	Min.	Max	Método de ensayo
Densidad relativa a: 25°C		1,029	1,033	
A 20°C	--	1,028	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
Solidos no Graso	%	8,2	-	*
Cenizas	%	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación **	°C	-0,536	-0,512	NTE INEN 15
	°H	-0,555	-0,530	
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> ,	-	Negativo		NTE INEN 1500
Neutralizantes <sup>2)</sup> ,	-	Negativo		NTE INEN 1500
Adulterantes <sup>3)</sup> ,	-	Negativo		NTE INEN 1500
Grasas vegetales				
Suero de leche	-	Negativo		NTE INEN 2401
Prueba de brucelosis	-	Negativo		Prueba de anillos PAL (Ring Test)
Residuos de medicamentos veterinarios <sup>5)</sup>	ug/l	-	MRL, establecidos en CODEX Alimentarius CAC/MRL 2	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= °F f, dónde 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.</p>				

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, $W_B$ : 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
NOTA 1.- Se podrán presentar en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación, pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas.

**Fuente:** (NTE INEN 9, 2012, pp. 2-3)

**Realizado por:** Paucar Ana, 2020

### Densidad relativa

Según AGROCALIDAD 2013, la densidad de la leche está directamente relacionada con la cantidad de grasa, sólidos no grasos y agua que contenga la leche. Para ello se utiliza el lactodensímetro, con una temperatura de referencia 20°C que expresa la densidad en grados Quevenne (°Q). Los valores de referencia min: 1,028 máx. 1,032 a la una temperatura de 20°C (AGROCALIDAD, 2013).

La densidad con los valores fuera de rango puede ser indicativo de fraude por la adición del agua (Calderón R. et al, 2007, p. 7).

### Sólidos totales

Se mide en la calidad composicional de la leche corresponden a la suma de los cuatro componentes: lactosa, grasa, proteínas y minerales. Debido a esta condición, hay varios aspectos que inciden en el contenido final de Sólidos Totales en la leche.

### pH

El pH representa la acidez actual es la (concentración de  $H^+$  libres) de la leche (AGROCALIDAD, 2013, p . 95). La medida del pH en el control de la leche es de suma importancia ya que ofrece información veraz sobre el grado de frescura que presenta; así en una leche fresca el pH se sitúa en torno a 6,8 es decir, es ligeramente ácida.

Si el pH es inferior a 6,5 se considera una contaminación microbiológica y la leche es ácida debido a que la lactosa ha sido transformada en ácido láctico. La leche calostrual presenta un pH de 6 eso explica que existe un elevado contenido en proteínas y si procede de un animal con mastitis se observa un pH de 6,9 a 7,5 debido a un aumento de la permeabilidad de las membranas de la glándula mamaria originando una mayor concentración de iones  $Na^+$  y  $Cl^-$  y una reducción del contenido de lactosa (López & Diego, 2016, p . 16)

### Acidez titulable

Esta prueba tiene como utilidad para apreciar el desarrollo microbiano por el desdoblamiento de la lactosa en ácido láctico (Keating & Rodriguez, 2002, p. 84)

Es la suma de la acidez natural y de la acidez desarrollada; la acidez natural se debe a la presencia de: caseínas, minerales, fosfatos. Por otra parte, la acidez desarrollada es consecuencia del ácido láctico y de otros ácidos que son originarios de la degradación microbiana de la lactosa, los valores normales de acidez en la leche suelen estar comprendidos entre el 0,14 y el 0,17% (Garcia, 2013, pp. 17-18)

La acidez titulable aumenta debido al proceso de fermentación de la lactosa en ácido láctico o también la contaminación bacteriano y los valores menores de la acidez suele ser bajo en leche con mastitis (López; & Diego, 2016, p . 17)

### Prueba de alcohol

Esta prueba es útil para determinar la estabilidad proteica de la leche; el alcohol actúa desnaturalizando - deshidratando la proteína y da una prueba positiva con leches con: mastitis, calostro y leche de vacas abortadas. La coagulación es favorecida cuando hay alto contenido de calcio y magnesio y retrasada por la presencia de citrato y fosfatos (Keating & Rodriguez, 2002, p.88 )

### Punto congelación

Es la temperatura a la que la leche pasa del estado líquido al sólido. En el caso de la leche este valor es muy constante, se encuentra en valores comprendidos entre los -0,52 y -0,56 °C. Un aumento en el punto de congelación es directamente relacionado con el agregado de agua; haciendo que la temperatura de congelación se aproxime a los 0 °C (Garcia, 2013, p. 20).

### Prueba de Antibióticos

Este ensayo permite determinar la calidad de leche cruda de vaca; mediante la utilización de kits de diagnóstico rápido cualitativos.

Los antibióticos son sustancias inhibidoras del crecimiento bacteriano, se emplea como medida preventiva y de tratamiento de enfermedades infecciosas y parasitarias en el ganado bovino (López; & Barriga, 2016, p . 29)

Los problemas que ocasionan los antibióticos en la leche pueden provocar los siguientes efectos en el consumidor:

- Alteración de la flora intestinal,
- estimulación de bacterias antibiótico-resistentes,
- desarrollo de microorganismos patógenos,
- reducción de la síntesis de vitaminas (Magariños, 2000, p . 58).

#### Prueba de peróxido

La prueba de peróxido asegura la conservación ilícita de la leche, su uso está prohibido ya que este conservante ataca a los microorganismos que producen la descomposición de la leche. Este parámetro permite identificar si se le ha añadido a la leche agua oxigenada, utilizado para aumentar la capacidad de conservación entre el ordeño y la llegada de la leche al lugar de la distribución (AGROCALIDAD, 2013, p. 34)

#### Prueba de cloruros

Permite identificar la alteración de la leche cruda, si existe el aumento de cloruros significa que el animal presenta una reacción inflamatoria del tejido mamario en respuesta a una infección producida en la ubre llamada mastitis y si existe la disminución de cloruros puede ser evidenciar la adición de agua en el producto.

### **1.6. Calidad microbiológica de la leche cruda**

Los microorganismos son seres microscópicos, invisibles a simple vista, en su mayoría unicelulares. Se encuentran formando parte de la vida diaria, en los alimentos, aire, agua, en el organismo y en todo lo que rodea al ser humano (Garcia, 2013, p. 35)

#### ***1.6.1. Microorganismos patógenos de la leche cruda***

Son aquellos microorganismos que hacen daño al hombre y de alguna manera contaminan la leche de fuentes exógenas y endógenas que pueden desarrollar las actividades que facilitan las fermentaciones lácteas, que actúan como potencializarlas de dichos procesos fermentativos o deteriorar el alimento. Por ello las condiciones anormales debidas a infecciones, enfermedades o prácticas lecheras deficientes pueden afectar la microflora de la leche que procede de la ubre de la vaca.

Gran variedad de microorganismos existente en la industria lechera se muestra a continuación:

#### 1.6.1.1. Enterobacterias

Son huéspedes normales del intestino de los mamíferos, por lo tanto, están presentes en el agua y en la leche se relacionan con contaminación de origen fecal, estas bacterias tienen poder patógeno desde dos puntos de vista:

- **Higiénico:** las más peligrosas es la *Salmonella* y otras que pueden provocar trastornos gastrointestinales entre ellas encontramos: *Yersinia*, *E coli*, *Shigella*.
- **Tecnológico:** son bacterias heterofermentativas, grandes productoras de gases, además producen sustancias viscosas y de sabor desagradable, todo lo cual conduce a la alteración de la leche o de los subproductos.

Las *Enterobacterias* más frecuentes de la leche cruda son: *E coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Serratia* (Celis; & Juárez, 2009, p . 15-17).

#### 1.6.1.2. Bacterias mesófilas

Este tipo de microorganismos crece generalmente a una temperatura que varía entre 20 y 40 °C; entre ellos se encuentran los estreptococos, que provocan la coagulación de la leche por acidificación. También se puede encontrar enterobacterias y coliformes como: *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* que fermenta azúcares con formación de CO<sub>2</sub> y del hidrógeno; también se pueden generar viscosidad o sabores desagradables (Santos, 2007, p.107). Según la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9:2012. Quinta revisión para la leche cruda; en los recuentos de los microorganismos de los aeróbios mesófilos es de  $1,5 \times 10^6$  (NTE INEN 9, 2012, p . 3)

#### 1.6.1.3. Bacterias *Staphylococcus aureus*.

Especie bacteriana perteneciente a la familia *Micrococcaceae* y al género *Staphylococcus*, tiene la forma de cocos que generalmente se agrupan formando racimos, inmóviles, gram positivos, anaerobios facultativos, temperatura óptima de 37°C (NORMA INEN NTE INEN 1 529-14:98, 1994, p . 1)

La bacteria *Staphylococcus aureus* produce una o varias enterotoxinas estafilocócicas causante de gran número de intoxicaciones alimentarias en el hombre, así como de una serie de infecciones extraintestinales; se trata de un síndrome gastrointestinal caracterizado por su aparición brusca,

que se manifiesta con náuseas intensas, vómitos y diarrea profusa. La enfermedad aparece entre las 2 y las 8 horas posteriores a la ingestión de un alimento que contenga enterotoxinas estafilocócicas; las bacterias *Staphylococcus aureus* se hallan frecuentemente en la ubre de las vacas con mastitis (Pascual, 2005, pp. 72-73).

#### *1.6.1.4. Mohos y levaduras*

Los mohos y las levaduras tienen poca importancia en la leche líquida y son fácilmente destruidos a temperaturas de pasteurización. Pero si existe la presencia de los mohos y levaduras en la leche cruda indica deficientes condiciones higiénico-sanitarias que pueden producir deterioros en la leche o en productos derivados (Pinzón, 2006, p. 49).

### **1.6.2. Microflora benéfica en la leche cruda**

#### *1.6.2.1. Bacterias ácido lácticas*

Son aquellas que a partir de la lactosa produce ácido láctico, son fundamentales en la elaboración de productos lácteos en donde destacan las bacterias pertenecientes a los géneros: *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc* (García, 2013, p. 35).

Las bacterias lácticas (*Lactobacillus* y *Lactococcus*) ejercen efectos muy beneficiosos en los productos lácteos, ya que además de estar implicadas en su obtención, como es el caso de las leches ya fermentadas, ejercen un efecto muy positivo en la conservación de los productos.

Esto es posible gracias a la producción de sustancias que inhiben el desarrollo de microorganismos no deseados, compiten con ellos por los nutrientes y dificultan su establecimiento por la disminución del pH asociado a la producción de ácido láctico (García, 2013, p.35).

Este grupo de bacterias poseen formas de bacilos o cocos, son Gram-positivos, no esporulados y en general catalasa negativos, con una amplia distribución y adaptabilidad a diferentes ambientes.

Las bacterias lácticas poseen diferentes propiedades terapéuticas, mostrando una variedad de efectos beneficiosos; la fermentación de la leche por los lactobacilos genera una mayor disponibilidad, digestibilidad y asimilación de sus nutrientes, aumentan la concentración de vitamina B1, ácido láctico, galactosa, ácidos grasos y elementos esenciales como Ca, P, Mn, Fe y Zn (Santos, 2007, p.p.141-142)

## Lactobacillus

Se presentan en forma de bastones delgados y largos, también se pueden observar cocobacilos, son gram positivos, casi todos son inmóviles, pero existe excepciones, son tolerantes al oxígeno, crecen en condiciones anaeróbicos, la temperatura para su crecimiento se encuentra entre 30-40°C, aunque el crecimiento general puede estar entre 2- 53°C. Los lactobacillus favorecen en el aporte del sabor de los diferentes productos lácteos y también pueden causar deterioros en el sabor y textura (Vargas, 2018, p.35).

## Lactococcus

Presentan su forma de cocos no esporulados, inmóviles que crecen a una temperatura de 10°C, se encuentran en parejas o en forma de cadenas corta, catalasa negativa, anaerobios facultativos, homofermentativo y con necesidades nutricionales complejas. La longitud de la cadena depende de la cepa y también del medio de crecimiento (Vergara ;& Pimienta, 2007, p.28).

### **1.7. Ganado vacuno en el Ecuador**

Según datos en la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) año 2017; indica la tasa anual de variación del ganado vacuno registró un incremento de 1,53 % con relación a 2016 a nivel nacional, se observa que la región Sierra cuenta con mayor cantidad de ganado con un 48,87 % del total nacional, seguida por la Costa con 42,32 % y el Oriente con 8,77 % (Salazar, 2017, p. 17).

La región Sierra tuvo un crecimiento de 0,29 %, de igual manera la Costa y el Oriente presentaron incrementos de 2,04 % y 0,79 % respectivamente. En cuanto a la producción de la leche, la región Sierra es la que más aporta con un 64,31 %, seguido de la Costa con el 29,99 % y el Oriente con el 5,67 %. En relación al promedio de litros de leche por vaca producidos, la región que se destaca es la Sierra con 7,11 litros/vaca. La región Oriental ocupa el segundo lugar con 4,29 litros/vaca y por último la región Costa con 3,93 litros/vaca (Salazar, 2017, p . 18).

#### **1.7.1. Producción lechero en la Sierra Ecuatoriana**

El Ecuador gracias a la naturaleza en los Andes y sus tierras altas, existe un clima muy especial que va de 4° a 28°C de temperatura, que comprende a extensas áreas de la agricultura y ganadería del Ecuador; la producción de leche en el Ecuador es sobre los 2.500 y hasta 3.500 m.s.n.m., la Sierra Ecuatoriana produce a esta altura, lo que lo convierte en un nicho productivo muy especial

en el planeta. Es esta región en donde se sitúan las diferentes provincias tales como: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar y Chimborazo, y los demás australes de: Cañar, Azuay y Loja. En estas zonas de la serranía, con sus características climáticas son similares, es donde se ha desarrollado la mayor parte de la producción, comercio, artesanía e industria de la leche (Centro de la Industria Láctea del Ecuador, 2015 p. 58).

#### 1.7.1.1. Producción lechera en la Zona 3 del Ecuador

**Tabla 3-1:** Número de cabezas de ganado bovino, vacas ordeñadas y producción de lechera en la Zona 3 del Ecuador en el periodo 2015 al 2017

Provincias de la zona 3	Número de cabezas de ganado bovino			Vacas ordeñadas			Producción lechera (litros)		
	2015	2016	2017	2015	2016	2017	2015	2016	2017
Cotopaxi	234.615	221.960	254.709	65.673	61.179	63.932	529.614	483.699	514.759
Tungurahua	120.199	126.754	108.133	39.505	40.470	34.103	330.239	355.679	297.060
Pastaza	13.409	13.866	11.815	2.781	2.835	1.992	18.793	18.632	11.223
Chimborazo	208.509	228.500	222.316	59.990	72.524	64.846	405.036	458.181	431.325

Fuente: (Salazar D. et., 2017, p. 18)

Realizado por: Paucar Ana, 2020

- La provincia de Chimborazo

Esta provincia es trascendental en la historia ecuatoriana es muy importante en la ganadería productora de la leche. El sector agropecuario ocupa esta área geográfica, con más de 600.000 hectáreas que están dentro de todos los pisos ecológicos y ambientales; desde la máxima altura del Ecuador, hasta zonas tropicales y amazónicas.

Chimborazo está muy fragmentada en pequeñas Unidades de Producción Agropecuaria o UPAs y tan solo el 4% son haciendas que sobrepasan las 20 hectáreas. Esto es un problema para la producción industrializada, ya que es muy difícil romper los métodos productivos campesinos de minifundio y alcanzar altas producciones lecheras (Centro de la Industria Láctea del Ecuador, 2015 p.85).

## 1.8. Industria láctea

Sector de la industria que tiene como materia prima la leche cruda procedente de la especie bovina, con el fin de asegurar la calidad e inocuidad en los procesos de producción, manipulación, elaboración y comercialización de la leche y sus derivados para garantizar el acceso a los

mercados y la salud de los consumidores, delimitando las competencias de las instituciones para regular y controlar la cadena de producción de la leche y sus derivados; enmarcadas en el fomento, promoción y desarrollo de la producción higiénica y eficiente, con el fin de proteger la salud, la seguridad alimentaria de la ciudadanía y prevenir las prácticas inadecuadas que puedan inducir a error, confusión o engaño a los consumidores (Ponce, 2013, p . 3).

### ***1.8.1. Centro de la Industria Láctea (CIL - Ecuador)***

El Centro de la Industria Láctea del Ecuador es una asociación empresarial de derecho privado, sin fines de lucro que reúne a importantes industrias del sector, las cuales se dedican al acopio, transformación y comercialización de la leche y sus productos derivados.

El CIL - Ecuador es muy importante en el mercado nacional por su incidencia en el desarrollo económico - social de la nación, una actividad productiva cuyo ejercicio requiere de una coordinación, direccionamiento estratégico que le permita a sus integrantes consolidarse productivamente, generando una cultura en los ciudadanos ecuatorianos.

El Centro de la Industria Láctea brinda diferentes servicios:

1. Asistencia técnica, formación y entrenamiento de trabajadores especializados en diversas ramas de la industria láctea,
2. Programas y proyectos para el fortalecimiento de procesos de gestión empresarial,
3. Asesoría y apoyo para el cumplimiento de las normas técnicas de calidad aplicables a la leche y productos lácteos,
4. Análisis - estadísticas, material informativo y participación en eventos sobre la evolución de la industria láctea y sobre políticas de comercio a nivel local e internacional (Centro de la Industria Láctea del Ecuador, 2015 p. 148)

### **1.9. Centro de acopio de leche cruda**

Es el establecimiento donde se reúnen, almacenan la producción de varios productores de leche y cuentan con infraestructura equipos y materiales que permitan mantener una temperatura de 2° a 4°C y la inocuidad de la leche cruda; así mismo, el centro de acopio debe contar al menos con áreas definidas para: recepción, análisis, enfriamiento y entrega del producto (AGROCALIDAD, 2013, p . 8)

### ***1.9.1. Centros de acopio de leche cruda en la zona 3***

En la Zona 3 del Ecuador se cuenta con un total de 34 centros de acopio de leche cruda en las provincias: Chimborazo 15, Tungurahua 8, Cotopaxi 9 y Pastaza 2 gracias a la repotenciación de la infraestructura que priorizó el Gobierno Nacional, la mayoría de estos centros se localizan principalmente en zonas rurales, donde los agricultores llevan la leche cruda tras cada turno de ordeño para refrigerarla en un tanque general de leche (Altamirano, 2018).

Cada centro de recolección comunitario de leche cruda incluye un equipo de diagnóstico de calidad del lácteo, un kit de análisis de antibióticos, un tanque de enfriamiento en acero inoxidable para 2.000 litros y un generador de energía; estos equipos permiten el óptimo manipuleo del producto, explicó Rodrigo Proaño, líder zonal de Ganadería Sostenible de la Coordinación Zonal 3, del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP).

#### ***1.9.1.1. Requisitos que debe cumplir los Centros de Acopio de Leche Cruda***

Para que un establecimiento sea considerado como un Centro de Acopio Lechero, debe cumplir con los siguientes requisitos:

- El centro de acopio debe controlar la recepción de leche cruda a diario de todos sus proveedores.
- El centro de acopio debe controlar la trazabilidad del producto acopiado.
- El centro de acopio debe realizar diferentes pruebas para verificar las características organolépticas de la leche cruda basando en los requisitos normativos de leche cruda NORMA INEN 9:2012.
- En los centros de acopio, los tanques de depósito de almacenamiento de leche cruda deben contar con termómetros funcionales y calibrados.
- Durante el transporte de leche cruda se debe verificar y registrar la temperatura de refrigeración desde el centro de acopio hacia la industria.
- La leche enfriada en los centros de acopio se debe destinar únicamente a las plantas de proceso de leche más no para la venta directa al consumidor con el fin de garantizar la inocuidad de los productos.

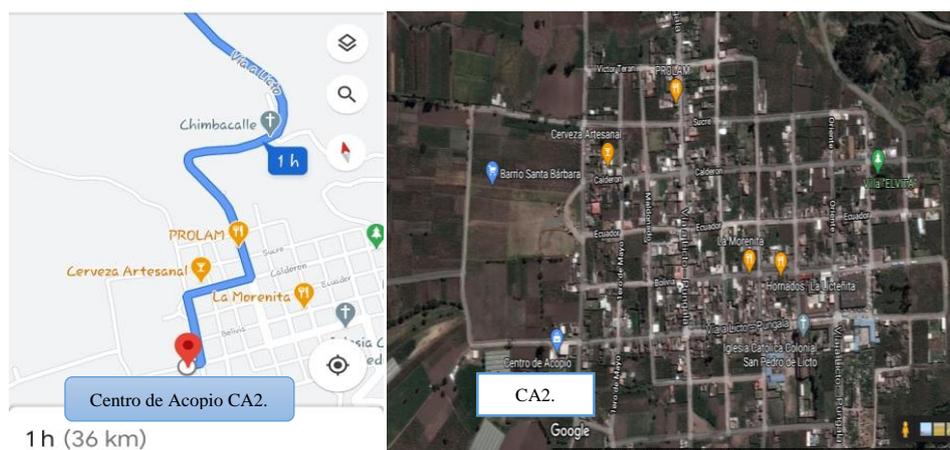
- El centro de acopio debe tener un laboratorio propio debidamente constituido y acreditado de acuerdo al Servicio de Acreditación Ecuatoriano para realizar los análisis físico-químico, sensorial y microbiológico de la leche cruda
- El centro de acopio debe contar con al menos 4 áreas: recepción, análisis, enfriamiento, y entrega de leche cruda.
- El centro de acopio debe ser ubicar en un lugar geográfico alejado de fuentes contaminantes.
- El centro de acopio debe disponer con un patio de cemento de tamaño suficiente para el ingreso de los vehículos y fácil desembarque de leche cruda.
- El centro de acopio debe contar con una fácil evacuación de aguas de lavado, lluvia al sistema de alcantarillado o también un sistema de descarga de aguas servidas.
- El centro de copio lechero debe disponer con un área cerrada y con la ventilación adecuada deben estar protegida con una malla plástica.
- El centro de acopio debe proporcionar utensilios de limpieza en general como: detergente, vapor de agua, agua caliente y cepillos a los medios de transporte de leche cruda para que ejecuten la limpieza correspondiente y desinfección de los recipientes una vez que dejen en el centro de acopio.
- El centro de acopio lechero debe disponer con servicios sanitarios y área de vestidores ubicados fuera de las instalaciones de manipulación de la leche cruda.
- El centro de acopio lechero debe contar con un sistema de medición del volumen o peso de la leche debe ser debidamente manipulado e impide la contaminación y alteración de la calidad de la leche cruda (AGROCALIDAD, 2013, p . 23-26).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Lugar de la investigación

El presente estudio se efectuó en la provincia de Chimborazo, perteneciente al cantón Riobamba.



**Figura 1-2:** Mapa de la ubicación del centro de Acopio CA2.

Fuente: <https://www.google.com/maps/@-1.8046351,-78.6068864,16z>

En el centro de Acopio CA2., se llevó a cabo la investigación del cumplimiento al MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA VIGILANCIA Y CONTROL DE LA INOCUIDAD DE LECHE CRUDA RESOLUCIÓN DAJ-2013461-0201.0213, y se recolectó las muestras de leche cruda para los diferentes análisis, mismos que fueron ejecutados en el laboratorio de Bromatología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias y los análisis microbiológicos se realizó en el laboratorio de investigación del Grupo Seguridad Alimentaria denominado (SAGID).

#### 2.2. Factores de estudio

##### 2.2.1. Población

La población para este estudio fue el Centro de Acopio de Leche Cruda CA2. perteneciente a la provincia de Chimborazo, cantón Riobamba, donde se receipta diariamente de 1.500-1.600 litros de leche cruda de 30 proveedores, entre pequeños y grandes productores.

### **2.2.2. Muestra**

El muestreo se realizó de manera aleatoria durante tres semanas; las muestras para los análisis físico-químicos de leche cruda fueron tomadas de cada proveedor, en un total de 30 muestras y para el análisis microbiológico (2 muestras) del tanque de enfriamiento.

### **2.2.3. Materiales, equipos y reactivos**

A continuación, se enlista los diferentes materiales, equipos y reactivos que se utilizaron en los análisis físico-químicos y microbiológicos de leche cruda en el centro de Acopio CA2.

#### **a) Materiales**

- Cooler
- Erlenmeyer de 250 – 500 mL
- Vaso de precipitación de 100 mL
- Termómetro
- Pipetas graduadas de 1- 10 mL
- Probeta de 100 mL
- Piseta
- Gasas
- Cajas Petri
- Pipetas automáticas de 100 – 1000  $\mu$ L
- Puntas color amarillos y azules
- Placas porta y cubre objetos
- Gradilla
- Algodón
- Varilla de agitación
- Balón aforado de 100 mL
- Lámpara de alcohol
- Papel aluminio
- Frascos estériles
- Papel aluminio
- Pinza
- Tubos de ensayo
- FrioGel
- Gasas

- Asa de drigalsky
- FrioGel

**b) Equipos**

- Refrigeradora
- Autoclave
- Balanza
- Reverbero
- Microscopio
- Cámara de flujo laminar
- Lactoscan MCCW
- pH-metro

**c) Reactivos**

- Agua destilada
- Alcohol al 96%
- Ácido acético 5M
- Cristal violeta
- Telurito de potasio
- Lugol
- Acetona
- Safranina
- Yema de huevo
- Tiras reactivas para cloruros
- Tiras reactivas para peróxidos
- Tiras reactivas para antibiótico

**d) Medios de cultivo**

- Agua peptonada
- Agar MacConkey
- Agar Baird Parker Base
- Agar Bacto
- Agar Plate Count (PCA)
- Agar Dextrosa Sabouraud
- Caldo MRS (Man Rogosa Shaper)
- Caldo M17

## **2.3. Metodología**

### **2.3.1. Levantamiento de línea base**

Por medio de la socialización del grupo “SAGID” Grupo de Seguridad Alimentaria de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo de la Facultad de Ciencias, en el que existió la necesidad de realizar el control de la calidad de la leche cruda en la Zona 3 del Ecuador; por tal motivo se llevó a cabo la evaluación higiénico sanitario de la leche cruda en el centro de acopio CA2. que está ubicado en la provincia de Chimborazo, cantón Riobamba, durante las 3 visitas se evidenció la infraestructura del centro de Acopio, la recolección de datos se realizó cualitativo-cuantitativamente de los diferentes procesos: recepción, análisis y el almacenamiento de la leche cruda.

### **2.3.2. Revisión de las prácticas correctas de higiene**

Se realizó mediante la verificación del listado de requisitos basados en el MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA VIGILANCIA Y CONTROL DE LA INOCUIDAD DE LECHE CRUDA RESOLUCIÓN DAJ-2013461-0201.0213; dónde se controla el cumplimiento del establecimiento y los medios de transporte de leche cruda en el Centro del Acopio CA2.

### **2.3.3. Proceso de recolección y el transporte de las muestras de leche cruda**

Para la recolección de las muestras de leche cruda; se basó en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4-1983 Primera Revisión. denominada Muestreo de Leche y Productos Lácteos (NTE INEN 4, 1983, p . 5)

Los tres muestreos se ejecutaron aleatoriamente durante semanas consecutivas. La toma de muestras de cada uno de los proveedores y el medio de transporte que se inicia a las 7:00 a.m. con todas las condiciones higiénicas con el fin de evitar la contaminación. Al finalizar la recolección se transportó las muestras en un cooler de espuma flex que contiene FrioGel y hielo, para mantener una temperatura de congelación que varía entre 0-10°C durante el transporte.

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

Para los análisis físico-químicos de muestras de leche cruda se realizó los siguientes procesos: se homogenizó las muestras en sus respectivos recipientes, se recolectó un volumen de 100 mL de leche, en envases estériles y de manera individualizada de cada proveedor con la finalidad de trasladar las muestras inmediatamente al laboratorio de Bromatología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para sus correspondientes análisis.

Para los análisis microbiológicos se recogió la muestra del tanque de enfriamiento previo a una homogenización con el agitador mecánico, se recolectó por duplicado un volumen de 1000 mL en los envases de vidrio estériles para ser transportado al laboratorio de Grupo de Investigación “SAGID”.

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

### ***2.4.1. Análisis organolépticos de la leche cruda***

Los parámetros organolépticos de la leche cruda se evaluaron a través de los sentidos, se registraron las siguientes características:

Color: La coloración debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

Olor: Suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

Aspecto: Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas (NTE INEN 9, 2012, pp. 2-3)

Las características organolépticas se basaron en la norma NTE INEN 9:2012 Quinta Revisión para Leche Cruda. Requisito.

### ***2.4.2. Análisis físico-químico de la leche cruda***

Para los análisis físico-químicos de la leche cruda se utilizó el equipo de Milk Analyzer Lactoscan MCCW; donde se analizó los diferentes parámetros: grasa, sólidos no grasos, densidad, punto de congelación, adición de agua, temperatura, sólidos totales, pH y conductividad.

El equipo Lactoscan MCCW es un analizador de leche ultrasónico, garantizado debido a que se encuentra calibrado y brinda resultados fiables en la medición de parámetros físico químicos. El almacenaje de las muestras debe ser correctas y la preparación antes de las mediciones debe efectuarse adecuadamente (Lactoscan MCC, 2019, p. 14).

#### ***2.4.2.1. Prueba de cloruros***

Para la prueba de los cloruros se realizó los siguientes pasos:

- Disponer la muestra de leche cruda en un recipiente
- Homogenizar la muestra de leche cruda
- Tomar la tira reactiva para la prueba de cloruros

- Sumergir durante 1 segundo en la muestra de leche cruda
- Retirar la tira reactiva, eliminar el exceso de muestra y esperar 1 minuto para realizar la comparación con la escala de colores y realizar la interpretación de acuerdo al manual del kit para cloruros (Nager, 2014, p . 12)

#### 2.4.2.2. Prueba de peróxidos

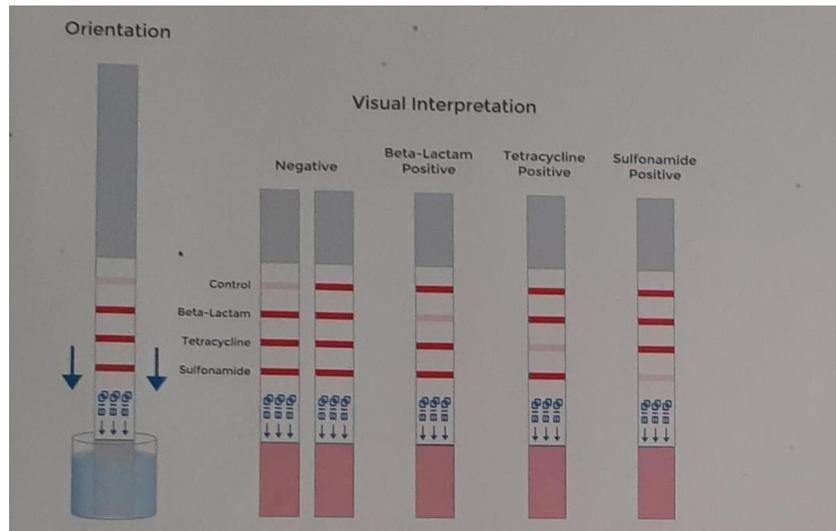
La prueba de peróxidos se realizó de la siguiente manera:

- Disponer la muestra de leche cruda en un recipiente
- Homogenizar la muestra de leche cruda para realizar la prueba
- Tomar la tira reactiva de peróxidos
- Sumergir durante 1 segundo en la muestra de leche.
- Retirar la tira reactiva de la muestra y esperar durante 15 segundo
- Se debe leer los resultados e interpretar según el manual de kit de reactivo (Nager M, 2014, p . 1-2)

#### 2.4.2.3. Prueba de antibióticos

El procedimiento para la prueba de antibiótico se lo realizo de la siguiente manera:

- Utilizar el Kit de antibióticos que se encuentra en refrigeración
- Disponer de un micropocillo y ubicar en la incubadora
- Añadir en el micropocillo 200  $\mu\text{L}$  de la muestra de leche cruda con una micropipeta automática
- Pipetear 10 veces con la micropipeta con aspecto de succión y expulsión en el micropocillo para lograr una buena homogenización.
- Incubar el micropocillo durante 3 min. a una temperatura de 40°C
- Colocar la tira reactiva en el micropocillo por un lapso de tiempo de 6 min. a una temperatura de 40°C
- Retirar la esponja absorbente de la tira reactiva
- Realizar la lectura correspondiente e interpretar de acuerdo al manual de kit de reactivos (AuroFlow BT, 2015, p . 6).



**Figura 2-1:** Test de interpretación de antibióticos

**Fuente:** (AuroFlow BT, 2015, p . 6).

### 2.4.3. Pruebas microbiológicas

Para el análisis microbiológico se tomó la muestra de leche cruda del tanque de enfriamiento del Centro de Acopio CA2. donde se determinó recuentos de los diferentes microorganismos:

Bacterias patógenas de la leche cruda:

- Aerobios mesófilos
- *Enterobacterias*
- *Staphylococcus aureus*

Bacterias de la microflora normal en la leche cruda

- *Lactococcus*
- *Lactobacillus*

#### 2.4.3.1. Preparación de las diluciones

**Norma:** NTE INEN 1529-2:99 Control microbiológico de los alimentos, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológicas. Primera Edición.

**Medio de cultivo:** Agua de peptona 0,1%  $\approx$  0,1g

**Volumen:** 100 mL

## **Procedimiento**

Para realizar las diluciones, se basó de acuerdo a la Norma (NTE INEN 1529-2:99).

- Homogenizar la muestra 25 veces por un lapso de 5 a 10 segundos
- Colocar 10 mL de la muestra de leche cruda en el Erlenmeyer de 90 mL de agua peptonada, agitar correctamente para su homogenización esta primera dilución pertenecerá a la dilución 1:10
- Pipetear con una micropipeta estéril 1000 $\mu$ L de la dilución 1:10 y añadir en el tubo de ensayo de 9 mL con agua de peptona obteniendo así la dilución 1:100, para continuar con las diluciones siguientes se lo realizará de la misma manera y va depender de la carga microbiana del primer muestreo que se realizó y los análisis que se requiera ejecutar.

Para las preparaciones de los distintos medios de cultivo se empleó la norma NTE INEN 1529-1:2013 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS Primera edición (NTE INEN 1529-1, 2013 p.p 6-10 )

### *2.4.3.2. Determinación de Bacterias aerobios mesófilas*

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

**Peso:** 23,5g

**Volumen:** 1000mL

#### **Preparación del medio de cultivo:**

- Realizar los cálculos correspondientes del medio PCA que se va a utilizar, es importante conocer el número de cajas a preparar y el volumen que va a ocupar.
- Pesar el medio PCA de añadir agua destilada en un Erlenmeyer con el volumen correspondiente
- Agitar hasta que este encuentre bien disuelto
- Esterilizar durante 15 min. en la autoclave y después de ese tiempo dejar enfriar
- Verter en cada una de las cajas de Petri aproximadamente, para su conservación se lo almacena en refrigeración.

#### **Proceso de la siembra:**

- Rotular las cajas de Petri donde va constar: fecha, número de dilución y el medio de cultivo.
- Añadir 100  $\mu$ L con una pipeta automática de cada dilución realizada; el ensayo se efectuará por duplicado y siembra por extensión con la ayuda de un asa de drigalsky.
- Invertir las cajas Petri es recomendable no exceder más de 6 cajas para su correcta incubación.

**Periodo de Incubación:** A una temperatura de  $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por un lapso de 24-48 horas.

**Lectura de resultados:**

Las colonias presentan una coloración blanquecina, aproximadamente de 2-3 mm de diámetro. Para el reporte se debe contabilizar las colonias pequeñas, las que se encuentran difusa hay que considerar una sola y se debe reportar en UFC/mL (NTE INEN 1529-5:2006, 2006, p . 3)

*2.4.3.3. Determinación de Staphylococcus aureus*

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

**Peso:** 63g

**Volumen:** 950 mL

**Preparación del medio de cultivo:**

- Realizar los cálculos correspondientes del medio Agar Base Baird Parker que se va a utilizar, es importante conocer el número de cajas a preparar y el volumen que va a ocupar.
- Pesar el medio agar Baird Parker se debe colocar en un erlenmeyer y añadir agua destilada con el volumen correspondiente
- Calentar hasta que se disuelva
- Esterilizar por 15 min. a  $121^{\circ}\text{C}$  en la autoclave y después de ese tiempo dejar que se enfríe
- Colocar 25 mL de la emulsión de yema huevo y también la solución de telurito un volumen de 10 mL
- Verter en cada una de las cajas de Petri, para su conservación se lo almacena en refrigeración.

**Solución de telurito**

Para la preparación de la solución de telurito se debe pesar 1g el telurito que se encuentra en polvo, colocar en un erlenmeyer y añadir 100 mL en agua destilada si se requiere se debe calentar la solución para que se disuelva.

Proceder a esterilizar la solución durante 15 min. a una temperatura de  $121^{\circ}\text{C}$

Para su conservación se debe refrigerar y utilizar al momento de la preparación del medio Baird Parker.

**Emulsión de yema de huevo**

Limpiar correctamente el huevo criollo de la gallina para luego sumergir en alcohol al 95% durante una hora. Con la ayuda de una pinza estilizada procedemos a sacar la clara para luego

pesar la yema. Tener en cuenta el peso de la yema y multiplicar por 4 y esa cantidad se debe añadir de agua destilada y para finalizar se debe homogenizar evitando que se forme burbujas.

#### **Proceso de la siembra:**

- Rotular correctamente las cajas de Petri a utilizar
- Colocar 100 µL con una pipeta automática de las diluciones ejecutadas y añadir el inóculo a cada una de las cajas petri con la ayuda de un asa de drigalsky distribuir por toda la placa
- Invertir las cajas e incubar
- Se recomienda no apilar más de 6 cajas, deben estar separados del techo y las paredes de la incubadora.

**Periodo de Incubación:** A una temperatura de 35 -37 °C por un lapso de 24-48 horas.

#### **Lectura de resultados:**

Las colonias se observan de una coloración negra que presenta aproximadamente de 2-3 mm de diámetro. Para el reporte se debe contabilizar las colonias pequeñas, las que se encuentran difusa hay que considerar una sola y se debe reportar en UFC/mL.

#### *2.4.3.4. Determinación de Enterobacterias*

**Medio de cultivo:** MacConkey Agar

**Peso:** 51,5g

**Volumen:** 1000 mL

#### **Preparación del medio de cultivo:**

- Realizar los cálculos correspondientes del medio MacConkey Agar, la cantidad de cajas que se necesita su preparación
- Pesar el medio MacConkey Agar colocar en un erlenmeyer y añadir agua destilada con el volumen adecuado
- Calentar hasta que se disuelva correctamente
- Esterilizar por 15 min. a 121°C en la autoclave y después de ese tiempo dejar que se enfríe a una temperatura ambiente
- Verter en cada una de las cajas de Petri, para su conservación se lo almacena en refrigeración.

**Proceso de la siembra:**

- Rotular correctamente cada una de las cajas Petri que se van a utilizar para la práctica.
- Colocar 100  $\mu\text{L}$  con una pipeta automática de las diluciones realizadas y añadir el inóculo a cada una de las cajas Petri con la ayuda de un Asa de drigalsky distribuir por toda la placa
- Invertir las cajas e incubar
- Se recomienda no apilar más de 6 cajas, deben estar separados del techo y las paredes de la incubadora.

**Periodo de Incubación:** A una temperatura de 35 -37 °C por un lapso de 24-48 horas.

**Lectura de resultados:**

Las colonias se observan de una coloración rosada con o sin halo y también colonias incoloras. Para el reporte se debe contabilizar todas las colonias y se debe reportar en UFC/mL.

*2.4.3.5. Determinación de Mohos y Levaduras*

**Medio de cultivo:** Agar Dextrosa Sabouraud

**Peso:** 65 g

**Volumen:** 1000 mL

**Preparación del medio de cultivo:**

- Realizar los cálculos correspondientes del medio Agar Dextrosa Sabouraud, la cantidad de cajas y el volumen que se necesita para su preparación
- Pesar el medio Agar Dextrosa Sabouraud y añadir agua destilada con el volumen adecuado en un Erlenmeyer
- Calentar hasta que se disuelva correctamente
- Esterilizar por 15 min. a 121°C en la autoclave y después de ese tiempo dejar que se enfríe a una temperatura ambiente
- Verter en cada una de las cajas de Petri, para su conservación se lo almacena en refrigeración.

**Proceso de la siembra:**

- Codificar correctamente cada una de las cajas Petri que se van a utilizar para la práctica.
- Pipetear 100  $\mu\text{L}$  con una micropipeta automática de las diluciones realizadas y añadir el inóculo a cada una de las cajas Petri con la ayuda de un asa de drigalsky distribuir por toda la placa
- Invertir las cajas e incubar

- Se recomienda no apilar más de 6 cajas, deben estar separados del techo y las paredes de la incubadora.

**Periodo de Incubación:** A una temperatura de 22 -25 °C por 5 días.

**Lectura de resultados:**

Los hongos miden aproximadamente 5mm de diámetro, las levaduras presentan una coloración blanca– amarillas y para su reporte se contabiliza los hongos y las levaduras.

*2.4.3.6. Determinación de Bacterias ácido lácticas- Lactobacillus*

Las BAL como los *Lactobacillus* no aplican ninguna norma debido a que no son patógenas y no se establece los límites permisibles.

**Medio de cultivo:** Caldo MRS Man Rogosa Sharpe + Bacto Agar

**Peso:** 55 g Caldo y 15g Bacto Agar

**Volumen:** 1000 mL

**Preparación del medio de cultivo:**

- Realizar los cálculos correspondientes del medio Man Rogosa Sharpe + Bacto Agar, la cantidad de cajas y el volumen que se necesita para su preparación
- Pesar el caldo Man Rogosa Sharpe + Bacto Agar y añadir agua destilada con el volumen adecuado en un Erlenmeyer
- Calentar hasta que se disuelva correctamente
- Acidificar y ajustar a un pH 5.4 con ácido acético 5M
- Esterilizar por 15 min. a 121°C en la autoclave.

**Proceso de la siembra:**

- Codificar correctamente cada una de las cajas Petri que se van a utilizar
- Pipetear 1000 µL de las diluciones previamente ya elaboradas luego añadir el inóculo a cada una de las cajas Petri y adicionar el medio MRS
- Realizar movimientos de vaivén de arriba- abajo de derecha a izquierda para obtener una buena homogenización
- Se recomienda esperar hasta que se solidifique el medio y colocar los medios en la jarra de anaerobiosis e introducir el sobre generador de anaerobiosis directamente en la jarra.
- Ubicar cuidadosamente en la incubadora.

**Periodo de Incubación:** A una temperatura de 35 -37 °C por 24 – 48 horas.

**Lectura de resultados:**

Las colonias se observan de una coloración blanco cremosa presentes con diámetro entre 1- 2 mm.

**2.4.3.7. Determinación de Bacterias ácido lácticas- *Lactococcus***

Las BAL como los *Lactococcus* no aplican ninguna norma debido a que no son patógenas y no se establece los límites permisibles.

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

**Peso:** 42,25 g Caldo y 15g Bacto Agar

**Volumen:** 1000 mL

**Preparación del medio de cultivo:**

- Realizar los cálculos correspondientes del medio M17 + Bacto Agar, la cantidad de cajas y el volumen que se necesita para su preparación
- Pesar el caldo M17 + Bacto Agar y colocar en un erlenmeyer y añadir agua destilada con el volumen adecuado
- Calentar hasta que se disuelva correctamente
- Esterilizar por 15 min. a 121°C en la autoclave.

**Proceso de la siembra:**

- Codificar correctamente cada una de las cajas Petri
- Colocar 1000 µL de las diluciones previamente ya elaboradas, añadir el inóculo a cada una de las cajas Petri y adicionar el medio M17
- Realizar movimientos de vaivén de arriba - abajo de derecha a izquierda para obtener una buena homogenización
- Se recomienda esperar hasta que se solidifique el medio y colocar los medios en la jarra de anaerobiosis e introducir el sobre generador de anaerobiosis directamente en la jarra.
- Ubicar cuidadosamente en la incubadora.

**Periodo de Incubación:** A una temperatura de 35 -37 °C por 24 – 48 horas.

**Lectura de resultados:**

Las colonias se observan de una coloración blanco y presentan diámetros entre 1- 2 mm.

## CAPÍTULO III

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

#### 3.1. Resultados de check list de requisitos de medios de transporte de leche cruda

Se verificó mediante el check list los requisitos para medios de transporte realizado en base a su importancia de cumplimiento para la inocuidad de la leche cruda transportada (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p . 50).

**Tabla 1-3:** Resultados del check list de acuerdo al Manual de Procedimientos para Vigilancia y Control de la inocuidad de la leche cruda de Agrocalidad en el Centro de Acopio CA2.

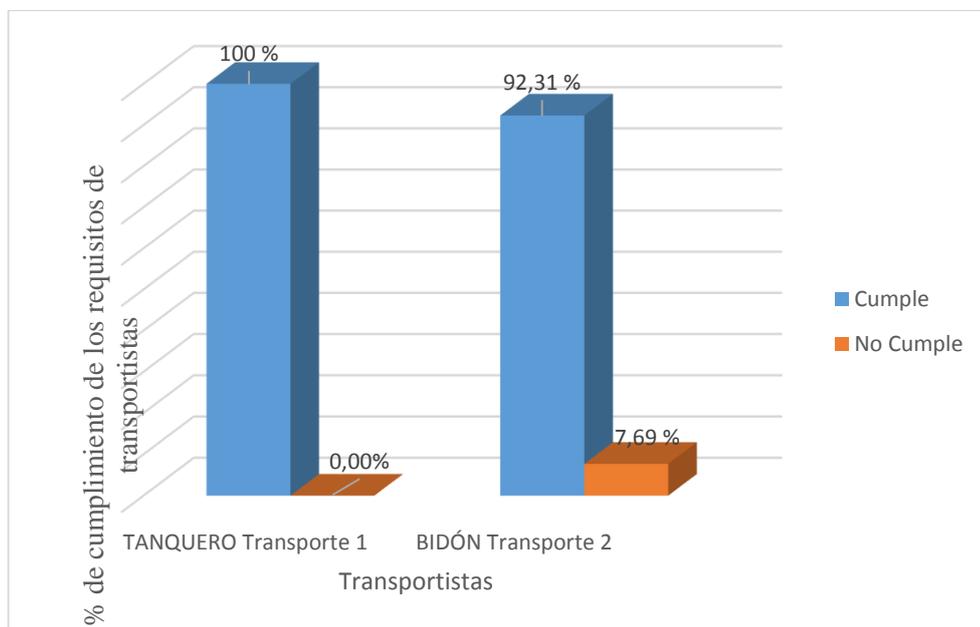
N.º	Requisitos	Medios de Transporte	Cumple	No Cumple	No Aplica	Puntuación	
						Tanquero	Bidón
1	El tanque o bidón de almacenamiento de leche del medio de transporte, encuentran fabricados de acero inoxidable o aluminio	Transporte 1	X			15	
		Transporte 2	X				15
2	El tanque o bidón de leche cruda se encuentra en buen estado, libre de lubricantes, ausencia de fugas o derrames de leche u otro tipo de agente contaminante	Transporte 1	X			5	
		Transporte 2	X				5
3	Los camiones cisterna o codo deben tener tubería de carga y descarga de leche provistas de uniones o codos con tapa	Transporte 1	X			10	
		Transporte 2			X		
4	En los tanqueros con menos de 2000 litros, las rutas de recolección se fijan en base a la distancia, tiempos y hora del recorrido a fin de proteger la calidad de la leche cruda	Transporte 1	X			15	
		Transporte 2			X		
5	Los tanques cisterna deben tener un sistema para el control de la temperatura y correcto funcionamiento	Transporte 1	X			10	
		Transporte 2			X		
6	Se prohíbe transportar otros materiales: sólidos, líquidos o gases con la leche cruda	Transporte 1	X			15	
		Transporte 2	X				15

7	El medio de transporte debe estar rotulado indicando su contenido	Transporte 1	X			5	
		Transporte 2		X			
8	Las tapas de los tanques o bidones deben evitar la acumulación de residuos, deben ser fáciles de lavar, operar y desinfectar	Transporte 1	X			10	
		Transporte 2	X				
9	El diseño del medio de transporte permite la evacuación de las aguas de lavado	Transporte 1	X			5	
		Transporte 2	X				
10	Los recipientes de leche deben limpiarse y desinfectarse después de su uso. Se cuentan con instrumentos de limpieza únicos para este fin y se almacenan en condiciones adecuadas	Transporte 1	X			10	
		Transporte 2	X				
<b>Total</b>						<b>100</b>	<b>60</b>
<b>TRANSPORTISTAS</b>		<b>TANQUERO transporte 1</b>		<b>BIDÓN transporte 2</b>			
Cumple		100,00		92,31			
No Cumple		0,00		7,69			

Fuente: (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p. 50)

Realizado por: Paucar Ana, 2020

En la gráfica 1-3, se observa el porcentaje de cumplimiento a los requisitos establecidos para los medios de transporte de leche cruda dispuestas en el Manual de Procedimientos para Vigilancia y Control de la inocuidad de la leche cruda de Agrocalidad en el centro de acopio CA2.



**Gráfico 1-3:** Evaluación del check list de requisitos de los medios de transporte de leche cruda del centro de acopio CA2. del cantón Riobamba de la provincia de Chimborazo

Realizado por: Paucar Ana, 2020

Según la expresión de la gráfica N° 1-3 se observa que el transportista del Tanquero (transporte 1), cumple con todos los requisitos que se determina en el Manual de Procedimientos para la Vigilancia y Control de la Inocuidad de Leche Cruda; mientras el transporte del Bidón (transporte 2) cumple con un 92,31 % y el 7,69 % no cumple con un requisito denominado “*el medio de transporte debe estar rotulado indicando su contenido*”, ya que no constan las debidas rotulaciones en el transporte ni en sus bidones.

En una investigación similar realizado por (Rodríguez, 2016, p. 50), llevado a cabo en la leche cruda en dos plantas procesadoras del cantón Salcedo, en cada una de ellas se analizó 10 proveedores que transportan leche diariamente, cuya recolección de muestras se realizó a los 7, 14 y 21 días. Los tanques de cada uno de los proveedores fueron receptados y analizados individualmente, evaluando el efecto de los medios de transporte de leche cruda en la calidad higiénica, temperatura, color, olor, aspecto, pH, grasa, densidad, acidez y traza de antibióticos. Los datos obtenidos fue que el 100% de los proveedores de ambas empresas transportan la leche en recipientes de acero inoxidable y cumplen con el permiso de funcionamiento; en cuanto a la identificación para el transporte de leche cruda, en la empresa 1 el 100% cumple con este requisito a diferencia de la empresa 2 que cumple con un 90% en la identificación del transporte de leche cruda cuyo requisito es indispensable para su comercialización y sirve como distintivo del contenido que están transportando para así evitar confusiones en la empresa y en la población (Rodríguez, 2016, p. 50).

### 3.2. Resultados check list de requisitos para el centro acopio CA2.

El Check list de requisitos para el centro de acopio de leche cruda, se efectuó en base a su importancia de cumplimiento para una buena recepción, análisis, enfriamiento y entrega de la leche cruda (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p .114)

**Tabla 2-3:** Resultados del Check list de acuerdo al Manual de Procedimientos para Vigilancia y Control de la inocuidad de la leche cruda de Agrocalidad en el centro de acopio CA2.

N.º	Requisitos	Cumple	No Cumple	Puntuación
1	El centro de acopio controla a diario la recepción de leche cruda a todos sus proveedores	X		3
2	El centro de acopio controla la trazabilidad de la leche cruda		X	0
3	El centro de acopio realiza los análisis organolépticas de la leche cruda	X		3

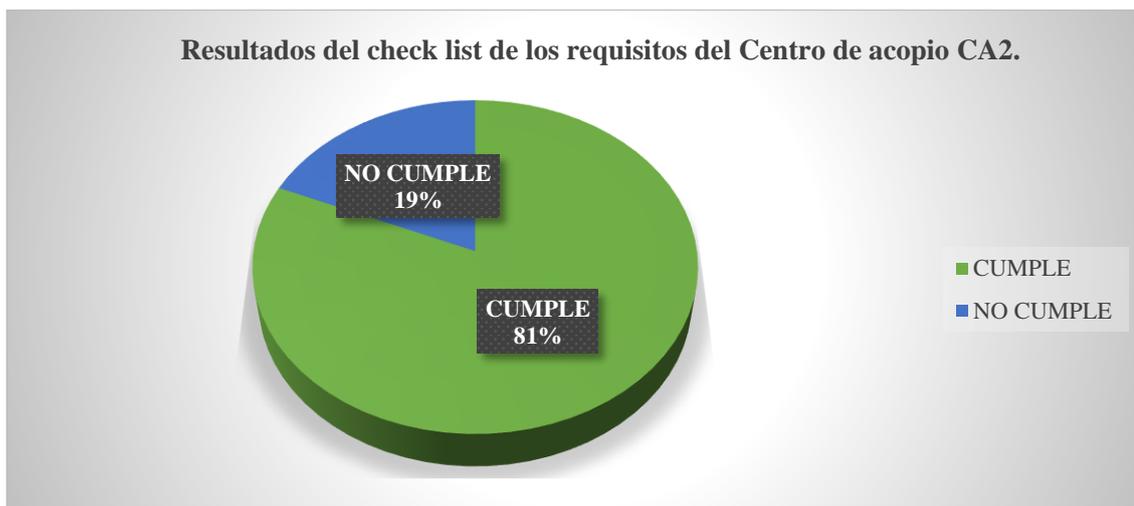
4	El centro de acopio efectúa los análisis para comprobar si la leche cumple con los requisitos de la Normativa Vigente		X	0
5	Los tanques de almacenamiento de leche cruda del centro de Acopio cuentan con termómetros funcionales y calibrados	X		4
6	Se verifica y registra la temperatura de refrigeración durante el transporte desde el centro de acopio hacia la industria y en el momento recepción de la industria	X		4
7	La leche enfriada en los centros de acopio se destina únicamente a las plantas o proceso lácteos con el fin de garantizar la inocuidad del producto. No para la venta directa.	X		4
8	El centro de acopio cuenta con un laboratorio básico o con los servicios de un laboratorio acreditado para los análisis: sensorial, físico, químico y microbiológico	X		4
9	El centro de acopio cuenta con las áreas de recepción, análisis, enfriamiento y entrega de leche.	X		3
10	El Centro de Acopio cuenta con las instalaciones exclusivas para el fin previsto	X		4
11	En centro de acopio se ubica en un lugar geográfico alejado de fuentes contaminantes	X		3
12	El centro de acopio dispone de un espacio de cemento adecuado para el ingreso y desembarque de leche, con pendientes del 2% para su rápido drenaje leche (con pendientes suficientes para el drenaje fácil)	X		3
13	El centro de acopio posee con un sistema de drenaje de aguas servidas y de lluvia hacia el alcantarillado	X		2
14	El centro de acopio cuenta con una plataforma de recepción que está diseñada para facilitar la carga y descarga, es de cemento y debe resistir al ácido láctico, de fácil lavado, debe tener pendiente y debe ser descargado en el alcantarillado.	X		3
15	El Centro de acopio cuenta con un área cerrada para los tanques de refrigeración y equipos auxiliares. Deber tener una adecuada ventilación, protegida con malla plástica.		X	0
16	El centro de acopio dispone de un área exclusiva para la limpieza, desinfección y almacenamiento de los recipientes. Provee de todos los materiales que facilita la limpieza de los transportes al finalizar la descarga de leche.	X		3

17	El área destinada para la limpieza y almacenamiento de recipientes debe estar protegida contra agentes externos de contaminación y cuenta con un área suficiente en relación a los recipientes que existen en el centro de acopio	X		3
18	El área destinada a la limpieza y almacenamiento de recipientes está en óptimas condiciones, ordenadas y separados el área limpia del área sucia.	X		4
19	En el centro de acopio existen servicios sanitarios y área de vestidores fuera de las instalaciones de manipulación de leche	X		2
20	Los servicios sanitarios y el área de vestidores se hallan en buenas condiciones, ordenados y limpios	X		2
21	El centro de acopio cuenta con área de almacenamiento de insumos que esta identificada y separada de las instalaciones de manipulación de leche	X		2
22	El área para almacenamiento de insumos se encuentra en buenas condiciones, ordenados y limpios en el centro de acopio	X		2
23	En el centro de acopio posee el sistema de medición del volumen correcto evitando la alteración de la leche	X		3
24	El centro de acopio cuenta con un sistema higiénico que permite medir con exactitud el volumen de la leche recibida	X		3
25	El centro de acopio cuenta con el abastecimiento de agua potable permanente	X		2
26	El centro de acopio realiza un tratamiento adecuado en el sistema de almacenamiento de agua antes de su utilización		X	0
27	El centro de acopio cuenta con registros que se demuestren la calidad del agua que se utiliza		X	0
<b>TOTAL</b>		<b>22</b>	<b>5</b>	<b>66</b>

Fuente: (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p . 114)

Realizado por: Paucar Ana, 2020

De acuerdo al check list realizado en base a los requisitos que debe cumplir el centro de acopio de leche cruda, el centro de acopio CA2. cumple con 22 criterios que corresponde al 81% e incumple con 5 criterios que corresponde el 19% como se observa en la gráfica 2-3



**Gráfico 2-3:** Gráfica de resultados del check list de los requisitos para el centro de acopio CA2  
**Realizado por:** Paucar Ana, 2020

Los criterios que incumplen dentro del centro de acopio son los siguientes: no realizan el control de la trazabilidad de la leche cruda; no efectúa los análisis para comprobar si la leche cumple con los requisitos de la Normativa Vigente NTE INEN 9:2012; no cuenta con un área cerrada para los tanques de refrigeración y equipos auxiliares que deben estar provistos de adecuada ventilación y protegida con malla plástica, además, en el centro de acopio no realiza un tratamiento adecuado en el sistema de almacenamiento de agua antes de su utilización y no cuentan con sus respectivos registros.

Todos los problemas citados anteriormente dan como resultado malas condiciones en la infraestructura y de sus condiciones higiénicas, lo cual van a originar la mala calidad del producto, ya que para obtener una leche de calidad, se debe partir desde una buena práctica de rutina de ordeño con su correcta manipulación, transporte, almacenamiento y durante la elaboración de los diferentes productos lácteos, evitando el crecimiento y proliferación de microorganismos, debido a que a lo largo del proceso entran en contacto directo e indirecto la leche con diferentes materiales y manipuladores.

Por tal motivo, se debe implementar métodos adecuados que garanticen las condiciones en la calidad higiénica y sanitaria de la leche como materia prima (Reyes;et al. 2010, p.3)

En una investigación realizada por (León; &Ponce, 2002, pp. 2-4) sobre la innovación para una adecuada conservación de la leche cruda viendo la problemática generados en 7 plantas lecheras de la provincia de La Habana Cuba, abarcando más de 5 millones de litros de leche tratada, que se hubieran perdido por fallos en la infraestructura ocasionando ciertos i

nconvenientes como: la inestabilidad o ausencia de energía eléctrica en algunas zonas de Cuba que ocasionaba pérdidas de leche por la acidificación.

Las grandes distancias de recorrido desde el sitio de ordeño hasta el centro de acopio, el clima desfavorable para la conservación de la calidad inicial de la leche y el manejo integral de la calidad que afectan su estabilidad.

Por tales motivos establece que la calidad de la leche se la garantiza con una correcta higiene y manipulación durante el ordeño, adecuada infraestructura y con buenas prácticas para el enfriamiento de leche, además, se debe filtrar la leche utilizando envases limpios y lograr el enfriamiento rápido o usar Stabilak® el cual es un método rápido, sencillo, a bajo costo y disminuye el riesgo de enfermedades provocadas por microorganismos patógenos, el mismo que remedia la problemática de las plantas lácteas (León & Ponce, 2002, pp. 2-4).

### 3.3. Resultados del análisis físico-químicos de la leche cruda del centro de acopio CA2.

**Tabla 3-1:** Resultados físico-químicos de los tres muestreos realizados en el centro de acopio CA2.

Parámetro físico-químico	Límites establecidos	Centro de acopio CA2.		
		Muestreo N.º 1	Muestreo N.º 2	Muestreo N.º 3
Grasa (%)	Mín. 3,0 *	4,47 ± 0,62	3,99 ± 0,70	4,10 ± 0,60
Sólidos no grasos (%)	Mín. 8,2 *	8,56 ± 0,42	8,60 ± 0,28	8,54 ± 0,33
Densidad a 20°C (g/mL)	1,028-1,032 *	1,028 ± 0,02	1,029 ± 0,01	1,028 ± 0,02
Lactosa (%)	Mín. 4,9 ***	4,72 ± 0,23	4,73 ± 0,16	4,73 ± 0,17
Sales (%)	Mín. 0,9 ***	0,71 ± 0,04	0,71 ± 0,02	0,71 ± 0,03
Proteína (%)	Mín. 2,9 *	3,11 ± 0,16	3,13 ± 0,10	3,13 ± 0,11
Sólidos totales (%)	Mín. 11,2 *	13,03 ± 0,83	12,59 ± 0,85	12,64 ± 0,71
Punto de congelación	-0,536 - -0,512 *	-0,556 ± 0,03	-0,552 ± 0,02	-0,553 ± 0,02
pH	6,5-6,8 **	6,99 ± 0,35	7,13 ± 0,08	7,07 ± 0,23
Prueba de antibiótico	Negativo *	Negativo	Negativo	Negativo
Prueba de cloruros (ppm)	1 ppm o 1mg/L ***	1mg/L	1mg/L	1mg/L
Peróxido (mg/L)	Negativo *	Negativo	Negativo	Negativo

**Fuentes:** \* Norma (NTE INEN 9, 2012); \*\* Manual (MAGAP & AGROCALIDAD, 2013); \*\*\* Manual de Normas de Calidad de leche cruda (Santiago, 2007)

La leche cruda analizada del centro de acopio CA2. en las distintas semanas, presenta un contenido de grasa entre 3,99 y 4,47%. De acuerdo con la norma NTE INEN 9:2012 (Leche cruda. Requisitos), 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, a las prácticas de alimentación, además, se mantiene constante

en los diversos períodos de lactación, tan sólo en el calostro parece disminuir su porcentaje. El porcentaje de grasa se ve afectada cuando existe cambios en el estado sanitario de la urbe, presentando disminuciones significativas principalmente se presentan en procesos inflamatorios o infecciosos (Anrique, 2012, pp. 11-13).

Según (Anrique, 2012) establece en su estudio llevado a cabo en las empresas ganaderas de Chile, que en la zona Sur, el contenido promedio de grasa es de 3,81% y proteína de 3,37% en la leche, siendo estos valores más altos que en el resto del país, diferenciándose así de la zona Central con 3,25% de proteínas y 3,55% de grasa, mientras que en la zona Centro-Sur la cantidad de proteínas es de 3,28% y grasas de 3,65%; que se explica en parte por un efecto genético, diferencias en la alimentación, atribuible en general a un efecto favorable de la pradera y por su combinación con granos o concentrados cuya práctica es habitual en las lecherías (Anrique, 2012, p.p. 11-13)

Según (González, 2012) menciona que la composición de la leche varía considerablemente a lo largo de las estaciones presentando un aumento de las concentraciones de grasa y proteína durante el otoño e invierno y disminuciones durante la primavera y verano. Las altas temperaturas provocan un aumento en los requerimientos de energía de mantención y reducen las tasas de crecimiento, producción de leche y comportamiento reproductivo en el animal (González, 2012, p. 13).

El porcentaje de sólidos no grasos de los tres muestreos realizados detallados en la tabla 3-3, varían entre 8,54% y 8,60%, comparándose con el valor expuesto en la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 9: 2012, cuyo valor mínimo es de 8,2% deduciéndose que estos cumplen con este criterio pero a su vez pueden verse influenciados por la alimentación del ganado o por la etapa de lactancia, como lo resalta en un estudio de los parámetros de calidad de leche de vacuno en los Distritos de Apata, Matahuasi y Concepción llevado a cabo en el Lima- Perú, donde se determinó múltiples parámetros entre ellos sólidos no grasos se obtuvo una media de 8,18 % los sólidos no grasos tienden a variar de acuerdo al tipo de alimentación que reciba el bovino, a su vez puede disminuir cuando el animal presente mayor edad o en casos de mastitis a nivel clínica o subclínica (Viera, 2013, p. 8).

La densidad a una temperatura de 20°C de acuerdo a la tabla 3-3, se encuentran dentro de los límites permitidos de 1,028-1,032 según la Norma Vigente INEN 9: 2012 para los tres muestreos llevados a cabo, cuando los valores se encuentran fuera de rango establecido, es un indicativo que existe fraude por adición de agua, como se detalla en una evaluación de leche cruda realizado en cuatro procesadoras de quesos en el Municipio de Montería de Colombia, donde el parámetro representativo es la densidad. Demostrando así que el 77.9% de las muestras se hallaron dentro del intervalo de 1,030 a 1,033 g/ml, rango aceptado como normal dentro del territorio colombiano

según el decreto 616. A diferencia del 17,2% de las muestras que se encontraban por debajo del límite inferior del intervalo establecido, manifestándose de tal manera la evidencia del fraude por adición de agua y bajo peso en la leche que se puede disimular incorporando sustancias como el almidón para compensar la densidad y el 4,9% de las muestras se halló por encima del límite superior del intervalo; como consecuencia de la falta de proteína y energía en la dieta, o que las leches fueron descremadas antes de llegar a la procesadoras (Calderón, et. al, 2007, p.1).

Los valores de lactosa y sales obtenidos para los tres muestreos no se encuentran dentro de los valores de referencia que corresponde la lactosa el 4,9% y las sales 0,9%, respectivamente. Según (Agudelo, 2005, p.3) indica que uno de los componentes más estables de la leche es la lactosa, siendo útil su determinación para casos de posibles adulteraciones por adición de agua. Asimismo según (Santos, 2002, p.107) hace referencia que una reducción en la secreción de lactosa es debido a la infección de las glándulas mamarias del animal; a causa de la regulación osmótica su contenido puede ser inversamente proporcional al contenido de las sales (Santos, 2002, p. 107).

En cuanto a la cantidad de proteínas que debe presentar la leche según lo especificado en la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 9:2012, como valor mínimo es de 2,9% de proteínas; en el caso de los diferentes muestreos realizados se obtiene valores mayores de proteínas al mínimo permitido desde 3,11% hasta los 3,13%. Un incremento en la producción de leche produce cambios en los rendimientos en grasa y proteína, gracias a la buena alimentación con pasto, otras variaciones en el contenido de proteínas en la leche se dan de acuerdo al tipo de raza del ganado, presencia de mastitis o en la edad del bovino. La cantidad de proteínas tiene una estrecha relación con la concentración de grasa en la leche, es decir, cuanto mayor sea la cantidad de grasa mayor será el contenido de proteínas (López & Barriga, 2016, p. 5).

Los límites permisibles para el punto de congelación van entre el límite de -0,536 hasta -0,512, en el cual ningún valor de los tres muestreos analizados (ver tabla 3-3) no se encuentran dentro del rango permitido, determinándose que existe posibles adulteraciones de la leche por adición de agua como lo menciona (Agudelo, 2005, p. 35). En el estudio realizado en Costa Rica por (Mora, 2019) expresa que el punto crioscópico puede variar de acuerdo al tipo de raza del bovino o a su vez por la adición de agua en la leche (WingChing & Mora, 2019, p. 3).

La tabla 3-2, establece los porcentajes de sólidos totales de los tres muestreos de leche realizados; en la Norma Ecuatoriana NTE INEN 9:2012 detalla el límite mínimo permitido de 11,2%, deduciendo dichos valores, se determina que todas las muestras de leche cruda analizadas cumplen con este criterio. En el estudio realizado en San José – Costa Rica, por (Saborío et.al, 2015, p. 8), en el que comparó la producción de sólidos lácteos entre dos razas teniendo como

resultado para la raza Jersey el 13,90% y para Holstein el 12,30% de sólidos totales. De tal forma se llegó a la determinación que existen una serie de factores internos y externos al animal que influyen la producción de sólidos totales de la leche, entre estos se encuentran: la raza, la dieta, la salud ruminal, la época del año, la disponibilidad y calidad del pasto, la producción de leche, la etapa de lactancia y la concentración de células somáticas de la leche (Soborío et.al, 2015, p. 8).

Los resultados promedios de pH de los muestreos realizados en la leche cruda se detallan en la tabla 3-3, arrojando como valor mínimo 6,99 y el máximo de 7,13. Según el estudio de (Negri, 2005, p. 3), en un enfoque general teórico del pH y la acidez de la leche obtenidos del tanque de tambos, cisternas y silos ubicados en la Cuenca Lechera Central de Argentina; menciona que en vacas recién ordeñadas y sanas la leche es ligeramente ácida con un pH promedio entre 6,5 – 6,8, debido a la presencia de caseínas, aniones fosfórico y cítrico principalmente; estos valores se aplican a temperaturas cercanas a 25°C. Además, el pH suele variar en el proceso de lactación observándose valores muy altos mayores a 7,4, en leche de vacas individuales en el fin de la lactancia. Por otro lado, valores de pH 6,9 a 7,5 son medidos en leches mastíticas debido a un aumento de la permeabilidad de las membranas de la glándula mamaria originando una mayor concentración de iones Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> y una reducción del contenido de lactosa (Negri, 2005, p. 3).

En los tres muestreos realizados de la leche cruda en el centro de acopio CA2. se obtuvo resultados negativos para la prueba de antibióticos como observa en la tabla 3-2, donde se encuentra dentro de los límites 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; en una investigación realizada en donde se determina la presencia de antibióticos en leches crudas y procesadas realizada por (Salim; et al, 2009, p.2) en el municipio de Montería- Colombia, menciona que existe alta presencia de residuos de antibióticos en leches crudas, mediante el empleo de un método microbiológico sencillo pero se contradice en la norma establecidas en el decreto 616 del ministerio social de Colombia en el que no debe superar los niveles permisibles. En el estudio se encontró una alta presencia. Aunque el uso de antibióticos en la industria agropecuaria es útil en ocasiones para el tratamiento de enfermedades infecciosas, estos porcentajes demuestran el abuso de ellos y pueden afectar la salud pública humana (Salim; Et al, 2009, p.2).

En la prueba de cloruros el valor aceptable es de 1ppm, en el cual los diferentes muestreos realizados se encuentran dentro del dato permisible como se puede observar en la tabla 3-2. De acuerdo con (Rondón et al., 2003) , que desarrolló una investigación en el estado de Mérida-

Venezuela basada en la determinación de los agentes adulterantes y conservadores de las leches fluidas. La adición de cloruros en la leche se utiliza para enmascarar el aguado en el producto como medida para cumplir con los parámetros físico-químicos de la norma COVENIN, cuyos valores van de 0,07 a 0,12 g %. Demostrando así, que la muestra de leche cruda proveniente de PROGAL cumple con la norma COVENIN, ya que el valor promedio del porcentaje de cloruro es de  $0,0978 \%Cl \pm 0,00913$  (Rondón et al., 2003, p.2).

En cuanto al peróxido en la leche cruda debe ser negativo. Según la investigación desarrollada por (Rondón et al., 2003, p. 3), menciona que el peróxido de hidrógeno es un inhibidor del crecimiento bacteriano y que es posible su adición a la leche, sin embargo, los resultados que se obtuvieron de los análisis realizados a las diferentes muestras, no se encontró presencia de residuos de peróxido de hidrógeno, lo cual se concuerda a lo establecido por la norma COVENIN (Rondón et al., 2003, p.3)

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

**Tabla 4-3:** Resultados microbiológicos de los muestreos realizados en el Centro de Acopio CA2.

Microorganismos	Límites permitidos (log UFC/mL)	Muestreo N°1 (log UFC/mL)	Muestreo N.° 2 (log UFC/mL)	Muestreo N.° 3 (log UFC/mL)
Aerobios mesófilos	Máx. 6,18 *	$7,35 \pm 0,011$	$7,31 \pm 0,028$	$7,32 \pm 0,033$
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 – 4 ***	$6,28 \pm 0,202$	$6,11 \pm 0,054$	$6,40 \pm 0,041$
<i>Enterobacterias</i>	Máx. 5,11 **	$6,93 \pm 0,059$	$6,24 \pm 0,015$	$6,33 \pm 0,051$
<i>Lactobacillus</i>	N/A	$6,34 \pm 0,013$	$6,49 \pm 0,020$	$6,28 \pm 0,018$
<i>Lactococcus</i>	N/A	$6,48 \pm 0,059$	$7,03 \pm 0,024$	$7,11 \pm 0,007$
Mohos y levaduras	Máx. 4,48 **	$5,23 \pm 0,065$	$5,08 \pm 0,067$	$5,17 \pm 0,036$

Fuente: \* Norma (NTE INEN 9, 2012): 2012; \*\* (Mallet A. et al., 2012); \*\*\* Normativa (MAG, 2006)

Los límites permitidos para el recuento de aerobios mesófilos según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 9: 2012 establece máximo 6,18 log UFC/mL, de acuerdo a la tabla 4-3, en los muestreos realizados sobrepasa el valores de referencia ( $M1= 7,35 \pm 0,011$ ;  $M2= 7,31 \pm 0,028$ ;  $M3= 7,32 \pm 0,033$ ), siendo indicativos de un mal proceso de ordeño, no se ha enfriado correctamente la leche después del ordeño o a su vez la vaca puede presentar alguna enfermedad, como lo muestra (Aguirre, 2006, p.22) en su estudio efectuado en Montería-Córdoba, en el cual se analizó leche cruda y leche pasteurizada, determinándose la disminución de carga microbiana, de tal forma se obtuvo la media de mesófilos aerobios en leche cruda de 5.082.759 UFC/ml, luego del proceso de pasteurizado se obtuvo 946 UFC/ml, por las diferencias encontradas se pueden atribuir al aumento de la temperatura con la cual comienza a haber reducción de gran parte de los microorganismos mesófilos. Por otro lado, menciona que un recuento elevado se debe al

incumplimiento en las correctas prácticas de higiene en el proceso de ordeño como puede ser que las ubres estén sucias, falta de aseo de los instrumentos o equipos utilizados en el ordeño, desaseo en los bidones de almacenamiento y transporte de leche o que una vez extraída la leche no se haya llevado rápidamente a una temperatura de refrigeración (Aguirre, 2006, p.22)

En vista a que la Norma Técnica Ecuatoriana no establece los límites permitidos para *Staphylococcus aureus* ni para Enterobacterias, se tomó como referencia datos expuestos según (Mallet et al., 2012) y (MAG, 2006) como se puede apreciar en el cuadro comparativo (tabla 4.3) ningún conteo se encuentra dentro de lo especificado; los *Staphylococcus aureus* son bacterias anaerobias facultativas, gram positivas, pueden crecer en presencia o ausencia de oxígeno y pueden transmitirse por contacto directo o indirecto. En el estudio que efectuó (Jurado, 2019, p.6) en la Granja Lechera Chimangual, ubicada en la vereda Verbena del Municipio de Sapuyes, encontró la presencia de *Staphylococcus aureus* , en una importante cantidad del 66,2% en muestras recolectadas durante el periodo de lactancia; cabe resaltar que esta bacteria patógena es uno de los principales microorganismos relacionados con la presencia de mastitis subclínica de tipo contagioso, que se asocia, por lo general a malas prácticas de ordeño dentro de la producción. Por ello, es importante tener en cuenta puntos claves como el manejo nutricional y zootécnico de los animales, la limpieza y desinfección de los utensilios y el lugar donde se realiza el ordeño, mejorar estructuras de los establos, limpieza y desinfección de los pezones de los animales. Además, es necesario que los operarios mantengan la asepsia a la hora de realizar el ordeño haciendo uso de todas las instrucciones de las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO), con el fin de obtener un producto sano y de calidad tanto a nivel sanitario, composicional y microbiológico, reduciendo de tal forma el riesgo de transmisión por agentes causantes de enfermedades (Jurado, 2019, p.6).

Para el contenido de Enterobacterias, el límite máximo es 5,11 log UFC/ml, en los tres muestreos realizados superan los rangos permitidos; por lo tanto puede deberse a una contaminación fecal, siendo esto ocasionado por un incorrecto aseo de las ubres de la vaca que están sucias por sus propias heces, en ciertas ocasiones también pueden deberse al lavado de las ubres o de los utensilios que se utiliza durante el ordeño con agua contaminada por presencia de heces fecales de mamíferos, según lo menciona (Moreno et.al, 2007, p.6) en su artículo menciona que los recuentos tienden a variar en base a los climas lluviosas debido a que existe mayor exposición del bovino al ambiente contaminado con el estiércol, elevando progresivamente la carga microbiana con Enterobacterias como el microorganismo de la *E.coli* a causa de dicho factor (Moreno. et.al, 2007, p.6).

Las bacterias ácido lácticas tanto para *Lactococcus* como *Lactobacillus* no se han establecido los límites específicos en leche cruda; por lo que según los recuentos realizados para *Lactobacillus* se tiene un rango de 6,28 hasta 6,49 log UFC/ml mientras que para *Lactococcus* va desde 6,48 a 7,11 log UFC/ml (ver tabla 4-3).

Las bacterias ácido lácticas o también denominadas BAL son benéficas y se encuentran formando parte del contenido normal de la leche no son patógenas como las bacterias ya mencionadas anteriormente. Como lo menciona (Parra R, 2010) en un artículo, que la principal función de las BAL es la capacidad de formar de ácidos orgánicos como el ácido láctico a una velocidad que asegura una fermentación consistente y exitosa. A su vez el ácido láctico puede ser obtenida a través de la fermentación de lactosa misma que les proporciona el sabor ácido fresco a las leches fermentadas, mejora el cuerpo y textura de los quesos e inhibe en parte el desarrollo de microorganismos contaminantes y patógenos (Parra , 2010, p. 10).

Como lo muestra (Vargas, 2018) en su investigación llevado a cabo en el queso de hoja tradicional elaborado en una planta industrial y en una artesanal de la ciudad de Latacunga, en el que dieron unos recuentos elevados de BAL en medios MRS y M17 para el queso de hoja artesanal, del cual aisló y seleccionó 32 cepas; mismo que resultaron ser bacilos (56,25%) y cocos (43,75%), gram positivas, catalasa, oxidasa y movilidad negativas. La prueba de caracterización diferencial, demostraron que el 50% de las cepas aisladas en MRS correspondían al género de los *Lactobacillus* y las cepas aisladas en M17 al género *Enterococcus* (Vargas, 2018, p.34).

En la tabla 3-3, el límite permitido para mohos y levaduras es 4,48 log UFC/ml; los muestreos realizados se encuentran fuera de los límites normales. Según (Signorini et al, 2008) en su estudio ejecutado en la producción primaria de leche de Iriondo, Argentina, menciona que la leche obtenida del tanque de enfriamiento presentó mayores recuentos de mohos y levaduras en comparación con los niveles observados en la leche obtenida de manera directa de la ubre.

Además, explica que los mohos y las levaduras están ampliamente distribuidos en el ambiente y pueden encontrarse sobre los equipos sanitizados inadecuadamente, como parte de la flora normal de un producto alimenticio, o como contaminantes del ambiente. La presencia en leche cruda puede ser indicio de contaminación ambiental. Los valores reportados en el estudio estuvieron muy próximos a los reportados en la región de Camembert (1,89 logUFC/mL), inferiores a los informados en Dinamarca (3,71 log UFC/mL), aunque en ambos solo contaron levaduras. Por otro lado, se ubicaron dentro del rango de valores reportados en los Alpes Franceses (de 1,08 a 3,03 log UFC/mL) (Signorini et al. , 2008, p. 7).

## CONCLUSIONES

- En el check list realizado al centro de acopio CA2. se demuestra que el 81% cumplen mientras que un 19 % incumplen con los criterios basados en el Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda, así mismo el 7,69% incumplen con los requisitos establecidos para los medios de transporte, evidenciando de tal forma que la falta de higiene en el proceso de ordeño puede originar la proliferación de los microorganismos en la leche.
- Se analizó los parámetros de calidad físicos-químicos del centro de acopio CA2. como la grasa, sólidos no grasos, densidad, lactosa, proteínas, punto de congelación, sólidos totales y el pH por medio de la utilización del equipo Lactoscan MCCW, donde se pudo evidenciar que la cantidad de grasa, sólidos no grasos, densidad, proteínas, sólidos totales, cloruros, peróxidos y antibióticos cumplen con la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 9:2012; mientras que los parámetros de la lactosa, sales, punto de congelación y el pH están fuera de los límites permitidos, estos cambios se debe a las diferentes condiciones higiénicas sanitarias que se le da a la leche cruda y también a la adulteración por la adición del agua en la materia prima.
- Con los recuentos de los microorganismos obtenidos de las muestras de leche cruda, se determinó que exceden los límites permitidos en bacterias aerobios mesófilos, enterobacterias, *Staphylococcus aureus* y mohos-levaduras, evidenciando que existen microorganismos peligrosos para la calidad de la leche y por ende para la seguridad alimentaria.
- Los recuentos de las bacterias ácido lácticas en la leche cruda del centro de acopio CA2. *Lactococcus* y *Lactobacillus* están en un rango de  $7,87 \pm 0,02$  log UFC/mL y  $6,37 \pm 0,03$  log UFC/mL respectivamente, son microorganismos benéficos tanto para la industria láctea como para la salud del consumidor.

## **RECOMENDACIONES**

- Se debe brindar capacitaciones sobre buenas prácticas de higiene y seguridad alimentaria a los proveedores, transportistas y personal que integra el centro de acopio CA2.
- Mejorar las condiciones del medio de transporte con su rotulación respectiva en el mismo y en los bidones de la leche cruda.
- Evaluar la calidad de agua que se utiliza en el centro de acopio CA2. para los diferentes procesos.
- Realizar investigaciones sobre la salud de los animales y buenas prácticas de ordeño.

## GLOSARIO

**Células somáticas:** Leucocitos y células descamativas de los epitelios secretores y conductos de la glándula mamaria presentes en la leche, por la inflamación que presenta dicha glándula como consecuencia de agresión de patógenos y/u otros factores traumáticos (Pascual, 2005, p. 72).

**Centro de Acopio:** Establecimiento donde se reúnen y almacenan la producción de varios productores de leche y cuentan con infraestructura equipos y materiales que permitan mantener una temperatura de 2°C a 4°C y la inocuidad de la leche cruda; así mismo, el centro de acopio debe contar al menos con áreas definidas para: recepción, análisis, enfriamiento y entrega entrega (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p. 10).

**Control:** Comprobación, inspección, fiscalización o intervención por parte de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro con el fin de asegurar la inocuidad de la leche cruda (NTE INEN 9, 2012, p. 2)

**Desinfección:** Proceso mediante el cual, a partir del uso de sustancias desinfectantes, se disminuye la carga bacteriana de un espacio o superficie hasta niveles que no sean perjudiciales para la salud (AGROCALIDAD, 2013, p. 8).

**Industria láctea:** Sector de la industria que tiene como materia prima la leche cruda procedente de la especie bovina (Ponce, 2013, p. 3).

**Inocuidad:** Es la certeza de que los alimentos o ingredientes utilizados para hacer el mismo, no van a causar daño o lesión al consumidor cuando éste sea preparado y/o consumido de acuerdo al uso al que debería destinarse (NTE INEN 9, 2012, p. 2).

**Leche cruda de vaca:** Producto de la secreción normal de las glándulas mamarias, obtenida a partir del ordeño integro e higiénico de vacas sanas, sin adición ni sustracción alguna, exento de calostro y libre de materias extrañas a su naturaleza, destinada al consumo humano en su forma natural o a la elaboración de subproductos. Esta denominación se aplica para la leche que no ha sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición natural (NTE INEN 9, 2012, p. 2).

**Limpieza:** Es la acción y el efecto de limpiar (quitar la suciedad visible para el ojo humano de un determinado lugar o medio). Es el proceso o la operación de eliminación de materias extrañas, residuos o impurezas de las superficies de las instalaciones, equipos y utensilios (Aguirre, 2006, p.22)

**Medio de Transporte:** Transporte que cuanta con recipientes para transporte de leche cruda que ha sido previamente registrado en Agrocalidad (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p. 11).

**Muestra:** Porción de material o cantidad representativa extraída al azar de un lote (NTE INEN 4, 1983, p . 5).

**Muestreo:** Procedimiento mediante el cual se recolectará las muestras representativas para el análisis de leche cruda (NTE INEN 4, 1983, p . 5).

**Preservante:** Cualquier sustancia añadida a un alimento o muestra de alimento con el propósito de prevenir o retardar su deterioro (NTE INEN 9, 2012, p. 2).

**Recipiente para transporte de leche cruda:** Recipiente y/o bidón; tanque cisterna; y/o tanque de enfriamiento, todos ellos construidos de acero inoxidable y/o aluminio, que cumple la función de almacenar leche durante el transporte (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p. 11).

**Tanque de enfriamiento:** Todo aquel equipo que se utiliza para almacenar leche cruda a una temperatura de  $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p. 11).

**Técnico de Inocuidad / Laboratorio:** Persona(s) habilitada(s) para realizar el muestreo en lugares tales como predios, centros de acopio y sitios recolectores de las plantas procesadoras de leche cuidando que las condiciones de la toma de muestra y transporte no alteren la calidad de la muestra (AGROCALIDAD, 2013, p. 8).

**Transportista:** Es toda persona natural o jurídica que se dedique al transporte exclusivo de leche cruda en bidones, tanques de acero inoxidable o aluminio garantizando la inocuidad de la misma (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p. 11).

**Vigilancia:** Acción de monitoreo de los medios de transporte y centros de acopio en base a en base al cronograma de vigilancia y control de la inocuidad de la leche cruda establecido por planta central y cada coordinación provincial de Agrocalidad (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p. 11).

## BIBLIOGRAFÍA

**AGROCALIDAD**, *Manual de procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda*. [en línea] 7 de Noviembre 2013 [Citado el 05 de Septiembre de 2020] Disponible en: [https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/201810/Documento\\_Resoluci%2B%C2%A6n%200213.%20Manual%20de%20procedimientos.pdf](https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/201810/Documento_Resoluci%2B%C2%A6n%200213.%20Manual%20de%20procedimientos.pdf)

**AGUDELO D & BEDOYA O**, Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de Investigación*, vol. 2, N°.1 (2005), (Antioquia, Colombia), pp. 38-42.

**CALDERÓN, R. et al**, *Evaluación de la calidad composicional de leches en cuatro procesadoras de queso en Municipio de Montería*. *Revista MVZ Córdoba*, [en línea] 2007, Colombia. pp. 1-7. [Consulta: 5 Octubre 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/693/69312106.pdf>

**AGUILERA, A. et al**, *Bacterias patógenas en leche cruda: problema de salud pública e inocuidad alimentaria* *Revista Ciencia y Agricultura*, Boyacá-Colombia, [en línea] 2014, Colombia. pp.2. [Consulta: 6 Octubre 2020]. Disponible en: [https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia\\_agricultura/article/view/3860](https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia_agricultura/article/view/3860)

**AGUIRRE AGUIRRE, Marielena**. *Determinación del perfil microbiológico de la leche pasteurizada a través de su línea de producción en la planta procesadora colanta - planeta rica* [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Córdoba, Montería Córdoba, 2016. pp.22 [Consulta: 15 de Enero 2021] Disponible en: [https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/975/determinación del perfil microbiológico de la leche pasteurizada a través de su línea de producción en la planta procesadora colanta - planeta rica.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/975/determinación%20del%20perfil%20microbiológico%20de%20la%20leche%20pasteurizada%20a%20través%20de%20su%20línea%20de%20producción%20en%20la%20planta%20procesadora%20colanta%20-%20planeta%20rica.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**ALMONACID ORTIZ, Maritza, & RODRIGUEZ, Gustavo**. *Estudio de factibilidad de un centro de acopio de leche* [En línea] (Trabajo de Titulación). Universidad de la Salle, Bogotá.2010. pp. [Consulta: 06 de Septiembre 2020] Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1067&context=zootecnia>.

**ALTAMIRANO CASCANTE, Katerin Paulina** “*Evaluación Higiénico Sanitaria En El*

*Centro De Acopio De Leche Cruda Ca.1 Ubicado En El Cantón Mocha Provincia De Tungurahua*” [en línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2018. pp.18 [Consulta: 06 de Septiembre 2020] Disponible en: <https://library.co/document/yngpwkpz-evaluacion-higienico-sanitaria-centro-ubicado-canton-provincia-tungurahua.html>

**ANDERSON, M.** *Enfermedades de origen alimentario*. [En línea] 1ª ed. España, [Consulta: 04 de Diciembre 2020] 2005 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=247968>

**ANRIQUE R,** *Nutrición y alimentación de vacas lecheras en pastoreo* [En línea] Valdivia-Chile , [Consulta: 04 de Diciembre 2020] 2012, Disponible en: <http://www.consorciolachero.cl/chile/documentos/publicaciones/24junio/nutricion-y-alimentacion-de-vacas-lecheras-en-pastoreo.pdf>

**AUROFLOW BT .** *AuroFlow™ BT Combo Strip Test Kit*. [En línea], 2015. [Consulta: 3 enero 2021]. Disponible en: [http://тесты-антибиотики.рф/wp-content/uploads/2016/12/bioo\\_scientific\\_auroflow\\_bt\\_combo\\_strip\\_test\\_kit\\_manual.pdf](http://тесты-антибиотики.рф/wp-content/uploads/2016/12/bioo_scientific_auroflow_bt_combo_strip_test_kit_manual.pdf).

**BELITZ, H. & GROSCH, W.** *Leche y productos lácteos*. 2ª ed. Zaragoza – España: Acibia S.A, 1997. p.537

**CALDERÓN, R. et al,** *Evaluación de la calidad composicional de leches en cuatro procesadoras de queso en Municipio de Montería*. Revista MVZ Córdoba, [en línea] 2007, Colombia. pp. 1-7. [Consulta: 5 Octubre 2020]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/693/69312106.pdf>

**CELIS, Mauricio ; & JUAREZ, Daniel.** *Microbiología de la Leche*. [En línea] (Especialización de Maestría ) Editorial de la Universidad Tecnológica Nacional. F.R. Bahía Blanca. 2009. pp.15-17 Disponible en: [https://www.academia.edu/4254649/microbiologia\\_leche](https://www.academia.edu/4254649/microbiologia_leche) [Consulta: 10 de Septiembre 2020]

**CENTRO DE LA INDUSTRIA LÁCTEA DEL ECUADOR.** *La leche del ecuador - Historia de la lechería ecuatoriana*. [En línea], 2015. [Consulta: 07 de Octubre 2020] Disponible en: [http://sitp.pichincha.gob.ec/repositorio/diseno\\_paginas/archivos/La%20Leche%20del%20Ecuador.pdf](http://sitp.pichincha.gob.ec/repositorio/diseno_paginas/archivos/La%20Leche%20del%20Ecuador.pdf)

**ESTRELLA TERÁN , ALEX OMAR.** *Evaluación de cuatro niveles de proteínas en*

*balanciados a la producción y composición de la leche en vacas en el segundo tercio de lactancia* [en línea]. (Trabajo de titulación). UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA EVALUACIÓN. Quito, Ecuador. 2016. pp.8-10 Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8886/1/T-UCE-0004-65.pdf>.

**FDA.** Hechos sobre alimentos: los peligros de la leche cruda. [En línea], 2018. [Consulta: 07 de Octubre 2020] pp. 1-4 Disponible: <https://www.fda.gov/media/119384/download>

**FERNÁNDEZ, E. et al.** *Documento de Consenso: Importancia nutricional y metabólica de la leche.* Nutricion Hospitalaria, [en línea]. 2015, Madrid, pp. 92-97. [Consulta: 6 Octubre 2020]. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112015000100009](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112015000100009)

**GARCIA, M., 2013.** *Recepción y almacenamiento de la leche y otras materias primas.* 1ª Ed. Andalucía - España: pp. 18-23

**GONZÁLEZ ROCHOW, Ilse Magaly.** *Caracterización de predios lecheros con alto contenido de sólidos lácteos en la Zona Sur de Chile. Estudio de casos* (Trabajo de titulación). Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Agrarias Escuela de Agronomía, Valdivia- Chile. 2012.p. 12 [Consulta: 06 de Octubre 2020] Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fag643c/doc/fag643c.pdf>.

**HODSON, R.E. & REED, O.E.** *La industria lechera en América.*3ª ed. México, D.F: Galve, S.A, 1964. pp. 388-289

**JURADO, G. et al,** *Evaluación de la calidad composicional, microbiológica y sanitaria de la leche cruda en el segundo tercio de lactancia en vacas lecheras* Revista Investigación Med Vet Zoot C, Pasto- Colombia [en línea] 2019, Colombia. pp.6. [Consulta:15 de Enero 2021]. Disponible en: [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/79402-Texto del artículo-422775-3-10-20190625.pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/79402-Texto%20del%20artículo-422775-3-10-20190625.pdf)

**KEATING, P.& RODRIGUEZ, H.** *Introducción a la LACTOLOGÍA.* 2da. Ed. Monterrey - México: Limusa S.A, 2002, pp. 25-26

**LACTOSCAN MCC.** Lactoscan MCC. [en línea] 2019, Madrid, pp.14. [Consulta: 8 Octubre 2020]. Disponible en: [https://www.milkotronic.com/pdfs/Lactoscan\\_MCCW\\_V3.pdf](https://www.milkotronic.com/pdfs/Lactoscan_MCCW_V3.pdf)

**LEÓN, O.; & PONCE, P.** *El Stabilak para la conservación natural de la leche* [en línea], 2002, , p.p.2-4 [Consulta: 7 Enero 2020]. Disponible en: [http://www.ideassonline.org/public/pdf/br\\_18\\_29.pdf](http://www.ideassonline.org/public/pdf/br_18_29.pdf)

**LESUR, L.** *Manual del ganado bovino para leche*. 1ª ed. México D.F, 2005, pp.31

**LÓPEZ, Á.; & BARRIGA, D.** La leche. Composición y características. *Composicin y caractersticas Instituto de investigacin y formacin agraria y pesquera Sevilla España Consejería de agricultura pesca y desarrollo rural*. [en línea], 2016, Sevilla-España, pp.5 [Consulta: 8 Octubre 2020]. Disponible en: [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/La%20leche,%20composicion%20y%20caracteristicas%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/La%20leche,%20composicion%20y%20caracteristicas%20(2).pdf)

**MAGAP; & AGROCALIDAD** *Manual de Procedimientos para la vigilancia y control de la inocuidad de leche cruda*, [en línea] Noviembre, 2013 [Consulta el 06 de Septiembre 2020] Disponible en : [https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento\\_Resoluci%2Bn\\_0213\\_Manual\\_de\\_procedimientos.pdf](https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento_Resoluci%2Bn_0213_Manual_de_procedimientos.pdf)

**MAGAP**, *Reglamento Técnico: RTCR: 401-2006. Leche cruda y Leche Higienizada*, 2006 [Consulta el 03 de Enero 2021] Disponible en : <https://www.mag.go.cr/legislacion/2007/de-33812.pdf>

**MAGARIÑOS, H.** *Producción higiénico de la leche cruda*. [en línea]. Valdivia- Chile, 2000 [Consulta: 10 Octubre 2020]. Disponible: [http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/leche\\_all.pdf](http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/leche_all.pdf)

**MALLET, M. et al**, *Quantitative and qualitative microbial analysis of raw milk reveals substantial diversity influenced by herd management practices*, *International Dairy Journal*, [en línea] 2012, pp.1-2. [Consulta: 11 de Enero 2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694612001586>

**MSP**, *Subsistema De Vigilancia Sive-Alerta Enfermedades Transmitidas Por Agua Y Alimentos Ecuador*, 2020 [Consulta el 3 de Octubre 2020] Disponible en : <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/01/Etas-SE-53.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)* Revista de Medicina Veterinaria , Boyacá [en línea] 2007, pp.6. [Consulta:15 de Enero 2021]. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1105&context=mv>

**NAGER, M.** *Tests rápidos Tests rápidos para mas de 40 sustancias.* [en línea]. [Consulta: 3 enero 2021], 2014, pp. 14, Disponible en: [http://ftp.mn-net.com/espanol/Flyer\\_Catalogs/Tiras reactivas\\_Papeles reactivos/Br\\_Dip\\_ReadES.pdf](http://ftp.mn-net.com/espanol/Flyer_Catalogs/Tiras reactivas_Papeles reactivos/Br_Dip_ReadES.pdf).

**NAGER, M.** *Manual Peróxido.* [en línea]. [Consulta: 2 Enero 2021]. 2014, pp.1-2, Disponible en:<https://www.studocu.com/co/document/universidad-del-atlantico/bioquimica/otros/p-h-y-acidez-en-leche-2-apoyo-de-informe-de-laboratorio-quimica-de-los-alimentos/7320878/view>

**NEGRI, L.** *EL pH Y la acidez de la leche* [en línea]. [Consulta: 11 Enero 2021]. 2014, p. 3, Disponible en: [https://www.pig333.com/3tres3\\_common/tienda/doc/91333es.pdf](https://www.pig333.com/3tres3_common/tienda/doc/91333es.pdf).

**NTE INEN 1 529-14:98,** *Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie*

**NTE INEN 1529-1, 2013.** *Control Microbiológico De Los Alimentos .*

**NTE INEN 1529-5:2006.** *Control Microbiológico De Los Alimentos. Determinación De La Cantidad De Microorganismos Aerobios Mesófilos.* REP. Primera Edición. .

**NTE INEN 4, 1983.** *Leche y productos lácteos. Muestreo.*

**NTE INEN 9, 2012.** *Leche cruda. Requisitos.*

**PARRA, R.** *Bacterias Ácido Lácticas: papel funcional en los alimentos* [en línea]. [Consulta: 17 enero 2021]. 2010, pp.8-10, Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>

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

**PINZON FERNANDEZ, Alfredo.** *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]. (Trabajo de titulación). Universidad Nacional Abierta y a Distancia Facultad de Ciencias Agrarias Programa de Zootecnia Popayán 2006. pp.49 [Consulta:

06 de Septiembre 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 MSP.* [en línea]. [Consulta: 3 enero 2021]. 2013, pp.3, Disponible en:  
<http://www.competencias.gob.ec/wp-content/uploads/2017/06/06NOR2013-ACUERDO03.pdf>

**SALAZAR, D. Et al.,** *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC.* [en línea] 2017, Madrid, pp. 18. [Consulta: 22 de Noviembre 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)

**KEATING, P. & RODRIGUEZ, H.** *Introducción a la LACTOLOGÍA.* 2da. Ed. Monterrey - México: Limusa S.A, 2002, pp. 25-26

**RODRÍGUEZ VIZCAÍNO, Alison Yesenea.** “*Determinación de la inocuidad y calidad fisicoquímica de leche cruda en plantas procesadoras del cantón salcedo*” [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador , 201, pp.50 [Consulta: 04 de Enero 2021] Disponible en:  
[https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/24354/1/Tesis\\_70\\_Medicina\\_Veterinaria\\_y\\_Zootecnia\\_-CD\\_439.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/24354/1/Tesis_70_Medicina_Veterinaria_y_Zootecnia_-CD_439.pdf)

**RONDÓN, L. et al,** *Agentes adulterantes y conservadores en leche fluida,* Revista de la Facultad de Farmacia, Mérida- Venezuela, [en línea] 2003, Venezuela. pp.2. [Consulta: 12 de Enero 2021]. Disponible en: <http://revencyt.ula.ve/storage/repo/ArchivoDocumento/farma/v45n2/art9.pdf>

**REYES, G.;et al.** *Calidad de la leche cruda* [en línea] [Consulta: 6 enero 2021]. 2013, pp.3, Disponible en: [https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro\\_lechero/Bienvenida\\_files/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf](https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf)

**SABORÍO, A. Et al.,** *Respuesta en producción de leche relacionada al nivel de inclusión de alimento concentrado en la dieta de vacas lecheras de fincas asociadas a productores de monteverde S.A.* [en línea] 2015, Costa Rica, pp.8. [Consulta: 10 de Enero 2021]. Disponible en:  
<file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/DialnetRespuestaEnProduccionDeLecheRelacionadaANivelDeIn-5212278.pdf>

**SALIM, M. et al,** *Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública* Revista Salud Pública, Montería-Colombia, [en línea] 2009, Colombia. pp.2. [Consulta: 11 de Enero

2021]. Disponible en: <https://www.scielosp.org/pdf/rsap/2009.v11n4/579-590/es>

**SANTOS, A.** . *Leche y sus derivados*. 2a ed. México D.F.: 2002, pp. 107

**RONDÓN L. et al**, *Agentes adulterantes y conservadores en leche fluida*, Revista de la Facultad de Farmacia, Mérida- Venezuela, [en línea] 2003, Venezuela. pp.2. [Consulta: 12 de Enero 2021]. Disponible en: <http://revencyt.ula.ve/storage/repo/ArchivoDocumento/farma/v45n2/art9.pdf>

**SANTIAGO, M.** *Manual de normas de control de calidad de leche cruda* [en línea] [Consulta: 03 enero 2021]. 2007, pp.12, Disponible en : <http://www.liconsa.gob.mx/wp-content/uploads/2012/01/man-nor-cont-cal-lec-cruda-hist.pdf>

**SINGORINI, M et al**, *Utilización de microorganismos marcadores para la evaluación de las condiciones higiénico-sanitarias en la producción primaria de leche*, Revista Científica, Maracaibo- Venezuela, [en línea] 2008, Venezuela. pp.7. [Consulta: 17 de Enero 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/959/95918213.pdf>

**VARGAS CALI, Jhoana Paola.** “*Evaluación microbiológica comparativa del queso de hoja tradicional elaborado en una planta industrial y en una artesanal de la ciudad de Latacunga*” [en línea] (Trabajo de titulación). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2018. pp.35 [Consulta: 08 de Septiembre 2020] Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/8834/1/56T00769.pdf>.

**VERGARA ORDOGOISTIA, Javier;& PIMIENTA SANDOVAL, Alex.** *Caracterización e identificación de los microorganismos causantes de la fermentación en el suero costeño utilizando leche de vaca de dos regiones diferentes* [en línea]. (Trabajo de titulación). : UNIVERSIDAD DE LA SALLE. Bogotá D.C . 2018. pp.28-29 Disponible en: [https://ciencia.lasalle.edu.co/ing\\_alimentos](https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos)

**VIERA VALENCIA, Mario Agustín.** “*Parámetros de calidad de leche de vacuno en los distritos de Apata, Matahuasi y Concepción en el valle del Mantaro*” [en línea] (Trabajo de titulación). UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA , Lima , Perú. 2018. pp.8 [Consulta: 10 de Diciembre 2020] Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1751/Q04.V665T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**VILLEGAS; & SANTOS, 2009.** *Manual básico para elaborar productos lácteos*. Trillas, 1ra.

Ed. México: D.F.: 2009, pp.9-16

**WINGCHING, J.& MORA E.** *Efecto de agregar agua sobre el punto crioscópico y componentes de la leche cruda de vacas Jersey y Holstein* Revista UNED Research Journal, [en línea] 2019, Colombia. p. 6. [Consulta: 6 Enero 2021]. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/cinn/v11n3/1659-4266-cinn-11-03-00313.pdf>

## ANEXOS

### ANEXO A: Reconocimiento de las rutas del medio de transporte y del centro de acopio CA2.



Rutas de recolección del medio de transporte



Reconocimiento del centro de acopio CA2.



Toma de muestras de los proveedores



Limpieza y desinfección del tanque de enfriamiento y recipientes



**ANEXO C: Análisis microbiológicas de la leche cruda del centro de acopio CA2.**



Preparación de medio del cultivo



Preparación de las diferentes diluciones



Siembra de las muestras

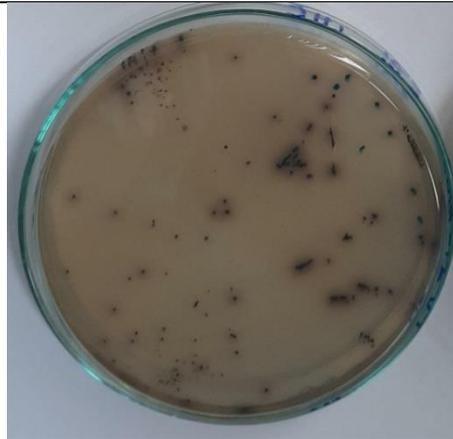


Recuento de los microorganismos

**ANEXO D:** Recuento en placa de los microorganismos presentes en la leche cruda



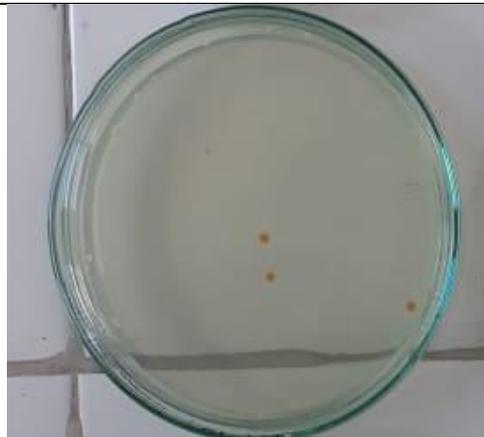
Recuento de colonias de Enterobacterias en agar MacConkey



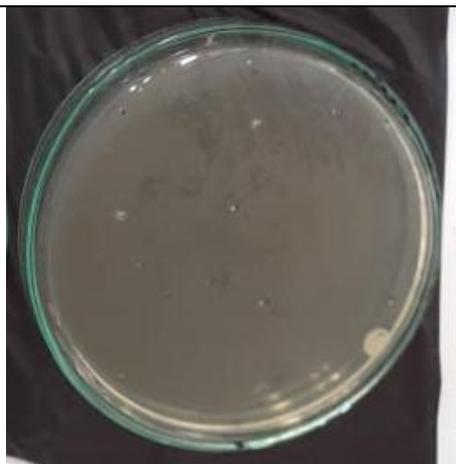
Recuento de colonias de *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker



Recuento de colonias de aerobios mesófilos en agar PCA (Plate Count Agar)



Recuento de colonias de mohos y levaduras en agar dextrosa saboraud



Recuento de colonias de *Lactobacillus* en agar MRS (Man Rogosa Sharpe)



Recuento de colonias de *Lactococcus* en agar M17

**ANEXO E:** Criterio de cumplimiento para el check list de medios de transporte del centro de acopio CA2.

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: (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p.110)

**ANEXO F:** Criterio de cumplimiento para el check list del centro de acopio CA2.

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: (MAGAP; & AGROCALIDAD, 2013, p.114)

**ANEXO G:** Fórmulas para los cálculos de los recuentos de los microorganismos

- Cuando el recuento es < 300 colonias

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

Dónde:

N= Número de UFC

$\sum C$ = 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, 2007, p.30).

- Cuando el recuento es >300 colonias

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

Dónde:

N= Número de UFC

C= suma 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, 2007, p.34).