



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA DE LECHE CRUDA MEDIANTE LACTOFERMENTACIÓN A NIVEL DE CENTROS DE ACOPIO EN LA PROVINCIA DEL CARCHI

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA
AGROINDUSTRIAL**

Autora: MAYRA ANABEL PÉREZ LOMAS

Director: ING. JOSÉ MANUEL PAÍS CHANFRAU, PhD

Ibarra – Ecuador



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA DE LECHE CRUDA MEDIANTE LACTOFERMENTACIÓN A NIVEL DE CENTROS DE ACOPIO EN LA PROVINCIA DEL CARCHI

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su
presentación como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO/A AGROINDUSTRIAL

APROBADA:

Ing. José Manuel País Chanfrau, PhD

DIRECTOR DE TESIS


.....
FIRMA

Dra. Lucía Cumandá Yépez Vásquez, MSc

ASESOR


.....
FIRMA

Ing. Jimmy Nuñez Pérez, MSc

ASESOR


.....
FIRMA

Ing. Miguel Vinicio Aragón Esparza, MSc

ASESOR


.....
FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto Repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar a los proyectos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo señalada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a su disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO

CÉDULA DE IDENTIDAD:	040186853-4
APELLIDOS Y NOMBRES:	Pérez Lomas Mayra Anabel
DIRECCIÓN:	Ibarra, Av. Cristóbal de Troya 4-11 y Prof. Julio Miguel Paredes
EMAIL:	anabelpl2@hotmail.com
TELÉFONO MÓVIL:	0939994486

DATOS DE LA OBRA

TÍTULO:	Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda mediante lactofermentación a nivel de centros de acopio en la provincia del Carchi
AUTOR:	Pérez Lomas Mayra Anabel
FECHA:	
PROGRAMA:	X PREGRADO POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniero Agroindustrial
DIRECTOR:	Ing. José Manuel País Chanfrau, PhD

2. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD

Yo, MAYRA ANABEL PÉREZ LOMAS, con cédula de identidad número 040186853-4 en calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca Universitaria con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión, en concordancia con la Ley de Educación Superior Artículo 144.

3. CONSTANCIAS

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que se asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 07 del mes de enero del 2019

Autor:



Mayra Anabel Pérez Lomas
040186853-4

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la Srta. Mayra Anabel Pérez Lomas, con cédula de ciudadanía N° 040186853-4 bajo mi supervisión.



Ing. José Manuel País Chanfrau, PhD

DIRECTOR DE TESIS



CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE GRADO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

Yo, Mayra Anabel Pérez Lomas, con cedula de ciudadanía N° 040186853-4, manifiesto mi voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autora de la obra o trabajo de grado denominado: **“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA DE LECHE CRUDA MEDIANTE LACTOFERMENTACIÓN A NIVEL DE CENTROS DE ACOPIO EN LA PROVINCIA DEL CARCHI.”** Que ha sido desarrollado para optar por el título de: INGENIERO AGROINDUSTRIAL en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribo este documento en el momento que hago entrega del final en formato impreso y digital a la Biblioteca e la Universidad Técnica del Norte.

Ibarra, a los 07 días del mes de enero del 2019

Mayra Anabel Pérez Lomas

040186853-4

DECLARACIÓN

Manifiesto que la presente obra es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto es original y que soy el titular de los derechos patrimoniales; por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldré en defensa de la Universidad Técnica del Norte en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 07 días del mes de Enero del 2019



Mayra Anabel Pérez Lomas

040186853-4

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por bendecirme la vida, por guiarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad. Gracias a mi madre: Mariela, por ser la principal promotora de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me ha inculcado.

A mi director de tesis Ing. José País, PhD por su ardua labor realizada en mi tesis, por las incontables horas de enseñanza y su infinita paciencia.

A mis asesores de tesis: Ing. Jimmy Núñez, Ing. Miguel Aragón Esparza, Dra. Lucia Yépez, Ing. Jimmy Cuarán quienes han contribuido con sus conocimientos a lo largo del desarrollo de mi trabajo de titulación.

Así mismo, deseo expresar mi reconocimiento a FUNDACIÓN ALPINA por el financiamiento y el apoyo técnico brindado durante la ejecución de la parte experimental del presente proyecto.

A todos mis amigos y familiares que me ayudaron de una manera desinteresada, gracias infinitas por toda su ayuda y buena voluntad.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN	viii
SUMMARY	x
CAPÍTULO I.....	11
1.1 PROBLEMA	11
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	12
1.3 OBJETIVOS.....	13
1.3.1	Objetivo
General.....	13
1.3.2	Objetivos
Específicos.....	13
1.4 HIPÓTESIS	14
1.4.1	Hipótesis
Nula.....	14
1.4.2	Hipótesis
Alternativa.....	14
CAPÍTULO II	15
2.1 LECHE	15
2.2 PRODUCCIÓN DE LECHE EN EL ECUADOR	15
2.3 CALIDAD DE LECHE.....	16
2.3.1 Calidad Composicional Fisicoquímica de la	
Leche.....	16

2.3.2	Calidad
Microbiológica.....	19
2.3.3 Control De Calidad De La Leche.....	20
2.3.4 Requisitos Microbiológicos De La Leche Cruda.....	20
2.4 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS EN OTROS PAÍSES	21
2.5 MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE	22
2.5.1 Microorganismos Propios de la Leche.....	22
2.5.2 Bacterias Patógenas.....	23
2.6 LEGISLACIÓN ECUATORIANA PARA PAGO DE LECHE CRUDA	24
2.7 PRUEBA DE REDUCTASA.....	26
2.8 PRUEBA DE LACTOFERMENTACIÓN	26
2.8.1 Coagulación Homogénea y Gelatinosa.....	26
2.8.2 Coagulación En Copos.....	27
2.8.3 Coagulación Gaseosa.....	27
2.8.4 Coagulación Gaseosa Y Con Copos.....	27
2.9 BUENAS PRÁCTICAS PECUARIAS.....	28
2.9.1 Ubicación, Infraestructura, Instalaciones, Equipos y Utensilios.....	28
2.9.2 El Ordeño Mecánico.....	28
2.9.3 El Ordeño Manual.....	29
2.9.4 Medidas Higiénicas y la Bioseguridad Del Predio.....	30
2.9.5 Calidad del Agua y Alimentación Animal.....	30
2.9.6 Bienestar y Salud Animal.....	30

2.9.7 Manejo de Productos de Uso Veterinario y Plaguicidas de Uso Agrícola.....	30
2.9.9 Documentos y Trazabilidad.....	31
2.10 LECHE CONTAMINADA Y/O MASTÍTICA EN LA INDUSTRIA LÁCTEA	31
2.10.1 Leche Fluída (Pasteurizada-UHT).....	31
2.10.2 Leche en Polvo y Condensadas.....	31
2.10.3 Quesos.....	32
CAPÍTULO III.....	33
3.1 CARACTERIZACIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO.....	33
3.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	34
3.3 MÉTODOS.....	35
3.3.1 Muestreo.....	35
3.3.2 Determinación de las Características Fisicoquímicas de la Leche Cruda.....	36
3.3.3 Contenido de Bacterias Totales y Células Somáticas en Leche Cruda.....	37
3.3.4 Determinación del Tipo de Lactofermentación Presente en la Leche de Proveedores.....	37
3.3.5 Relación entre el Contenido Bacteriano Total (CBT), Conteo De Células Somáticas (CCS) con los tipos de Lactofermentación de Leche Cruda.....	39
3.3.6 Uso Industrial para cada Tipo de Leche en base a sus Propiedades Físico-Químicas e Higiénico-Sanitarias.....	39
CAPÍTULO IV.....	40

4.1 CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA E HIGIÉNICO-SANITARIA DE LA LECHE CRUDA.....	40
4.2 RELACIÓN ENTRE EL CONTAJE BACTERIANO TOTAL (CBT), CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) CON LOS TIPOS DE PRUEBA DE REDUCTASA EXTENDIDA (PRE) DE LA LECHE CRUDA	51
4.2.1 Relación Entre El CBT, CCS con los Tipos de Prueba de Reductasa Extendida.....	51
4.2.2 Relación entre las Características Fisicoquímicas con los Tipos De Prueba de Reductasa Extendida.....	53
4.3 DEFINIR LA UTILIZACIÓN DE LA LECHE SEGÚN LAS CARACTERÍSTICAS FISCOQUÍMICAS. HIGIÉNICO SANITARIAS Y LACTOFERMENTATIVAS EN LA ELABORACIÓN DE LOS DIFERENTES DERIVADOS LÁCTEOS.....	56
CAPÍTULO V	59
5.1 CONCLUSIONES.....	59
5.2 RECOMENDACIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS	64
ANEXO 1. Norma INEN 009 Requisitos de Leche cruda	64
ANEXO 2. Tablas oficiales de pago al productor. MAGAP. 2010	71
ANEXO 3. Toma de muestras de leche para la determinación de las características fisicoquímicas e higiénico-sanitarias de la leche.....	74
ANEXO 4. Resultados de las características fisicoquímicas e higiénico-sanitarias de la leche por asociación.....	75
ANEXO 5. Encuestas a Centros de Acopio - control de mastitis	78
ANEXO 6. Control de temperatura en el centro de acopio Mariscal Sucre.....	80

ÌNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Producción de leche en el Ecuador por provincia.....	16
Tabla 2	Composición de la leche de vaca	17
Tabla 3	Rangos de calidad de leche por composición	18
Tabla 4	Requisitos fisicoquímicos para la leche cruda	18
Tabla 5	Rangos de Calidad de Leche por CBT	19
Tabla 6	Rangos de Calidad de leche por CCS	20
Tabla 7	Pruebas de plataforma en centros de acopio de leche cruda	20
Tabla 8	Requisitos microbiológicos para la leche cruda.....	20
Tabla 9	Requisitos fisicoquímicos e higiénicos de leche cruda en Colombia	21
Tabla 10	Requisitos fisicoquímicos de leche cruda en Argentina	22
Tabla 11	Funciones de los Estreptococos spp.....	23
Tabla 12	Funciones de los Lactobacillus spp.....	23
Tabla 13	Bacterias patógenas y sus efectos	24
Tabla 14	Rangos de calidad por Test de reductasa	26
Tabla 15	Ubicación del área de estudio	33
Tabla 16	Información de los Centros de Acopio de leche	35
Tabla 17	Métodos para determinar las características fisicoquímicas de la leche.....	36
Tabla 18	Pruebas para determinar la calidad higiénico - sanitaria.....	37
Tabla 19	Tipos de coagulación de prueba de lacto fermentación	38
Tabla 20	Estado Sanitario de la Ubre según el CCS/ml.....	42
Tabla 21	Resultado de la prueba de la reductasa	44
Tabla 22	Composición aproximada de la leche de vaca utilizada para leches fermentadas	57
Tabla 23	Tabla oficial de pago al productor por componentes de la leche.....	71
Tabla 24	Tabla oficial de pago al productor por CBT de leche	72
Tabla 25	Tabla oficial de pago al productor por UFC	72
Tabla 26	Tabla oficial de pago al productor por Reductasa.....	73
Tabla 27	Promedio mensual de CCS por asociación	75

Tabla 28 Promedio mensual de CBT por asociación.....	75
Tabla 29 Resultados de la prueba de Reductasa por asociación	75
Tabla 30 Promedio mensual de grasa por asociación	76
Tabla 31 Promedio mensual de sólidos totales por asociación.	76
Tabla 32 Promedio mensual de proteína por asociación.....	76
Tabla 33 Promedio mensual de densidad por asociación.....	77
Tabla 34 Promedio mensual de Acidez por Asociación	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Pago por litro de leche al productor por: (A) y (B) por componentes; (C) Contenido de Bacterias Totales; (D) Unidades Formadoras de Colonias; (E) horas de reducción del azul de metileno.....	25
Figura 2 Tipo de Coágulos (A) homogéneo-gelatinoso y líquido; (B) con copos; (C) gaseoso (D) con copos + gaseoso	28
Figura 3 Promedio del contenido de células somáticas la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.....	41
Figura 4 Promedio de la grasa de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.....	43
Figura 5 Promedio de la grasa de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.....	44
Figura 6 Promedio de la grasa de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.....	46
Figura 7 Promedio de los sólidos totales de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la	

norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.....	47
Figura 8 Promedio de la proteína de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.....	48
Figura 9 Promedio de la grasa de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.....	49
Figura 10 Promedio de la acidez de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.....	50
Figura 11 Gráficos de la frecuencia de ocurrencia de: (A) Células Somáticas, (B) Bacterias Totales, (C) Prueba de reductasa. Leyenda: ◆ PRE1 – coágulo gelatinoso; ■ PRE2 – coágulo gaseoso; ▲ PRE3 - con copos; ● PRE4 – con copos + gaseoso; Línea vertical entrecortada roja: valor máximo que exige la Norma INEN; Línea y punto vertical verde: valor mínimo que exige la norma INEN.....	52
Figura 12 Gráficos de la frecuencia de ocurrencia de: (A) Grasa (B) Sólidos Totales, (C) Proteína, (D) Densidad, (E) Acidez. Leyenda: ◆ PRE1 – coágulo gelatinoso; ■ PRE2 – coágulo gaseoso; ▲ PRE3 - con copos; ● PRE4 – con copos + gaseoso; Línea vertical discontinua roja: valor máximo que exige la Norma INEN; Línea y punto vertical verde: valor mínimo que exige la norma INEN.....	53

Figura 13 Tiempo promedio de reducción de azul de metileno. PRE1: coágulo gelatinoso, PRE2 – PRE3: coágulo con copos y gaseosa, PRE4: coágulo con copos + gaseoso	54
Figura 14 Influencia de CBT en el tiempo de reducción de azul de metileno.....	55
Figura 15 Tipos de coágulo según CBT y CCS: (A) coágulo gelatinoso, (B) coágulo con copos, (C) coágulo gaseoso, (D) coágulo con copos y gaseoso.....	56
Figura 16 (A) Toma de muestra de leche, (B) preparación de muestra de leche para la prueba de reductasa y azul de metileno, (C) Muestras en la incubadora, (D) Lectura de los coágulos de lactofermentación.	74

RESUMEN

La calidad de la leche para uso industrial debe tener valores mínimos aceptables de contenido de proteínas, grasa, sólidos totales, y contenidos máximos de bacterias totales y células somáticas. Los ensayos para determinar estos parámetros se realizan en laboratorios acreditados. Las asociaciones ganaderas agrupan a ganaderos individuales de las zonas rurales y se localizan lejos de estos laboratorios. Se muestreó durante 8 meses consecutivos a seis asociaciones ganaderas. Se tomaron 616 muestras, a las que se le determinó: porcentaje de sólidos totales (%ST), proteína total, grasa, acidez, prueba de la reductasa y densidad; así como, contenido de bacterias totales (CBT, cel/ml) y células somáticas (CCS, cel/ml). Adicionalmente, se le realizó a cada muestra la prueba de la lactofermentación (LF) (10 ml de muestra, se incubaron a 37°C por 24 h, con 0.5 ml de azul de metileno). Como resultado de esta prueba se produce un coágulo que puede ser clasificado en una de las siguientes cuatro categorías: coágulo gelatinoso (normal), con copos, gaseoso y con copos + gaseoso. Del total de muestras, el 43.3% clasificó como coágulo normal, el 21.8% como coágulo con copos, el 18.7% como coágulo gaseoso y el resto (16.2%) como coágulo con copos + gaseoso. De las muestras que presentaron coágulo normal, el 95% presentó valores de CBT y CCS que la ubican como leche de primera calidad ($CBT \leq 300 \times 10^3$ cel/ml y $CCS \leq 300 \times 10^3$ cel/ml), mientras que, el 5% tuvo valores de uno de los parámetros que superaba ligeramente el valor umbral de calidad. Las muestras que presentaron coágulo con copos cumplían con el umbral de primera calidad de CBT, sin embargo, excedían los valores permitidos de CCS, mientras que, las de coágulo gaseoso cumplen con los valores de CCS, pero sobrepasan los límites aceptables de CBT. Por último, las muestras con coágulos con copos + gaseosos, sobrepasan ampliamente los valores permitidos de CBT y CCS. Se demostró, por tanto, que la prueba de la lactofermentación ofrece información certera de la calidad microbiológica de la leche, sin embargo, las características físico-químicas de la leche no afectan el tipo de coágulo formado. Adicionalmente, esta prueba es barata (0.46 USD/muestra (LF) vs 9.53 USD/muestra (laboratorio)), fácil

de realizar y rápida (1 día (LF) vs 3 días (laboratorio)); y puede ser implementada por las asociaciones para autoevaluar la calidad microbiológica de la leche, tanto de los ganaderos individuales, como de toda la asociación.

SUMMARY

The quality of milk for industrial use should have minimum acceptable values of protein content, fat, total solids, and maximum contents of total bacteria and somatic cells. The tests to determine these parameters are carried out in accredited laboratories. The livestock associations' group individual farmers in rural areas, which are located far from these laboratories. A total of six livestock associations were sampled during 8 consecutive months. 616 samples were taken, in which were determined: percent of total solids (%ST), total protein, fat, acidity, reductase and density; as well as, total bacterial counts (TBC, cells/mL) and somatic cell counts (SCC, cells/mL). Additionally, each sample was tested for lactofermentation (LF) (10 mL of sample, incubated at 37°C for 24 h, with 0.5 mL of methylene blue). As a result of this test, a clot is produced that can be classified into one of the following four categories: gelatinous (normal), flaky, gaseous, and flaky + gaseous. Of the total samples, 43.3% classified as a normal clot, 21.8% as a clot with flakes, 18.7% as a gaseous clot and the rest (16.2%) as clot with flakes + gas. Of the samples that presented normal clot, 95% presented values of TBC and SCC that place it as first quality milk ($TBC \leq 300 \times 10^3$ cells/mL and $SCC \leq 300 \times 10^3$ cel/ml), while, 5% had values of one of the parameters that slightly exceeded the quality threshold value. The samples that presented coagulum with flakes fulfilled the threshold of first quality of TBC, however, exceeded the allowed values of SCC, while those of coagulum gaseous comply with the values of SCC, but exceed the acceptable limits of TBC. Finally, the samples with clots with gaseous + flakes, widely exceed the allowed values of TBC and SCC. It was demonstrated, therefore, that the lactofermentation test offers accurate information on the microbiological quality of the milk; however, the physical-chemical characteristics of the milk do not affect the type of clot formed. Additionally, this test is cheap (0.46 USD/sample (LF) vs 9.53 USD/sample (laboratory)), easy to perform and fast (1 day (LF) vs 3 days (laboratory)); and can be implemented by associations to self-assess the microbiological quality of milk, in both; individual farmers, and the entire association.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 PROBLEMA

La leche se considera uno de los alimentos más completos que la naturaleza ofrece, principalmente por sus grandes aportes de proteína y vitaminas, esenciales para la buena nutrición (Hazard, 2017). La inocuidad de la leche viene a ser un atributo particular e indispensable en el sistema de producción de leche.

Las malas prácticas de ordeño tiene como consecuencia la presencia de alta carga bacteriana y problemas de mastitis (Butendieck, 2016). El resultado, provoca la baja calidad higiénico-sanitaria de la leche, lo que trae como consecuencia, mermas y precios bajos en la comercialización de la leche, lo que hace que la producción no cubra siquiera los costos de producción.

En la actualidad, la calidad higiénico-sanitaria de la leche no es controlada en los centros de acopio ya que, no se dispone de las pruebas de laboratorio donde se posibilite reconocer aquella leche inaceptable, la cual, al mezclarse con otras, altera la leche de buena calidad en los tanques de enfriamiento. El efecto de la mezcla de leche de alto conteo de células somáticas con leche de bajo conteo de células somáticas y afecta a la leche al mezclarse en el tanque de recepción, afectando el promedio final de conteo de células somáticas (Garcia, 2004).

La empresa láctea, por su parte, realiza el control de la calidad higiénica de la leche aprovisionada y los resultados de estos análisis se entregan en reportes quincenales a los productores, pero esta información, obtenida *a posteriori*, impide una toma de decisiones preventivas y correctivas por parte de los ganaderos.

La leche con mastitis y con alta carga bacteriana es perjudicial para la industria láctea, ya que puede derivarse en bajos rendimientos en la elaboración de derivados lácteos (García, 2004).

La baja calidad higiénico-sanitaria de la leche también afecta al producto final presentando características no deseadas como sabor, textura y olores extraños, teniendo como efecto devoluciones y aún más perjudicial la pérdida de prestigio de la empresa.

1.2 JUSTIFICACIÓN

Para los ganaderos que entregan la leche en los centros de acopio sería conveniente saber cuál es la calidad de leche que producen. Esta información puede ser obtenida mediante pruebas de laboratorio que muestren la calidad higiénico-sanitaria de la leche entregada.

La lacto-fermentación es una prueba rápida, sencilla, bajo costo y de fácil acceso para los productores. También se le conoce como la prueba de la reductasa extendida (PRE), pues se realiza de manera similar a la de a prueba de la reductasa, pero extendiendo el tiempo de la lacto-fermentación, hasta las 24 h. Es una prueba visual y cualitativa, que se basa en el tipo de coágulo que se forma en la leche tras calentarla por 24 h a 37°C. Esta prueba genera información acerca de la aptitud de la leche para la elaboración de productos lácteos de buena calidad (Dilanjan, 1984).

Este procedimiento se puede implementar en los centros de acopio y permite tener un monitoreo *in situ* de la calidad higiénico-sanitaria de leche y constituye un indicador cualitativo de las buenas prácticas de ordeño del ganadero. Adicionalmente, la lacto-

fermentación puede indicar potenciales problemas asociados a un alto conteo bacteriano y puede indicar la presencia de mastitis en el ganado lechero, aspectos que se relacionan directamente con la calidad de leche producida.

El presente trabajo de investigación intentará establecer una correlación entre parámetros cuantitativos de la leche, como son el CBT, el CCS y la prueba de la reductasa, con respecto a la prueba cualitativa de la lacto-fermentación. Esto permitirá de manera barata, rápida y eficaz, conocer la calidad de la leche acarreada en los centros de acopio, contribuyendo así a la mejora de los índices de calidad higiénico-sanitaria de la leche.

Mediante la implementación de la prueba de la reductasa extendida (PRE) o prueba de la lacto-fermentación, pudieran ejecutarse acciones preventivas y correctivas en el hato lechero con aquellos ganaderos cuya leche no cumpla con la calidad requerida, en cuanto a buenas prácticas de ordeño y salud animal, lo que beneficiará tanto a productores según lo dispuesto por AGROCALIDAD al pago por calidad composicional e higiénica de la leche, como a la industria láctea evitando pérdidas por rendimiento.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Evaluar la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda mediante lactofermentación a nivel de centros de acopio en la provincia del Carchi.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar las características fisicoquímicas e higiénico sanitarias de la leche cruda.
- Determinar la correlación entre el Contaje Bacteriano Total (CBT), contaje de células somáticas (CCS) y los tipos de lactofermentación de leche cruda.

- Definir la utilización de la leche según las características fisicoquímicas, higiénico sanitarias y lactofermentativas en la elaboración de los diferentes derivados lácteos.

1.4 HIPÓTESIS

1.4.1 Hipótesis Nula

Los Conteos de Bacterias Totales (CBT) $>300\ 000$ cel/ml y de Células Somáticas (CCS) $>300\ 000$ cel/ml no influyen en el tipo de lacto-fermentación de la leche cruda.

1.4.2 Hipótesis Alternativa

Los Conteos de Bacterias Totales (CBT) $>300\ 000$ cel/ml y de Células Somáticas (CCS) $300\ 000$ cel/ml influyen en el tipo de lacto-fermentación de la leche cruda.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 LECHE

La leche es un producto excepcional para la alimentación. La humanidad ha adoptado a la leche, especialmente la proveniente del ganado bovino, como alimento para todas las edades (Singh & Bennett, 2002). Entre los derivados más consumidos por la humanidad están el queso, yogurt, mantequilla, etc. (Torres, 2009).

2.2 PRODUCCIÓN DE LECHE EN EL ECUADOR

La producción de leche del Ecuador en el 2014 contabilizó un total de 5.60 millones de litros diarios, de los cuales, el 67.73% se destinó a la venta en líquido y el restante, para otros fines, como la alimentación de becerros o procesado en los mismos terrenos (Pro-Ecuador, 2016). Para el año 2015, el Centro de la Industria Láctea (CIL) estima que el sector ganadero produjo 5.90 millones de litros de leche por día, mientras que el pasado 2016 fueron 5.50 millones, un 7% menos en la producción de leche cruda (Cil, 2017) (Tabla 1).

Tabla 1 Producción de leche en el Ecuador por provincia

Producción de leche por provincia		
Provincia	Vacas ordeñadas	Leche (m³)
Azuay	176 661	814.3
Pichincha	81 570	715.4
Manabí	188 104	642.5
Cañar	81 878	489.6
Cotopaxi	59 174	429.1
Chimborazo	64 156	408.7
Otros	347 494	2 096.7
Total	999 037	5 596.4

Fuente: Encuesta de Superficie y producción Agropecuaria Continua, INEC, 2016

La provincia del Carchi tiene una participación importante en relación a la producción de leche dentro de la Zona de Planificación 1 del Ecuador, genera 437 094 litros diarios de leche. El ganado criollo es el predominante, con una producción promedio de leche 10 l/día por vaca, rendimientos bastante más bajos que los que se tienen a nivel internacional de 35 l leche/día por vaca en producción inicial (Sagarpa, 2014).

2.3 CALIDAD DE LECHE

En el concepto de aseguramiento total de la calidad en la cadena agroalimentaria de la leche bovina, se debe tener en cuenta referentes de calidad en términos de la composición química y su relación con el aporte nutricional y su caracterización como materia prima para el procesamiento tecnológico (Tellez, 2005).

2.3.1 CALIDAD COMPOSICIONAL FISICOQUÍMICA DE LA LECHE

La leche es una sustancia coloidal formada por distintos componentes químicos: proteínas, grasas, azúcares, vitaminas y minerales (Gigli, 2014) (Tabla 2).

Tabla 2 Composición de la leche de vaca

Composición %	
Agua	87.0
Grasa	4.0
Proteína	3.5
Lactosa	4.7
Ceniza	0.8

Fuente: Eidualimentaria, 2015

2.3.1.1 Agua

El agua es el componente con mayor porcentaje de la leche, donde se encuentran en solución, suspendidas o en emulsión los demás componentes de la leche. La técnica de la determinación del agua en la leche se llama crioscopia y ha sido también adoptada en el examen de la leche para determinar posibles adulteraciones de la leche por adición de agua (Agudelo, 2005).

2.3.1.2 Grasa

Los lípidos de la leche son importantes porque transportan las vitaminas liposolubles D, E, K y A que enriquecen el poder nutritivo de la leche (Gigli, 2014).

2.3.1.3 Proteína

La proteína láctea es una mezcla de numerosas fracciones proteicas diferentes y de pesos moleculares distintos. Las proteínas se clasifican en dos grandes grupos: caseínas 80% y proteínas del suero 20% (Agudelo, 2005).

2.3.1.4 Lactosa

La lactosa es el componente más abundante de la materia seca de la leche, esto es, de los sólidos totales. En la leche de vaca se encuentra en una concentración aproximada de 45 a 50 g/l, es un carbohidrato raro en la naturaleza, y solo se halla en la leche (Gante, 2004).

2.3.1.5 Sólidos totales

Según Téllez (2005), existe una correlación negativa entre el contenido de sólidos de la leche y la producción. Las razas especializadas en producción de leche, la producen con menor contenido de sólidos que las de doble propósito o las vacas criollas

(Castellanos, 2010). El contenido de sólidos también varía con la fase de lactancia, siendo mayor al inicio y al final de ésta. Normalmente se espera tener valores de 11.5 a 12.0% para las razas de alta producción y de 12.0 a 13.0% para las de baja producción.

AGROCALIDAD clasifica los componentes de la leche en tres rangos diferentes para determinar su calidad composicional (Tabla 3).

Tabla 3 Rangos de calidad de leche por composición

	Calidad Baja	Calidad Media	Calidad Alta
Sólidos Totales (%)	≤11.20	11.21 – 11.70	11.71 – 12.70
Grasa (%)	≤ 3	3.1 – 3.7	3.71 – 4.5
Proteína (%)	≤2.90	2.91 – 3.5	3.51 – 4.0
Sólidos no Grasos (%)	≤8.20	8.21 – 8.70	8.71 – 9.70

Fuente: AGROCALIDAD, 2016

Según la norma ecuatoriana INEN 09 para la leche cruda, se debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la Tabla 4. Ver anexo 1.

Tabla 4 Requisitos fisicoquímicos para la leche cruda

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa	-	1.029	1.033	
A 15 °C	-	1.028	1.032	NTE INEN 11
A 20° C	-			
Materia grasa	%(m/m)	3.0	-	NTE INEN 12
Acidez Titulable	%(m/m)	0.13	0.17	NTE INEN 13
Sólidos totales	%(m/m)	11.2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	%(m/m)	8.2	-	*
Cenizas	%(m/m)	0.65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación	°C	-0.536	-0.512	
	°H	-0.555	-0.530	NTE INEN 15
Proteínas	%(m/m)	2.9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa	H	4	-	NTE INEN 18

Fuente: INEN, 2015

Las características de la leche varían en función de aspectos de tipo genético, fisiológico y ambiental.

2.3.2 CALIDAD MICROBIOLÓGICA

La calidad microbiológica de la leche se refiere a la cantidad y tipo de bacterias presentes en la leche como consecuencia del manejo durante el ordeño.

La leche cruda puede considerarse un producto vivo, ya que contiene un gran número de microorganismos por mililitro; esto es lo que se denomina carga microbiana (Gante, 2004).

Entre los microorganismos presentes en la leche están los estreptococos, lactobacilos y bacterias patógenas.

2.3.2.1 *Conteo Bacteriano Total*

El conteo bacteriano total (CBT) de una leche es indicativo, entre otros, del estado de salud del rebaño, de la calidad higiénico-sanitaria de la granja (por ejemplo, limpieza del equipo de ordeño) y la temperatura de almacenamiento de la leche en la granja (Berry, 2006).

AGROCALIDAD maneja una tabla de rangos para determinar la calidad de leche por Conteo Bacteriano Total (Tabla 5).

Tabla 5 Rangos de Calidad de Leche por CBT

Rangos de calidad de leche por CBT (cel/ml)		
Calidad alta	Calidad media	Calidad baja
CBT ≤ 300 000	300 000 > CBT ≥ 600 000	CBT > 600 000

Fuente: (AGROCALIDAD, Mapas Calidad de Leche Cruda, 2016)

2.3.2.2 *Conteo de Células Somáticas*

El contenido de células somáticas (CCS) de la leche es un factor que ayuda a conocer el estado sanitario de la ubre de la vaca (Kleinschroth, 1991).

La mastitis bovina es una de las enfermedades más importantes que atacan al ganado vacuno y que afecta económicamente a los hatos lecheros. Elevados valores de CCS, son un indicador confiable de la salud de la ubre y como consecuencia, de la posterior calidad de la leche (Bradley & Green , 2005) Por lo tanto, elevados valores de CCS reducen el precio de comercialización de la leche (Olguín, 2017). La leche normal

proveniente de cuartos sanos generalmente contiene menos de 300 000 cel/ml. Valores de células somáticas por encima de 300 000 cel/ml es un indicador de la inflamación y enfermedad de la ubre (Romero, 2016).

Tabla 6 Rangos de Calidad de leche por CCS

Rangos de calidad de leche por CCS (cel/ml)		
Calidad alta	Calidad media	Calidad baja
CCS ≤ 300 000	300 000 > CCS ≥ 700 000	CCS > 700 000

Fuente: AGROCALIDAD, 2016

2.3.3 CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE

Existen diferentes pruebas indicadoras para la detección de la carga microbiana, densidad de la leche, porcentaje de sólidos totales, etc. (Tabla 7).

Tabla 7 Pruebas de plataforma en centros de acopio de leche cruda

PRUEBA	MÉTODO	UNIDAD
Acidez	Titulación	° Dornic
Materia Grasa	Gerber	%
Sólidos totales	Contenido de Materia seca (Estufa)	%
Densidad	Termolactodensímetro	g/ml
De la Reductasa	Reducción del azul de metileno	Horas
Lactofermentación	Coagulación	Tipo de coágulo

2.3.4 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DE LA LECHE CRUDA

La norma INEN 09 (Ver ANEXO 1) indica los requisitos microbiológicos que la leche cruda debe cumplir (Tabla 8).

Tabla 8 Requisitos microbiológicos para la leche cruda

Microorganismos	Caso	n	C	m	M	Método de ensayo
Recuento de colonias aerobias	2 ^a	5	2	2 x 10 ⁴	5 x 10 ⁴	NTE INEN 1529-5
<i>Enterobacteriaceae</i> (UFC/g)	6 ^b	5	1	10	10 ²	NTE INEN-ISO 21528-2
<i>S. aureus</i>	7 ^c	5	2	10	10 ²	NTE INEN 1529-14

Recuentos de células somáticas/ml < 5 x 10⁵ ISO 13366-1

n número de muestras a analizar

m límite de aceptación

M límite superado el cual se rechaza

c número máximo de muestra admisibles con resultados entre m y M

^a Caso 2. Utilidad: contaminación general, vida útil reducida en percha, deterioro incipiente.

^b Caso 6. Indicador: riesgo bajo o indirecto.

^c Caso 7. Riesgo moderado: directo, propagación limitada.

Fuente: INEN, 2015

La leche debe recolectarse, almacenarse y transportarse en recipientes que eviten la introducción de contaminantes, fácil limpieza y desinfección y de uso exclusivo para leche.

2.4 REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS EN OTROS PAÍSES

El mercado mundial del sector lácteo muestra una evidente tendencia hacia la obtención de leche y productos de alta calidad con el objetivo de resguardar la salud de sus consumidores, minimizando la transmisión de enfermedades provenientes de los alimentos y a la vez obtener productos terminados de gran valor comercial, capaces de generar ingresos sustentables para sus productores.

Así, varios países de Latinoamérica logran acuerdos entre las partes de producción, industria y el estado, priorizando entre sus objetivos un sistema de pago por calidad de leche cruda, basándose principalmente en un conjunto de parámetros composicionales e higiénicos sanitarios. Y entre estas naciones tenemos:

Colombia

Los valores de los parámetros normales de acuerdo a las normas colombianas (Ministerio de Protección Social Colombia, 2006) se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9 Requisitos fisicoquímicos e higiénicos de leche cruda en Colombia

Requisitos	Valor
Proteína %	≥ 2.9
Grasa %	≥ 3.0
Sólidos Totales %	≥ 11.30
Bacterias aerobias UFC/ml	≤ 7·10 ⁵

Fuente: MINISTERIO DE PROTECCIÓN SOCIAL COLOMBIA, 2016

Argentina

En la Tabla 10 se muestran los requisitos de calidad de la leche cruda en Argentina (Artículo 555- (Res Conj. SPyRS y SAGPA N°33/2006 Y N° 563/2006).

Tabla 10 Requisitos fisicoquímicos de leche cruda en Argentina

Requisito	Valores aceptados	Método de análisis
Densidad a 15°C	1.028 a 1.034	AOAC 16 th Ed. 925.22
Materia grasa*	Mínimo 3.0 g/100 cm ³	FIL 1C: 1987
Extracto seco no graso**	Mínimo 8.2 g/100 g	FIL 21 B: 1987
Acidez (g. de ácido láctico/100 cm ³)	0.14 a 018	AOAC 16a Ed. 947.05
Descenso crioscópico	Máximo - 0.512 °C (equivalente a - 0.530°H)	FIL 108B: 1991
Proteínas Totales (N x 6.38)**	Mínimo 2.9 g/100 g	FIL 20B: 1993

* En condiciones excepcionales podrá ser comercializada leche con un contenido graso inferior al 3% si la autoridad sanitaria provincial, previo estudio de evaluación, lo considera aceptable para su jurisdicción. En dicho caso el contenido de materia grasa deberá ser declarado en el rotulado con letras de buen tamaño realce y visibilidad.

** Podrá ser expresado en su equivalente en g/100 cm³ tomando para la conversión el valor de densidad (a 15°C) correspondiente.”

Fuente: Código Alimentario Argentina, 2006

2.5 MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE

En la leche cruda los microorganismos que predominan y se ven favorecidos para su crecimiento son las bacterias, se puede encontrar diversos géneros y especies bacterianas; las de mayor importancia en la industria láctea son las: bacterias lácticas y las bacterias coliformes (Heer, 2007).

2.5.1 MICROORGANISMOS PROPIOS DE LA LECHE

Los microorganismos existentes en la leche son agentes responsables de los sabores, aromas y características físicas de la leche deseables que aparecen en el producto final. Entre las más importantes están:

2.5.1.1 *Streptococos*

Son bacterias responsables de la acidificación de la leche o de los productos lácteos. Son encontrados principalmente en leche cruda. Causan algunos cambios deseables en la mantequilla, queso y leche fermentada, que dan como resultado, aromas y sabores agradables.

Tabla 11 Funciones de los *Streptococcus spp.*

Microorganismo	Uso
<i>Streptococcus lactis</i>	Olor y sabor a la mantequilla
<i>Streptococcus cremoris</i>	Maduración de quesos
<i>Streptococcus diacetylactis</i>	Sustancias aromáticas en la mantequilla
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Junto con el <i>Lactobacillus bulgaricus</i> forman el cultivo de yogurt.
<i>Streptococcus bovis</i>	Maduración de los quesos

Fuente: APROCAL, 2015

2.5.1.2 *Lactobacilos*

Son bacterias en forma de bastones que crecen en el suero de los quesos. Son anaerobios, no móviles, no esporulados, su tamaño varía. Se encuentra en la leche y sus productos. Entre los más importantes están:

Tabla 12 Funciones de los *Lactobacillus spp.*

Microorganismo	Uso
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Sabor y aroma en el yogurt
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Forma ácido láctico
<i>Lactobacillus casei</i>	Maduración de los quesos; coagula la leche a temperatura ambiente.
<i>Lactobacillus brevis</i>	Maduración de quesos

Fuente: APROCAL, 2015

2.5.2 BACTERIAS PATÓGENAS

Según Papademas (2015), la leche es un medio ideal para el crecimiento de una variedad de microorganismos patógenos, está expuesta a un sin número de contaminaciones.

Tanto la leche, como la totalidad de los productos lácteos, sufren fuertes y variadas alteraciones en su capacidad higiénica, nutritiva, química y física en su capacidad de conservación por acción de los microorganismos que pueden originar sabores extraños y defectos físicos en los productos lácteos.

Ciertos microorganismos de diversas especies son capaces de actuar sobre los azúcares de la leche a través de fenómenos de fermentación produciéndose ácido láctico y alcohol como elementos finales de la degradación de la lactosa.

Tabla 13 Bacterias patógenas y sus efectos

Microorganismo	Fuente de contaminación	Efecto
- <i>Streptococos</i>	- Utensilios sucios	Producción de ácido en la leche.
- <i>Lactobacilos</i>	- Piel y pelos de animal	
- <i>Microbacterium lactium</i>	- Estiércol	
- <i>Micrococo luteos</i>		
- Varians		
- Coliformes	- Estiércol	Producción de gas en el proceso de fermentación
- <i>Clostridium</i>		

Fuente: Dairy Microbiology Handbook, 2002

Los efectos de la producción de gas no se limitan sólo a la acción de las bacterias que lo producen en la leche fresca, sino que también pueden actuar sobre otros productos elaborados como queso y cremas alterando su calidad.

2.6 LEGISLACIÓN ECUATORIANA PARA PAGO DE LECHE CRUDA

El Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca del Ecuador (MAGAP) mediante acuerdo ministerial Número 394 acuerda “regular y controlar el precio del litro de leche cruda pagado en finca y/o centro de acopio al productor y promover la calidad e inocuidad de la leche cruda”.

En el Artículo número 3 de este acuerdo ministerial, se establece como Tabla Oficial Obligatoria para el pago por litro de leche al producto en finca o centro de acopio por componentes, cuanto más alto sea el porcentaje de grasa y proteína mayor será el pago del litro de leche (Tabla 41, en Anexo 2).

Sin embargo, la grasa y la proteína no son los únicos componentes que determinan el precio de leche, la calidad higiénica de la leche es parte importante para el pago a los productores ganaderos, la tabla de pagos está dividida en rangos que determinan la calidad y conforme sube la cantidad de CBT baja el precio a pagar, (ver Tabla 42, en Anexo 2), así mismo sucede con las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), bacterias vivas presentes en la leche (Tabla 43, en Anexo 2).

También se pagará dependiendo de las horas que haya tardado en cambiar de color el azul de metileno, entre menos tiempo de decoloración menos es el precio a pagar por litro de leche (Tabla 44, en Anexo 2).

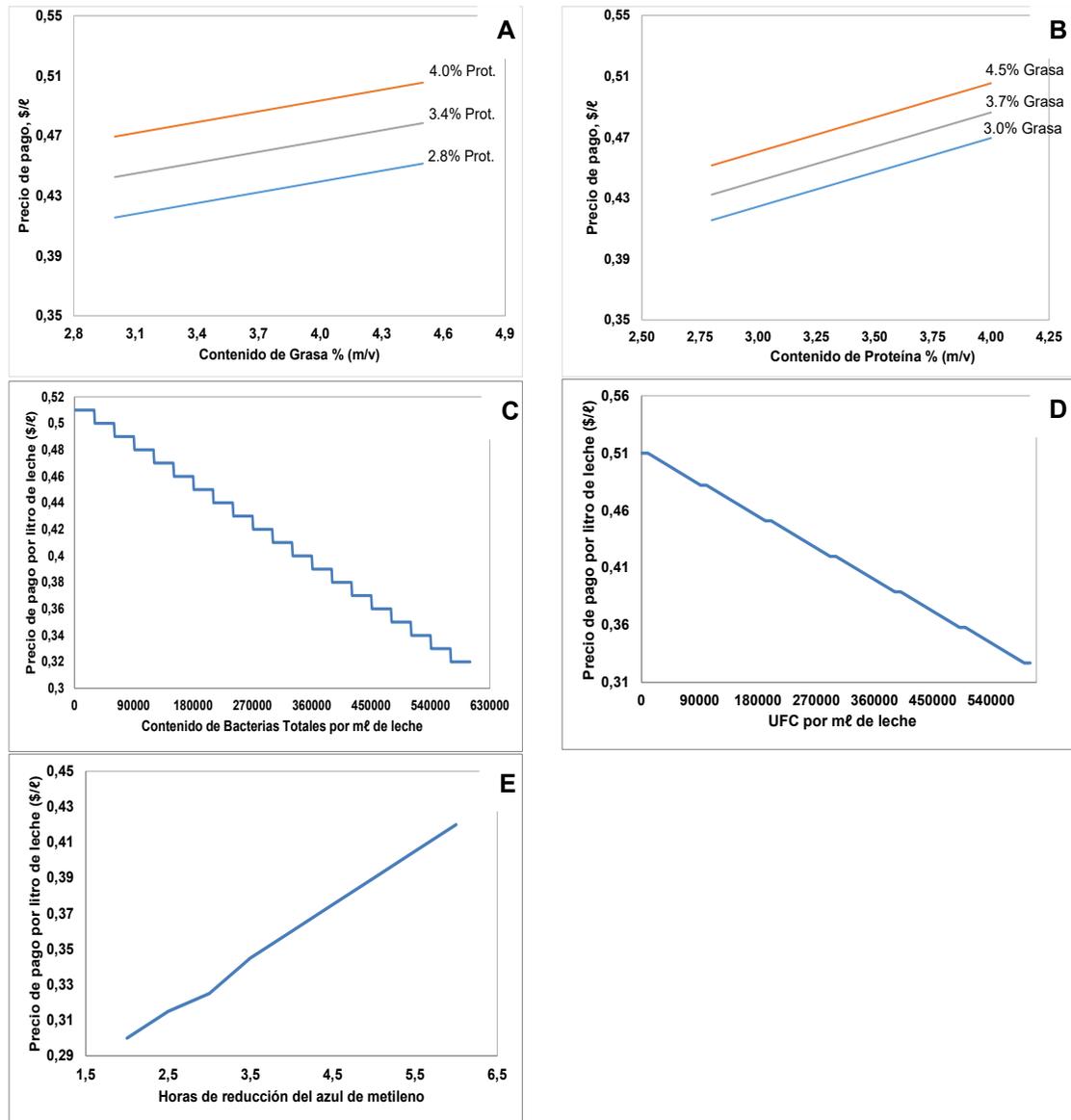


Figura 1 Pago por litro de leche al productor por: **(A)** y **(B)** por componentes; **(C)** Contenido de Bacterias Totales; **(D)** Unidades Formadoras de Colonias; **(E)** horas de reducción del azul de metileno.

2.7 PRUEBA DE LA REDUCTASA

La prueba de reducción de azul de metileno indica la variación de potencial de óxido-reducción en la leche por cambios en la tonalidad del colorante en solución, dependiendo de la actividad reductora de los microorganismos y de las sustancias reductoras presentes en la leche. La reductasa es una enzima que reduce el azul de metileno. Cuantos más microorganismos contenga la leche, antes se decolora el azul de metileno; la temperatura óptima para reducción por la reductasa es entre 37 y 38°C.

Tabla 14 Rangos de calidad para la prueba de la reductasa.

	Calidad alta	Calidad media	Calidad baja
Prueba de la Reducción de azul de metileno (t_{TRAM}), h	$t_{TRAM} > 5$ Excelente	$3 < t_{TRAM} \leq 5$ Buena $1 < t_{TRAM} \leq 3$ Aceptable	$t_{TRAM} < 1$ No apta

2.8 PRUEBA DE LACTO-FERMENTACIÓN

Una manera barata, fácil y práctica para detectar problemas de calidad higiénica-sanitaria de la leche es la prueba de lacto-fermentación (Dilanjan, 1984) o prueba de reductasa extendida (PRE). La lacto-fermentación se realiza a continuación de la prueba de reductasa. Primero se determina el tiempo de decoloración del azul de metileno y luego se dejan los mismos tubos en el baño maría o incubadora a 37°C por 24 h hasta que se produzca la coagulación de la leche (Dubach, 1988).

Esta prueba cualitativa se basa en el tipo de coagulación que sufre la leche bajo la influencia de los microorganismos que contiene (Gerber, 1994) y permite conocer los rangos de valores de la carga microbiana presente en la leche.

De acuerdo a los resultados de esta prueba se clasifica de la siguiente manera:

2.8.1 COAGULACIÓN HOMOGÉNEA Y GELATINOSA

Leche líquida o coagulada de forma homogénea y gelatinosa. Sabor claramente ácido, escasa o inexistente separación de suero lácteo (Dubach, 1988). Se debe al desarrollo

y actividad de las bacterias acidolácticas (BAL) que existen normalmente en la leche (Gerber, 1994). Es una leche apta para la producción de quesos (Figura 2A).

Según Dubach (1998), si la leche no coagula y se retrasa la reducción del azul de metileno se puede sospechar de la presencia de antibióticos en la leche, como consecuencia del tratamiento veterinario y en este caso se considera la leche como no apta para quesería.

2.8.2 COAGULACIÓN EN COPOS

Coagulación en copos o con grumos, con notable exudación de suero; no hay desprendimiento de gas y el coágulo está destrozado (Dubach, 1988).

Los agentes que permiten la coagulación en gránulos son una asociación de los lactococos ordinarios en la leche (Gerber, 1994) (Figura 2B).

2.8.3 COAGULACIÓN GASEOSA

La coagulación con gas, sustancia caseosa muy desgarrada y pendiente de la pared del tubo de ensayo, coágulo flotante y haciendo predominancia por encima del borde (Dubach, 1988).

Las temperaturas próximas a 40°C son favorables para el desarrollo de las bacterias responsables de la hinchazón, entre las que dominan el grupo coliforme y particularmente *Escherichia coli* y otros géneros como *Aerobacter spp.* (Gerber, 1994) (Figura 2C).

2.8.4 COAGULACIÓN GASEOSA Y CON COPOS

Coagulación granulosa y acentuada separación de suero; coagulación gaseosa y burbujas, con actividad de gérmenes gasógenos del grupo coliforme.

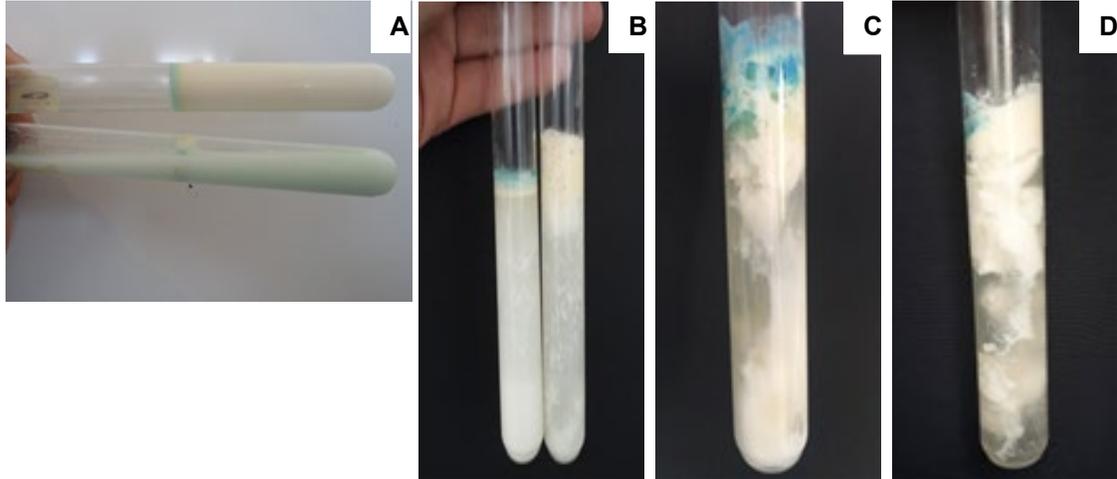


Figura 2 Tipo de Coágulos **(A)** homogéneo-gelatinoso y líquido; **(B)** con copos; **(C)** gaseoso **(D)** con copos + gaseoso

2.9 BUENAS PRÁCTICAS PECUARIAS

Para asegurar la calidad higiénico-sanitaria de la leche y sus derivados, es necesario la aplicación de las normas y guías de buenas prácticas de ordeño (BPO). Las BPO tienen como objetivo garantizar la higiene de la leche, reducir al mínimo la presencia de microorganismos patógenos y que la leche sea apta para el consumo directo o para la elaboración de subproductos (FAO, 2011).

2.9.1 UBICACIÓN, INFRAESTRUCTURA, INSTALACIONES, EQUIPOS Y UTENSILIOS

La unidad productiva de leche debe estar rotulada con su nombre de finca, estar ubicada en lugares libres de fuentes de contaminación, de manera que se minimice el nivel de contaminación, tener agua en la cantidad y calidad suficiente para consumo humano y animal, y contar con instalaciones para la extracción de leche (Agrocalidad, 2012).

2.9.2 EL ORDEÑO MECÁNICO

El equipo de ordeño mecánico es una herramienta de trabajo que posibilita extraer la mayor cantidad de leche en menor tiempo. El buen resultado de la máquina depende del manejo y mantenimiento que le haga el ordeñador (Nieto, 2012).

Para tener un correcto ordeño se debe seguir con una rutina

1. Limpiar los pezones con agua, secar con papel y tirar los papeles en un recipiente para desperdicios.
2. Eliminar los primeros chorros de leche y ver si hay estrías o grumos que puedan hacer sospechar de mastitis, a fin de tomar las medidas necesarias.
3. Esperar a que se llene o ingurgite el pezón. Este proceso, entre el punto 1 y 2, no tarda más de un minuto.
4. Colocar las pezoneras teniendo cuidado de que no se introduzca aire en el circuito durante el tiempo que lleva este acto. El acto de ordeño normalmente dura entre cuatro y seis minutos.
5. Extraer los grupos de ordeño cuando se advierta que la leche deja de correr por la tapa del colector del grupo de ordeño. Este acto debe ser correcto, sin pasarse en tiempo y sin sacar los grupos de ordeño haciendo fuerza, pues puede provocar lesiones y/o causar mastitis.
6. Sellar los pezones: se llama así al acto de colocar en la punta de cada pezón una solución de yodo o clorexidina, esto se hace para evitar infecciones que puedan entrar por el orificio del pezón.

2.9.3 EL ORDEÑO MANUAL

El ordeño manual se debe realizar en un sitio que cuente con un piso, una cubierta y abundante agua de calidad para la limpieza (Agrocalidad, 2012).

Se debe seguir las siguientes recomendaciones para obtener leche de calidad.

1. Ropa adecuada para ordeñar
2. Lavar y secar de pezones
3. Pre-sellar los pezones
4. Ordeñar la vaca
5. Sellar los pezones
6. Enfriar la leche a 4°C antes de 2 h

2.9.4 MEDIDAS HIGIÉNICAS Y LA BIOSEGURIDAD DEL PREDIO

El personal de ordeño debe llevar la ropa adecuada para el trabajo, y debe encontrarse libre de enfermedades que pueda contaminar la leche.

Es importante que cada establecimiento asegure el cumplimiento de las labores de limpieza y desinfección, para lo cual, deberá implementarse y mantenerse los procedimientos operacionales estandarizados (POE) de limpieza y desinfección (Agrocalidad, 2012).

2.9.5 CALIDAD DEL AGUA Y ALIMENTACIÓN ANIMAL

Se debe utilizar agua de calidad biológica y mineralógica conocida y aceptable, es decir, que sea apta para el consumo animal. En la alimentación, los niveles nutricionales deben favorecer la salud, el crecimiento y la producción de los animales (Guía de Buenas Prácticas Ganaderas, 2009).

2.9.6 BIENESTAR Y SALUD ANIMAL

El manual de AGROCALIDAD (2012), manifiesta que el manejo de animales debe cumplir con las llamadas “cinco libertades”, establecidas por el Organismo Mundial de Sanidad Animal:

1. Libre de hambre, sed y desnutrición
2. Libre de malestar físico y térmico
3. Libre de dolor, trauma o enfermedad
4. Libre de expresar su comportamiento natural
5. Libre de miedo y estrés

2.9.7 MANEJO DE PRODUCTOS DE USO VETERINARIO Y PLAGUICIDAS DE USO AGRÍCOLA

Los medicamentos veterinarios y productos biológicos se deben utilizar siguiendo estrictamente a las instrucciones del fabricante o a la prescripción del veterinario (Guía de Buenas Prácticas Ganaderas, 2009).

2.9.9 DOCUMENTOS Y TRAZABILIDAD

Los documentos de seguimiento son importantes en un caso de enfermedad, peligro químico o problema de seguridad física, los registros serán indispensables para localizar el origen del problema y eliminarlo (Agrocalidad, 2012).

2.10 LECHE CONTAMINADA Y/O MASTÍTICA EN LA INDUSTRIA LÁCTEA

Las consecuencias de una leche con mastitis en la industria, están presentes en toda planta, dependiendo su grado de la atención y responsabilidad de los productores y asesores en este problema.

Se producen cambios químicos y físicos en la leche con mastitis y afectan en la elaboración de productos lácteos.

2.10.1 LECHE FLUÍDA (PASTEURIZADA-UHT)

Varios estudios han implicado un alto contenido de células somáticas es un factor que reduce la vida útil de la leche líquida (Berry, 2006).

La leche que contenga flóculos, debe ser eliminada, pero la leche proveniente de mastitis subclínicas, con disminuciones en su contenido de Ca, P, algunas vitaminas y caseína, pierde su valor nutritivo, y en lo que respecta a los procesos industriales es una leche con una baja estabilidad al calor (coagula en una quinta parte del tiempo que una leche normal, debido al aumento en el pH).

2.10.2 LECHE EN POLVO Y CONDENSADAS

Durante el proceso inicial de evaporación de la leche, hay menor termo-estabilidad en leches provenientes de animales con mastitis. En la elaboración de leche condensada, con temperaturas y tiempos menores, existe un alto riesgo de coagulación en este tipo de leche.

2.10.3 QUESOS

La utilización de leche con alto conteo de células somáticas (CCS) para la elaboración de quesos, inciden en la baja aptitud a la acidificación y a la formación de coágulos, con la subsecuente disminución de los rendimientos en la producción de los quesos, y el incremento de pérdidas de nutrientes por el aumento de las grasas y la caseína del suero (Martínez Vasallo, 2015).

La actividad de las bacterias ácido-lácticas está notoriamente disminuida en la leche proveniente de mastitis subclínicas, con lo cual es directamente proporcional el enlentecimiento a la acidificación con la proporción de leche mastítica en la mezcla del tanque-cisterna.

La coagulación, se ve afectada por tres tipos de factores: tiempo de coagulación, naturaleza de la cuajada y la expulsión del suero de la misma.

Con respecto al tiempo de coagulación, éste es más lento según al grado de afectación mamaria, y es producido por el valor alcalino junto al aumento del Na^+ y Cl^- (los que intervienen en la formación del cuajo que causa la pérdida de caseína en el suero), y la alteración del complejo Ca-P-Caseína (Wedholm, 2006).

La adición de un 10% de leche mastítica a la leche normal, retarda el tiempo de coagulación en un 6%, la adición de un 30% la retrasa en un 22%, y la adición de un 40% en un 33% (Celik, 2003).

CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL SITIO DE ESTUDIO

La investigación se realizó en la provincia del Carchi, en los cantones Tulcán, Montufar, San Pedro de Huaca y Espejo. Las condiciones ambientales promedio se muestran en la Tabla 15.

Los análisis para determinar la calidad de la leche se realizaron en los laboratorios de AGROCALIDAD en Tumbaco, provincia de Pichincha.

Tabla 15 Ubicación del área de estudio

Provincia	Carchi			
Cantón	Tulcán	San Pedro de Huaca	Montufar	Espejo
Parroquia	Tufiño	- Mariscal Sucre - Huaca	- La Paz - Chitan de Navarretes	La Libertad
Altitud (m.s.n.m.)	2 980	2 950	2 980	3 007
Hum. relativa promedio (%)	61	70	80.9	61
Precipitación (mm)	867.3	1162.9	963.9	2072.7
Temp. media (°C)	12	12	12	12

Fuente: (Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), 2014)

3.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

Materia prima e insumos

- Leche
- Azul de metileno
- Azidiol
- Bronopol
- Alcohol etílico técnico (98°)

Materiales y equipos de laboratorio

- Pipeta de 10 ml
- Pipeta de 1 ml
- Vaso de precipitación
- Tubos de ensayo de 20 ml
- Frascos de muestras de leche 50 ml
- Jarra de 1 l
- Cucharón
- Atomizador
- Enfriador (*cooler*)
- Geles refrigerantes
- MilkoScan
- FossoMatic
- BactoScan
- Baño María
- Incubadora
- Refrigeradora

3.3 MÉTODOS

La presente investigación se basó en el método científico, se utilizó la experimentación a nivel de laboratorio y la exploración en la recopilación de bibliografía.

3.3.1 MUESTREO

Las muestras de leche cruda se tomaron una vez por mes, en un periodo transcurrido entre octubre 2016 y mayo 2017 en cada uno de los seis centros de acopio que se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 16 Información de los Centros de Acopio de leche

Centro de Acopio	20 de Marzo	Progresista Mirador	Avancemos Juntos	Mariscal Sucre	Jesús del Gran Poder	Pizán
Cantón	Tulcán	Huaca	Montúfar	Huaca	Espejo	Montúfar
Parroquia	Tufiño	Huaca	Chitan de Navarretes	Mariscal Sucre	La Libertad	La Paz
Sector	Tufiño	Guananguicho	San Luis	Mariscal Sucre	Jesús del Gran Poder	Pizán
Nro. de Ganaderos	10	28	16	20	15	19
Cantidad de vacas	34	235	50	120	230	145
Cant. de leche (l/día)	300	2 000	400	1 000	2 000	1 200

Los muestreos se realizaron a las 6:30 am, hora de recepción de la leche, el muestreo se hizo a cada uno de los ganaderos y una vez recolectada toda la leche se tomó una muestra de la tina de enfriamiento, el muestreo en los centros de acopio se realizó de acuerdo al siguiente procedimiento:

1. Rotular los frascos estériles de 50 ml, antes de la toma de muestra de leche cruda.
2. Introducir el agitador de acero inoxidable previamente desinfectado, de tamaño acorde al recipiente a muestrear, para lograr una distribución homogénea de los componentes constitutivos de la misma especialmente de la grasa.
3. Agitar mínimo 6 veces por 30 s en tarros o bidones de hasta 40 litros y 5 min en tanques de frío de menos de 5 500 litros.

4. Se deberá contar con una jarra de 1 litro de capacidad esterilizada para la muestra.
5. Extraer la muestra introduciendo un cucharón de tamaño acorde al recipiente a ser muestreado como mínimo 15 – 20 cm por debajo del nivel de leche.
6. Poner el contenido del cucharón dentro de la jarra recolectora de muestra evitando derrames.
7. Verter 50 ml de leche en los frascos rotulados con sus respectivos inhibidores, azidiol, inhibidor del desarrollo bacteriano, y bronopol, conservante para muestras destinadas al análisis de contenido de células somáticas y fisicoquímicos de leche cruda.
8. Cerrar herméticamente el envase de la muestra, homogenizar con movimientos suaves y repetitivos hasta que los conservantes se hayan disuelto completamente en la muestra.
9. Colocar los frascos con las muestras recolectadas dentro de un enfriador (*cooler*) o refrigerador a una temperatura entre 2 - 8°C hasta el momento de análisis en el laboratorio (Ver ANEXO 3).

3.3.2 DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA LECHE CRUDA

Se evaluó las características fisicoquímicas de la leche cruda como son grasa, proteína, sólidos totales y sólidos no grasos; las muestras para este análisis se tomaron una vez al mes durante ocho meses en cada centro de acopio, los análisis se realizaron en el laboratorio de AGROCALIDAD.

Tabla 17 Métodos para determinar las características fisicoquímicas de la leche

Análisis	Método	Unidades
Grasa	Espectroscopia infrarroja	Porcentaje (%)
Sólidos totales	Espectroscopia infrarroja	Porcentaje (%)
Proteína	Espectroscopia infrarroja	Porcentaje (%)
Densidad	Termolactodensímetro	g/ml
Acidez	Titulación	°Dornic

3.3.3 CONTENIDO DE BACTERIAS TOTALES Y CÉLULAS SOMÁTICAS EN LECHE CRUDA

La contaminación microbiana es la causa principal de la alteración de las propiedades nutricionales de la leche. Producir leche con buena calidad higiénica resulta complejo ya que el producto a manejar es delicado a la manipulación durante su recolección.

La calidad higiénico-sanitaria de la leche está determinada por dos aspectos fundamentales y complementarios, la calidad higiénica que se determina con el análisis de conteo bacteriano total (CBT) y la prueba de reductasa y la calidad sanitaria de la leche se determina con el análisis de conteo de células somáticas (CCS).

Tabla 18 Pruebas para determinar la calidad higiénico - sanitaria

Análisis	Método	Unidades
Conteo bacteriano total (CBT)	Citometría de flujo	cel/ml
Prueba de la reductasa	Reducción de azul de metileno	h
Conteo de células somáticas (CCS)	Citometría de flujo	cel/ml

Estas pruebas se realizaron una vez al mes durante ocho meses; las pruebas de CBT y CCS en el laboratorio de AGROCALIDAD y la prueba de la reductasa en cada centro de acopio que disponen de los instrumentos necesarios.

3.3.4 DETERMINACIÓN DEL TIPO DE LACTOFERMENTACIÓN PRESENTE EN LA LECHE DE PROVEEDORES

La actividad lacto-fermentativa depende de las bacterias presentes en la leche y la calidad del sustrato en el que se desarrollan, para clasificar los tipos de leches se usó la prueba de lacto-fermentación, los resultados de esta prueba son en base al tipo de coagulación, los cuales pueden ser gelatinosa, con copos, grumosa y con copos y gaseosa.

Procedimiento:

Colocar 10 ml de la muestra leche fresca y 0.5 ml de azul de metileno en un tubo de ensayo debidamente identificado para cada uno de los proveedores de los diferentes

centros de acopio, se llevan las muestras a la incubadora o baño maría a 37°C, por 24 h.

Tabla 19 Tipos de coagulación de prueba de lacto fermentación

GELATINOSA	CON COPOS	GASEOSA	CON COPOS Y GASEOSA
<p>Olor y sabor ácidos, coágulo homogéneo o líquida, sin fisuras ni grietas, blanco, firme, sin burbujas o de escasa cantidad.</p> <p>Leche Normal</p> <p>Presencia de <i>Lactobacillus spp.</i></p> <p>En caso de ser líquido verificar la presencia de antibióticos o de inhibidores (sustancias químicas, detergentes, pesticidas en el establo, etc.).</p>	<p>Coagulación granulosa, suero blancuzco amarillento o de otros colores anormales.</p> <p>Fermentación producida por gérmenes proteolíticos con sabores amargos y olores nauseabundos, leches mastíticas, de final de lactación y leches refrigeradas por largo tiempo (48 h).</p>	<p>Coágulo con numerosas burbujas y surcos gaseosos</p> <p>Causado por bacterias coliformes, aerógenas, etc.</p> <p>Leche ordeñada y conservada en malas condiciones higiénicas. Leche refrigerada por largo tiempo (48 h).</p>	<p>Coágulo con copos o gránulos y burbujas o surcos gaseosos</p> <p>Causado por bacterias coliformes, aerógenas, etc.</p> <p>Leche ordeñada y conservada en malas condiciones higiénicas. Leches mastíticas. Leche refrigerada por largo tiempo (48 h).</p>



Fuente: (Dilanjan, 1984), (Dubach, 1988), (Gerber, 1994)

3.3.5 RELACIÓN ENTRE EL CONTENIDO BACTERIANO TOTAL (CBT), CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) CON LOS TIPOS DE LACTO-FERMENTACIÓN DE LECHE CRUDA

Se hizo una relación gráfica entre los resultados de CBT, CCS con los tipos de coagulo de lacto-fermentación, con la finalidad de identificar el nivel de dependencia de las variables indicadas.

3.3.6 USO INDUSTRIAL PARA CADA TIPO DE LECHE EN BASE A SUS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E HIGIÉNICO-SANITARIAS

Con los resultados de las características, higiénico-sanitarias y lacto-fermentativas de la leche muestreada se realizó una recomendación técnica en cuanto a su uso agroindustrial, para obtener productos de calidad y buen rendimiento en la elaboración de productos lácteos.

Con contenidos CBT $\leq 300\ 000$ cel/ml y CCS $\leq 300\ 000$ cel/ml de leche da como resultado una coagulación gelatinosa, lo que significa que esta leche es apta para la elaboración de todo tipo de productos lácteos.

Leche con contenidos desde $300\ 000 < \text{CCS} \leq 700\ 000$ cel/ml y $300\ 000 < \text{CBT} \leq 600\ 000$ cel/ml, luego de recibir tratamiento térmico para disminuir la carga microbiana existente, puede ser utilizada en el proceso de diferentes productos lácteos (Robinson, 2002).

Y la leche con contenido CCS $> 700\ 000$ cel/ml de leche, no se recomienda para la elaboración de productos lácteos (Martínez Vasallo, 2015).

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA E HIGIÉNICO-SANITARIA DE LA LECHE CRUDA

Se caracterizó la leche cruda de los centros de acopio de acuerdo a su composición fisicoquímica en grasa, proteína, sólidos totales, densidad, acidez, y la calidad higiénico-sanitaria de la leche (CBT, prueba de la reductasa y CCS). Ver los resultados mensuales de los muestreos en el ANEXO 4.

En la figura 3, se muestra los promedios mensuales de CCS por asociación a las cuales se les ha clasificado de acuerdo a los rangos de calidad de leche establecida por AGROCALIDAD (tabla 7), la Asoc. “20 de Marzo” con un recuento promedio de 248 000 CCS/ml mantuvo una calidad alta de leche durante el periodo evaluado, mientras que, las Asociaciones “Progresista Mirador” con 344 000 CCS/ml, “Avancemos Juntos” con 598 800 CCS/ml, “Mariscal Sucre” con 447 300 CCS/ml, “Jesús del Gran Poder” con 566 200 CCS/ml y “Pizán” 355 400 CCS/ml como valores promedios, mostraron una calidad media de leche en relación a este parámetro.

Se aprecia que existe diferencia significativa entre las asociaciones “20 de Marzo” vs “Avancemos Juntos” y “Jesús del Gran Poder”. Pero no existe, sin embargo, diferencias significativas en cuanto a los valores promedios de CCS, entre las asociaciones “20 de Marzo”, “Progresista Mirador”, “Mariscal Sucre” y “Pizán”.

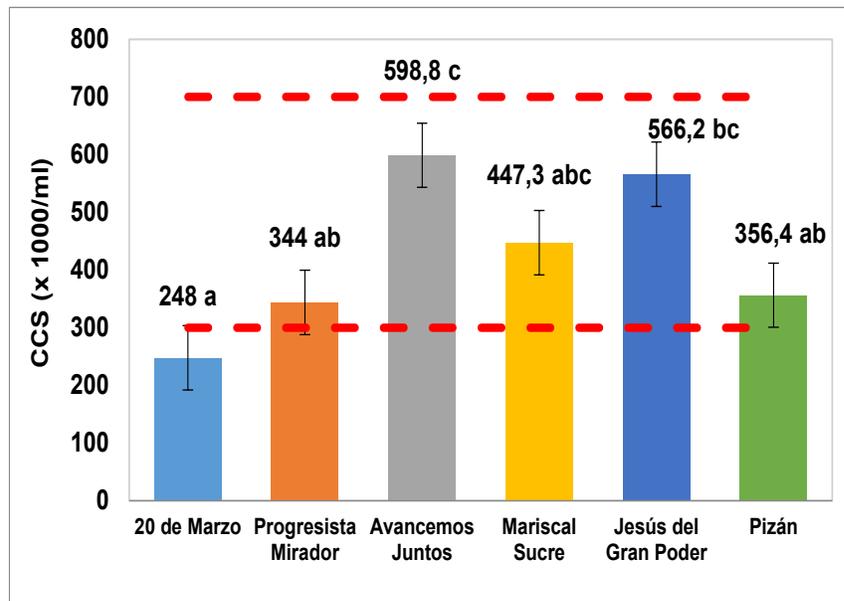


Figura 3 Promedio del contenido de células somáticas la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.

Se puede comparar el estado sanitario de las vacas de las asociaciones con los datos de la siguiente tabla:

Tabla 20 Estado Sanitario de la Ubre según el CCS (cel/ml)

CCS (cel/ml)	Valoración del estado Sanitario
<125 000	Muy bueno No hay enfermedad en la ubre
125 000 – 250 000	Bueno No hay enfermedad en la ubre
250 000 – 350 000	Satisfactorio Algunas vacas enfermas
350 000 – 500 000	Peligra el estado sanitario de las vacas Vacas enfermas Es necesario proceder a exámenes y tratamientos
500 000 – 750 000	Alteración del estado sanitario Hay muchas vacas enfermas Son necesarias medidas de tratamiento (plan saneamiento). Cambios en las propiedades de la leche
>750 000	Mastitis Intensa alteración del estado sanitario Muchas vacas enfermas Son necesarias medidas de tratamiento (plan saneamiento) Considerable alteración de las propiedades de la leche

Fuente: Kleinschroth. 1991

Se evidenció, que excepto en la asociación “20 de Marzo”, en el resto de las asociaciones no se realizan controles de mastitis como se recomienda en el ANEXO 5, aun cuando, en los centros de acopio de leche existen acuerdos de devolución de leche por mastitis subclínica. La mastitis es un problema causado por el estrés y las lesiones físicas, lo que puede causar la inflamación de la glándula mamaria. La infección se registra por bacterias invasoras u otros microorganismos (como hongos y virus), los cuales son las principales causas de mastitis (Carrión, 2017). La mastitis bovina aumenta en la leche el CCS, disminuyendo la producción de leche y adulterando su composición (Bobbo, 2016).

En la figura 4, se muestran los promedios mensuales de CBT de las asociaciones estudiadas, según AGROCALIDAD (tabla 6) la leche de la Asoc. “20 de Marzo” tiene una leche de alta calidad con 203 600 cel/ml, la Asoc. “Progresista Mirador” tiene una calidad de leche media con 498 600 CBT/ml, mientras que las asociaciones

“Avancemos Juntos”, “Mariscal Sucre”, Jesús del Gran Poder” y “Pizán” muestran una calidad de leche baja con 1 683 600, 6 700 100, 1 128 700, 3 139 400 cel/ml, respectivamente; existiendo diferencias significativas ($p > 95\%$), entre las asociaciones “20 de Marzo” vs “Mariscal Sucre”, y entre “20 de Marzo” vs “Pizán”.

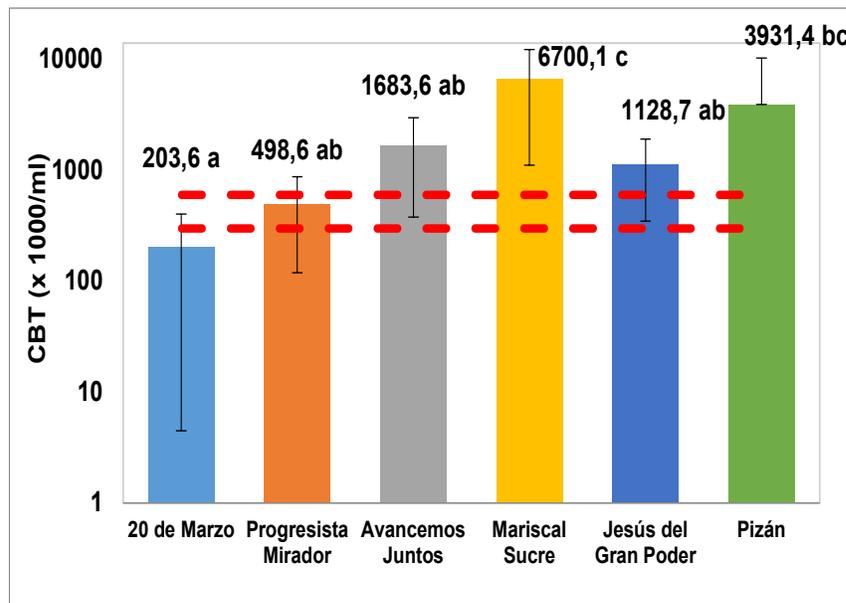


Figura 4 Promedio de la grasa de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.

Según Berry (2006), el CBT de una leche es indicativo del estado de salud del rebaño, saneamiento de la granja (por ejemplo, limpieza del equipo de ordeño) y las temperaturas de almacenamiento de la leche operadas en la granja. El tipo de ordeño influye en la calidad microbiológica de la leche, por lo que, durante el mismo es necesario aplicar prácticas de higienización eficaces que reduzcan la contaminación de la leche (Cámara Nacional de Industriales de la Leche, 2011).

El problema de baja calidad higiénica-sanitaria de la leche de la asociación “Mariscal Sucre” es el doble ordeño sin las medidas higiénicas requeridas. La temperatura de almacenamiento de la leche que es $> 4^{\circ}\text{C}$ (ANEXO 6) y permanece así, por periodo de tiempo mayor a 12 h hasta ser recolectada y el uso de recipientes plásticos, la leche

debe enfriarse antes de dos horas después de su ordeño y ser almacenada en recipientes de acero inoxidable o aluminio, no se debe usar recipientes plásticos ya que ayudan al crecimiento bacteriano (INIFAP, 2011).

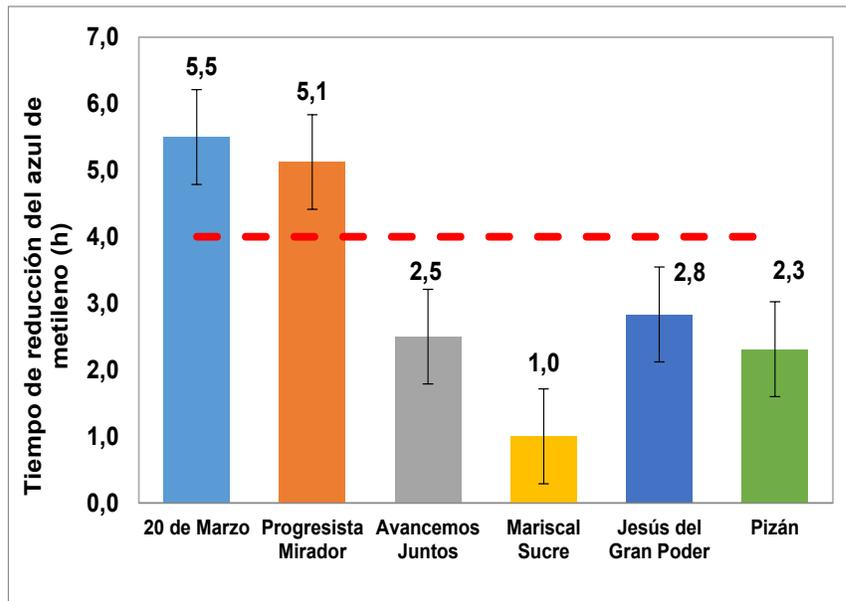


Figura 5 Promedio de la grasa de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.

En la figura 5, se presentan los resultados de la prueba de la reductasa de las asociaciones estudiadas estos se obtuvieron midiendo el tiempo que se demora el proceso de reducción de color del azul de metileno. El tiempo que requiere este cambio depende del número de bacterias, del consumo de oxígeno por ellas, de la multiplicación de dichas bacterias. Se verifica la calidad higiénica de la leche de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 21 Resultado de la prueba de la reductasa

Tiempo de decoloración (t_{DC})	Calidad	Número estimado de Bacterias por ml
> 6 h	Muy buena	100 000 a 200 000
$2 \leq t_{DC} \leq 6$ h	Regular a Buena	201 000 a 600 000
< 2 h	Mala	> 600 000

Fuente: (Fuentes, 2014)

La NTE INEN 09 establece que el tiempo de reducción del azul de metileno debe ser como mínimo 4 horas, por lo que el 66.6% de las asociaciones no cumplen con el parámetro mínimo establecido por la norma. Esto se debe principalmente a la carga bacteriana presente en la leche. Tomando en cuenta la clasificación establecida por Fuentes (2014), se tiene los siguientes resultados: las asociaciones “20 de Marzo” y “Progresista Mirador” son las que mejor tiempo promedio tiene con 5.5 y 5.1 h, respectivamente, sus productos se consideran como de buena calidad y sus cargas bacterianas promedio fueron de 203 600 y 498 600 cel/ml, respectivamente. Las asociaciones “Avancemos Juntos” con 2.5 h y 1 683 600 CBT/ml, “Jesús del Gran Poder” con 2.8 h y 1 128 700 CBT/ml, “Pizán” con 2.3 h y 3 931 400 CBT/ml tienen una calidad media de leche, mientras que la Asoc. “Mariscal Sucre” con 1 h y 6 700 100 CBT/ml presentó una baja calidad de leche. Existe diferencia significativa ($p > 95\%$) entre las asociaciones “20 de Marzo” y “Progresista Mirador” vs “Avancemos Juntos” y “Pizán”; entre las asociaciones “20 de Marzo” y “Progresista Mirador” vs “Mariscal Sucre”, entre “20 de Marzo” y “Progresista Mirador” y “Jesús del Gran Poder” y entre “Jesús del Gran Poder” y “Mariscal Sucre”. Esta prueba nos da la cantidad de bacterias presentes en la leche y se evidencia el mal manejo de las buenas prácticas en el proceso de ordeño, transporte, acopio y almacenamiento de la leche.

En la figura 6, se indica el porcentaje promedio de grasa que tiene la leche de las asociaciones estudiadas, mismas que en todos los casos están por encima del requisito mínimo que exige la norma NTE INEN 09 ($> 3\%$ G), no existiendo diferencias significativas ($p > 95\%$) en este parámetro entre las asociaciones.

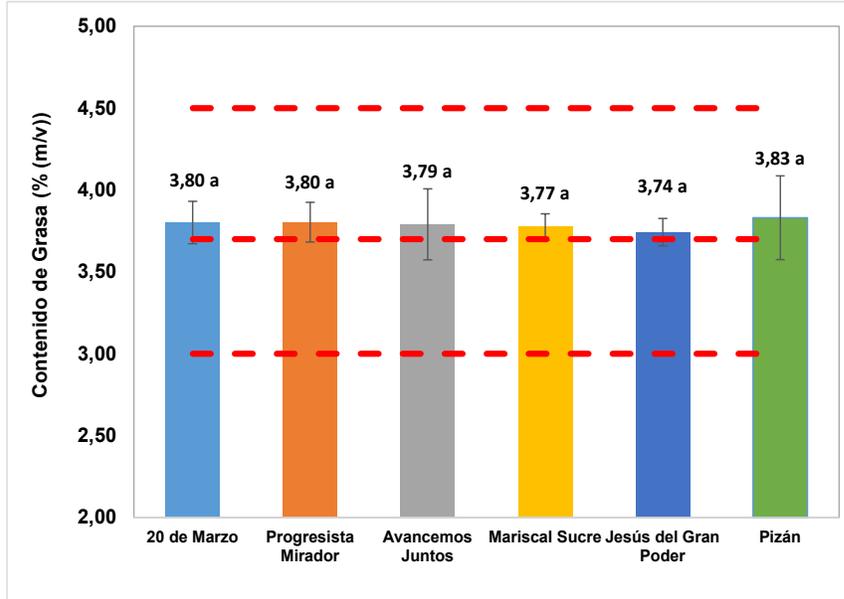


Figura 6 Promedio de la grasa de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.

Según Montero (2011), la grasa es el componente lácteo que varía más en función de los factores que provocan cambios en el contenido de sólidos totales. La grasa se forma principalmente a partir de la movilización de tejido adiposo y precursores sanguíneos provenientes del proceso de fermentación. La producción de este componente se ve favorecida al alimentar a las vacas con una fuente de fibra larga, como pasto y heno. Estos valores observados, pueden deberse a que en la provincia del Carchi el principal alimento del ganado lechero es el pasto, y que en ciertas épocas del año se complementa con heno y otros suplementos (melaza, zanahoria, patatas, etc.) lo cual influye en el contenido de grasa de leche producida.

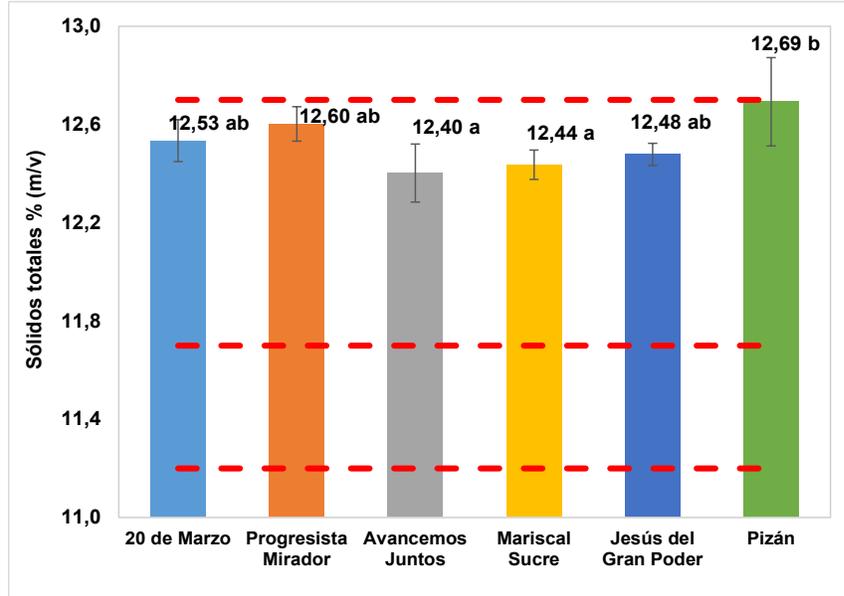


Figura 7 Promedio de los sólidos totales de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.

Los sólidos totales de la leche de las diversas asociaciones, en todos los casos, cumplen y sobrepasan el valor mínimo requerido en la norma NTE INEN 09 ($\geq 11.2\%$).

Existe diferencia significativa ($p > 95\%$) de los promedios de sólidos totales entre las asociaciones “Pizán” vs “Avancemos Juntos” y “Mariscal Sucre”.

Existen muchos factores que influyen en el contenido de sólidos totales en la leche, entre estos están: la raza, la dieta, salud ruminal, época del año, disponibilidad y calidad del pasto, producción de leche, etapa de lactancia y contenido de células somáticas (Montero, 2011).

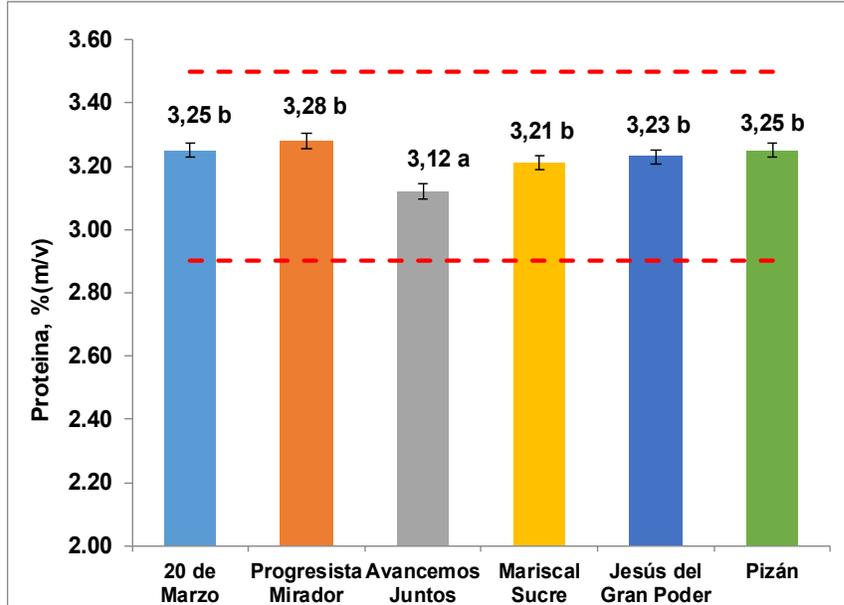


Figura 8 Promedio de la proteína de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.

Todas las asociaciones estudiadas cumplen con el requisito mínimo de proteína que exige la norma NTE INEN 09 ($\geq 2.9\%$)

El componente más importante de la proteína es la caseína ya que al ser sometida al calor, diferente pH (acidez) y diferentes concentraciones de sal, provee las características de los quesos, productos de leche fermentada y las diferentes formas de leche (Agudelo, 2005).

La asociación “Avancemos Juntos” con promedio de 3.12% de proteína es la única que tiene diferencia significativa ($p > 95\%$) frente a las demás asociaciones.

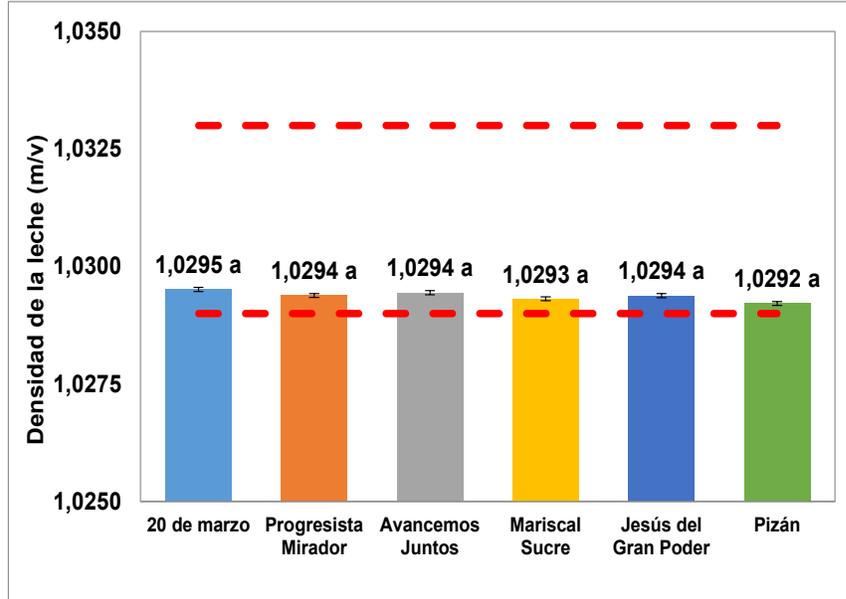


Figura 9 Promedio de la grasa de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.

En la figura 9, se indica el promedio mensual de densidad de cada asociación, misma que está por encima del valor que exige la norma INEN 09 que determina que la densidad a 15°C es 1.029 g/ml como mínimo, la densidad registrada en las diferentes asociaciones tiene relación directa con el contenido de sólidos totales, que en promedio es de 12.5% y el contenido de agua presente en esta. No existe diferencia significativa ($p > 95\%$) entre los promedios de densidad de las asociaciones. La densidad varía en función de la temperatura por tal razón para tener parámetros estandarizados se establece la temperatura de 15 ó 20°C con sus respectivos valores de referencia (A 15°C: 1.029 A 20° C: 1.028).

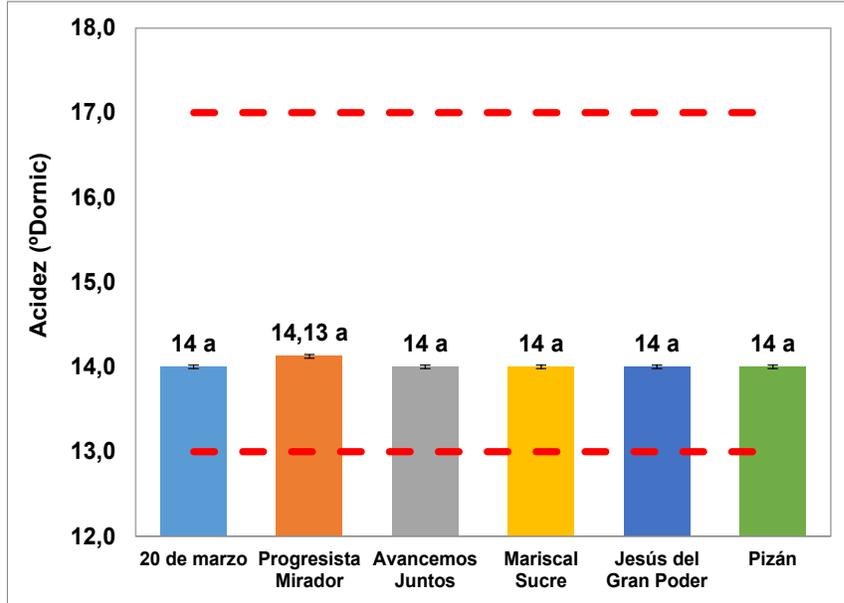


Figura 10 Promedio de la acidez de la leche por asociación. Leyenda: la línea discontinua roja inferior indica el valor mínimo que exige la norma INEN, y la línea superior indica el límite entre la calidad intermedia y la de calidad pobre, según la norma INEN. Letras iguales denotan que no existen diferencias significativas ($p > 95\%$) entre los valores medios comparados.

En la figura 10, se indica los valores de acidez de la leche de las asociaciones mismos que está entre los valores permitidos por la norma INEN 09 que establece como valor mínimo 13°D y valor máximo 17°D, los promedios de las asociaciones se encuentran entre estos rangos e indica que la leche es aceptada en recepción o procesamiento, y no existe diferencia significativa ($p > 95\%$) entre los promedios de acidez de las asociaciones.

La acidez está dada por los componentes propios de la leche y principalmente se ve afectada por la degradación de la lactosa, misma que es el carbohidrato que se encuentra en mayor proporción en la leche, corresponde al 4.85% en promedio (NRC, 2001), con variaciones mínimas entre razas, es el más estable de los componentes, es un disacárido formado por la unión de glucosa y galactosa, dos monosacáridos libres presentes en el torrente sanguíneo del animal (Kuhn y otros, 1980). Con estos antecedentes la leche de las asociaciones estudiadas se encuentra con un promedio muy aceptable de acidez, pero que a su vez debe ser complementado con múltiples

análisis para determinar la calidad definitiva de la leche, una de estas puede ser la prueba de lacto-fermentación.

4.2 RELACIÓN ENTRE EL CONTAJE BACTERIANO TOTAL (CBT), CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) CON LOS TIPOS DE PRUEBA DE REDUCTASA EXTENDIDA (PRE) DE LA LECHE CRUDA

4.2.1 RELACIÓN ENTRE EL CBT, CCS CON LOS TIPOS DE PRUEBA DE REDUCTASA EXTENDIDA

Un coágulo gelatinoso se forma cuando el CCS $< 300\ 000$ cel/ml y el CBT $< 300\ 000$ cel/ml de leche como se observa en las figuras 11A y 11B, la prueba de la reductasa debe pasar de las 5 h. En el caso del coágulo gaseoso se produce a partir de un promedio de CBT $> 300\ 000$ cel/ml en adelante, y el contenido de CCS $\leq 350\ 000$ cel/ml de leche que se observa en las figuras 4A y 4B, el azul de metileno se degrada de color en 4 h o menos, dependiendo de la cantidad de bacterias existentes en la leche

Un coágulo con copos se produce cuando el CCS $> 350\ 000$ cel/ml en adelante, mientras que el contenido bacterias totales se mantiene $\leq 300\ 000$ cel/ml de leche que se observa en la figura 4A y 4B, el azul de metileno se degradarse hasta en 5 h.

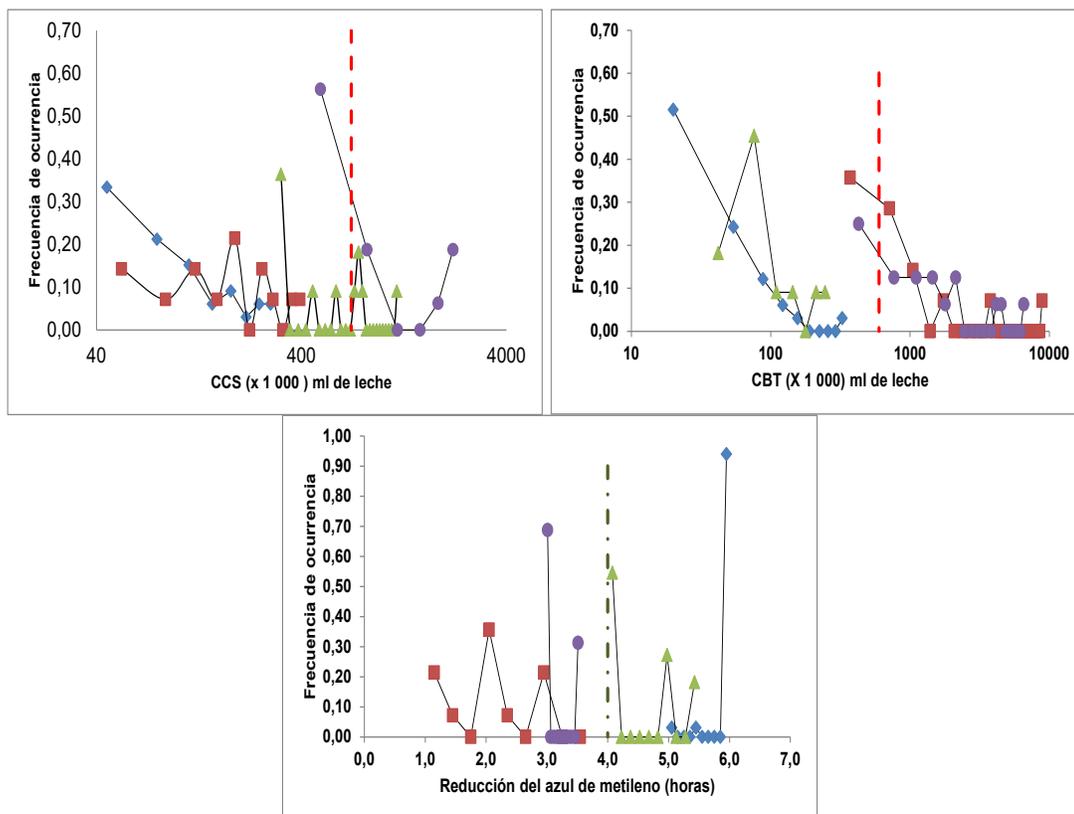


Figura 11 Gráficos de la frecuencia de ocurrencia de: (A) Células Somáticas, (B) Bacterias Totales, (C) Prueba de reductasa. Leyenda: ◆ PRE1 – coágulo gelatinoso; ■ PRE2 – coágulo gaseoso; ▲ PRE3 - con copos; ● PRE4 – con copos + gaseoso; Línea vertical entrecortada roja: valor máximo que exige la Norma INEN; Línea y punto vertical verde: valor mínimo que exige la norma INEN.

Cuando los CBT son $> 300\ 000$ cel/ml y CCS son $> 350\ 000$ cel/ml, se produce un coágulo grueso y gaseoso, el azul de metileno se degrada en menos de una hora y media. Este grupo de leche tiene un nivel alto de contaminación bacteriana al igual que la presencia de mastitis en las ubres de las vacas razón por la cual se evidencia en los resultados de lacto-fermentación.

4.2.2 RELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS CON LOS TIPOS DE PRUEBA DE REDUCTASA EXTENDIDA

Las características fisicoquímicas no influyen en el resultado de los tipos de coágulo de lacto-fermentación.

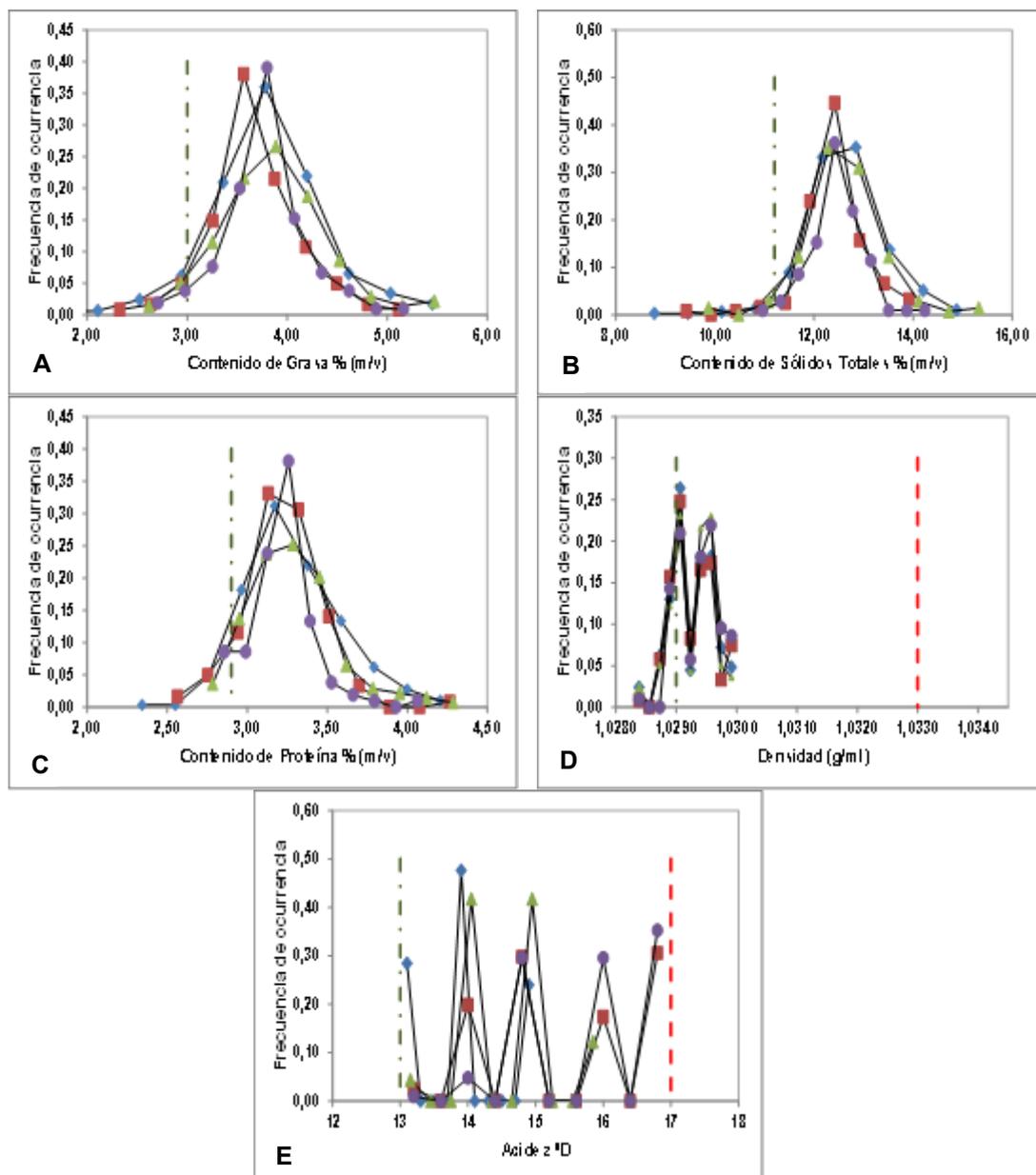


Figura 12 Gráficos de la frecuencia de ocurrencia de: (A) Grasa (B) Sólidos Totales, (C) Proteína, (D) Densidad, (E) Acidez. Leyenda: ◆ PRE1 – coágulo gelatinoso; ■ PRE2 – coágulo gaseoso; ▲ PRE3 - con copos; ● PRE4 – con copos + gaseoso; Línea vertical discontinua roja: valor máximo que exige la Norma INEN; Línea y punto vertical verde: valor mínimo que exige la norma INEN.

Se relacionó el promedio de horas de reducción de azul de metileno con los tipos de coágulo de lacto-fermentación, donde se muestra que si el azul de metileno sobrepasa las 5 h sin degradarse se forma un coágulo gelatinoso, que es leche de alta calidad; el tiempo de reducción de azul de metileno $3 \text{ h} < t_{\text{TRAM}} \leq 5 \text{ h}$ indica que es leche de calidad media: buena y puede formar un coágulo con copos o gaseoso dependiendo de la cantidad de CCS y CBT; si el tiempo que tarda en reducir el azul de metileno es $1 \text{ h} < t_{\text{TRAM}} \leq 3 \text{ h}$ la calidad es media: aceptable o si es menor a 1 h es de calidad baja y pueden formar un coágulo con copos + gaseoso.

De 267 muestras que se mantienen en rangos permitidos de CCS y CBT el 99.6% duró 6h en reducir el azul de metileno, y el 0.4% duró 4.5 h, de 134 muestras que el resultado de CCS no cumple con lo permitido y los CBT sí el 30.6% también pasó 6 h en la reducción del azul de metileno, el 69.4% se redujo en menos de 6 h; mientras que, de 115 muestras con alto CBT y bajo en CCS apenas el coincidió el 6.7% en que el azul de metileno se reduce en 6 h. De 100 muestras con alto CCS y CBT el azul de metileno se reduce entre 0.5 y 5.5 h.

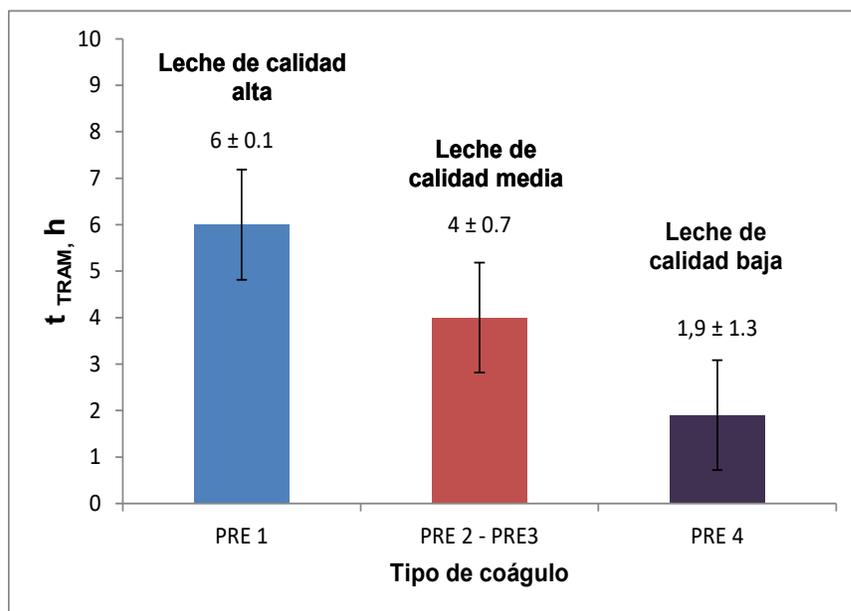


Figura 13 Tiempo promedio de reducción de azul de metileno. PRE1: coágulo gelatinoso, PRE2 – PRE3: coágulo con copos y gaseosa, PRE4: coágulo con copos + gaseoso

El hecho de que coinciden las horas de reducción de azul de metileno en los tres tipos de coágulo de lacto-fermentación no se considera como una prueba exacta para valorar el número real de bacterias presentes, pero en la práctica resulta de gran utilidad.

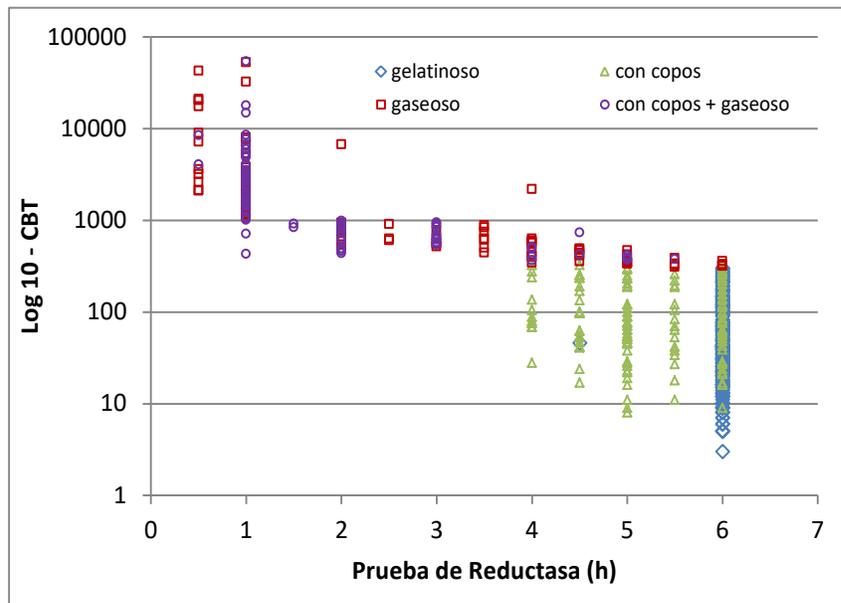


Figura 14 Influencia de CBT en el tiempo de reducción de azul de metileno

De 528 datos obtenidos de la prueba de lacto-fermentación se observa en la figura 9 que los resultados con coágulo gelatinoso figura 9A cumplen con lo exigido por la norma INEN y AGROCALIDAD, el coágulo con copos figura 9B cumple con lo exigido en CBT pero no cumple en CCS, el coágulo gaseoso 9C no cumple con CBT pero si cumple con CCS; y con copos y gaseoso figura 9D no cumple con los requisitos de CBT y CCS.

Del total de muestras, el 43.3% clasificó como coágulo normal, el 21.8% como coágulo con copos, el 18.7% como coágulo gaseoso y el resto (16.2%) como coágulo con copos + gaseoso. De las muestras que presentaron coágulo normal, el 89.5% presentó valores de CBT y CCS que la ubican como leche de primera calidad ($CBT < 200 \times 10^3$ cel/ml y $CCS < 300 \times 10^3$ cel/ml), mientras que, el 10.5% tuvo valores de uno de los parámetros que superaba ligeramente el valor umbral de calidad.

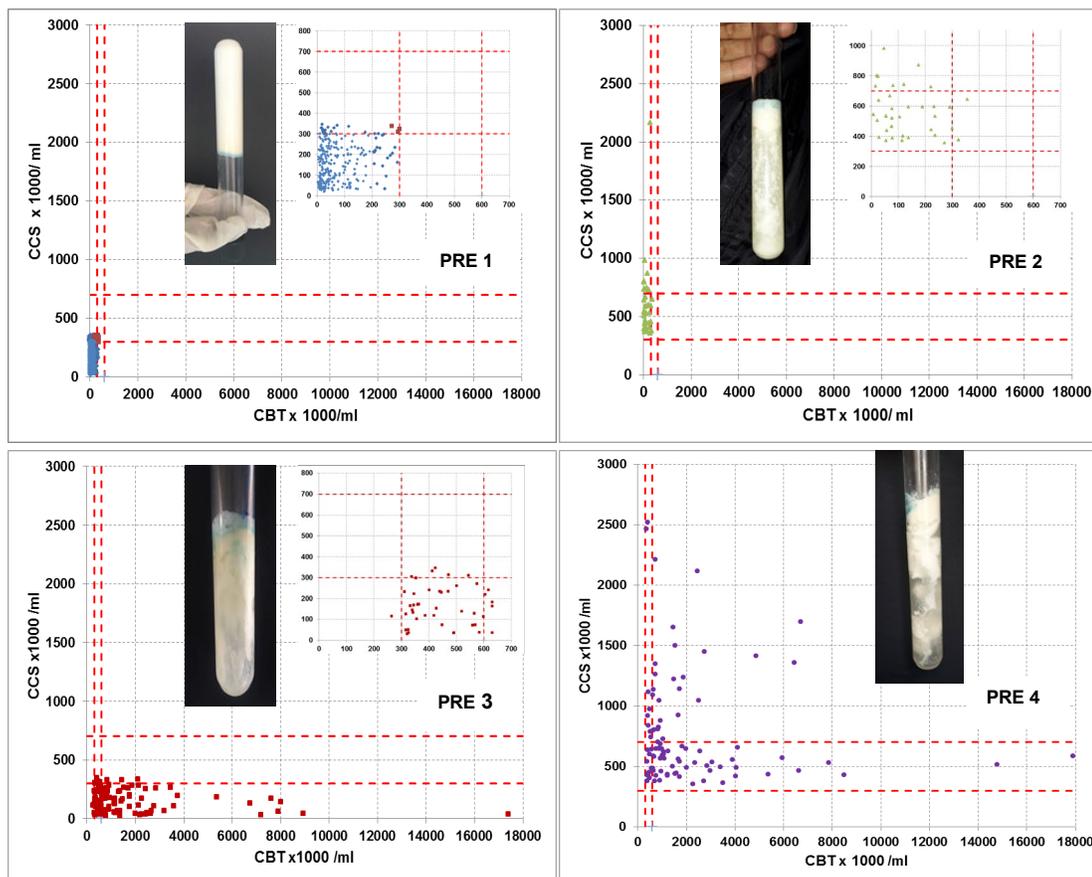


Figura 15 Tipos de coágulo según CBT y CCS: **(PRE1)** coágulo gelatinoso, **(PRE 2)** coágulo con copos, **(PRE 3)** coágulo gaseoso, **(PRE 4)** coágulo con copos y gaseoso

Las características fisicoquímicas de la leche mantienen una distribución normal en todos los tipos de coagulación, por lo que no afectan al resultado de la coagulación de la leche.

4.3 DEFINIR LA UTILIZACIÓN DE LA LECHE SEGÚN LAS CARACTERÍSTICAS FISIQUÍMICAS. HIGIÉNICO SANITARIAS Y LACTOFERMENTATIVAS EN LA ELABORACIÓN DE LOS DIFERENTES DERIVADOS LÁCTEOS.

Se describe las principales características de la leche de acuerdo al proceso de lacto-fermentación información que sirve como punto de referencia para direccionar la

leche de las asociaciones estudiadas hacia la elaboración de productos diferenciados que permitan generar mayor calidad, sin pérdidas en procesos, y que sean seguros para el consumo humano.

La leche con coágulo normal o sin coágulo tiene CBT < 300 000 cel/ml y CCS < 300 000 cel/ml. La leche Asoc. “20 Marzo” es la mejor calificada entre el grupo de Asociaciones estudiadas, puesto que tiene alta calidad fisicoquímica e higiénico-sanitaria según los rangos de calidad de leche emitidos por AGROCALIDAD en la tabla 5 y tabla 6 cumple con 5.5 h de reductasa y es de buena calidad lacto-fermentativa por los coágulos obtenidos en los resultados, la leche de esta asociación se recomienda para cualquier tipo de producto lácteo en especial para la elaboración de productos fermentados, ya que la calidad fisicoquímica y nutricional es muy buena lo que favorece al crecimiento de los cultivos inoculados generando aromas, sabores y características texturales especiales (Chandan, 2013).

Tabla 22 Composición aproximada de la leche de vaca utilizada para leches fermentadas

Sólidos totales (%)	Grasa (%)	Proteína (%)	Caseína (%)	Lactosa (%)	Cenizas (%)
12.2	3.4	3.4	2.8	4.7	0.7

Fuente: Chandan y Shahani (1993) y Chandan (2002)

La coagulación con copos se produce cuando la leche contiene CCS > 300 000 cel/ml y CBT ≤ 300 000 cel/ml, la leche de las asociaciones cumple con las características fisicoquímicas que exige la norma NTE INEN 09. Sin embargo, los microorganismos o sus toxinas producen cambios indeseables en las características físico-químicas de la leche y tienen por tanto influencia en la elaboración de diversos productos lácteos. Lo que significa que existe un recuento muy alto de CCS y está asociado a consecuencias negativas en la leche fluida y derivados, tales como disminución en el rendimiento quesero hasta del 4%, aumento del tiempo de formación de la cuajada, pérdida de proteína del suero, probabilidad de presentar sabor rancio en queso y mantequilla, disminución de la vida de anaquel de la leche fluida y de productos derivados (Reyes et al. 2010). (M.V.Z. Raúl Martínez López, 2011), se debe dar de baja esta leche y no usar en el procesamiento lácteo.

La fermentación gaseosa se produce cuando la leche tiene un contenido CCS \leq 300 000 cel/ml y CBT $>$ 300 000 cel/ml, las asociaciones poseen calidad fisicoquímica alta, las asociaciones con baja calidad deben recibir información de Buenas Prácticas de Ordeño y de esta manera puedan mejorar la calidad de la leche, caso contrario esta leche no debe ser aceptada en las industrias lácteas por no cumplir los requisitos exigidos. La leche con alta carga bacteriana debe recibir un proceso de pasteurización para eliminar completamente la microflora patógena de la leche, disminuir la microflora banal y destruir un alto porcentaje de enzimas que deterioran los productos elaborados (Gante, 2004), luego del tratamiento térmico la leche es apta para ser utilizada para leches líquidas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Se logra producir leche de buena calidad higiénica sanitaria realizando pruebas de plataforma al momento de recepción de la leche en los Centros de Acopio y aplicando acuerdos de rechazo de leche por mastitis, estabilidad proteica (prueba de alcohol) y pruebas de la reductasa como lo demuestra los positivos resultados obtenidos en este trabajo por la Asoc. “20 de Marzo”.
- Mediante el análisis de los resultados de las variables estudiadas se acepta la hipótesis alternativa “Los Conteos de Bacterias Totales (CBT) $> 300\ 000$ cel/ml y de Células Somáticas (CCS) $> 300\ 000$ cel/ml influyen en el tipo de lacto-fermentación de la leche cruda” ya que se evaluó cada uno de los datos obtenidos mediante correlaciones estadísticas determinándose la influencia del CBT y CCS sobre los resultados de los coágulos de lacto-fermentación, mediante un registro fotográfico permitió una apreciación visual y se clasificó en cuatro categorías de lacto-fermentación coágulo gelatinoso, con copos, gaseoso y con copos + gaseoso en función al contenido de bacterias totales y contenido de células somáticas, es una prueba visual fácil de manejar.
- La prueba de la reductasa extendida o lacto-fermentación correlaciona cada uno de los cuatro tipos de coágulo con relación a la calidad de la leche, correspondiendo el PRE 1 - gelatinoso con leche de alta calidad, PRE 2 – con

copos y PRE 3 – gaseoso con calidad intermedia y la PRE 4 – con copos + gaseoso a leche de baja calidad.

- La prueba de la reductasa extendida (PRE) o lacto-fermentación, es un procedimiento válido para el análisis de calidad higiénica- sanitaria de la leche cruda ya que ofrece múltiples ventajas, entre las más importantes, su bajo costo, es reproducible y confiable, es una prueba visual con resultados sencillos de interpretar, es de fácil realización en los centros de acopio y permite la implementación de medidas correctivas a cualquier falencia de los productores de las asociaciones.
- El costo estimado de realizar la prueba de la lacto-fermentación en los centros de acopio fue de 0.46 USD/muestra mientras que el costo en el laboratorio de Agrocalidad el análisis de CBT y CCS es 9.53 USD/muestra.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda que la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales como Universidad Técnica del Norte haga un acercamiento con AGROCALIDAD y socialice sobre los resultados de este trabajo para que la prueba de lacto-fermentación sea una prueba obligatoria por normativa en los Centros de Acopio para mejorar la calidad higiénica-sanitaria de la leche.
- Los centros de acopio de leche deben capacitar constantemente a los productores para el mejoramiento continuo de la calidad higiénica-sanitaria, es recomendable que dichas capacitaciones estén establecidas mediante un calendario.

BIBLIOGRAFÍA

- AGROCALIDAD. (2012). Guía de Buenas Prácticas Pecuarias de Producción de leche RESOLUCIÓN TÉCNICA N0. 0217.
- AGROCALIDAD. (2016). *Mapas Calidad de Leche Cruda*. Quito.
- Agudelo, A. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Lasallista de Investigación*.
- Anónimo. (2003). *Introducción al Control de calidad de Leche Cruda*. Maracaibo.
- Berry. (2006). Temporal Trends in Bulk Tank Somatic Cell Count and Total Bacterial. *American Dairy Science Association*.
- Bobbo, T. (2016). The nonlinear effect of somatic cell count on milk composition, coagulation. *American Dairy Science Association*, 16.
- Bradley & Green . (2005). Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. <https://doi.org/10.1136/inpract.27.6.310>, 2.
- Butendieck, N. (2016). Células Somáticas, Mastitis y Calidad de Leche . *CIR - Carrilanca* , 16.
- Bylund, G. (1995). *Dairy Processing Handbook*. LP Grafiska AB.
- Carrión, R. (2017). Mastitis subclínica y conteo de células somáticas .
- Castellanos, A. (2010). *Bovinos Productores de Leche y Carne*.
- Celik, S. (2003). Beta-Lactoglobulin genetic variants in Brown Swiss breed and its association with compositional properties and rennet clotting time of milk. *International Dairy Journal* .
- Chandan. (2013). *Manufacturing Yogurt and Ferment Milks*.
- CIL, C. d. (2017). La Industria Produce. *Lideres*.
- Dilanjan. (1984). *Fundamentos de la Elaboración del Queso*. Zaragoza: Acribia.
- Dilanjan. (1984). *Fundamentos de la Elaboración del Queso*. Zaragoza: Acribia.
- Dubach, J. (1988). *El ABC para la quesería rural de los andes*. Quito.

- FAO. (2009). Guía de Buenas Prácticas Ganaderas.
- FAO. (2011). *Buenas Prácticas en el manejo de la Leche*. Guatemala.
- Fox. (1996). *Cheesr: Physical, BiochemicalL, and Nutritional Aspects*. Cork.
- Fuentes, A. (2014). Determinación de la calidad higiénica de la leche mediante la medición indirecta del tiempo de reducción del azul de metileno o prueba de la reductasa microbiana. *Universidad Politécnica de Valencia*.
- Gante, A. V. (2004). *Tecnología quesera*. Trillas.
- García, A. D. (2004). Células somáticas y alto recuento bacteriano. *College of Agriculture & Biological Sciences / South Dakota State University / USDA*.
- Gerber. (1994). *Tratado Práctico de los Análisis de la Leche y del Control de los Productos Lácteos*. Madrid: Santander.
- Hazard, S. (2017). Variación de la Composición de la Leche . *CRI - Carrilanca*, 33.
- Heer, G. (2007). Microbiología de la leche .
- INEC. (2012). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC*.
- INIFAP. (2011). *Mejora Continua de la Calidad Higiénico - Sanitaria de la leche de Vaca*. México.
- Kleinschroth, E. (1991). *Mastitis*. España: SALIMGRAF, S.A.L.
- M.V.Z. Raúl Martínez López, C. A. (2011). Mejora continua de la calidad higiénico-sanitaria de la leche de vaca. *Unidad Técnica Especializada Pecuaria*, 45-46.
- Martegani, H. (2017). Leche como materia prima para la elaboración de quesos. *Portal Lechero*.
- Martínez, M. (2014). *Calidad Composicional e Higiénica de Leche Cruda Recibida de en Industrias Lácteas de Sucre, Colombia*. Manizales .
- Ministerio de Protección Social Colombia. (2006). *Resolución 616: Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se comercializa expendida, importe o exporte en el país*. Colombia.

- MIPRO. (2011). *Agendas para la transformación productiva territorial: provincia de Imbabura*.
- Montero, A. S. (2011). Factores que influyen en el porcentaje de sólidos totales de la leche. *SCAG*, 71, 72.
- Nieto, D. (2012). Manual de Buenas Prácticas de Ganadería Bovina para la Agricultura Familiar.
- Olguín, A. (2017). Enfermedades de la Glándula Mamaria . *Clínica de Bovinos* .
- Papademas, P. (2015). *Dairy Microbiology* . Taylor & Francis Group.
- PRO-ECUADOR. (2016). Perfil Sectorial De Lácteos Y Cárnicos. *Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones*.
- Robinson, R. K. (2002). *The Microbiology of Milk and Milk Products* . New York: John Wiley & Sons.
- Romero, A. R. (2016). Mastitis Bacteriana en Ganado Bovino: Etiología y técnicas de diagnóstico.
- SAGARPA. (2014). Manual de producción de ganado lechero en el estado de Nayarit .
- Singh & Bennett. (2002). Milk and Milk Processing. En R. Robinson, *The Microbiology of Milk and Milk Products*. New York: Wiley.
- Tellez, G. (2005). *La Calidad Como Factor De Competitividad En La Cadena Láctea*. Colombia: Ediciones Hispanoamericanas.
- Torres, L. (2009). *Estudio de factibilidad para la implementación de la producción y comercialización de leche cruda en la finca la Floresta*. Ibarra.
- Wedholm, A. (2006). Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. *Journal Dairy Science*.

ANEXOS

ANEXO 1. Norma INEN 009 Requisitos de Leche cruda



Quito – Ecuador

NORMA
TÉCNICA
ECUATORIANA

NTE INEN 9
Sexta revisión

LECHE CRUDA. REQUISITOS

RAW MILK. REQUIREMENTS

DESCRIPTORES: Tecnología de alimentos, productos lácteos, leche cruda.
ICS: 67.100.01

5
Páginas

Norma Técnica Ecuatoriana	LECHE CRUDA. REQUISITOS	NTE INEN 9:2015 Sexta revisión
--	--------------------------------	---

0. INTRODUCCIÓN

La leche constituye una fuente importante de nutrientes para la población, sin embargo por su composición constituye un medio propicio para el desarrollo de microorganismos patógenos. Además las actividades de ordeño, almacenamiento y transporte, implican riesgos de contaminación por contacto con el hombre o el entorno y por ende la proliferación de patógenos endógeno. La leche también puede estar contaminada por residuos de medicamentos veterinarios, de plaguicidas o de otros contaminantes químicos, por consiguiente, la aplicación de medidas adecuadas de control de la sanidad de la leche, como las recomendaciones dadas en el CPE INEN CODEX 57, capítulo 3, y las buenas prácticas pecuarias de producción de leche, son esenciales para garantizar su inocuidad y calidad para el uso al que se destinen.

1. OBJETO

Esta norma establece los requisitos de la leche cruda de vaca, destinada al procesamiento.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son referidos en este documento y son indispensables para su aplicación. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN 11, *Leche. Determinación de la densidad relativa*

NTE INEN 13, *Leche. Determinación de la acidez titulable*

NTE INEN 14, *Leche. Determinación de sólidos totales y cenizas*

NTE INEN 16, *Leche y productos lácteos. Determinación de contenido de nitrógeno. Método Kjeldahl*

NTE INEN 18, *Leche. Ensayos de reductasas*

NTE INEN 1500, *Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad*

NTE INEN 1529-5, *Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aerobios mesófilos*

NTE INEN 1529-14, *Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie*

NTE INEN 2401, *Leche. Determinación de suero de quesería en leche fluida y en polvo. Método de cromatografía líquida de alta eficiencia*

NTE INEN-ISO 707, *Leche y productos lácteos. Directrices para la toma de muestras*

NTE INEN-ISO 2446, *Leche. Determinación del contenido de grasa*

NTE INEN 9

NTE INEN-ISO 5764, *Leche. Determinación del punto de congelación. Termistor método crioscópico (Método de referencia)*

NTE INEN-ISO 14674, *Leche y leche en polvo. Determinación del contenido de aflatoxina M1. Purificación mediante cromatografía de inmunofinidad y cromatografía de capa fina*

NTE INEN-ISO 21528-2, *Microbiología de alimentos y productos de alimentación animal. Métodos horizontales para la detección y enumeración de enterobacterias. Parte 2: Método de recuento de colonias*

NTE INEN CODEX CAC/MRL 1, *Lista de Límites Máximos para Residuos de Plaguicidas*

NTE INEN CODEX CAC/MRL 2, *Límites Máximos para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos*

ETE INEN-ISO/TS 6733, *Leche y productos lácteos. Determinación del contenido de plomo. Método de espectrometría de absorción atómica en horno de grafito*

ISO 13366-1:2008 (IDF 148-1:2008), *Leche – Enumeración de células somáticas - Parte 1: Método microscópico (Método de referencia)*

3. TERMINOS Y DEFINICIONES

Para efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:

3.1 Leche: Producto de la secreción normal de las glándulas mamarias de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción.

3.2 Leche cruda: Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de calentamiento (es decir que la temperatura no haya superado la de la leche inmediatamente después de ser extraída de la ubre - no más de 40°C) o no haya sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación, ni ha tenido modificación alguna en su composición.

4. REQUISITOS

4.1 Requisitos generales

4.1.1 La leche cruda debe presentar un aspecto normal, libre de calostro y sangre.

4.1.2 La leche cruda se obtendrá de vacas libres de enfermedades infecto-contagiosas.

4.1.3 Después del ordeño, la leche cruda debe ser enfriada a una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agitación constante. En el caso que no contar con un sistema de refrigeración la leche se debe transportar a la planta procesadora o centro de acopio en un período inferior a tres horas.

4.1.4 La leche cruda no debe tener residuos de plaguicidas en cantidades superiores al máximo permitido en la NTE INEN CODEX CAC/MRL 1.

4.1.5 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios para la leche serán los establecidos en la NTE INEN CODEX CAC/MRL 2.

4.2 Requisitos específicos

4.2.1 Requisitos organolépticos

4.2.1.1 Color. Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

2015-XXXX

2 de 5

NTE INEN 9

4.2.1.2 Olor. Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

4.2.1.3 Aspecto. Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

4.3 Requisitos físicos y químicos

La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

Tabla 1. Requisitos físico-químicos para la leche cruda

Requisitos	Unidad	mín.	máx.	Método de ensayo
Densidad relativa: a 15 °C a 20 °C	g/mL	1,029 1,028	1,032 1,033	NTE INEN 11
Materia grasa	% ¹	3	-	NTE INEN-ISO 2446
Acidez titulable como ácido láctico	%	0,13	0,17	NTE INEN 13
Sólidos totales	%	11,2	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	%	8,2	-	*
Cenizas	%	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico)	°C	-0,536	-0,512	NTE INEN-ISO 5764
Proteínas (N*6,38)	%	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)**	h	4	-	NTE INEN 18
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 masa o 75 % en volumen. Para la leche destinada a ultra pasteurización, no se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 71 % en masa o 78 % en volumen.			NTE INEN 1500
Presencia de conservantes ²	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes ³	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes ⁴	-	Negativo		NTE INEN 1500 NTE INEN 2401
* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa.				
** Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento				
¹ Corresponde a fracción de masa expresada en porcentaje				
² Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio y dióxido de cloro.				
³ Neutralizantes: orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones.				
⁴ Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, suero de leche, grasas vegetales.				

4.4 Contaminantes. El límite máximo permitido para contaminantes se indica en la tabla 2.

Tabla 2. Límites máximos para contaminantes

Requisito	Unidad	Límite máximo (LM)	Método de ensayo
Plomo	mg/kg	0,02	ETE INEN-ISO/TS 6733
Aflatoxina M1	µg/kg	0,5	NTE INEN-ISO 14674

4.5 Requisitos microbiológicos. La leche cruda debe cumplir con los requisitos especificados en la tabla 3.

Tabla 3. Requisitos microbiológicos para la leche cruda

Microorganismo	Caso	<i>n</i>	<i>c</i>	<i>M</i>	<i>M</i>	Método de ensayo
Recuento de colonias aerobias	2 ^a	5	2	2x10 ⁴	5x10 ⁴	NTE INEN 1529-5
Enterobacteriaceae (UFC/g)	6 ^b	5	1	10	10 ²	NTE INEN-ISO 21528-2
<i>S. aureus</i>	7 ^c	5	2	10	10 ²	NTE INEN 1529-14
Recuento de células somáticas/mL		$< 5 \times 10^5$				ISO 13366-1
<i>n</i> número de muestras a analizar <i>m</i> límite de aceptación <i>M</i> límite superando el cual se rechaza <i>c</i> número máximo de muestras admisibles con resultados entre <i>m</i> y <i>M</i> . ^a Caso 2. Utilidad: contaminación general, vida útil reducida en percha, deterioro incipiente. ^b Caso 6. Indicador: riesgo bajo e indirecto. ^c Caso 7. Riesgo moderado: directo, propagación limitada						

4.6 Requisitos complementarios. La leche debe recolectarse, almacenarse y transportarse en recipientes que eviten la introducción de contaminantes, de fácil limpieza y desinfección y sean de uso exclusivo para leche. Por ejemplo: envases metálicos de aluminio o acero inoxidable y plásticos de calidad alimentaria, con tapa de ajuste hermético o en camiones con sistemas isotérmicas de acero inoxidable, construido de manera tal que asegure su fácil limpieza y desinfección. Los envases o cisternas deben mantenerse en buen estado físico e higiénico.

5. INSPECCIÓN

5.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 707.

5.2 Aceptación o rechazo. Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

NTE INEN 9

APÉNDICE Z

BIBLIOGRAFÍA

NA 0063:2009 *Leche cruda. Requisitos.*

NTP 202.001:2003 *Leche y productos lácteos. Leche cruda. Requisitos.*

COVENIN 903:1993 *Leche pasteurizada.*

NTC 506:1993. *Productos lácteos. Leche entera Pasteurizada.*

NTE INEN-CODEX 193:2013 *Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos*

CPE INEN CODEX 57, *Higiene para la leche y los productos lácteos*

United States Department of Agriculture Milk for Manufacturing Purposes and its Production and Processing Recommended Requirements Effective. September 1, 2005.

International Comision on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2005. *Microorganisms in foods 6. Microbial Ecology of food commodities.* Segunda Edición. Estados Unidos. Pág. 643-657.

International Comision on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2002. *Microorganisms in foods 7. Microbiological testing in food safety management.* Estados Unidos. Pág. 162-164.

International Comision on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2011. *Microorganisms in foods 8. Use of data assessing process control and product acceptance.* Segunda Edición. Pág. 135-138.

Martinez, E., *et al.* 1999. *Dinámica del sistema lechero mexicano en el marco regional y global.* Primera edición. [visto 2014-12-20]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=pZLbomndQPkC&pg=PA367&lpg=PA367&dq=%C2%B0H+punto+crioscopico&source=bl&ots=4_NbtEVf0D&sig=49apZWXfsPwgmKy7WipSYKcngMI&hl=es-419&sa=X&ei=jxMcVYzfEoOnggTEtoGYBA&ved=0CCkQ6AEwAg#v=onepage&q=%C2%B0H%20punto%20crioscopico&f=true. Pág. 363-367.

Munguía, J. 2010. *Manual de procedimientos para análisis de calidad de la leche.* [visto 2015-01-10]. Disponible en: <http://www.cuentadelmilenio.org.ni/cedoc/02negrural/02%20Conglomerado%20Pecuario/05%20Manuales/20%20Manual%20de%20Procedimientos%20para%20Análisis%20de%20calidad%20de%20la%20Leche.pdf>. Pág. 7-36

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: TÍTULO: LECHE CRUDA. REQUISITOS **Código ICS:**
NTE INEN 9 **67.100.01**

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma Oficialización con el Carácter de por Resolución No. publicado en el Registro Oficial No. Fecha de iniciación del estudio:
--	---

Fechas de consulta pública:

Comité Interno del INEN
Fecha de iniciación:
Integrantes del Comité Interno:

Fecha de aprobación:

NOMBRES:

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

Otros trámites:

La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de especificación

Oficializada como: Por Resolución No. Registro Oficial No.

ANEXO 2. Tablas oficiales de pago al productor. MAGAP. 2010

Tabla 23 Tabla oficial de pago al productor por componentes de la leche

PRECIO BASE		0.42	INGRESE SU PRECIO 0.4200										Index % sobre precio de sustentación				
Base contenido GRASA		3.00											\$/Kg Grasa	2.4	Por décima % Grasa	0.0024	0.5714
Base contenido PROTEÍNA		2.90											\$/Kg Proteína	4.5	Por décima % Proteína	0.0045	1.0714
Proteína ->																	
Grasa	2.80	2.90	3.00	3.10	3.20	3.30	3.40	3.50	3.60	3.70	3.80	3.90	4.00				
3.0	0.4155	0.4200	0.4245	0.4290	0.4335	0.4380	0.4425	0.4470	0.4515	0.4560	0.4605	0.4650	0.4695				
3.1	0.4179	0.4224	0.4269	0.4314	0.4359	0.4404	0.4449	0.4494	0.4539	0.4584	0.4629	0.4674	0.4719				
3.2	0.4203	0.4248	0.4293	0.4338	0.4383	0.4428	0.4473	0.4518	0.4563	0.4608	0.4653	0.4698	0.4743				
3.3	0.4227	0.4272	0.4317	0.4362	0.4407	0.4452	0.4497	0.4542	0.4587	0.4632	0.4677	0.4722	0.4767				
3.4	0.4251	0.4296	0.4341	0.4386	0.4431	0.4476	0.4521	0.4566	0.4611	0.4656	0.4701	0.4746	0.4791				
3.5	0.4275	0.4320	0.4365	0.4410	0.4455	0.4500	0.4545	0.4590	0.4635	0.4680	0.4725	0.4770	0.4815				
3.6	0.4299	0.4344	0.4389	0.4434	0.4479	0.4524	0.4569	0.4614	0.4659	0.4704	0.4749	0.4794	0.4839				
3.7	0.4323	0.4368	0.4413	0.4458	0.4503	0.4548	0.4593	0.4638	0.4683	0.4728	0.4773	0.4818	0.4863				
3.8	0.4347	0.4392	0.4437	0.4482	0.4527	0.4572	0.4617	0.4662	0.4707	0.4752	0.4797	0.4842	0.4887				
3.9	0.4371	0.4416	0.4461	0.4506	0.4551	0.4596	0.4641	0.4686	0.4731	0.4776	0.4821	0.4866	0.4911				
4.0	0.4395	0.4440	0.4485	0.4530	0.4575	0.4620	0.4665	0.4710	0.4755	0.4800	0.4845	0.4890	0.4935				
4.1	0.4419	0.4464	0.4509	0.4554	0.4599	0.4644	0.4689	0.4734	0.4779	0.4824	0.4869	0.4914	0.4959				
4.2	0.4443	0.4488	0.4533	0.4578	0.4623	0.4668	0.4713	0.4758	0.4803	0.4848	0.4893	0.4938	0.4983				
4.3	0.4467	0.4512	0.4557	0.4602	0.4647	0.4692	0.4737	0.4782	0.4827	0.4872	0.4917	0.4962	0.5007				
4.4	0.4491	0.4536	0.4581	0.4626	0.4671	0.4716	0.4761	0.4806	0.4851	0.4896	0.4941	0.4986	0.5031				
4.5	0.4515	0.4560	0.4605	0.4650	0.4695	0.4740	0.4785	0.4830	0.4875	0.4920	0.4965	0.5010	0.5055				

Tabla 24 Tabla oficial de pago al productor por CBT de leche

CAMBIOS POR CONTEOS BACTERIALES TOTALES (CBT)										
Base (x 1000)				300		Precio por unidad de rango				0.01
Cambios unitarios (x 1000)				30						
Rangos en x 1000				Precio por componentes				0.4200		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Desde	0	31	61	91	121	151	181	211	241	271
Hasta	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
	0.51	0.5	0.49	0.48	0.47	0.46	0.45	0.44	0.43	0.42
Rangos en x 1000										
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Desde	301	331	361	391	421	451	481	511	541	571
Hasta	330	360	390	420	450	480	510	540	570	600
	0.41	0.4	0.39	0.38	0.37	0.36	0.35	0.34	0.33	0.32

Tabla 25 Tabla oficial de pago al productor por UFC

CAMBIOS UFC (Unidades Formadoras de Colonias)										
Base (x 1000)				300		Precio por unidad de rango				0.003 1
Cambios unitarios (x 1000)				10		Ingrese un precio				
						Precio por componentes			0.4200	
Desde	0	11	21	31	41	51	61	71	81	91
Hasta	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
	0.509 9	0.506 8	0.503 7	0.500 6	0.497 5	0.494 4	0.491 3	0.488 2	0.485 1	0.482
Desde	101	111	121	131	141	151	161	171	181	191

Hasta	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
	0.478 9	0.475 8	0.472 7	0.469 6	0.466 5	0.463 4	0.460 3	0.457 2	0.454 1	0.451
Desde	201	211	221	231	241	251	261	271	281	291
Hasta	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
	0.447 9	0.444 8	0.441 7	0.438 6	0.435 5	0.432 4	0.429 3	0.426 2	0.423 1	0.42
Desde	301	311	321	331	341	351	361	371	381	391
Hasta	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400
	0.416 9	0.413 8	0.410 7	0.407 6	0.404 5	0.401 4	0.398 3	0.395 2	0.392 1	0.389
Desde	401	411	421	431	441	451	461	471	481	491
Hasta	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500
	0.385 9	0.382 8	0.379 7	0.376 6	0.373 5	0.370 4	0.367 3	0.364 2	0.361 1	0.358

Tabla 26 Tabla oficial de pago al productor por Reductasa

CAMBIOS POR REDUCTASA										
		Base Hrs	6							
		Cambio por cada 1/2 h	0.015				Precio por componentes	0.420 0		Ingrese un precio
2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0		
0.300 0	0.315 0	0.3750	0.345 0	0.360 0	0.375 0	0.390 0	0.405 0	0.420 0		

ANEXO 3. Toma de muestras de leche para la determinación de las características fisicoquímicas e higiénico-sanitarias de la leche.



Figura 16 (A) Toma de muestra de leche, **(B)** preparación de muestra de leche para la prueba de reductasa y azul de metileno, **(C)** Muestras en la incubadora, **(D)** Lectura de los coágulos de lactofermentación.

ANEXO 4. Resultados de las características fisicoquímicas e higiénico-sanitarias de la leche por asociación.

Tabla 27 Promedio mensual de CCS por asociación

Asociación	Conteo Células Somáticas (x1000/mℓ)								
	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	PROMEDIO
20 de Marzo	307	276	258	261	377	164	298	43	248.0 ± 101,9 a
Progresista Mirador	484	426	498	437	305	346	26	230	344.0 ± 157,8 ab
Avancemos Juntos	658	665	503	448	592	334	241	1349	598.8 ± 338,2 c
Mariscal Sucre	549	430	505	527	456	799	267	45	447.3 ± 219,9 abc
Jesús del Gran Poder	996	487	353	436	587	538			566.2 ± 225,7 bc
Pizán	442	398	703	429	328	282	131	138	356.4 ± 184,9 ab

Tabla 28 Promedio mensual de CBT por asociación

Asociación	Conteo Bacteriano Total (x1000/mℓ)								
	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MA R	AB R	MA Y	PROMEDIO
20 de Marzo	175	41	62	70	175	631	353	122	203.6 ± 199,1 a
Progresista Mirador	607	430	187	187	337	424	137 1	446	498.6 ± 379,1 ab
Avancemos Juntos	4103	1832	284 1	463	101 4	210 3	401	712	1683.6 ± 1305 ab
Mariscal Sucre	1895 4	3195	419 8	319 7	853 4	505 3	153 2	893 8	6700.1 ± 5590 c
Jesús del Gran Poder	113	799	226 3	123 5	633	172 9			1128.7 ± 780,3 ab
Pizán	1890 6	886	165 6	378	145 2	927	672 6	520	3931.4 ± 6391 bc

Tabla 29 Resultados de la prueba de Reductasa por asociación

Asociación	Reductasa (horas)								
	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	PROMEDIO
20 de marzo	6	6	6	6	6	3	5	6	5.5 ± 1,1c
Progresista Mirador	5	5.5	6	6	6	6	1	5.5	5.1 ± 1,7 c
Avancemos Juntos	1	1	1	5	1	1	6	4	2.5 ± 2,1 ab
Mariscal Sucre	1	1	1	1	1	1	1	1	1.0 ± 0,0 a
Jesús del Gran Poder	6	4	1	1	4	1			2.8 ± 2,1 b
Pizán	1	2.5	1	6	1	2	1	4	2.3 ± 1,8 ab

Tabla 30 Promedio mensual de grasa por asociación

Asociación	Grasa (% m/v)								PROM. ± DE
	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	
20 de marzo	3,97	3,88	3,71	3,59	3,95	3,72	3,79	3,8	3,80 ± 0,13 a
Progresista Mirador	3,83	3,82	4	3,87	3,76	3,71	3,59	3,85	3,80 ± 0,12 a
Avancemos Juntos	3,83	3,87	3,89	3,36	4,07	3,92	3,61	3,77	3,79 ± 0,22 a
Mariscal Sucre	3,77	3,68	3,81	3,92	3,83	3,7	3,7	3,78	3,77 ± 0,08 a
Jesús del Gran Poder	3,85	3,7	3,63	3,69	3,76	3,82			3,74 ± 0,08 a
Pizán	4,05	3,88	4,35	3,74	3,68	3,65	3,59	3,7	3,83 ± 0,26 a

Requisito mínimo de grasa norma INEN 09: 3%

Tabla 31 Promedio mensual de sólidos totales por asociación.

Asociación	Sólidos totales (% g/100 mL)								PROM. ± DE
	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	
20 de Marzo	12.77	12.62	12.34	12.34	12.68	12.34	12.60	12.58	12.53 ± 0.17 a,b
Progresista Mirador	12.68	12.65	12.82	12.69	12.59	12.38	12.45	12.56	12.60 ± 0.14 a,b
Avancemos Juntos	12.45	12.5	12.48	12.43	12.68	12.59	12.1	11.99	12.40 ± 0.24 a
Mariscal Sucre	12.49	12.37	12.43	12.63	12.53	12.24	12.35	12.45	12.44 ± 0.12 a
Jesús del Gran Poder	12.57	12.43	12.37	12.41	12.5	12.59			12.48 ± 0.09 a,b
Pizán	12.88	12.71	13.49	12.53	12.46	12.4	12.45	12.62	12.69 ± 0.36 b

Requisito de sólidos totales norma INEN 09: ≥11.20%

Tabla 32 Promedio mensual de proteína por asociación

Asociación	Proteína (% g/100ml)								PROM. ± DE
	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	
20 de Marzo	3.31	3.26	3.22	3.27	3.26	3.18	3.28	3.23	3.25 ± 0.04 b
Progresista Mirador	3.32	3.28	3.36	3.29	3.29	3.15	3.32	3.24	3.28 ± 0.06 b
Avancemos Juntos	3.18	3.14	3.17	3.19	3.19	3.16	3.15	2.79	3.12 ± 0.14 a
Mariscal Sucre	3.25	3.2	3.19	3.21	3.23	3.13	3.21	3.26	3.21 ± 0.04 b
Jesús del Gran Poder	3.17	3.25	3.22	3.19	3.29	3.28			3.23 ± 0.05 b
Pizán	3.26	3.23	3.4	3.19	3.2	3.15	3.26	3.31	3.25 ± 0.08 b

Requisito mínimo de proteína norma INEN 09: 2.9%

Tabla 33 Promedio mensual de densidad por asociación

Asociación	Densidad (g/ml)								
	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	PROMEDIO
20 de marzo	1,0295	1,0298	1,0297	1,0291	1,0295	1,0296	1,0293	1,0296	1,0295 ± 0,0002 a
Progresista Mirador	1,0298	1,0293	1,0295	1,0295	1,0296	1,0290	1,0296	1,0292	1,0294 ± 0,0003 a
Avancemos Juntos	1,0297	1,0293	1,0294	1,0294	1,0297	1,0297	1,0291	1,0295	1,0294 ± 0,0002 a
Mariscal Sucre	1,0296	1,0298	1,0292	1,0290	1,0290	1,0294	1,0290	1,0298	1,0293 ± 0,0004 a
Jesús del Gran Poder	1,0298	1,0295	1,0298	1,0293	1,0294	1,0289			1,0294 ± 0,0003 a
Pizán	1,0300	1,0290	1,0294	1,0292	1,0290	1,0294	1,0292	1,0293	1,0292 ± 0,0003 a

Requisito mínimo de densidad norma INEN 09: A 15 °C:1,029 A 20° C:1,028

Tabla 34 Promedio mensual de Acidez por Asociación

Asociación	Acidez (°Dornic)								
	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	PROMEDIO
20 de marzo	14	14	14	14	14	14	14	14	14 ± 0 a
Progresista Mirador	14	15	14	14	14	14	14	14	14,13 ± 0,35 a
Avancemos Juntos	14	14	14	14	14	14	14	14	14 ± 0 a
Mariscal Sucre	14	14	14	14	14	14	14	14	14 ± 0 a
Jesús del Gran Poder	14	14	14	14	14	14			14 ± 0 a
Pizán	14	14	14	14	14	14	14	14	14 ± 0 a

Requisito mínimo de densidad norma INEN 09: min: 13 máx: 17

ANEXO 5. Encuestas a Centros de Acopio - control de mastitis

ITEMS A CALIFICAR	VARIABLE A EVALUAR	PTO. MAX	PTO. OBT	% CUMPLIMIENTO BPM	OBSERVACIONES	
LA COLECTA DE LA LECHE	Manejo general de la finca	Existe agua suficiente y de calidad en la UPA para realizar el ordeño, el lavado de las instalaciones, de los equipos y demás requerimientos de la UPA.	3	3	58%	
		Se realiza algún tipo de tratamiento adicional para mejorar la calidad del agua.	3	0		
		El ordeño se realiza en un sitio cómodo para los animales y las personas, cuenta con una cubierta.	1	0		
		Alimenta a los terneros con leche en baldes	1	1		
		Se garantiza que todos los animales obtengan su ración diaria de alimento, a través de la dotación de pastizales y sales minerales.	1	0		
		La UPA cuenta con registros que permiten conocer de la totalidad de los animales su estado fisiológico, tratamientos,	1	1		
		Los medicamentos permanecen con las etiquetas y se verifica la fecha de caducidad antes del uso.	1	1		
		Los agrofitoxicos se almacenan por lo menos a 40 metros de distancia del lugar de almacenamiento de la leche	1	1		
		TOTAL	12	7		
		Generalidades del ordeño	El ordeño se realiza en horas regulares para crear un hábito en los animales.	1		1
El área de ordeño está siempre limpia	3		3			
Las personas encargadas del ordeño cuidan su limpieza personal (manos limpias, uñas cortas, etc)	2					
Las personas encargadas del ordeño llevan ropa limpia y específica para el trabajo a realizar.	1		0			
Cuenta con materiales de limpieza y desinfección para el ordeño	2		0			
Lava sus tanques y balde de ordeño a fondo	3		3			
Deja sus tanques de leche boca abajo, no en contacto con el suelo, para que escurran desde el día anterior	1		1			
Los materiales son de uso exclusivo para el ordeño	1		1			
Durante el ordeño hay una persona para sujetar las vacas y otra para ordeñar	1		1			
La persona que ordeña realiza la limpieza de sus manos con agua y jabón.	3		3			
Lava pesones o las ubres en caso de necesidad con agua limpia y las seca antes de ordeñar.	2		2			
Lava sus manos durante el ordeño luego de cada contaminación	3		3			
Usa toalla o papel específico para secar la ubre e individuales para cada vaca.	2		2			
Desinfecta los pezones con un producto específico para esto (PRESELLADO).	2	0				
Descarta los primeros chorros de leche.	1	1				
Realiza sellado de la ubre luego del ordeño (SELLADO).	3	0				
TOTAL	31	21				
Del ordeño mecánico	Los equipos e implementos para el ordeño mecánico de los animales y que están en contacto con la leche están fabricadas con materiales resistentes, inertes, no presentan fugas, son impermeables y fácilmente desmontables para su	1	1	100%		
	Los equipos de ordeño llevan un control de reposición, funcionamiento y mantenimiento de todos sus componentes, se nota el buen estado de pesoneras, colectores, mangueras y líneas de conducción de leche	1	1			
	El ciclo de lavado alcalino inicia a 75°C y sale a 45°C, el ciclo de lavado ácido se lo hace entre 30° -40°C, hay un termómetro para verificar temperaturas	1	1			
	Para lavar y desinfectar se utilizan químicos autorizados y en dosis recomendadas por sus fabricantes, luego el agua para lavar equipos está clorada, de buena calidad.	1	1			
	El exterior e interior del equipo de ordeño, están limpios y en buen estado, especialmente la línea de vacío, mangueras, líneas de conducción de leche, están limpias (observar con linterna)	3	3			
El equipo opera con una presión de vacío entre 40 y 48 PSI, se evita el sobreordeño, se refiran pesoneras cortando el vacío.	1	1				
TOTAL	8	8				
Del ordeño manual	Los recipientes (baldes) donde se recoge la leche son de acero o aluminio, excepto de plásticos, no son tóxicos, son	3	3	100%		
	El ordeño se mantiene en un ambiente tranquilo para las vacas, hay buen trato a los animales.	1	1			
	El tipo de ordeño es a mano llena (correcto método de ordeño) evitando causar dolor al momento del ordeño, hay un orden preestablecido	1	1			
	Se realiza ordeños completos de leche postrera.	2	2			
	Durante el ordeño manual, se evita la presencia de otros animales domésticos que puedan contaminar la leche y/o causar algún accidente.	1	1			
TOTAL	8	8				
TOTAL COLECTA DE LA LECHE		59	44	75%		

Postcosecha	Usa filtros para cernir la leche son desechables o permiten una correcta limpieza y desinfección.	1	0	73%	
	Inmediatamente después del ordeño, la leche se enfría a 4° en menos de 2 horas.	8	8		
	El predio cuenta con un local aislado y equipo de enfriamiento para el almacenamiento de la leche.	2	0		
TOTAL		11	8		
Leche NO apta para consumo	a) Leche de un animal, que fue diagnosticado o confirmado por un médico veterinario y que presenta una enfermedad clínica transmisible al hombre (zoonosis), como la leptospirosis, la salmonelosis, la brucelosis y la tuberculosis.	1	1	100%	
	b) Leche de un animal en fase calostrual (mínimo 4 días y/o 8 ordeños después del parto).	1	1		
	c) Leche que contiene medicamentos, sustancias inhibidoras, residuos químicos o alguna otra sustancia que puede comprometer la seguridad alimentaria del consumidor.	1	1		
TOTAL		3	3		
MANEJO DE LA LECHE	Conocimientos y habilidades del personal que trabaja en la UPA	Identifica los tipos de raza para calidad y producción más adecuados para su zona.	1	0	57%
		Sabe como escoger a un animal con fines de producción de leche en base a calidad	1	1	
		Realiza inseminación artificial seleccionando pajuelas para mejoramiento de la calidad.	1	0	
		Selecciona y aplica técnicas de alimentación y nutrición en las etapas de crecimiento, desarrollo, levante, producción,	1	0	
		Selecciona y aplica técnicas de alimentación y nutrición con fines de mejoramiento de la calidad de la leche.	1	0	
		Las personas que trabajan en la UPA conocen el método del CMT para detectar Mastitis y realiza su tratamiento.	1	0	
		Hace CMT por lo menos cada mes o cada vez que requiere un correcto manejo sanitario en mastitis	5	5	
		Conoce sobre la mastitis subclínica	1	0	
		Tiene medidas preventivas para evitar mastitis subclínica	1	0	
		Considera al ordeño a fondo como medida de control de mastitis	1	1	
		Considera que la mastitis subclínica es infecciosa y pasa de vaca en vaca en las manos del ordeñador	1	1	
		Desinfecta las manos del ordeñador para control de mastitis	1	1	
		Tiene un orden de ordeño según el CMT	1	1	
		Realiza registro de vacas con secado mediante antibiótico específico y controla calendarios de preñes	1	0	
		Cuida del periodo de retiro de leche de acuerdo al antibiótico utilizado	1	1	
		Lleva registro sanitario de sus vacas	1	1	
		Conoce cuáles son las enfermedades transmisibles al ser humano.	1	0	
TOTAL		21	12	66%	
TOTAL MANEJO DE LA LECHE		35	23	71%	
TOTAL LÍNEA		94	67		

ANEXO 6. Control de temperatura en el centro de acopio Mariscal Sucre

	<h3>REGISTRO DE TOMA DE MUESTRAS DE LECHE</h3>	
Nombre de la asociación: Mariscal Sucre		Auditor: Anabel Pérez
Cantón: Huaca		Fecha: 22 de febrero 2017
Parroquia: Mariscal Sucre		Hora de la auditoría: 7 am

Nombre del Ganadero	Código	Leche caliente T ₁ (°C)	Leche fría T ₂ (°C)	Acidez
Tina - Aso. Mariscal Sucre	HMS			14
Chauca Soledad	HMS -03	19	11	14
Muñoz Bolivar	HMS -07	14	9	14
Pantoja Carlos	HMS -08	20	10	15
Huertas Magali	HMS -11	21	12	15
Portilla Irene	HMS -13	24	11	14
Muñoz Jair	HMS -14	20	10	14
Narvárez Milton	HMS -15		16	14
Pérez Carlos	HMS -18	21	14	14
Vaca Fernando	HMS -23	18	10	14
Velasco Cecilia	HMS -24	20	12	14
Velasco José	HMS -26	21	10	14