



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**“EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA EN EL CENTRO DE ACOPIO  
DE LECHE CRUDA CA.1 UBICADO EN EL CANTÓN MOCHA  
PROVINCIA DE TUNGURAHUA”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**Presentado para optar al grado académico de:  
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

**AUTORA: KATHERIN PAULINA ALTAMIRANO CASCANTE**

**DIRECTORA: DRA. JANNETH GALLEGOS**

**Riobamba - Ecuador**

**2018**

**©2018, Katherin Paulina Altamirano Cascante**

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

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

El tribunal de trabajo de titulación certifica que: El trabajo de titulación de tipo investigación: **“EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA EN EL CENTRO DE ACOPIO DE LECHE CRUDA CA.1 UBICADO EN EL CANTÓN MOCHA PROVINCIA DE TUNGURAHUA”**, de responsabilidad de la señorita Katherin Paulina Altamirano Cascante, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

**NOMBRE**

**FIRMA**

**FECHA**

Dra. Janneth Gallegos

**DIRECTORA DEL  
TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Ing. Paola Arguello. M.sc

**MIEMBRO DEL  
TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Yo Katherin Paulina Altamirano Cascante con cédula de identidad 060436024-8 soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en el presente trabajo de Titulación y el patrimonio intelectual del Trabajo de Titulación pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

**KATHERIN PAULINA ALTAMIRANO CASCANTE**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo está dedicado a la memoria de Blanquita, mis abuelitas Isabel y Piedad quienes con su cariño, cuidado y enseñanzas se constituyeron en un pilar fundamental durante mi niñez.

A mi pequeño sobrino y ahijado Santiago por su cariño y alegría otorgados en sus pocos meses de existencia.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por haberme dado la salud y fuerza para obtener uno de mis anhelos más deseados.

A mis padres Deisi y Hugo por su sacrificio y apoyo incondicional; a mis hermanos Hugo, Iveth y Mariely por su compañía durante todos los momentos de mi vida.

Mi agradecimiento a la Dra. Janneth Gallegos, Ing. Paola Arguello y BQF. Yolanda Buenaño por su ayuda incondicional y valiosos conocimientos que contribuyeron al desarrollo del presente trabajo.

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

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xv
SUMMARY .....	xvi
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Definición de leche.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2 Leche cruda.....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.1 Composición de la leche .....</b>	<b>4</b>
<b>1.2.1.1 Agua .....</b>	<b>5</b>
<b>1.2.1.2 Lactosa .....</b>	<b>5</b>
<b>1.2.1.3 Caseínas .....</b>	<b>6</b>
<b>1.2.1.4 Grasas .....</b>	<b>6</b>
<b>1.2.1.5 Minerales y vitaminas .....</b>	<b>6</b>
<b>1.2.2 Requerimientos específicos de la leche cruda NTE INEN 0009:2012 .....</b>	<b>6</b>
<b>1.2.2.1 Requerimientos organolépticos .....</b>	<b>6</b>
<b>1.2.2.2 Requerimientos físico químicos de la leche cruda .....</b>	<b>6</b>
<b>1.2.2.3 Requerimientos microbiológicos de la leche cruda .....</b>	<b>7</b>
<b>1.3 Producción y consumo de leche en el Ecuador y la región 3 .....</b>	<b>8</b>
<b>1.4 Etapas de Producción de la leche cruda .....</b>	<b>8</b>
<b>1.4.1 Ordeño .....</b>	<b>9</b>
<b>1.4.2 Transformación .....</b>	<b>9</b>
<b>1.4.3 Comercialización .....</b>	<b>9</b>
<b>1.5 Calidad microbiológica de la leche cruda .....</b>	<b>10</b>
<b>1.5.1 Bacterias de la leche .....</b>	<b>10</b>
<b>1.5.2 Enterobacterias .....</b>	<b>10</b>
<b>1.5.3 Bacterias lácticas .....</b>	<b>11</b>
<b>1.5.4 Hongos y levaduras .....</b>	<b>11</b>
<b>1.6 Determinación de la Calidad Microbiológica en la Leche Cruda .....</b>	<b>11</b>
<b>1.6.1 Métodos indirectos.....</b>	<b>12</b>
<b>1.6.1.1 Lactofiltración.....</b>	<b>12</b>
<b>1.6.1.2 Reducción de colorantes .....</b>	<b>12</b>

1.6.1.3	<i>Temperatura</i>	12
1.6.1.4	<i>Lactofermentación</i>	12
1.6.1.5	<i>Acidez titulable y pH</i>	13
1.6.2.1	<i>Recuento estándar en placa (REP)</i>	13
1.6.2.2	<i>Determinación de Salmonella</i>	13
1.6.2.3	<i>Contaje de células somáticas</i>	14
1.6.2.4	<i>Antibióticos</i>	14
<b>1.7</b>	<b>Contaminación de la leche</b>	<b>14</b>
1.7.1	<i>Medio externo</i>	15
1.7.2	<i>Vía mamaria</i>	15
<b>1.8</b>	<b>Factores que afectan al crecimiento de microorganismos en la leche cruda</b>	<b>16</b>
1.8.1	<i>Factores internos</i>	16
1.8.1.1	<i>Actividad de agua</i>	16
1.8.1.2	<i>pH</i>	16
1.8.1.3	<i>Contenido de nutrientes</i>	16
1.8.1.4	<i>Potencial óxido reducción</i>	16
1.8.2	<i>Factores externos</i>	17
1.8.2.1	<i>Humedad relativa</i>	18
1.8.2.2	<i>Temperatura</i>	18
<b>1.9</b>	<b>Leche y Seguridad Alimentaria</b>	<b>19</b>
1.9.1	<i>Trazabilidad para la inocuidad</i>	19
<b>1.10</b>	<b>Centro de acopio de leche cruda</b>	<b>20</b>
1.10.1	<i>Requisitos para el transporte de leche cruda</i>	21
1.10.2	<i>Requisitos de los centros de acopio de leche cruda</i>	21
<b>CAPÍTULO II</b>		
<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO</b>	<b>23</b>
2.1	<b>Lugar de investigación</b>	23
2.2	<b>Factores de estudio</b>	24
2.2.1	<i>Población</i>	24
2.2.2	<i>Muestra</i>	25
2.2.3	<i>Materiales, Equipos y Reactivos</i>	25
2.3	<b>Metodología</b>	27
2.3.1	<i>Levantamiento línea base</i>	27
2.3.1.1	<i>Descripción del proceso de recolección de la leche cruda</i>	27



2.3.2	<i>Verificación de la Prácticas Correctas de Higiene</i> .....	29
2.3.3	<i>Toma y Transporte de muestras</i> .....	30
2.4	<b>Análisis de leche cruda de las cuatro rutas de abastecimiento</b> .....	30
2.4.1	<i>Muestreo de la leche cruda</i> .....	30
2.4.2	<i>Procedimiento</i> .....	30
2.4.3	<i>Análisis físico químico de la leche cruda</i> .....	32
2.4.4	<i>Análisis de células somáticas de la leche cruda</i> .....	32
2.4.5	<i>Microbiológico de la leche cruda</i> .....	33
2.4.6	<i>Análisis de Salmonella de la leche cruda</i> .....	33
2.5	<b>Análisis de superficies vivas e inertes</b> .....	33
2.5.1	<i>Muestreo</i> .....	33
2.5.2	<i>Procedimiento</i> .....	34
2.6	<b>Análisis del aire</b> .....	35
2.6.1	<i>Muestreo</i> .....	35
2.6.2	<i>Procedimiento</i> .....	35
2.7	<b>Determinaciones microbiológicas</b> .....	35
2.7.1	<i>Determinación de aerobios mesófilos</i> .....	35
2.7.1.1	<i>Preparación de Plate Count Agar PCA Acumedia 7157</i> .....	35
2.7.1.2	<i>Técnica de siembra</i> .....	36
2.7.1.3	<i>Lectura e interpretación de los cultivos</i> .....	36
2.7.2	<i>Determinación de Staphylococcus aureus</i> .....	37
2.7.2.1	<i>Preparación del medio de cultivo Baird Parker base Acumedia 7112</i> .....	37
2.7.2.2	<i>Técnica de siembra</i> .....	37
2.7.2.3	<i>Lectura e interpretación de los cultivos</i> .....	38
2.7.3	<i>Determinación de enterobacterias</i> .....	38
2.7.3.1	<i>Preparación del medio de cultivo glucosa bilis rojo violeta Acumedia 7425</i> .....	38
2.7.3.2	<i>Técnica de siembra</i> .....	38
2.7.3.3	<i>Lectura e interpretación de los cultivos</i> .....	39
2.7.4	<i>Determinación de coliformes y E.coli</i> .....	39
2.7.4.2	<i>Técnica de siembra</i> .....	39
2.7.5	<i>Determinación de Hongos y levaduras</i> .....	40
2.7.5.1	<i>Preparación del medio de cultivo malta Acumedia 7341</i> .....	40
2.7.5.2	<i>Técnica de siembra</i> .....	40
2.7.5.3	<i>Lectura e interpretación de los cultivos</i> .....	41

### **CAPÍTULO III**

<b>3.</b>	<b>MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1</b>	<b>Resultados de la Evaluación de los Requisitos de Medios de transporte de leche cruda.....</b>	<b>41</b>
<b>3.2</b>	<b>Resultados de las Prácticas Correctas de Higiene en el centro de acopio CA.1 .....</b>	<b>43</b>
<b>3.3</b>	<b>Resultados del análisis microbiológico de la leche cruda.....</b>	<b>45</b>
<b>3.4</b>	<b>Resultados del análisis de células somáticas y de <i>Salmonella</i>.....</b>	<b>49</b>
<b>3.5</b>	<b>Resultados de los análisis físico químicos de la leche cruda .....</b>	<b>50</b>
<b>3.6</b>	<b>Resultados del análisis microbiológico de las superficies en contacto con la leche</b>	<b>52</b>
<b>3.7</b>	<b>Resultados del análisis microbiológicos del aire .....</b>	<b>56</b>
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>57</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>58</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Composición química de la leche entera de vaca.....	5
<b>Tabla 2-1:</b>	Requerimientos físicos químicos de la leche cruda de acuerdo a la norma NTE INEN 0009:2012. ....	7
<b>Tabla 3-1:</b>	Requerimientos microbiológicos de la leche cruda de acuerdo a la norma NTE INEN 0009:2012. ....	7
<b>Tabla 4-1:</b>	Existencia de ganado vacuno, vacas ordeñadas y producción de leche en la zona tres del Ecuador desde el año 2015-2017 .....	8
<b>Tabla 5-1:</b>	Rangos de temperatura para el crecimiento de microorganismos .....	19
<b>Tabla 1-2:</b>	Muestreo compuesto de la leche obtenida en cada una de las rutas de abastecimiento .....	31
<b>Tabla 1-3:</b>	Niveles de indicadores microbiológicos en muestras de leches crudas de cuatro rutas de abastecimiento.....	45
<b>Tabla 2-3:</b>	Recuento de células somáticas y detección de <i>Salmonella</i> en muestras de leche cruda de cuatro rutas de abastecimiento. ....	49
<b>Tabla 3-3:</b>	Análisis físico-químico de leche de vaca expresados en porcentaje obtenidos en las 4 rutas de abastecimiento. ....	50
<b>Tabla 4-3:</b>	Niveles de indicadores en superficies inertes y vivas.....	52
<b>Tabla 5-3:</b>	Indicadores de calidad de aire .....	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-2:</b> Mapa de ubicación del cantón Mocha.....	24
--	----

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Evaluación de la lista de chequeo de los requisitos de medios de transporte de la leche cruda para el centro de acopio CA.1 en el cantón Mocha provincia de Tungurahua.....	42
<b>Gráfico 2-3:</b>	Evaluación de la ejecución de las prácticas correctas de higiene del centro de acopio CA.1 en el cantón Mocha provincia de Tungurahua.....	44

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A</b>	Plano del centro de acopio de leche cruda CA.1
<b>Anexo B</b>	Toma de la muestra de la leche cruda (A1), muestreo de una superficie por hisopado (A2), muestreo del pomo de la puerta por hisopado (A3) y muestreo del aire por caída a placas (Agar malta y PCA) (A4)
<b>Anexo C</b>	Recuentos de colonias de aerobios mesófilos (C1), <i>Staphylococcus aureus</i> (C2), enterobacterias (C3), coliformes (C4a), <i>E.coli</i> (C4b), hongos y levaduras (C5)
<b>Anexo D</b>	Informe de Laboratorio de Agrocalidad. Ensayos físico-químicos y Contaje de células somáticas de la leche cruda de las 4 rutas de abastecimiento
<b>Anexo E</b>	Informe de Laboratorio de Agrocalidad. Detección de <i>Salmonella</i>
<b>Anexo F</b>	Lista de chequeo: Requisitos de medios de transporte de leche cruda
<b>Anexo G</b>	Lista de chequeo: Requisitos de para centros de acopio de leche cruda
<b>Anexo H</b>	Cálculos empleados para los recuentos de indicadores

## RESUMEN

La evaluación higiénico sanitaria en el centro de acopio de leche cruda CA. 1 del cantón Mocha provincia de Tungurahua, se realizó mediante estudios por triplicado durante tres semanas consecutivas los cuales permitieron identificar el nivel de cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene en base a los parámetros establecidos en el Manual de Procedimiento para la Vigilancia y Control de la Inocuidad de Leche Cruda. Se efectuaron análisis físico-químicos y microbiológicos de la leche cruda, superficies vivas e inertes y aire en las áreas de almacenamiento, recepción y laboratorio. Las Prácticas Correctas de Higiene en el centro de acopio cumplieron con 21 puntos de los 27 criterios establecidos demostrando una ejecución del 26%, mientras que los criterios para el transporte de leche se cumplieron en un 50%. Los aerobios mesófilos en la leche cruda de la ruta N°1 alcanzan un máximo de  $8,14 \pm 0,43$  log UFC/mL. En el tanque de almacenamiento la carga microbiana fue  $6,62 \pm 0,09$  log UFC/mL y en la manguera  $6,61 \pm 0,01$  log UFC/ cm<sup>2</sup>. *Staphylococcus aureus* presentó el nivel más alto en la leche de la ruta N°4 ( $7,20 \pm 0,65$  log UFC/mL) pero en el silo su nivel fue  $5,74 \pm 0,27$  log UFC/mL y la manguera arrojó  $5,58 \pm 0,16$  log UFC/ cm<sup>2</sup>. Las características físico-químicas: grasa, proteínas, sólidos totales y sólidos no grasos cumplen con los criterios de la normativa ecuatoriana. En conclusión, el centro de acopio CA. 1 incumple los parámetros microbiológicos establecidos debido a las incorrectas prácticas de higiene en el transporte y almacenamiento de la leche cruda siendo necesario crear conciencia en los operarios sobre la importancia del cumplimiento de las exigencias de calidad e inocuidad en la recolección, almacenamiento y distribución de este producto.

**PALABRAS CLAVE:** <BIOQUÍMICA> <MICROBIOLOGÍA> <EVALUACIÓN HIGIÉNICO SANITARIA> < ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS> <CENTRO DE ACOPIO DE LECHE CRUDA>

## SUMMARY

Sanitary hygienic evaluation in the raw milk collection center CA. 1 of the canton Mocha province of Tungurahua, was conducted by triplicate studies for three consecutive weeks which allowed to identify the level of compliance with the Good Hygiene Practices based on the parameters established in the Manual of Procedures for the Surveillance and Control of the Raw milk safety. Physical-chemical and microbiological analyzes of the raw milk, live and inert surfaces and air were carried out in the storage, reception and laboratory areas. The Good Hygiene Practices in the collection center complied with 21 points of the 27 established criteria, demonstrating an execution of 26%, while the criteria for the transport of milk were fulfilled by 50%. The mesophilic aerobes in the raw milk of route N° 1 reach a maximum of  $8.14 \pm 0.43$  log CFU / mL. In the storage tank, the microbial load was  $6.62 \pm 0.09$  log CFU / mL and in the hose  $6.61 \pm 0.01$  log CFU / cm<sup>2</sup>. *Staphylococcus aureus* presented the highest level in the milk of the route N° 4 ( $7.20 \pm 0.65$  log CFU / mL) but in the silo, its level was  $5.74 \pm 0.27$  log CFU / mL and the hose threw  $5.58 \pm 0.16$  log CFU / cm<sup>2</sup>. The physico-chemical characteristics: fat, proteins, total solids, and non-fat solids fulfill the criteria of the Ecuadorian regulations. In conclusion, the collection center CA.1 does not comply with the established microbiological parameters due to incorrect hygiene practices in the transport and storage of raw milk, being necessary to raise awareness among operators about the importance of compliance with quality and safety requirements in the collection, storage, and distribution of this product.

**KEY WORDS:** <BIOCHEMISTRY> <MICROBIOLOGY> <SANITARY HYGIENIC EVALUATION> <PHYSICAL-CHEMICAL ANALYSIS> <RAW MILK COLLECTION CENTER>



## **INTRODUCCIÓN**

La leche es un producto altamente perecedero, la protección natural que se presenta en la leche es débil, por lo que su uso para consumo humano, como para el empleo en procesos tecnológicos industriales, exige el empleo de diversas medidas para controlar la proliferación de los microorganismos y la actividad enzimática.

El desconocimiento de las condiciones sanitarias en las que se debe producir, procesar, almacenar y transportar este producto, así como de las normativas de calidad vigentes ocasiona que ciertos proveedores alteren la leche por diversos procedimientos tales como aguado, descremado, la adición de conservantes, antibióticos, estabilizadores, colorantes, etc; permitiendo el desarrollo de microorganismos así como la presencia de agentes químicos que dan lugar a diversas modificaciones en la composición de la leche. Todo lo anterior afecta a su calidad e inocuidad y resulta en un perjuicio del consumidor final en los aspectos nutricionales, de salud y económicos (Armendáriz, 2013, p.5).

Cuando la leche cumple con los requisitos de calidad establecidos su consumo es seguro para la salud humana. Por eso, una leche cruda, previa comercialización y consumo debe someterse a un control físico, químico y microbiológico. Como garantía de salubridad debe haber sido ordeñada con métodos modernos e higiénicos de succión en los cuales no hay contacto físico de las ubres de la vaca con las manos del operador. Durante su manipulación, las manos también pueden aportar microorganismos, por lo cual es importante mejorar las prácticas sanitarias en el ordeño y el procesamiento tradicional de la leche. Por consiguiente, es necesario establecer parámetros de calidad y socializarlos mediante talleres de capacitación para demostrar en la práctica el efecto de las buenas técnicas sanitarias en la calidad del producto final.

La calidad debe asegurarse a lo largo de la cadena de producción, así una leche de buena calidad y segura para consumo humano, es el resultado de reconocidas prácticas sanitarias observadas a través del ordeño, enfriamiento y almacenamiento en lugares adecuados y el transporte en el menor tiempo posible debido al período de caducidad corto. Para asegurar la calidad de la leche y de los productos lácteos, se requiere del establecimiento y aplicación de planes sistemáticos que identifiquen los peligros, valoren los riesgos y se controlen con métodos preventivos (Medina, 2015, pp.68-70).

En Ecuador, datos del año 2017 señalan que el desarrollo de la cadena de lácteos es pujante, cuenta con 300 000 productores a escala nacional con un rendimiento de 5,5 millones de litros diarios y un aporte del 1% al producto interno bruto (PIB).

En los últimos años el crecimiento en la producción de leche se ha mantenido con una tendencia entre el 25% y 30%; de esta manera, el sector busca consolidar nuevos mercados para vender el alimento. Esta industria, la cual ya ha exportado a Venezuela, está haciendo gestiones para introducir el producto a Centroamérica y otros países como Rusia (González, 2017, pp.33-36)

En este sentido el Departamento de Producción del Consejo Provincial de Tungurahua busca mejorar la comercialización y la agroindustria, siendo necesario que se apliquen las buenas prácticas de producción de leche para lo cual es indispensable que se estudien y analicen las condiciones higiénico sanitarias en esta cadena de producción, para que de esta manera se pueda evaluar la calidad e inocuidad de la leche (Lomas, 2018, p.23).

Por lo anteriormente expuesto se hace necesario evaluar el manejo de la leche cruda en el centro de acopio CA. 1 en el cantón Mocha provincia de Tungurahua, con la finalidad de conocer las características higiénico sanitarias del proceso y sugerir lo que se debe corregir o mantener a fin de que los proveedores oferten un alimento sano. A la vez, con esta intervención se consolidará una etapa de diagnóstico higiénico sanitario que permita a futuro plantear un proyecto de vinculación encaminado hacia el fortalecimiento de la calidad de los productos procesados a partir de la leche (Kopper, et al., 2016, p. 35).

## **OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

## **Objetivo General**

Evaluar las condiciones higiénico sanitarias del centro de acopio de leche cruda CA. 1 ubicado en el cantón de Mocha provincia de Tungurahua

## **Objetivos Específicos**

1. Observar y describir el proceso de recolección, almacenamiento y entrega de leche cruda en el centro de acopio CA. 1 ubicado en el cantón de Mocha provincia de Tungurahua
2. Identificar el nivel de cumplimiento de normas higiénico sanitarias en el centro de acopio de leche cruda CA.1 ubicado en el cantón Mocha de la provincia de Tungurahua
3. Realizar el análisis microbiológico en materia prima, ambiente, equipos y materiales en el centro de acopio de leche cruda CA.1 ubicado en el cantón Mocha de la provincia de Tungurahua

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

### 1.1 Definición de leche

La leche es el resultado de la secreción normal de las glándulas mamarias de bovinos que se consigue del ordeño de manera completa y continua debiendo ser sometida a un proceso para la adquisición de la leche (NTE INEN 0009, 2012, p.1).

### 1.2 Leche cruda

Leche que no se ha expuesto al proceso de calentamiento por lo tanto su temperatura no supera 40°C (NTE INEN 0009, 2012, p.1).

#### 1.2.1 *Composición de la leche*

Entre los principales constituyentes de la leche se encuentran: agua, lactosa, caseínas, grasas, minerales y vitaminas. Se hallan en cantidades más o menos iguales las sustancias orgánicas que son los glúcidos, lípidos y proteínas; conforman la principal fuente de energía los glúcidos (lactosa) y los lípidos. Las proteínas que se encuentran presentes son las caseínas.

Las proteínas son fuente esencial de aminoácidos esenciales y no esenciales constituyéndose las proteínas en una fuente nutricional importante. Las vitaminas y minerales son micronutrientes que son importantes para el organismo debido que ayudan en el crecimiento y fortalecimiento de sistema inmunológico. En la tabla 1-1 se señala la composición química de la leche entera en 100 gramos (Tomasso, 2015, p.4)

**Tabla 1-1:** Composición química de la leche entera de vaca

Constituyentes de la leche entera de vaca		Cantidad/100 g
	Lactosa	4,70 g
	Caseínas	2,70 g
	Grasas	3,60 g
	Agua	87,70 g
Minerales	Sodio	50 mg
	Potasio	150 mg
	Calcio	120 mg
	Magnesio	12 mg
	Fósforo	95 mg
	Zinc	4,19 ppm
	Hierro	0,40 ppm
	Cobre	0,22 ppm
Vitaminas liposolubles: A, D y E		Trazas
Vitaminas hidrosolubles: riboflavina (B2), tiamina (B1), piridoxina (B6), cianocobalamina (B12), vitamina C, vitamina H (biotina) y niacina (B3)		

Fuente: (Fernández, 2014, p.1)

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

### *1.2.1.1 Agua*

La cantidad de agua que presenta la leche se debe a la cantidad de lactosa que se encuentra en la misma. Es necesario que la vaca tome la suficiente cantidad de agua ya que esto se relaciona directamente con el incremento en la producción de leche.

### *1.2.1.2 Lactosa*

La lactosa es un disacárido formado por glucosa y galactosa que se encuentra en la leche de los mamíferos. En la glándula mamaria se sintetiza la lactosa en donde participa la  $\alpha$ -lactoalbúmina para posteriormente segregarse en la leche (Agudelo, 2005, p. 39).

### ***1.2.1.3 Caseínas***

Existen varios tipos de caseínas presentes en la leche entre ellas se encuentran: la caseína- $\alpha_{s1}$ , la caseína- $\beta$  y la caseína- $\kappa$ . Son capaces de separarse de la leche debido a la acidificación generando una masa blanca.

### ***1.2.1.4 Grasas***

La grasa láctica está formada por diferentes compuestos tales como: colesterol, fosfolípidos, triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos libres. Todas estas moléculas se encuentran suspendidas en el agua generándose una emulsión intacta siempre y cuando la leche no se vea afectada por factores externos. Debido a la presencia de luz y oxígeno afecta a la grasa láctea generando alteraciones en las características organolépticas especialmente en el sabor.

### ***1.2.1.5 Minerales y vitaminas***

Los minerales y vitaminas de la leche son considerados fundamentales en el crecimiento y desarrollo del lactante. La digestibilidad del calcio y fósforo es generalmente alta, en parte debido a que se encuentran en asociación con la caseína de la leche (Zela, 2005, pp.5-6).

## ***1.2.2 Requerimientos específicos de la leche cruda NTE INEN 0009:2012***

Es indispensable que la leche cruda cuente con los siguientes requisitos:

### ***1.2.2.1 Requerimientos organolépticos***

- Olor: debe presentar un olor propio a lácteo sin ningún tipo de olores extraños.
- Aspecto: debe ser uniforme sin cuerpos extraños.
- Color: levemente amarillo o de color blanco opalescente.

### ***1.2.2.2 Requerimientos físico químicos de la leche cruda***

A continuación se detallan algunos de los requerimientos físicos químicos de la leche cruda establecido en la NTE INEN 0009:2012 (Ver Tabla 2-1).

**Tabla 2-1:** Requerimientos físicos químicos de la leche cruda de acuerdo a la norma NTE INEN 0009:2012.

Requerimientos	Unidad	Valor mínimo	Valor máximo	Norma
<b>Densidad</b> A 15°C A 20°C	-	1,029 1,028	1,033 1,032	NTE INEN 11
<b>Materia grasa</b>	%	3,0		NTE INEN 12
<b>Acidez titulable como ácido láctico</b>	%	0,13	0,17	NTE INEN 13
<b>Sólidos totales</b>	%	11,2	-	NTE INEN 14
<b>Sólidos no grasos</b>	%	8,2	-	(Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa)
<b>Proteínas</b>	%	2,9	-	NTE INEN 16

Fuente: (NTE INEN 0009, 2012,p. 2)

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

### 1.2.2.3 Requerimientos microbiológicos de la leche cruda

En la tabla 3-1 se aprecian los requerimientos microbiológicos de la leche cruda.

**Tabla 3-1:** Requerimientos microbiológicos de la leche cruda de acuerdo a la norma NTE INEN 0009:2012.

Requerimiento	Valor máximo	Norma
Recuento de células somáticas/mL	$7,0 \times 10^5$	AOAC-978.26
Recuento de aerobios mesófilos (UFC/mL)	$1,5 \times 10^6$	NTE INEN 1529.-5

Fuente: (NTE INEN 0009, 2012, p. 3)

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

### 1.3 Producción y consumo de leche en el Ecuador y la región 3

En el año 2017 se establecen las estadísticas de la producción de leche a nivel de las diferentes regiones del país, la que ocupa el primer lugar es la región Andina donde se generan 64,31 % de la producción total, en el Litoral corresponde al 29,99 % y en el Oriente al 5,67 %. Se define también el promedio de litros de leche por vaca producidos diariamente, la región la Sierra es la más representativa con 7,11 litros/vaca, la región Amazónica ocupa el segundo lugar con 4,29 litros/vaca y por último la región Costa con 3,93 litros/vaca.

La mayoría de las empresas lácteas del país se establecen en la región Andina del Ecuador (90%), dichas industrias se encargan primordialmente de la preparación de leche pasteurizada, crema de leche y quesos por lo tanto los demás derivados lácteos ocupan un segundo lugar en cuanto a su producción (Zambrano, et al., 2017, p.10). A nivel nacional son seis empresas productoras que se destacan por su elevada producción de leche diaria, en la Costa: Rey leche y Tony con 160.000 a 180.000 litros mientras que en la Sierra se encuentran: Nestlé - DPA con 300.000 litros, Andina con una producción de 110.000 litros; Nutrileche produce entre 140.000- 160.000 litros y la Pasteurizadora Quito con 160.000 a 180.000 litros de leche (Bergamo, et al., 2017; pp. 10-11).

En la tabla 4-1 se detallan las vacas ordeñadas y la producción de leche desde el año 2015 hasta 2017 en las cuatro provincias correspondientes a la zona tres del Ecuador. Chimborazo ocupó el segundo lugar con más de 431000 litros de leche en el año 2017.

**Tabla 4-1:** Existencia de vacas ordeñadas y producción de leche en la zona tres del Ecuador desde el año 2015-2017

Provincia	Vacas ordeñadas			Producción de leche (litros)		
	2015	2016	2017	2015	2016	2017
Cotopaxi	65673	61179	63932	529614	483699	514759
Chimborazo	59990	72524	64846	405036	458181	431325
Tungurahua	39505	40470	34103	330239	355679	297060
Pastaza	2781	2835	1992	18793	18632	11223

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

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

### 1.4 Etapas de Producción de la leche cruda



Las etapas de producción de leche son: ordeño, transformación y comercialización, las cuales se detallan a continuación:

#### ***1.4.1 Ordeño***

Para iniciar con este procedimiento es indispensable que la vaca que va a someterse a este proceso se encuentre sana especialmente a nivel de sus ubres, que el animal no se encuentre bajo los efectos de fármacos y la infraestructura del establecimiento debe estar limpia para evitar la transferencia de microorganismos manteniendo la inocuidad de la leche.

En la actualidad el ordeño se hace de forma manual o mecánica, el último proceso es más efectivo y rápido debido a que el producto pasa inmediatamente a contenedores térmicos que van a controlar la temperatura de la leche evitando su deterioro, siendo necesario que la leche sea posteriormente almacenada a una temperatura no superior de los 5°C para que permanezca su frescura. Se ha determinado que el momento idóneo o menos estresante para el ordeño de la vaca es el atardecer o en el amanecer (Galván, 2005, p. 9).

#### ***1.4.2 Transformación***

La leche cruda debe pasar por un filtro en donde se retengan todas las materias extrañas e impurezas que puedan estar presentes, posteriormente se deben almacenar en contenedores de acero inoxidable en donde se conserve a una temperatura adecuada para realizar los análisis físico químicos y microbiológicos que permitan garantizar su inocuidad y calidad, finalmente al ser transportada a una planta láctea la leche puede ser sometida a procesos tecnológicos convirtiéndola en una leche líquida, fluida y homogenizada para posteriormente ser envasada (Zamorán, 2011, p.24).

#### ***1.4.3 Comercialización***

En esta etapa la leche puede ser transformada a diversos derivados lácteos, los que se transportan a diferentes empresas en donde se encargan de su comercialización para ser adquiridos por el cliente, es decir el consumidor final.

Para una correcta comercialización de la leche se establecen ciertos parámetros para que el consumidor la elija, entre estos parámetros están: las preferencias de los clientes en cuanto a los

envases ya que deben ser resistentes y de fácil manejo para los consumidores. Es imprescindible que los envases se encuentren bien identificados y rotulados por medio de las etiquetas en donde se describa sus componentes y la cantidad de los mismos que están en el producto. Otra característica de calidad indispensable se refiere a la aceptabilidad del producto, se espera que el producto adquirido cumpla con las expectativas del consumidor en base a los estándares de calidad que garantice su inocuidad para que su venta en el mercado sea exitosa (Zamorán, 2011, p.25).

## **1.5 Calidad microbiológica de la leche cruda**

En la leche cruda puede hallarse una diversidad de microorganismos entre ellos las bacterias, hongos y levaduras. A continuación se detallan algunos de los microorganismos que proliferan en la leche:

### **1.5.1 Bacterias de la leche**

Los grupos más relevantes en la leche son las enterobacterias y las bacterias lácticas por sus aplicaciones industriales.

### **1.5.2 Enterobacterias**

Este grupo tiene gran importancia en la leche desde el punto de vista higiénico ya que varios géneros pueden ser agentes de enfermedades gastrointestinales, estas bacterias son inactivadas cuando se someten a temperatura superior a los 70°C, a nivel industrial es importante determinarlas porque pueden producir gas ocasionando cambios en las propiedades físico químicas de la leche. Entre las enterobacterias se destacan *Salmonella* y *Shigella*. Pero las más comunes son las del grupo coliforme tales como: *Escherichia coli*, *Citrobacter* y *Klebsiella*.

La *Salmonella* y *Shigella* son bacilos Gram negativos y anaerobios facultativos, habitan normalmente en el intestino de los humanos pudiendo provocar Salmonelosis o Shigelosis en un período de incubación de hasta 5 días generando en las personas fiebre, dolor abdominal y diarrea (Ramos, 2010, p.6).

*Escherichia coli* se encuentra normalmente en la microbiota de las personas, es un anaerobio facultativo comensal que ayuda a la absorción de nutrientes a nivel intestinal sin embargo determinadas cepas de este microorganismo puede ocasionar diversas infecciones a nivel del

intestino y de las vías urinarias. Se han determinado algunos tipos de *E. coli* enteropatógenas de acuerdo a los factores de virulencia se destacan: *E. coli* de adherencia difusa, *E. coli* enteroagregativa, *E. coli* enteropatógena, *E. coli* enteroinvasiva, *E. coli* enterohemorrágica y *E. coli* enterotoxígena. Las cepas de *E. coli* enterohemorrágica como *E. coli* 0157:H7 y *E. coli* 0111 provocan diarrea que puede ser leve hasta grave cuando existe la presencia de sangre, algunas de las personas infectadas con estas cepas pueden desarrollar el Síndrome Hemolítico Urémico generando insuficiencia renal aguda en los pacientes (Escobar, 2012, p.9).

### **1.5.3 Bacterias lácticas**

Las bacterias lácticas se localizan en ambientes en donde existen vitaminas, proteínas y carbohidratos desarrollándose en pH 4, tienen la característica de ser anaerobias facultativas; ayudan en la industria láctea ya que generan cambios en la textura de la leche, los que son necesarios para la elaboración de quesos, yogures, kumis y crema de leche ya que intervienen en la coagulación de la leche. A nivel industrial las bacterias lácticas provocan en los alimentos: gelificación de la leche, inhibición de microorganismos, disminución del contenido de lactosa y proteólisis en los quesos maduros. Las bacterias lácticas tienen actividad lipolítica y proteolítica que permiten la formación de sabores y aromas característicos a los quesos madurados, mientras que en la fabricación de yogur y kumis las bacterias lácticas permiten la fermentación de la lactosa provocando un sabor ligeramente ácido

Para las personas las bacterias lácticas tienen efecto probiótico, forman estas parte de la microbiota intestinal del organismo y contribuyen al adecuado funcionamiento del sistema digestivo disminuyendo las molestias gastrointestinales siendo los principales géneros de estas bacterias *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Lactococcus* (Rodríguez, et al., 2008, p.10).

### **1.5.4 Hongos y levaduras**

La presencia de hongos y levaduras indican las deficiencias en cuanto a las condiciones sanitarias, algunos hongos como *Oospora lactis* y *Geotrichum candidum* producen enzimas proteolíticas encargadas del deterioro de la leche (Moreno, et al., 2007, p.45).

## **1.6 Determinación de la Calidad Microbiológica en la Leche Cruda**

En los laboratorios de control de calidad de la leche cruda debe estar presente el personal

capacitado con suficientes conocimientos y destrezas que sea apto para realizar exámenes en cuanto a la composición física química y microbiológica de la materia prima o del producto final de acuerdo a los ensayos y valores establecidos en la norma de cada país. Entre los principales métodos indirectos para el control de la leche están: lactofiltración, reducción de colorantes, temperatura, lactofermentación, acidez titulable y pH.

### ***1.6.1 Métodos indirectos***

A continuación se describen los métodos indirectos que se emplea en el análisis de la leche cruda.

#### ***1.6.1.1 Lactofiltración***

Si en este análisis se obtiene una cantidad abundante de sedimento puede ser debido a la presencia de heces, polvo e insectos lo que va a indicar un deficiente calidad sanitaria de la leche cruda.

#### ***1.6.1.2 Reducción de colorantes***

En el ensayo se emplea el azul de metileno o la resazurina ya que se fundamenta en la variación del potencial de óxido reducción de la leche a través del metabolismo microbiano.

#### ***1.6.1.3 Temperatura***

Aunque la leche cruda se encuentre almacenada a una temperatura no superior a 5°C esto no quiere decir que la leche presente condiciones óptimas, debido que en etapas anteriores se pudo haber producido la contaminación microbiana por variaciones de temperatura que posiblemente se generaron por la falta de control continuo de este parámetro.

#### ***1.6.1.4 Lactofermentación***

Este ensayo consiste en la fermentación de una muestra de leche incubada a una temperatura que oscila entre 35-37°C durante 24 horas, se evalúa la formación de un coágulo, si el coágulo es homogéneo con la presencia o ausencia de burbujas de gas será señal de la presencia de bacterias

lácticas mientras si el coágulo produce abundante gas y tiene aspecto grumoso es indicativo de la existencia de bacterias coliformes.

#### ***1.6.1.5 Acidez titulable y pH***

Se genera fermentación en la leche debido a la proliferación de microorganismos ocasionando el incremento de acidez y disminuyendo su pH. El pH ideal de la leche cruda debe oscilar entre 6,5-6,7 (Grass, et al., 2008:pp. 60-65).

#### ***1.6.2 Métodos directos***

Permiten la determinación de los microorganismos presentes en la leche cruda, entre estos métodos se encuentran:

##### ***1.6.2.1 Recuento estándar en placa (REP)***

Es la prueba principal que se realiza, es el indicador más común de calidad sanitaria de la leche cruda, va a permitir el recuento de los aerobios mesófilos de la leche cruda. En este método se debe realizar diluciones de la muestra analizada e inocular una o más alícuotas en placas de agar estándar para después incubarlas durante 24-48 horas a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  para finalmente proceder con la lectura de las placas reportando los resultados en UFC/g o UFC/mL.

El método REP se emplea modificando la temperatura y el tiempo de incubación para permitir el crecimiento de las diferentes bacterias según sus temperaturas.

##### ***1.6.2.2 Determinación de Salmonella***

Debido al carácter patógeno de *Salmonella* su detección es de vital importancia porque constituye un factor principal en las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). La Salmonella ingresa por vía oral y asociado a los alimentos o por medio de las heces de animales infectados,

esta bacteria es capaz de sobrevivir a la acidez del estómago colonizando el epitelio intestinal, diferentes tipos de *Salmonella* provocan infección aguda ocasionando fiebre entérica y gastroenteritis; las cepas de *Salmonella typhi* y *S.paratyphi* que son invasivas en el organismo ocasionan la fiebre tifoidea cuyos síntomas son cefaleas, dolor abdominal, pérdida de apetito y fiebre. Las Salmonelas no tifoideas como *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* no atraviesan la barrera gastrointestinal provocando gastroenteritis (Berkow, et al, 2005, p.20).

#### **1.6.2.3 Contaje de células somáticas**

Un elevado contaje de células somáticas es indicativo de que la vaca sufre de mastitis que es una inflamación de origen tóxico, traumático o infeccioso a nivel de la glándula mamaria en donde va a existir la proliferación de bacterias siendo los principales microorganismos responsables de esta infección Estreptococos, Estafilococos y Coliformes; la principal fuente de contaminación es la ambiental, es decir si el entorno en donde se realiza el ordeño del animal es contaminado los microorganismos ingresan a las glándulas mamarias de las vacas y se transmiten por prácticas incorrectas de ordeño (Peña, et al., 2010: pp. 22-24).

#### **1.6.2.4 Antibióticos**

La cantidad de antibióticos que se encuentre presente en la leche dependerá de la dosis, forma de aplicación y de la duración del tratamiento que se aplique al ganado. La administración por vía intramamaria es la más empleada en el tratamiento de mastitis, de la dosis administrada del antibiótico una parte se dirige hacia el torrente sanguíneo mientras que el resto de la dosis que es en mayor cantidad se excreta en el ordeño de la leche. Los antibióticos que se encuentran presentes en la leche pueden ser considerados un problema de salud pública ya que pueden provocar en las personas reacciones alérgicas, las que dependerán de las dosis administradas al animal, alteraciones en la microbiota intestinal y disminución en la síntesis de proteínas. Adicionalmente, puede aparecer resistencia a estos compuestos siendo necesario que se reduzca al mínimo el uso de antibióticos en las vacas (Dávila, et al., 2006: pp.36-40).

### **1.7 Contaminación de la leche**

Para conseguir una leche que tenga calidad higiénica es necesario que se establezcan condiciones adecuadas desde el ordeño, transporte, almacenamiento e industrialización siendo importante que se establezcan condiciones asépticas de los materiales que están en contacto con la leche, las

glándulas mamarias de las vacas deben estar sanas y la leche debe conservarse a una temperatura  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . A través del medio externo y de la vía mamaria se puede contaminar la leche con microorganismos procedentes de distintas fuentes (Valencia, et al., 2009: pp.27-31).

### **1.7.1 Medio externo**

La leche se contamina debido a la falta de higiene que existe en el material de transporte, utensilios e inclusive en los operadores que se encargan de su manipulación. Las ubres que están en contacto directo con el suelo o cualquier otra superficie en donde descansa el animal pueden contaminarse con agentes bacterianos.

### **1.7.2 Vía mamaria**

Los microorganismos pueden alcanzar la vía mamaria ascendente o descendente; en la vía ascendente proliferan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* y coliformes debido que se adhieren a la piel de la ubre y después del ordeño penetran por medio del esfínter del pezón de la vaca. En la vía descendente los microorganismos pueden producir enfermedades sistémicas debido que se movilizan en la sangre por medio de los capilares mamaros generando infección en la glándula mamaria entre los principales microorganismos que se localizan en esta vía están: *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella* y *Brucella* (Armenteros, et al., 2005, p. 34).

Según lo que se establece teóricamente lo ideal sería que la leche que sale del animal no contenga microorganismos pero siempre contiene de 100 a 10.000 bacterias/mL lo que es considerada una mínima carga microbiana que no debería llegar a multiplicarse si la leche se manipula de una manera correcta. En las vacas que padecen mastitis se incrementa considerablemente el número de microorganismos en la leche.

El animal que ha sido diagnosticado con mastitis del tipo clínica puede producir una leche con 110-120 bacterias/mL y si es subclínica sus valores oscilan 90-100 bacterias/mL, siendo el principal agente causal de mastitis *Staphylococcus aureus*, hay cepas de *Staphylococcus*, potenciales agentes de toxiinfecciones alimenticias cuyas enterotoxinas termorresistentes pueden permanecer después de la pasteurización (Linares, 2010, pp.12-15).

## **1.8 Factores que afectan al crecimiento de microorganismos en la leche cruda**

Existen los factores internos y externos que afectan a la calidad de la leche cruda favoreciendo la multiplicación de microorganismos en este periodo de adaptación. A continuación se describen los factores internos y externos.

### ***1.8.1 Factores internos***

Estos factores se relacionan directamente con los componentes del alimento entre ellos están: actividad de agua, pH, contenido de nutrientes y potencial de óxido- reducción.

#### ***1.8.1.1 Actividad de agua***

Se refiere al porcentaje de agua libre que es la responsable de participar en los procesos enzimáticos y en la multiplicación de microorganismos. El agua constituye alrededor del 87,5% en la leche cruda, el agua en la leche está mayoritariamente en estado libre.

#### ***1.8.1.2 pH***

El pH de la leche debe ser ligeramente ácido entre 6,5-6,7 siendo este pH ideal para la proliferación de una gran diversidad de microorganismos debido que estos valores se encuentran cercanos a la neutralidad

#### ***1.8.1.3 Contenido de nutrientes***

En la leche están presentes una diversidad de componentes entre ellos se encuentran: agua, azúcares, grasas, proteínas, vitaminas y minerales constituyéndose en un medio ideal rico en nutrientes para el crecimiento microbiano; todos estos componentes son los responsables de generar un producto fluido y homogéneo (Bachman, 2012).

#### ***1.8.1.4 Potencial óxido reducción***

El potencial redox se define por la capacidad reductora y oxidante, va a tener poder reductor cuando se gana oxígeno y poder oxidante cuando se pierda oxígeno. El potencial redox en la leche tiene el valor de +250 a +350 mV (milivoltios). En la mayoría de los alimentos el



crecimiento de los microorganismos se da en presencia de oxígeno después al disminuir su contenido también baja el potencial redox por lo que el crecimiento de los microorganismos es anaeróbico. En ambiente aeróbico como anaeróbico va a favorecer al desarrollo de las bacterias ácido lácticas ya que son catalogadas como anaerobias facultativas.

Los microorganismos en base a la exigencia de oxígeno se dividen en:

#### **-Microaerofilos**

Son microorganismos que se desarrollan en atmósfera reducida de oxígeno por ejemplo *Streptococcus* y *Lactobacillus*.

#### **-Anaerobios estrictos**

Los anaerobios estrictos crecen en ausencia total de oxígeno en este grupo se destacan *Clostridium*, *Propionibacterium*.

#### **-Aerobios estrictos**

Este grupo requiere de oxígeno para su crecimiento entre ellos están *Bacillus* y *Micrococcus*.

#### **-Anaerobios facultativos**

Las enterobacterias y varios tipos de *Staphylococcus* entre ellos el *S.aureus* pueden desarrollarse con la intervención de oxígeno o en su ausencia.

### **1.8.2 Factores externos**

Se relacionan directamente con el espacio físico en el cual los productos son almacenados, entre estos factores están la humedad relativa y temperatura.

### 1.8.2.1 Humedad relativa

La humedad del ambiente puede afectar a las capas superficiales de los alimentos haciendo que estos se degraden fácilmente.

### 1.8.2.2 Temperatura

Las bacterias se desarrollan a diferentes temperaturas por lo cual se asocian en grupos entre los que se encuentran: termófilos, psicrófilos, mesófilos, psicrotrofos y los termotrofos

En la leche cruda principalmente se encuentran bacterias mesófilas por lo que es necesario que se almacene por un periodo máximo de 24 horas a una temperatura entre 4-5 ° C caso contrario puede contribuir a la aparición de microorganismos psicrófilos (Motta, et al., 2014: pp. 225-229).

#### -Termófilos

En esta división se encuentran: *Streptococcus termophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *L. fermenti*, *L. Lactis*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*

#### -Psicrófilos

Dentro de este grupo se hallan bacterias del género *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*

#### -Mesófilos

En la leche la mayoría de mesófilos son bacterias lácticas y se desarrollan a temperaturas óptimas entre 30°C-40°C

#### -Psicrotrofos y termotrofos

Los psicrotrofos van a crecer a temperaturas de refrigeración y los termotrofos se desarrollan a una temperatura óptima entre 15°C-20°C. En la tabla 5-1 se presentan el rango de las temperaturas mínimas, máximas y óptimas para el crecimiento de los microorganismos anteriormente citados

**Tabla 5-1:** Rangos de temperatura para el crecimiento de microorganismos

<b>Grupos</b>	<b>Temperatura mínima (°C)</b>	<b>Temperatura máxima (°C)</b>	<b>Temperatura óptima (°C)</b>
<b>Mesófilos</b>	5-15	40-47	30-40
<b>Termófilos</b>	40-45	60-90	55-75
<b>Temotrofos</b>	15-20	45-50	15-20
<b>Psicrófilos</b>	-5 hasta 5	15-20	12-15
<b>Psicrotrofos</b>	-5 hasta 5	30-35	25-30

Fuente: (Jay, et al, 2010, p.3)

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

## **1.9 Leche y Seguridad Alimentaria**

La leche durante el proceso de industrialización está sujeta a una variedad de pruebas analíticas que permiten garantizar que el producto tenga calidad higiénica, sanitaria e inocuidad y a su vez cumplan con todos los requisitos establecidos en la normativa vigente desde la materia prima es decir la leche cruda. El sometimiento de la leche a un tratamiento térmico la convierte en leche pasteurizada o ultrapasteurizada ocurriendo cambios tanto en las características organolépticas como en la composición de proteínas, grasa y azúcar. Existe diversidad en la composición de la leche; según la cantidad de grasa la leche puede ser entera, descremada y semidescremada. La leche que no contiene azúcar es deslactosada. En todo proceso de industrialización de la leche se deben realizar los análisis respectivos vigilando a la vez que cada fase de la cadena sea efectuada de manera correcta en base a los estándares establecidos en la NTE INEN 0009: 2012 (Díaz, 2015, pp.3-4)

### **1.9.1 Trazabilidad para la inocuidad**

Los productos lácteos deben ser certificados para que sean comercializados en el mercado siendo necesario que se dispongan de sistemas de trazabilidad. Dicho sistema debe ser implementado desde la persona encargada de ordeñar al animal, la cual debe ser la responsable de verificar las condiciones higiénicas en el proceso de ordeño y se debe continuar a lo largo de toda la cadena

de producción, los costos que genere el sistema de trazabilidad tiene que ser la responsabilidad de cada una de las personas que se involucren a lo largo de la cadena teniendo conciencia de que ellas son los principales responsables de elaborar un producto de calidad sin riesgo para el consumidor

Se debe hacer hincapié en la difusión y capacitación sobre la Buenas Prácticas de Higiene que deben cumplirse desde los centros de acopio de leche que son los encargados de la recolección, transporte y almacenamiento de leche cruda. Las vacas pueden ser portadores de una gran variedad de patógenos humanos, los cuales pueden elevar el riesgo de padecer enfermedades transmitidas por alimentos. En el ordeño, la mezcla de las leches al ser transportada revela contaminación a través del ambiente, de los operarios o a su vez la leche puede ser contaminada por factores internos y externos que contribuyen al crecimiento microbiano. La leche puede ser contaminada por productos químicos como antibióticos veterinarios o plaguicidas; siendo necesario que se sigan parámetros adecuados para el control y supervisión de la higiene de la leche a lo largo de toda la cadena alimentaria que avalen la calidad e idoneidad del producto (Carrera, 2004, pp.6-8).

### **1.10 Centro de acopio de leche cruda**

Un centro de acopio de leche cruda es un establecimiento en donde se agrupa y almacena la producción lechera de varios sectores, debe contar con áreas delimitadas para el enfriamiento, recepción, análisis y la entrega del producto como tal debe tener una infraestructura, equipos e indumentaria necesarias, en el tanque de almacenamiento general se debe conservar la leche a una temperatura que oscile entre los valores de 4-5°C, (Agrocalidad, 2013, p.5).

La zona 3 del país cuenta con 34 centros de acopio en Chimborazo 15, Cotopaxi 9, Tungurahua 8 y Pastaza 2, la mayoría de estos centros se localizan principalmente en zonas rurales, donde los agricultores llevan la leche cruda tras cada turno de ordeño para refrigerarla en un tanque general de leche. Un centro de acopio de leche suele estar equipado con un pequeño tanque de recepción, una bomba y un tanque de refrigeración de leche y exclusivamente las instalaciones deben funcionar para el fin por el cual fueron creadas (Agrocalidad, 2013, p.6)

### ***1.10.1 Requisitos para el transporte de leche cruda***

Es responsabilidad de la persona encargada de transportar la leche cruda cumplir con las siguientes disposiciones:

- El bidón o tanque en donde se conserve la leche deben ser elaborados de aluminio y/o acero inoxidable
- El bidón o tanque no debe contener ningún tipo de contaminante y no debe presentar ningún tipo de derrame o fuga de la leche
- Los vehículos encargados del transporte de la leche deben contar con tuberías de carga y descarga en donde se encuentren presentes codos con tapa o uniones en cruz
- Los vehículos que son los encargados del transporte de la leche cruda que tengan capacidad superior a los 2000 litros debe presentar un equipo de refrigeración que permita mantener la temperatura hasta  $4^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ . A su vez en los tanqueros de leche cruda que transporten un volumen inferior a 2000 litros se debe establecer la distancia y el tiempo que se demora en transportar la leche para que evite la contaminación microbiana. El centro de acopio de leche cruda del presente trabajo tiene una capacidad inferior a 2000 litros
- En los tanqueros de leche en donde se encuentre implementada una cisterna debe contar con el equipo adecuado y funcional que permita vigilar la temperatura
- En el transporte de la leche cruda no se debe ser movilizada con otras sustancias que estén en estado gaseoso, sólido o líquido
- El vehículo para el transporte de leche cruda debe estar identificado y rotulado
- Los bidones y/o cisternas cuentan con adecuados dispositivos de cierre es decir que las tapas sean fáciles de limpiar y eviten la entrada de restos de basura.
- El vehículo del transporte de leche cruda debe facilitar la salida del agua de limpieza
- Los utensilios y materiales empleados para el transporte de leche cruda deben ser almacenados en condiciones asépticas, conservándose un procedimiento de limpieza después de su uso (Agrocalidad, 2013, pp.18-19).

### ***1.10.2 Requisitos de los centros de acopio de leche cruda***

A continuación se describen los requisitos que debe cumplir el centro de acopio de leche cruda:

- El centro de acopio lechero tiene la obligación de vigilar diariamente la recepción de leche cruda suministrada por los proveedores

- El centro de acopio tiene la responsabilidad de vigilar la trazabilidad del producto almacenado
- En el centro de acopio se debe realizar los análisis para determinar las características organolépticas de la leche cruda acopiada
- Es necesario que en el centro de acopio se realice los ensayos necesarios para determinar si la leche cumple con los parámetros establecidos en la normativa vigente de leche cruda
- El centro de acopio debe contar en los tanques de almacenamiento de leche con termómetros que estén calibrados y funcionen correctamente
- Se debe registrar y vigilar la temperatura a la cual la leche fue transportada desde el momento en que la industria lleva la leche desde el centro de acopio y a la llegada a la industria encargada de procesar la leche
- La leche que es acopiada debe ser destinada únicamente a las industrias lácteas y se prohíbe la venta directa al consumidor final
- El centro de acopio debe contar con un laboratorio propio en donde se pueda ejecutar los análisis básicos como: organolépticos, físicos químicos y microbiológicos; o a su vez debe contar con el servicio de un laboratorio acreditado de acuerdo al Servicio de Acreditación Ecuatoriano
- El centro de acopio debe presentar por lo menos 4 zonas bien definidas que son: recepción, enfriamiento, análisis y entrega del producto acopiado
- La infraestructura del centro de acopio debe estar dedicada solamente para el funcionamiento del centro de acopio
- El centro de acopio no debe estar aledaño a lugares que propicien contaminación
- El patio del centro de acopio debe ser de cemento que permita el fácil ingreso de los tanqueros de leche y debe tener plataformas que permita el desagüe del agua
- El centro de acopio debe tener un adecuado sistema de alcantarillado que facilite la eliminación del agua que se genera en dicho centro
- La plataforma de cemento en la cual se descarga la leche debe contar con techo, la plataforma debe estar comunicada con el sistema de alcantarillado para la rápida eliminación de aguas
- El centro de acopio cuenta con una ventilación correcta, con zonas delimitadas y cerradas en donde se pueda almacenar los tanques de refrigeración y otros materiales
- Los centros de acopio con capacidad superior a los 2000 litros diarios deben contar con una zona delimitada en donde se establezca un laboratorio básico
- Los centros de acopio con capacidad superior a los 2000 litros diarios tienen su laboratorio básico de manera ordenada y aseada
- El centro de acopio debe abastecer con los materiales suficientes para el aseo y desinfección de los vehículos y utensilios utilizados en el transporte de leche; además el centro debe contar con zonas propias para el aseo y la conservación de los materiales que están en contacto con la leche cruda

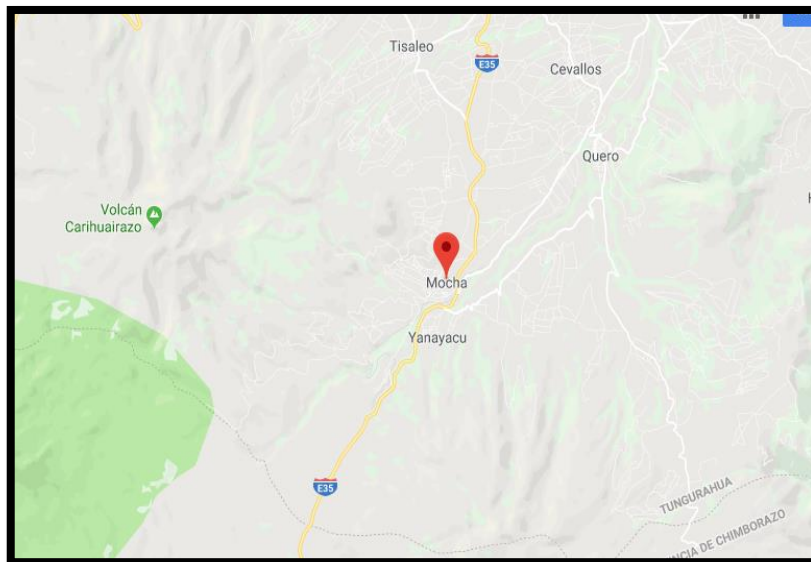
- Las zonas que son destinadas al proceso de limpieza cuentan con un techo y con el espacio suficiente para guardar los materiales que están en relación con la leche
- La zona de desinfección y aseo de los recipientes debe delimitar la zona sucia de la limpia
- Fuera de las zonas de manejo de la leche en el centro de acopio están localizados los servicios higiénicos y los vestidores
- Los vestidores y servicios higiénicos deben estar en óptimo estado, ordenados y aseados
- El centro de acopio debe contar con una zona rotulada, situada lejos de la zona de manejo de la leche y destinada únicamente para almacenar insumos
- La zona que es destinada para reservar los insumos debe estar en buen estado, aseada y ordenada para evitar la aglomeración de residuos
- El proceso de medición de la leche ya sea por peso o por volumen es correctamente manejado para garantizar que no haya contaminación del producto
- En el centro de acopio debe existir un correcto proceso aséptico que permita medir con exactitud el peso o volumen de la leche acopiada
- Los centros de acopio con capacidad de volumen superior a los 10000 litros diarios deben instaurar un sistema automático para la limpieza de materiales
- Los centros de acopio con capacidad de volumen superior a los 10000 litros diarios presenta un sistema de enfriamiento inmediato de la leche acopiada
- Los centros de acopio con capacidad de volumen superior a los 10000 litros diarios deben contar con un sistema de agua o vapor que permita el aseo de los equipos e indumentaria que se utilizan.
- Es necesario que se suministre ininterrumpidamente agua potable en el centro de acopio de leche.
- Los centros de acopio que tengan un sistema de conservación del agua deben efectuar procedimientos adecuados antes de que la usen en las diferentes actividades
- Se debe presentar documentación en donde se evidencie la calidad de agua que se emplea en el centro de acopio (Agrocalidad, 2013, pp.23-26).

## **CAPÍTULO II**

### **2. MARCO METODOLÓGICO**

#### **2.1 Lugar de investigación**

Las muestras fueron recolectadas en el centro de acopio de leche cruda CA.1 ubicado en el cantón Mocha provincia de Tungurahua.



**Figura 1-2:** Mapa de ubicación del cantón Mocha

**Fuente:** <https://www.google.com/maps/place/Cantón+Mocha>

Se realizó la verificación del cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene establecidos por Agrocalidad para los centros de acopio de leche cruda. Los análisis físico químicos, el conteo de células somáticas y la identificación de *Salmonella* se efectuaron en el Laboratorio de Control de Calidad de Leche en Agrocalidad-Quito y los análisis microbiológicos se los realizaron en el Laboratorio de Microbiología de la Carrera de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

## **2.2 Factores de estudio**

### **2.2.1 Población**

La población de estudio es el Centro de Acopio de Leche Cruda CA. 1 ubicado en el cantón Mocha provincia de Tungurahua, donde se recolectaron las muestras necesarias para realizar los análisis



físicos químicos de la leche y los análisis microbiológicos de la leche y de las superficies vivas e inertes así como del aire de las áreas de dicho centro de acopio.

### **2.2.2 Muestra**

Las muestras fueron elegidas por triplicado durante el periodo de tres semanas seleccionadas aleatoriamente en tres días diferentes de cada semana, las muestras que se recolectaron fueron: leche cruda de las cuatro rutas de abastecimiento, superficies vivas (manos de los cuatro operarios) e inertes (tanque de almacenamiento, manguera, mesones, pomo de la puerta de laboratorio, pomo de la puerta de servicios higiénicos, llave de un grifo de agua, vestimenta de los cuatro operarios (zona del abdomen) y el aire de las áreas de almacenamiento, recepción y laboratorio; mientras que para los análisis físico químicos, conteo de células somáticas e identificación de *Salmonella* la muestra fue tomada por una sola ocasión en la tercera visita al Centro de Acopio de Leche Cruda CA. 1.

### **2.2.3 Materiales, Equipos y Reactivos**

A continuación se indican los materiales, equipos y reactivos empleados en los análisis físico químicos y microbiológicos que se emplearon en la evaluación higiénico sanitaria en el centro de acopio.

#### **a. Materiales**

- Tubos con tapa hermética 10 mL
- Hisopos de algodón estéril
- Algodón
- Gasa
- Papel aluminio
- Cajas mono Petri
- Puntas plásticas azules
- Puntas plásticas amarillas
- Gradilla
- Cooler de espuma flex
- Hielo gel refrigerante
- Probeta 100 mL
- Matraz Erlenmeyer 500 mL

- Espátula
- Asa de Drigalsky
- Micropipeta 1000 uL
- Micropipeta de 100 uL
- Papel filtro
- Papel toalla
- Frascos estériles
- Pipeta graduada 10 mL
- Pera de succión
- Plantilla estéril dimensiones 5x5 cm
- Plantilla estéril dimensiones 10x10 cm
- Lámpara de alcohol

#### **b. Equipos**

- Reverbero
- Balanza analítica
- Cámara de flujo laminar
- Autoclave
- Incubadora bacteriológica
- MilkoScan FT1
- Fossomatic FC
- BactoScan FC

#### **c. Reactivos**

- Agua destilada
- Yema de huevo
- Alcohol 96%
- Telurito de potasio 1% (P/V)
- Pastilla de azidol (inhibidor del crecimiento bacteriano)
- Pastilla de bronopol (conservante)

#### **d. Medios de cultivo**

- Agua peptonada
- Agar Baird Parker base

- Agar E.coli Cromogénico
- Agar glucosa bilis rojo violeta
- Agar Plate Count (PCA)
- Extracto de malta
- Agar-agar

## **2.3 Metodología**

### **2.3.1 Levantamiento línea base**

En base a la socialización del Grupo SAGID de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo se establece la necesidad de efectuar el control de la calidad de leche cruda que se acopia en la zona 3 del país siendo en este caso el centro de acopio de leche cruda CA.1 ubicado en el cantón Mocha provincia de Tungurahua, se pudo realizar la evaluación higiénico sanitaria de dicho centro durante las tres visitas que se efectuaron, evidenciando la infraestructura, el proceso de recepción, análisis y almacenamiento de la leche cruda permitiendo la recolección de datos cuantitativos.

#### **2.3.1.1 Descripción del proceso de recolección de la leche cruda**

La provincia de Tungurahua que está conformada por varios cantones como: Mocha, Quero, Patate, Tisaleo, Pillaro, Pelileo, Ambato, Baños de Agua Santa y Cevallos; genera una producción de leche alrededor de 340000 litros diarios lo que se considera el 6 % de la producción de leche nacional al día. En la provincia de Tungurahua no se cuenta con una organización específica para la asociación entre los centros de acopio, siendo necesario que se unifiquen esfuerzos entre los pequeños productores para alcanzar el objetivo de mejorar la producción lechera garantizando que el producto no sea alterado o adulterado.

Es indispensable que los pequeños productores de leche cuenten con las condiciones adecuadas para el transporte, almacenamiento y análisis de la leche; por esta razón la función de los centros de acopio de leche es garantizar que el producto se encuentre en condiciones idóneas e inocuas para su industrialización.

El centro de acopio de leche cruda CA.1 en el cantón Mocha provincia de Tungurahua (latitud 1°25'10.3"S, longitud 78°39'12.5"W) se encuentra alrededor de una planta de producción de balanceados y de una planta de faenamiento de cuyes. El centro de acopio cuenta con 4 rutas de

abastecimiento de leche que realizan su recorrido en los cantones de Mocha, Quero y Pelileo.

Las mismas personas que recolectan la leche, la transportan en vehículos propios, en unos casos con tanques de acero inoxidable mientras que en otros en bidones de plástico; contabilizando en promedio 91 pequeños proveedores de leche cruda; a su vez el tanque de almacenamiento general que se localiza en el centro de acopio tiene una capacidad de 7800 litros. Para su limpieza se utiliza desinfectante (AM-45) dos veces por semana, mientras que agente desengrasante (Fat Off) se lo emplea solo una vez por semana. El centro de acopio no cuenta con un adecuado sistema de refrigeración que mantenga la leche almacenada a 4°C debido a la inexistencia de un control preciso y exacto de temperatura.

En la primera ruta de abastecimiento sus proveedores alrededor de 36 son pequeños productores de leche, la ruta cubre los sectores de San Juan (latitud 1°25'02.2"S, longitud 78°39'20.3"W), Santa Marianita (latitud 1°25'07.8"S, longitud 78°39'48.8"W), Chilcapamba (latitud 1°25'01.3"S, longitud 78°39'46.1"W) y Chocalata (latitud 1°24'55.8"S, longitud 78°39'43.2"W) en el cantón Mocha acopiando 960 litros/día siendo su recorrido aproximadamente de 8 km; la hora de partida del tanquero de leche es a las 7:00 am y su hora de finalización es a las 9.30 am por lo tanto el tiempo que tarda en su recolección es de dos horas y media, sin embargo la llegada al centro de acopio es después de 2 horas a las 11.30 am.

El tanquero de ésta ruta de abastecimiento tiene su cisterna de acero inoxidable, en donde sólo se transporta leche cruda pero no presenta ningún tipo de control de temperatura por lo que a la llegada al centro de acopio se reportó su temperatura de 8,3 °C sobrepasando al límite establecido.

La segunda ruta de recolección de leche recorre el cantón Quero en las zonas de Ñañaacu (latitud 1°22'50.4"S, longitud 78°36'38.1"W), Santuario (latitud 1°22'42.5"S, longitud 78°36'37.0"W) , Jaloa (latitud 1°22'32.5"S, longitud 78°36'36.5"W) y La Calera (latitud 1°22'28.0"S, longitud 78°36'36.3"W); contando con 18 pequeños proveedores de leche que abastecen con aproximadamente 325 litros diarios al centro de acopio, su recorrido es de 30 km durante 3 horas y media, siendo la hora de salida a las 7:00 am pero la hora de llegada es a las 12:00 pm.

El medio de transporte es un camión que cuenta con bidones de plástico, en dicho camión se transporta exclusivamente el producto que es destinado para su uso es decir la leche cruda; no

existe un control de la temperatura, sin embargo al llegar a su destino se evidenció que la temperatura del producto almacenado en 2 bidones de plástico se mantenía a 10,2°C y 9,7°C en cada uno de ellos.

Las zonas comprendidas entre El Recreo (latitud 1°25'44.8"S, longitud 78°30'47.0"W), La Cruz (latitud 1°25'40.7"S, longitud 78°30'33.7"W) en la parroquia rural de Cotaló en el cantón Pelileo conforman la tercera ruta de abastecimiento de leche, con alrededor de 23 proveedores del producto que suministran al centro de acopio un total de 430 litros de leche al día, su trayecto comienza desde las 6:30 am hasta las 10:00 am siendo su hora de llegada al centro de acopio a la 1:00 pm. El tanquero es exclusivo para leche cruda, transita cerca de 80 km, su cisterna es de acero inoxidable no cuenta con un sistema que controle su temperatura pero a su llegada al centro de acopio se registró 7,6 °C.

La última ruta para la recolección de leche cruda se la desarrolla en el cantón Quero en los sectores de Chocaló (latitud 1°22'46.6"S, longitud 78°36'23.6"W), Yayulihüí ( latitud 1°22'30.7"S, longitud 78°36'20.7"W) e Hipolongo (latitud 1°22'23.2"S, longitud 78°36'21.6"W), a esta ruta la abastecen 14 proveedores de leche con 176 litros al día, la hora de partida del tanquero es a las 7:30 am y tarda en la recolección de leche 3 horas hasta las 10:30, su hora de llegada al centro de acopio es a la 1:30 pm. El camión sólo transporta leche cruda, cuenta con bidones de plástico que transporta sólo leche en aproximadamente 36 km no se encuentra un control de temperatura en el vehículo sin embargo a la llegada de la leche se registró una temperatura de 9,3°C en el bidón de plástico.

Cabe señalar que en la actualidad el centro de acopio cuenta con los materiales e insumos necesarios para realizar los ensayos físicos químicos de acidez, densidad relativa y materia grasa pero no los ejecutan; sólo se aplica las pruebas de antibióticos y solamente las llevan a cabo cuando el pequeño proveedor señala que la vaca ha estado en tratamiento con estos agentes.

Al final de las 4 rutas de leche el centro de acopio CA.1 se obtiene un volumen total de 1891 litros por día. La leche se despacha en la madrugada del día siguiente aproximadamente a la 5:00 am siendo su destino final una planta láctea.

### ***2.3.2 Verificación de la Prácticas Correctas de Higiene***

Se procedió a la verificación de la lista de chequeo de los requisitos de medios de transporte de leche cruda y la lista de chequeo de los requisitos de los centros de acopio para leche cruda que

se establecen en el Manual de Procedimientos para la Vigilancia y Control de la Inocuidad de Leche Cruda establecido en la resolución DAJ-2013461-0201.0213 del Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca, 2013).

### **2.3.3 Toma y Transporte de muestras**

De acuerdo a la normativa ecuatoriana vigente se desarrolló el programa de muestreo en el centro de acopio de leche cruda para el control microbiológico de los alimentos.

Se efectuaron tres muestreos durante tres semanas en el centro de acopio de leche cruda, donde se asistió a las 10:30 am para iniciar con la toma de muestras de las superficies inertes después con la recolección de leche cruda de las cuatro rutas de abastecimiento según las condiciones asépticas indispensables para evitar cualquier tipo de contaminación. Las muestras se transportaron al laboratorio en refrigeración (cooler de espuma flex con hielo gel refrigerante) a temperatura entre 0-10°C (INEN 1529-2, 1999).

## **2.4 Análisis de leche cruda de las cuatro rutas de abastecimiento**

### **2.4.1 Muestreo de la leche cruda**

Se homogenizó la leche cruda de las 4 rutas de abastecimiento con la ayuda de un agitador mecánico en cada uno de sus respectivos recipientes durante 5 minutos. Se tomaron las muestras en frascos estériles y se trasladaron hacia el laboratorio de Microbiología de la Carrera de Bioquímica de la ESPOCH.

En el tercer muestreo se llevaron por duplicado cada una de las leches de las cuatro rutas de abastecimiento del centro de acopio; la primera muestra fue tomada en las condiciones anteriormente mencionadas mientras que la segunda muestra fue transportada en frascos estériles que contenían pastillas de bronopol y azidiol debido que estas muestras de leche cruda se llevaron al Laboratorio de Control de Calidad de Leche en Agrocalidad-Quito para realizar los análisis físicos de grasa, proteína, sólidos totales y sólidos no grasos así como el contaje de células somáticas y detección de *Salmonella*

### **2.4.2 Procedimiento**

Se realizó los cálculos para obtener los litros que deben ser muestreados mediante la obtención de la raíz cuadrada del volumen total de leche cruda transportado en cada una de las rutas de abastecimiento. Este volumen se distribuyó entre las tres fases de almacenamiento. De cada fase se tomó una alícuota para completar un volumen final representativo de 100 mL. La tabla 1-2 ilustra el sistema de muestreo compuesto aplicado en este trabajo. Las fases inicial, intermedia y final de almacenamiento corresponden a los tiempos 5, 10 y 15 minutos respectivamente y la cantidad del volumen que se recolecta en cada una de ellas.

**Tabla 1-2:** Muestreo compuesto de la leche obtenida en cada una de las rutas de abastecimiento

<b>N° ruta de abastecimiento</b>	<b>Cantidad de litros transportados</b>	<b>Raíz cuadrada</b>	<b>Cantidad de litros en (F.I), (F.Int), (F.F) en el almacenamiento de leche cruda</b>	<b>Cantidad de mililitros en (F.I), (F.Int), (F.F) en el almacenamiento de leche cruda</b>	<b>Muestra representativa</b>
1	960	31	F.I: 10 L	F.I: 33 mL	100 mL
			F.Int: 10 L	F.Int: 33 mL	
			F.F: 10 L	F.F: 33 mL	
2	190	14	F.I: 4 L	F.I: 33 mL	100 mL

			F.Int:4 L	F.Int: 33 mL	
			F.I:4 L	F.F: 33 mL	
	135	12	F.I: 4 L	F.I: 33 mL	100 mL
			F.Int: 4 L	F.Int: 33 mL	
			F.F: 4 L	F.F: 33 mL	
3	430	21	F.I: 7 L	F.I: 33 mL	100 mL
			F.Int: 7 L	F.Int: 33 mL	
			F.F: 7 L	F.F: 33 mL	
4	176	13	F.I: 4 L	F.I: 33 mL	100 mL
			F.Int: 4 L	F.Int: 33 mL	
			F.F: 4 L	F.F: 33 mL	
ABREVIATURAS: F.I: Fase inicial de almacenamiento, F.Int: Fase intermedia de almacenamiento F.F: Fase final de almacenamiento					

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

En la ruta de abastecimiento N°2 que tenía dos bidones de plástico se realizó la mezcla de ambos para obtener la muestra representativa final de 100 mL.

También se realizó la mezcla de las 4 rutas de abastecimiento de leche cruda para lo cual se efectuó otra vez todo el procedimiento anteriormente mencionado. De los 100 mL de cada una de las rutas se extrajeron 25 mL para las 4 rutas en donde se obtuvo una mezcla final de 100 mL dicho valor se consideró la muestra representativa.

#### **2.4.3 Análisis físico químico de la leche cruda**

Los análisis de grasa, proteínas, sólidos totales y sólidos no grasos se ejecutaron por medio del equipo MilkoScan FT1 a través de la técnica de infrarrojo en el laboratorio de Control de Calidad de Leche en Agrocalidad-Quito. Los valores permisibles de los requerimientos físicos químicos se establecen en la NTE INEN 0009:2012

Los instrumentos que se encuentran en este equipo están estandarizados lo que garantiza la fiabilidad de los resultados contando con modelos de detección para identificar la leche alterada, su técnica de infrarrojo permite una determinación más exacta de los componentes de la leche y posibles adulteraciones (MilkoScan, 2013, p.2).

#### **2.4.4 Análisis de células somáticas de la leche cruda**

En el laboratorio de Control de Calidad de Leche en Agrocalidad ubicado en Quito se analizaron las muestras de las 4 rutas de abastecimiento de leche cruda a través del equipo Fossomatic FC



método C de citometría de flujo según protocolo 148 A supervisado por la Federación Internacional de Lechería. El límite máximo del contaje de células somáticas se rige en la NTE INEN 0009:2012.

Fossomatic FC es un equipo de alta capacidad que realiza un examen preciso a la leche cruda tiene un software con Integrador Foss TM, el equipo tiene la capacidad de medir hasta 600 muestras por hora proporcionando un flujo adecuado y rentable en las muestras lo que garantizan los resultados obtenidos (Foss, 2014, p.5).

#### **2.4.5 Microbiológico de la leche cruda**

En la leche cruda de las 4 rutas de abastecimiento se determinaron:

Aerobios mesófilos en base a la NTE INEN 1529-5:2006

*Staphylococcus aureus* y coliformes de acuerdo al Reglamento Técnico: RTCR: 401-2006. Leche cruda y Leche Higienizada de Costa Rica. Es importante señalar que para identificar enterobacterias y *E. coli* no existe una norma en donde se establezcan límites permisibles.

#### **2.4.6 Análisis de Salmonella de la leche cruda**

La detección de *Salmonella* se realizó en Agrocalidad-Quito en el equipo Bacto Scan FC que se basa en la técnica de citometría de flujo. Este equipo tiene integrado un software completo diseñado en base a la tecnología Foss, las muestras son analizadas directamente sin la necesidad de diluciones o calentamiento, el equipo está provisto de un sistema único de autolimpieza razón por la cual se disminuye considerablemente la contaminación por muestras anteriores (Dilaco, 2012, p.10).

### **2.5 Análisis de superficies vivas e inertes**

#### **2.5.1 Muestreo**

En las 3 ocasiones que se efectuaron los muestreos se analizaron las siguientes superficies inertes: tanque de almacenamiento, manguera, mesones, pomo de la puerta del laboratorio, pomo de la puerta de servicios higiénicos, llave de un grifo de agua, vestimenta de los 4 operarios y en el caso de las superficies vivas se consideraron las manos de los 4 operarios. De estas superficies los que contactaban directamente con la leche fueron: el tanque de almacenamiento y la manguera

En las superficies vivas e inertes se determinaron los niveles de:

-Aerobios mesófilos en base a la norma oficial mexicana NOM-093-SSA1 1994

-Coliformes de acuerdo la norma oficial mexicana NOM-093-SSA1 1994 y Guía Técnica para examen microbiológico de superficies en relación con alimentos y bebidas de Perú. Se debe señalar que para identificar *S.aureus*, enterobacterias y *E. coli* no existe una norma en donde se establezcan límites permisibles.

### **2.5.2 Procedimiento**

Para las superficies regulares se ubicaron las plantillas estériles de 10x10 cm en los dos mesones y en las vestimentas de los cuatro operarios a la altura del abdomen; mientras que para las manos de los operarios se colocaron las plantillas estériles de 5X5 cm. En el caso de las superficies irregulares como la llave de un grifo de agua, el pomo de la puerta de laboratorio y el de los servicios higiénicos no se empleó plantillas estériles y se tomaron muestras puntuales.

Se depositó el hisopo estéril en el tubo con 10 mL de agua peptonada se eliminó el exceso de agua al presionar ligeramente en las paredes del tubo. Se recorrió la superficie delimitada por la plantilla girando el hisopo de arriba hacia abajo, de izquierda a derecha y de manera diagonal girando continuamente toda la cabeza del hisopo, repitiéndose por 3 ocasiones más.

En la manguera se procedió a su análisis con una gasa estéril de dimensiones 5x4 cm y se lo depositó en un volumen de 20 mL de agua peptonada. En el caso del tanque de almacenamiento se recogió 100 mL del agua de enjuague considerándose la muestra representativa. A partir de esta muestra, se realizaron diluciones adecuadas y se inocularon en los medios de cultivo correspondientes que fueron: Baird Parker base, E.coli Cromogénico, Glucosa bilis rojo violeta y Plate Count Agar. Cabe señalar que en la vestimenta de los operarios las muestras se inocularon en medios de cultivo de Plate Count Agar y Baird Parker (Gallegos, 2003, pp.22-35).

Para las manos una vez que se muestreó con la plantilla se debe retiró y se muestreó alrededor de los dedos y entres sus pliegues. Posteriormente los hisopos se depositaron en cada uno de los

tubos con agua peptonada manteniendo el contacto por 3 minutos, previa dilución e inoculación en los medios de cultivo de Baird Parker base y Plate Count Agar (PCA).

## **2.6 Análisis del aire**

Se realizó la determinación de aerobios mesófilos basada en la Norma Española UNE 100012:2005. Cabe recalcar que para identificar hongos y levaduras no existe una norma en donde se establezcan límites permisibles.

### **2.6.1 Muestreo**

El aire se examinó en las áreas de almacenamiento, recepción y en el laboratorio del centro de acopio mediante la metodología de caída a placas

### **2.6.2 Procedimiento**

Para las diversas áreas, el aire fue muestreado en cinco puntos diferentes, para el efecto se colocaron placas de PCA y placas de agar Malta en cada una de las esquinas de las salas a una altura de 1 m del piso. Las superficies de cajas Petri con PCA y extracto de malta se expusieron al aire del entorno durante 1 hora. Transcurrido ese tiempo se procedió a sellar las cajas Petri y transportarlas en el cooler de espuma flex con hielo y gel refrigerante para ser transportadas al laboratorio de Microbiología de la ESPOCH.

## **2.7 Determinaciones microbiológicas**

### **2.7.1 Determinación de aerobios mesófilos**

#### **2.7.1.1 Preparación de Plate Count Agar PCA Acumedia 7157**

- 1) Realizar el cálculo correspondiente para preparar las cajas necesarias en cada muestreo en el caso de este medio de cultivo se necesita 23,5 g en volumen de 1000 mL
- 2) Depositar el medio de cultivo en un matraz Erlenmeyer y disolverlo con agua destilada

- 3) A continuación proceder a calentar con agitación frecuente y dejarlo hervir durante 1 minuto hasta que se disuelva por completo
- 4) Autoclavar el medio de cultivo durante 15 minutos a 121°C
- 5) Dejar que se enfríe el medio de cultivo hasta 45°C y repartirlo en las cajas llenándolas con 15 mL. Esperar que el medio PCA solidifique completamente.
- 6) Las cajas Petri almacenarlas en la refrigeradora a una temperatura de 5°C (Acumedia 7157, 2006)

#### **2.7.1.2** *Técnica de siembra*

- Homogenizar la muestra por agitación 25 veces durante el transcurso de 5 segundos
- Realizar las respectivas diluciones en los tubos con 9 mL agua peptonada para cada una de las muestras traspasando 1000 uL en cada uno de los tubos, utilizando puntas estériles y diferentes en cada dilución
- Depositarse en cada superficie del medio 100 uL de la dilución correspondiente
- Distribuir el inóculo en cada placa con el asa de Drigalsky y sellar con Petrifilm
- Colocar las cajas de manera invertida en la incubadora por un periodo de 48 horas a una temperatura de 30 °C ±2°C
- Se recomienda que no se apilen más de 6 cajas, las cajas deben estar separadas del techo y de las paredes de la incubadora
- Observar después del periodo mencionado el número de colonias bacterianas (NTE INEN 1529-5, 2006, p.3)

#### **2.7.1.3** *Lectura e interpretación de los cultivos*

Las colonias que se presentan son de color blanquecino de aproximadamente de 2-3 mm de diámetro. Se debe contabilizar todas las colonias de bacterias desde las más pequeñas, las colonias que estén de manera difusa deben ser consideradas como una sola si cubre menos de un cuarto de la placa. Dicho criterio se aplica para cada uno de los medios de cultivo que se mencionan a continuación (NTE INEN 1529-5, 2006, p.3)

## **2.7.2 *Determinación de Staphylococcus aureus***

### **2.7.2.1 *Preparación del medio de cultivo Baird Parker base Acumedia 7112***

- 1) Efectuar el cálculo correspondiente para preparar las cajas necesarias para cada muestreo en el caso de este medio de cultivo se necesita 60 g en volumen de 1000 mL
- 2) Preparar la emulsión yema de huevo: se debe sumergir el huevo durante 1 hora en alcohol al 70 % para desinfectarlo, a continuación se pesa la yema de huevo en un matraz Erlenmeyer, el peso se lo debe multiplicar por 4, su resultado es el volumen de agua destilada estéril que debe ser adicionado posteriormente se lo agita vigorosamente hasta que se forme la emulsión (Gallegos,1997, p.113)
- 3) Preparar la solución de telurito de potasio 1% : se disuelve 1,1 mL en 100 mL de agua destilada y esterilizada
- 4) Se debe calentar el medio de cultivo Baird Parker base con agitación frecuente y dejarlo hervir durante 1 minuto hasta que se disuelva por completo el medio
- 5) Autoclavar el medio de cultivo durante 15 minutos a 121°C
- 6) Dejar que se enfríe el medio de cultivo hasta 45-50°C
- 7) Para los 60 gramos del medio de cultivo en un volumen de 1000 mL se debe añadir 50 mL de la emulsión de la yema de huevo y 10 mL de solución de telurito de potasio 1%
- 8) Dejar que se enfríe el medio de cultivo hasta 40°C para ser depositado en las cajas Petri
- 9) Colocar las cajas Petri en refrigeración a una temperatura de 5°C (Acumedia 7112, 2006)

### **2.7.2.2 *Técnica de siembra***

- Homogenizar la muestra por agitación 25 veces durante el transcurso de 5 segundos
- En los tubos con 9 mL de agua peptonada se deben efectuar las diluciones respectivas transvasando 1000 uL para cada una de las muestras empleando puntas diferentes y estériles en cada dilución
- En cada superficie del medio de cultivo depositar 100 uL (inóculo) de la dilución correspondiente
- Distribuir el inóculo en cada placa Petri con el asa de siembra y sellar con Petrifilm

- Incubar las cajas Petri invertidas durante 48 horas a una temperatura de  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Es aconsejable que no se apilen más de 6 cajas, las cajas deben estar separadas del techo y de las paredes de la incubadora
- Observar después del periodo mencionado el número de colonias bacterianas (NTE INEN 1529-5, 2006, p.3)

### **2.7.2.3** *Lectura e interpretación de los cultivos*

Las colonias son de color negro, circulares y lisas, están rodeadas por un anillo de color blanco de 2-5 mm de diámetro siendo su aclaramiento evidente a las 48 horas.

### **2.7.3** *Determinación de enterobacterias*

#### **2.7.3.1** *Preparación del medio de cultivo glucosa bilis rojo violeta Acumedia 7425*

- 1) Ejecutar los cálculos correspondientes para preparar las cajas Petri que son necesarias en cada muestreo en el caso de este agar se necesita 40 g en volumen de 1000 mL
- 2) Después colocar el medio de cultivo en un matraz Erlenmeyer y disolverlo con agua destilada
- 3) Se debe calentar con agitación frecuente y dejarlo hervir durante 1 minuto hasta que se disuelva por completo el medio
- 4) No se debe autoclavar
- 5) Dejar que se enfríe hasta que se encuentre a una temperatura de  $45\text{-}50^{\circ}\text{C}$  y dispensar el medio de cultivo en cada una de las cajas Petri
- 6) Las cajas Petri depositar en la refrigeradora a una temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$  (Acumedia 7425, 2007).

#### **2.7.3.2** *Técnica de siembra*

- Homogenizar la muestra por agitación 25 veces durante el transcurso de 5 segundos
- Realizar las diluciones con 9 mL de agua peptonada de cada una las muestras de 1000 uL se debe emplear diferentes puntas estériles en cada dilución
- En cada caja Petri depositar 100 uL del inóculo de la muestra
- Se debe homogenizar el inóculo de la muestra en cada caja Petri con la asa de siembra y sellar con Petrifilm
- Los cultivos se incubaron durante 16-24 horas a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$
- Se recomienda que no se apilen más de 6 cajas, las cajas deben estar separadas del techo y de las

paredes de la incubadora

-Observar después del periodo mencionado el número de colonias bacterianas (NTE INEN 1529-5, 2006, p.3)

### **2.7.3.3** *Lectura e interpretación de los cultivos*

Las colonias de Enterobacterias son de color rosado a rojizo con un diámetro aproximado de 3 mm y de forma circular

### **2.7.4** *Determinación de coliformes y E.coli*

#### **2.7.4.1** *Preparación del medio de cultivo E.coli Cromogénico Ibero media MM0424*

- 1) Efectuar los cálculos necesarios para la preparación de este medio de cultivo en este caso se necesita 36,6 gramos en 1000 mL de agua destilada
- 2) Colocar en un matraz Erlenmeyer los gramos necesarios de medio hasta que se disuelva y humecte completamente
- 3) Luego se debe agitar frecuentemente y calentar por 1 minuto hasta que se disuelva por completo
- 4) Autoclavar el medio de cultivo durante 15 minutos a 121°C
- 5) Dejar que se enfríe el agar hasta 40°
- 6) Se deben colocar las cajas Petri en refrigeración a una temperatura de 5°C
- 7) Este medio de cultivo es sensible a la luz (Ibero media MM0424, 2012).

#### **2.7.4.2** *Técnica de siembra*

-Homogenizar la muestra por agitación 25 veces durante el transcurso de 5 segundos

-Efectuar las diluciones con 9 mL de agua peptona para las muestras con 1000 uL se debe usar diferentes puntas estériles en cada dilución

-En cada superficie del medio depositar 100 uL del inóculo de la muestra

-Se debe homogenizar el inóculo de la muestra en cada caja Petri con la asa de siembra y sellar con Petrifilm

-Los cultivos se incubaron por 24 horas a una temperatura de 37°C, al término de la incubación

se observaron las unidades formadoras de colonias para *E.coli* y en el caso para Coliformes se debe esperar hasta 48 horas para observar las colonias a la misma temperatura

-No se debe apilar más de 6 cajas, las cajas deben estar separadas del techo y de las paredes de la incubadora

-Observar después del periodo mencionado el número de colonias bacterianas (NTE INEN 1529-5, 2006, p.3)

#### **2.7.4.3** *Lectura e interpretación de los cultivos*

Las colonias de *E.coli* son de color azul de forma redonda aproximadamente de 1 mm de diámetro y en el caso de las bacterias Coliformes son circulares de color violeta intenso más grandes que las *E. coli* presentando un diámetro de 3 mm.

#### **2.7.5** *Determinación de Hongos y levaduras*

##### **2.7.5.1** *Preparación del medio de cultivo malta Acumedia 7341*

- 1) Se debe pesar 30 gramos del extracto de malta y 15 gramos de agar-agar. Los 45 gramos del extracto y del agar se deben disolver en 1000 mL de agua destilada
- 2) Calentar con agitación frecuente y dejarlo hervir por un minuto hasta que se disuelva completamente el medio
- 3) Autoclavar a 121°C durante 15 minutos
- 4) Reposar hasta que se enfríe a una temperatura de 45-50°C y colocar el medio en cada una de las cajas Petri
- 5) Se deben conservar las cajas Petri en refrigeración a una temperatura de 5°C (Acumedia 7341, 2017).

##### **2.7.5.2** *Técnica de siembra*

-En las cajas Petri depositar entre 15 mL de medio de cultivo y se deja solidificar

-Dejar las cajas Petri con medio de cultivo Malta expuestas y abiertas durante 1 hora, a una altura de 1 metro; transcurrido ese tiempo sellar con Petrifilm

-Las placas se incubaron en posición normal (sin invertir) a 30°C ± 2°C durante 7 días

-No se debe apilar más de 6 cajas, las cajas deben estar separadas del techo y de las paredes de la incubadora

-Observar después del periodo mencionado el número de colonias (NTE INEN 1529-5, 2006, p.3).



### **2.7.5.3** *Lectura e interpretación de los cultivos*

Las colonias que se forman son de color blanco de forma redonda en donde va a variar el tamaño del diámetro de las colonias.

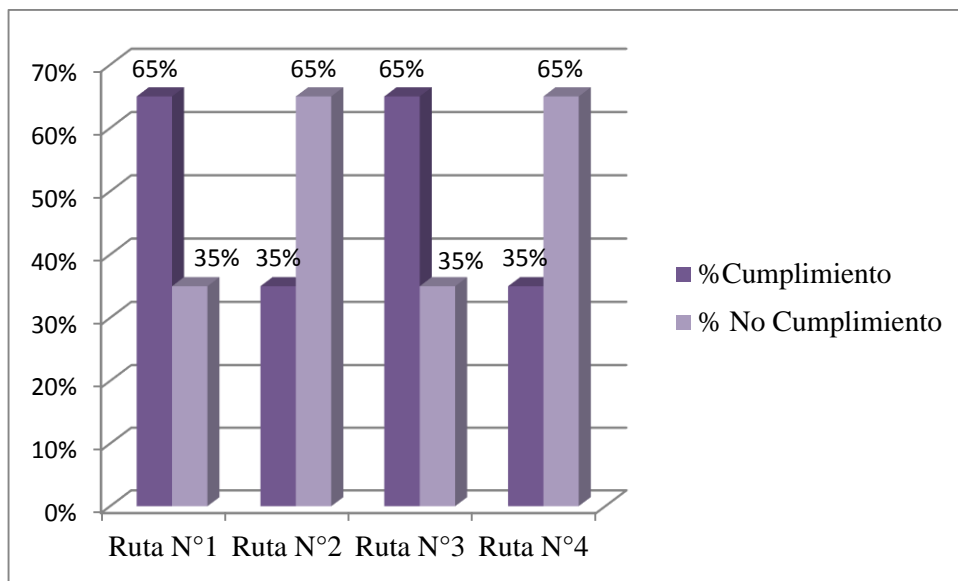
## **CAPÍTULO III**

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

#### **3.1 Resultados de la Evaluación de los Requisitos de Medios de transporte de leche cruda**

La evaluación de la lista de chequeo de los Requisitos de Medios de transporte de leche cruda se

observa en el gráfico 1-3 propuesta en el Manual de Procedimientos para Vigilancia y Control de la Inocuidad de Leche Cruda de Agrocalidad.



**Gráfico 1-3:** Evaluación de la lista de chequeo de los requisitos de medios de transporte de la leche cruda para el centro de acopio CA.1 en el cantón Mocha provincia de Tungurahua

**Realizado por:** Katherin Altamirano, 2018

Este comportamiento, en promedio reflejaría un cumplimiento del 50% de los requisitos establecidos en el caso de las 4 rutas de la leche. La evaluación global sugiere que los requisitos deben cumplirse para la emisión y mantenimiento del registro dentro de un plazo establecido incluyendo un año en el que se repita la inspección (Agrocalidad, 2013, p. 110).

En cuanto al transporte de la leche cruda, las condiciones más deficientes se apreciaron en las rutas N°2 y N°4 arrojando un mayor porcentaje de incumplimiento 65%, sin embargo la rutas N°1 y N°3 muestran la puntuación más baja en el incumplimiento (equivalente a un 35%) de las Prácticas Correctas de Higiene respecto al medio de transporte.

Estos resultados son coherentes con el tipo de transporte que en el primer caso fue un tanque cisterna refrigerado, mientras que en el segundo caso el alimento se transportó en bidones de plástico sin refrigeración. Por lo tanto dichos factores se relacionan con la calidad microbiológica de la leche acopiada observándose que en la ruta N°4 existe un elevado contaje en orden decreciente de aerobios mesófilos, enterobacterias, coliformes, *E.coli* y *Staphylococcus aureus* en

comparación a las otras rutas de abastecimiento (Ver Tabla 1-3), dicha proliferación microbiana se ve influenciada por el tiempo que tarda en llegar la leche cruda al centro de acopio, siendo este de 6 horas, es necesario que se fije la hora de llegada de la leche al centro de acopio en el menor tiempo posible debido a que un movimiento continuo de la leche, la exposición al sol y los contaminantes ambientales generan el aumento en la temperatura ocasionando deficiencias en la calidad sanitaria de la leche (Albujar, et al., 2009: pp. 38-39).

Cabe mencionar que los aerobios mesófilos son los indicadores de la calidad higiénica del alimento, observándose en la tabla 1-3 en la mezcla de las 4 leches se encontró en mayor número de aerobios mesófilos en contraste a los otros indicadores microbiológicos identificados

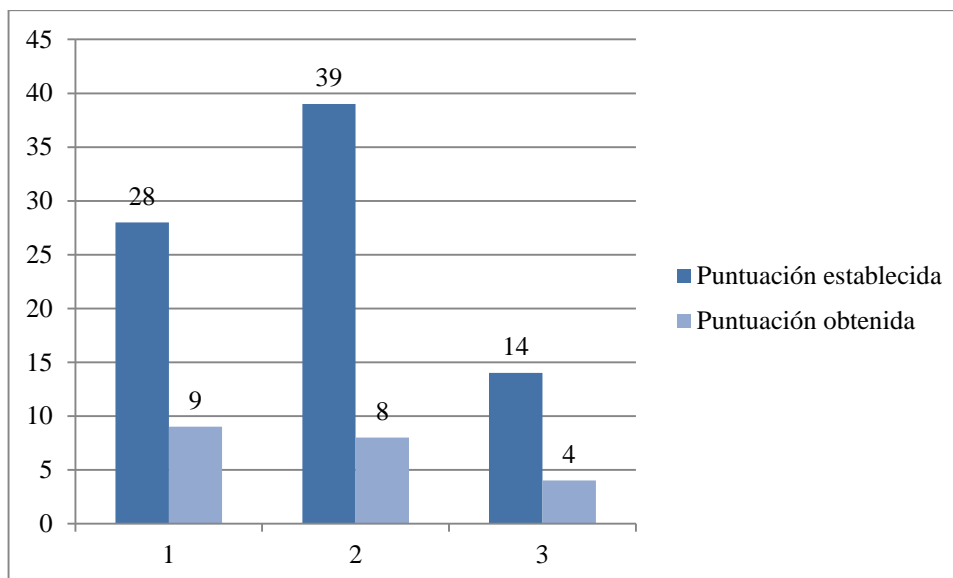
Por otro lado la mezcla de las 4 rutas de abastecimiento de la leche cruda presentó los contajes microbianos más elevados de: aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, coliformes y *E.coli* en contraste con cada una de las rutas de recolección de la leche.

En las rutas N°2 y N°4 se apreció que los bidones de plástico no se encontraban rotulados, en todos los camiones recolectores no existió un adecuado manejo de los recipientes y/o utensilios que están en contacto con la leche debido que no se siguió un correcto proceso de limpieza y desinfección. Todos estos factores contribuyen al incremento en la proliferación microbiana constituyéndose una dificultad para las grandes empresas lácteas que son las responsables del procesamiento de la leche cruda.

Se debe seguir con una correcta manipulación en las siguientes fases: ordeño, transporte, almacenamiento y elaboración. A lo largo de toda la cadena muchos manipuladores y materiales entran en contacto directo e indirecto con la leche por ello es necesario que se implementen métodos para un adecuado y correcto manejo desde el momento del ordeño hasta el final de la cadena para garantizar una calidad higiénica óptima de la leche como materia prima (Posas, et al., 2013: pp. 10-11).

### **3.2 Resultados de las Prácticas Correctas de Higiene en el centro de acopio CA.1**

En cuanto a las Prácticas Correctas de Higiene (Agrocalidad, 2013, pp. 114) en el centro de acopio de leche CA.1 con capacidad < 2000 litros diarios, de la máxima puntuación establecida 81 puntos para el cumplimiento de 27 criterios, se encontró que en el centro de acopio CA.1 capacidad < 2000 litros diarios, se cumplen 21 puntos lo que significa una ejecución del 26% como se indica en el gráfico 2-3



**Gráfico 2-3:** Evaluación de la ejecución de las prácticas correctas de higiene del centro de acopio de leche cruda CA.1 en el cantón Mocha provincia de Tungurahua.

**Realizado por:** Katherin Altamirano, 2018

Analizando globalmente el efecto de los criterios sobre la calidad de la leche se identificaron requisitos de vital importancia que debería cumplir el centro de acopio, estos son el sistema de refrigeración y control de temperatura porque son factores vinculados con el desarrollo microbiano, de no cumplirlos se afectan adversamente a la calidad de la leche. La falta de refrigeración y su control explica el hecho que ninguna de las muestras analizadas cumpla el límite establecido en la norma ecuatoriana vigente que es para aerobios mesófilos de 6,18 log UFC/mL como se aprecia en la tabla 1-3 (NTE INEN 0009, 2012, p.2).

Otro factor que influye directamente en el recuento microbiológico es la calidad del agua; el centro no cuenta con agua potable las 24 horas del día siendo ésta almacenada en bidones expuestos a la intemperie sin ningún tipo de protección, tampoco existen registros que avalen su calidad. Esta agua se emplea en la higiene de superficies así como del tanque de almacenamiento y la manguera que contactan directamente con la leche. Justamente, los análisis de estos puntos arrojaron los niveles más altos de aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, coliformes y *E.coli* en comparación con las otras superficies analizadas como se detalla en la tabla 4-3.

En este chequeo se detectó la falta de cumplimiento del control de la recepción de la leche puesto que la recepción no es diaria, tampoco se controla su trazabilidad, no se realizan diariamente el análisis sensorial ni los análisis físico químicos y microbiológicos establecidos en la normativa ecuatoriana NTE INEN 0009:2012 y se observa fallas en el área de los tanques de refrigeración debido que no cuentan con mallas plásticas de protección en la ventilación siendo necesario que en esta zona haya un adecuado control en la temperatura y humedad del ambiente.

El centro de acopio se encuentra ubicado cerca de fuentes de contaminación que son una planta de producción de balanceados y de una planta de faenamiento de cuyes lo que va a influir indirectamente sobre la carga microbiana que se encontraba presente en la leche de las 4 rutas de abastecimiento, de igual manera afectaría a las superficies de contacto indirecto con la leche como son los mesones en donde se presentó un recuento microbiano elevado de aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, coliformes y *E.coli* como se observa en la tabla 4-3; en el centro no disponen de un área que esté en óptimas condiciones y limpias destinadas exclusivamente a la limpieza de los materiales e insumos. El manejo del volumen de la leche no es adecuado ocasionando contaminación y alteración de la calidad. Existieron fallas a nivel de los servicios higiénicos y vestidores debido que no se encontraron en condiciones limpias y ordenadas.

Cabe destacar que no se cumple con la provisión de termómetros funcionales y calibrados de lo cual deriva la falta de registro de la temperatura en el tanque de almacenamiento conduciendo a que las temperaturas sean más altas que la temperatura ideal para la conservación del producto siendo indispensable que la leche esté almacenada a una temperatura de  $4^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  y máximo durante un período de 24 horas caso contrario se generan enzimas termoresistentes como las lipasas y proteasas ocasionando dificultades en la obtención de la leche ultrapasteurizada (Gaspar, et al., 2010: pp.7-8).

### **3.3 Resultados del análisis microbiológico de la leche cruda**

Los resultados del conteo de aerobios mesófilos en la leche de las 4 rutas de abastecimiento así como en la mezcla de las mismas muestran valores entre 7,16 log UFC/mL y 8,31 log UFC/mL, como se aprecia en la tabla 1-3.

**Tabla 1-3:** Niveles de indicadores microbiológicos en muestras de leches crudas de cuatro rutas de abastecimiento

<b>Microorganismo</b> <b>Ruta de leche</b>	<b>Aerobios* mesófilos</b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i>*</b>	<b>Enterobacterias*</b>	<b>Coliformes*</b>	<b><i>E. coli</i>*</b>
<b>Nº1</b>	8,14± 0,43	6,32±0,55	6,89± 0,52	6,54±0,43	6,15±0,51
<b>Nº2</b>	7,16±0,49	6,00±0,26	6,98±0,45	6,45±0,44	5,44± 0,77
<b>Nº3</b>	7,30±0,53	6,62±0,41	7,12±0,53	6,82±0,56	6,37±0,49
<b>Nº4</b>	7,95±0,59	7,20±0,65	7,83±0,51	7,57±0,53	7,29±0,59
<b>Mezcla de las cuatro rutas de leche</b>	8,31±0,50	7,74±0,31	8,09±0,50	7,83±0,57	7,46±0,58

\*Los resultados se expresan en logaritmo base 10 de unidades formadoras de colonia por mL y desviación estándar

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

La leche como producto biológico es altamente perecedera, debido a su riqueza en nutrientes y alto contenido de agua, favorece el crecimiento microbiano por tanto puede existir una elevada proliferación de bacterias mesófilas que se desarrolla a temperatura óptima de 30 °C ±2°C. En estudios realizados en Boyacá-Colombia se reportaron aerobios mesófilos en leche cruda en un nivel de 6, 24 log UFC/mL; en el estado de Carabobo-Venezuela al realizar exámenes similares se contabilizaron 7,19 log UFC/mL.

Los aerobios mesófilos son indicadores de la calidad higiénica de la leche, abarcan un amplio número de bacterias que pueden ocasionar enfermedades a nivel del sistema gastrointestinal en las personas, su presencia es indicativo de la incorrecta aplicación de las prácticas de higiene desde la etapa del ordeño hasta su etapa final que es el almacenamiento de la leche cruda en el centro de acopio (Méndez, et al., 2010: p.80). Por tanto, los resultados microbiológicos que se presentan en la tabla 1-3 se relacionan directamente con las deficiencias que se apreciaron en los medios de transporte y en el centro de acopio de leche cruda CA.1 en términos del Manual de Procedimientos para la Vigilancia y Control de la Inocuidad de Leche Cruda.

De acuerdo a la manera como crece la población bacteriana se prevé que a mayor temperatura y mayor tiempo de recorrido hasta el centro de acopio exista un nivel más alto de aerobios mesófilos, sin embargo en la realidad no se observó esta tendencia. La cual puede explicarse por la diversidad de condiciones y el entorno asociado a cada ruta de leche; por ejemplo volumen

distinto de acopio, falta de homogeneidad de la leche cruda y el material de los recipientes de acopio

La presencia de aerobios mesófilos en leche se da a través de la vía mamaria ascendente permitiendo que estas bacterias se adhieran a la ubre ingresando por medio del esfínter del pezón, la contaminación de la leche puede ser producida a nivel externo debido a la falta de higiene en los materiales de almacenamiento e inclusive en los operarios que se encargan de la manipulación y el transporte de la leche.

Los ensayos que fueron ejecutados para la determinación de *Staphylococcus aureus* se muestran en la tabla 1-3. En la normalización ecuatoriana de leche cruda no hay límites permisibles para esta bacteria Gram positiva pero en el Reglamento Técnico de leche cruda y leche higienizada costarricense se establece que el mínimo sea 2 log UFC/mL y el máximo 2,70 log UFC/mL, observándose que ninguna de las muestras analizadas cumplen con el límite establecido (Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica, 2007).

En estudios anteriores realizados en Pereira-Colombia; se obtuvieron resultados de 5,48 log UFC/mL superando las 300 unidades formadoras de colonia de *Staphylococcus aureus* (Galeano, 2017, p.28), por su parte en empresas lácteas en el departamento de Sucre-Colombia en el recuento de estos microorganismos se reportaron 6,23 log UFC/mL (Martínez, 2013, p.98).

Los niveles de *Staphylococcus aureus* encontrados permite indicar que se ha realizado un proceso incorrecto al ejecutar la etapa de ordeño, conservación, transporte y almacenamiento de la leche debido a la deficiencia de condiciones higiénicas fomentando el crecimiento microbiano. En la vaca esta bacteria es el principal agente que ocasiona mastitis bovina induciendo a daños en el tejido de la glándula y variaciones en la composición bioquímica de la leche, dicha enfermedad puede ser catalogada desde subclínica hasta crónica dependiendo de la cepa que cause la infección en el animal; este microorganismo es eliminado a través de la cocción y pasteurización cuando se aplica una temperatura de 60°C durante 24 minutos (Ministerio de Salud de Colombia, 2011, p.33).

En exámenes realizados en leche cruda en la provincia de Chimborazo se encontraron 5,20 log UFC/ mL de enterobacterias (Contero, 2017, p.58 ) y valores similares en otra quesera artesanal de la misma provincia de 5,0 log UFC/mL, (Pilamunga, 2017, p.46). En otro estudio efectuado en Santa Fe-Argentina se evaluó a este microorganismo en cada estación del año en donde se registraron los valores en: verano de (2,50 ± 0,55) log UFC/mL, otoño (2,39 ± 0,76)log UFC/mL, invierno (1,41±0,54) log UFC/mL y en primavera (1,08±0,55) log UFC/mL para enterobacterias, aunque no existe un valor máximo determinado para la presencia del microorganismo su existencia

demuestra la falta de higiene desde la etapa del ordeño, a causa de varios factores tales como las ubres de las vacas que se encuentren sucias o mojadas, la contaminación del ambiente en el que habita el bovino y la falta de higiene en el personal que manipula al animal.

Debido a que las enterobacterias habitan normalmente en el intestino de los mamíferos su presencia en la leche está ligada a contaminación de origen fecal, las enterobacterias son indicadores de patógenos gastrointestinales siendo las más destacadas en este género *Salmonella*, *E.coli*, *Enterobacter aerógenes*, *Klebsiella* y *Citrobacter* (Signorini, 2004, pp.101-102).

Respecto a coliformes se encontraron valores desde 6,45 log UFC/mL hasta 7,83 log UFC/mL como se reporta en la tabla 1-3. No se ha reportado valores permisibles para coliformes en leche cruda en Ecuador pero en Costa Rica en el Reglamento Técnico para leche cruda el límite mínimo es 2,70 log UFC/mL y su máximo es 3,30 log UFC/mL (MAG, 2007) ; en investigaciones anteriores realizadas en el estado de Carabobo-Venezuela se obtuvieron 6,90 log UFC/mL (Celis, 2009, p.20), lo que indica una elevada contaminación debido que las bacterias pueden desarrollarse en el suelo, heces, agentes vectores como son las moscas, en materiales mal lavados que son empleados en el ordeño, su número también puede aumentar durante la conservación y transporte de leche cruda propiciando una alteración en las características sensoriales evidenciando una elevada contaminación microbiana.

Estas bacterias pueden estar implicadas en cuadro de mastitis generando inflamación en la glándula que en varias ocasiones puede provocar descamaciones a este nivel aumentando la proliferación bacteriana (Barneche, 2012, p.31).

En el caso de *Escherichia coli* se reportó en la mezcla de las 4 rutas de abastecimiento de leche 7,46 log UFC/mL como se observa en la tabla 1-3. En las investigaciones realizadas en la Universidad de Zamorano en Honduras se obtuvo en *Escherichia coli* 5,40 log UFC/mL (Enamorado, 2003, p.22) en estudios ejecutados en Manizales-Colombia se encontró *E.coli* en un 33,3 % de las muestras analizadas (Díaz, 2016, pp. 81-82) en varios sectores de Argentina se encontraron en un 60 % de las muestras analizadas con un promedio de (5,80±0,50) log UFC/mL; los elevados recuentos de *E.coli* significa que no existe una cadena de frío desde el momento en que se recolecta la leche, la falta de material de acero inoxidable para su conservación así como la contaminación del ambiente debido al contacto con las heces del animal

La *E.coli* presenta una menor probabilidad de provocar mastitis ya que se ha determinado que más de 138 microorganismos patógenos son causantes de la patología, en la leche cruda se puede encontrar *E.coli* enterohemorrágica (O157:H7) siendo su transmisión vía oral fecal pudiendo



ocasionar en las personas el Síndrome Urémico Hemolítico (Poggio, 2008, p.42).

### 3.4 Resultados del análisis de células somáticas y de *Salmonella*

La existencia de células somáticas es indicativo de la sanidad de la ubre ya que contajes superiores a 700000/mL señalan problema de mastitis en la vaca, por lo que es recomendable realizar este examen cuando el animal no presenta síntomas siendo aconsejable realizarlo una vez al mes (Celis, 2009, p. 18).

Los resultados obtenidos para el contaje de células somáticas y *Salmonella* se realizaron una sola vez en el tercer muestreo de leche cruda en el Laboratorio de Control de Calidad de Leche en Agrocalidad-Quito, obteniéndose en células somáticas los siguientes resultados (Ver tabla 2-3); existe el valor establecido en la norma NTE: INEN 0009 que es 700000/mL, con los valores obtenidos se observa que no existe diferencia en las 4 leches analizadas pero que se encuentran cerca del límite establecido en la norma ecuatoriana vigente, mientras que en el Código Alimentario Argentino se dispone que el valor debe ser de 650000 /mL (Aguilar, 2008).

**Tabla 2-3:** Recuento de células somáticas y detección de *Salmonella* en muestras de leche cruda de cuatro rutas de abastecimiento.

	<b>Células somáticas (x1000/mL)</b>	<b><i>Salmonella</i></b>
<b>Ruta de leche N°1</b>	604	Ausencia
<b>Ruta de leche N°2</b>	350	Ausencia
<b>Ruta de leche N°3</b>	292	Ausencia
<b>Ruta de leche N°4</b>	590	Ausencia

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

En investigaciones efectuadas en Bogotá se determinaron para células somáticas resultados de 500000/mL (Gómez, 2008, p.63), en estudios realizados en los estados de Trujillo, Mérida y Zulia en Venezuela se encontraron 552000/mL de células somáticas (Román, 2011, p.148); reportándose en ambos países valores similares a los hallados en el centro de acopio de leche cruda CA.1.

La detección de *Salmonella* se realizó únicamente en el tercer muestreo, presentándose ausencia de la bacteria en todas las leches analizadas, en la norma ecuatoriana NTE: INEN 0009 no hay ningún parámetro que rij a esta bacteria sin embargo, la legislación de Costa Rica indica que debe haber una ausencia de *Salmonella* en leche cruda (MAG, 2007). Lo anterior puede explicarse porque en Ecuador está prohibida la comercialización y por ende el consumo de leche cruda (Reglamento de Control y Regulación de Cadena de Producción de Leche, 2013, p.9).

En investigaciones efectuadas en las principales zonas productoras de Cuba se reportó en un 55,8% de las muestras analizadas la presencia de *Salmonella*. En la leche cruda puede estar presente *Salmonella* junto con otras bacterias como *E.coli* y *Listeria* que son las causantes principales de enfermedades transmitidas por alimentos afectando principalmente a personas con sistema inmune frágil (Villoch, et al., 2015).

### 3.5 Resultados de los análisis físico químicos de la leche cruda

Los contenidos de grasa en las leches analizadas oscilan entre 3,92 y 4,16 (Ver Tabla 3-3). En la norma NTE: INEN 0009:2012 se dispone que la materia grasa tenga un mínimo de 3,0 % pero no se establece un límite máximo; existen variaciones de la cantidad de grasa que hay en la leche debido a diversidad racial, en la raza Holstein puede variar entre 3,5 y 4,7% influenciado directamente por la capacidad metabólica propia de cada vaca (García, et al., 2014: p. 87).

**Tabla 3-3:** Análisis físico-químico de leche de vaca expresados en porcentaje obtenidos en las 4 rutas de abastecimiento.

Requisito físico químico	Grasa	Proteínas	Sólidos totales	Sólidos no grasos
-----------------------------	-------	-----------	--------------------	----------------------

<b>Ruta de leche</b>				
<b>Nº1</b>	3,98	3,36	12,66	8,68
<b>Nº2</b>	3,92	3,45	12,86	8,94
<b>Nº3</b>	4,16	3,47	12,99	8,83
<b>Nº4</b>	3,94	3,35	12,68	8,74

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

En las empresas ganaderas en Córdoba, Colombia se realizaron estudios de grasa en donde se obtuvo 3,70 %, mientras que en las 3 regiones de Sabanas, San Jorge y Golfo del Morrosquillo del departamento de Sucre en Colombia el contenido de grasa en la leche fue de 3,75%, 3,37% y 3,64% respectivamente, dichos valores de la grasa se relacionan con la época del año ya sea lluviosa o seca así como la alimentación que tenga el animal (Romero, et al., 2018: p.43)

Los datos obtenidos para proteínas de las 4 rutas de abastecimiento de leche se observan en la tabla 3-3. Según lo estipulado en la norma ecuatoriana vigente el valor debe ser mínimo 2,9 % y no se establece un límite máximo (NTE INEN 0009, 2012, p.2).

En investigaciones realizadas en 3 empresas acopiadoras de leche en el departamento de Córdoba en Colombia se obtuvieron valores de proteína de: 3,02%, 2,91% y 3,01% (Calderón, et al 2012: pp. 400-401); en estudios ejecutados en México se obtuvieron 3,29% de proteína mientras que la leche cruda analizada en Venezuela se reportó 3,49% de proteína; los porcentajes de proteína que están presentes en la leche se debe a la alimentación que tiene la vaca así como a su genética y tipo de raza del animal (García, et al., 2014: p. 87).

Los porcentajes de sólidos totales para la leche de las cuatro rutas de abastecimiento se detallan en la tabla 3-3; en la norma ecuatoriana NTE INEN 0009:2012 se establece el mínimo de 11,2% deduciéndose que todas las leches crudas analizadas cumplen con este criterio (INEN 0009, 2012, p.2).

En la ciudad de Montería ubicada en Colombia se realizaron análisis para la determinación de sólidos totales en la leche cruda de 15 empresas ganaderas obteniéndose en promedio 11,45%

(Calderón, et al., 2012, p.401), en otras investigaciones realizadas en los distritos de Concepción, Matahuasi y Apata en Perú se obtuvo una media de 11,91%. Los principales factores que influyen en el porcentaje de sólidos totales en la leche cruda son la raza, la calidad del pasto, época del año, cantidad de células somáticas y el período de lactancia (Viera, 2013, p.41).

Para el parámetro de sólidos no grasos la normativa ecuatoriana vigente establece el valor mínimo de 8,2%, en las muestras analizadas de las cuatro rutas de abastecimiento de leche cruda se obtuvieron los resultados que se observan en la tabla 3-3 cumpliendo con lo dictaminado en la norma ecuatoriana vigente (INEN 0009, 2012, p.2).

En los estudios realizados en los distritos de Perú anteriormente citados también se efectuaron el análisis de sólidos no grasos en donde se registró una media de 8,18%, en una investigación realizada en una empresa láctea en Honduras se obtuvo un promedio de 8,29% en la leche cruda. El porcentaje de sólidos no grasos varía en función del tipo de alimentación del animal, se disminuye cuando la edad del animal aumenta, en la etapa de lactancia durante el primer mes se incrementa al igual que en los últimos meses cuando la producción de leche decrece y cuando la vaca presenta mastitis subclínica o clínica también se observa una reducción porcentual de sólidos no grasos (Bolaños, 2004, p.5).

### 3.6 Resultados del análisis microbiológico de las superficies en contacto con la leche

Los análisis de superficies fueron realizados sobre muestras tomadas durante 3 semanas por 3 ocasiones se examinaron superficies inertes o vivas de contacto directo o indirecto con la leche, siendo estas: tanque de almacenamiento, manguera, mesones, pomo de la puerta del laboratorio, pomo de la puerta de los servicios higiénicos, llave de un grifo de agua, vestimenta y manos de los 4 operarios. Los resultados se expresan en la tabla 4-3.

**Tabla 4-3:** Niveles de indicadores en superficies inertes y vivas

Microorganismo / Superficie	Aerobios mesófilos	<i>S. aureus</i>	Enterobacterias	Coliformes	<i>E. coli</i>	Contacto con la leche/tipo de

						superficie
<b>Tanque de almacenamiento 7800 L (log UFC/mL)</b>	6,62± 0,09	5,74±0,27	6,52±0,12	6,24±0,05	5,89±0,08	Directo/ Inerte
<b>Manguera (log UFC/cm<sup>2</sup>)</b>	6,61±0,01	5,58±0,16	6,28±0,09	6,03±0,14	5,70±0,13	Directo/ Inerte
<b>Mesón 1 (log UFC/ cm<sup>2</sup>)</b>	5,26±0,01	4,51±0,15	5,19±0,02	4,93±0,06	4,78±0,08	Indirecto/ Inerte
<b>Mesón 2 (log UFC/ cm<sup>2</sup>)</b>	5,47±0,59	4,32±0,16	5,01±0,06	4,76±0,09	4,32±0,11	Indirecto/ Inerte
<b>Pomo de la puerta del laboratorio (log UFC/ superficie muestreada)</b>	3,35±0,25	2,90±0,16	3,14±0,12	2,85±0,14	2,41±0,15	Indirecto/ Inerte
<b>Pomo de la puerta de servicios higiénicos (log UFC/ superficie muestreada)</b>	3,30±0,12	2,88±0,18	3,04±0,08	2,83±0,03	2,21±0,24	Indirecto/ Inerte
<b>Llave de un grifo de agua (log UFC/ superficie muestreada)</b>	3,54±0,16	3,04±0,11	3,21±0,12	2,96±0,15	2,41±0,15	Indirecto/ Inerte
<b>Vestimenta del operario N°1 (log UFC/cm<sup>2</sup>)</b>	3,40±0,13	2,89±0,03	No desarrollado	No desarrollado	No desarrollado	Indirecto/ Inerte
<b>Vestimenta del operario N°2 (log UFC/cm<sup>2</sup>)</b>	3,17±0,09	2,90±0,03	No desarrollado	No desarrollado	No desarrollado	Indirecto/ Inerte
<b>Vestimenta del operario N°3 (log UFC/cm<sup>2</sup>)</b>	3,02±0,10	2,55±0,11	No desarrollado	No desarrollado	No desarrollado	Indirecto/ Inerte
<b>Vestimenta del operario N°4 (log UFC/cm<sup>2</sup>)</b>	3,14±0,08	2,84±0,06	No desarrollado	No desarrollado	No desarrollado	Indirecto/ Inerte
<b>Manos del operario N°1 (log UFC/ superficie muestreada)</b>	3,75±0,05	3,32±0,17	No desarrollado	No desarrollado	No desarrollado	Indirecto/ Viva
<b>Manos de operario N°2 (log UFC/ superficie muestreada)</b>	3,69±0,09	3,43±0,08	No desarrollado	No desarrollado	No desarrollado	Indirecto/ Viva
<b>Manos de operario N°3 (log UFC/ superficie muestreada)</b>	3,49±0,10	3,43±0,01	No desarrollado	No desarrollado	No desarrollado	Indirecto/ Viva

<b>Manos de operario N°4 (log UFC/ superficie muestreada)</b>	3,75±0,05	3,30±0,14	No desarrollado	No desarrollado	No desarrolla do	Indirecto/ Viva
---	-----------	-----------	--------------------	--------------------	------------------------	--------------------

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

En el Ecuador no existe una normativa vigente que especifique el contaje de ningún microorganismo para superficies vivas e inertes pero en la norma oficial mexicana NOM-093-SSA1 especifica el valor máximo permisible para algunos microorganismos. El tanque de almacenamiento es considerado una superficie inerte que está en contacto directo con la leche, según el límite máximo permitido para aerobios mesófilos es  $<2,60 \log \text{ UFC/mL}$  y para coliformes  $<2,30 \log \text{ UFC/mL}$ , en este trabajo los 2 grupos sobrepasan los límites establecidos obteniéndose  $(6,62 \pm 0,09 \log \text{ UFC/ mL})$  en aerobios mesófilos y  $(6,24 \pm 0,05 \log \text{ UFC/ mL})$  para coliformes; indicando que éstas bacterias pueden adherirse a las paredes del tanque y formar biopelículas originando olores desagradables, corrosión y fallas en los equipos, siendo necesario que se implemente las prácticas correctas de higiene para evitar la proliferación microbiana.

No hay límites establecidos para el contaje de *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias y *Escherichia coli* en superficies inertes pero el elevado número de microorganismos  $(5,74 \pm 0,27 \log \text{ UFC/ mL})$ ,  $(6,52 \pm 0,12 \log \text{ UFC/ mL})$  y  $(5,89 \pm 0,08 \log \text{ UFC/ mL})$  respectivamente presentes en el tanque de almacenamiento de la leche cruda es indicativo de la falta de asepsia que existe a nivel del centro de acopio y por parte de los operarios.

El análisis de la manguera que es una superficie inerte de contacto directo con la leche se lo efectuó según el método de la esponja conforme a lo establecido en la Guía Técnica para examen microbiológico de superficies en relación con alimentos y bebidas en Perú en donde se dispone que en el caso de coliformes el valor debe ser de  $1,40 \log \text{ UFC/ cm}^2$  pero en el estudio realizado en el centro de acopio de leche cruda CA. 1 se obtuvieron  $(6,03 \pm 0,14 \log \text{ UFC/ cm}^2)$  sobrepasando al límite máximo establecido, dicho valor obtenido puede deberse al deterioro en el que se encuentra la manguera así como la falta de limpieza debido que no se emplea ningún tipo de desinfectante ni desengrasante, limpiándose solamente con agua (Arzú, et al., 2013).

En el estudio efectuado en la superficie de la manguera se determinaron adicionalmente: aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias y *E.coli*; los resultados se muestran en la tabla 4-3. Aunque en la Guía Técnica peruana mencionada anteriormente no se fijan límites permisibles, todos estos agentes microbianos son capaces de generar biopelículas debido que la superficie de la manguera es de plástico siendo éste material de fácil adherencia en donde las células microbianas crecen rápidamente en condiciones de limpieza insuficiente.

En el conteo de coliformes de los mesones N°1 y N°2 (Ver Tabla 4-3) superan al límite establecido por la Guía Técnica para examen microbiológico de superficies en relación con alimentos y bebidas de Perú cuyo valor es  $(0 \log \text{ UFC/ cm}^2)$ . Lo anterior indica el déficit de higiene en los mesones siendo indispensable que se limpien con frecuencia las superficies para evitar la acumulación de polvo, residuos y de otros agentes contaminantes.

También en los mesones se realizaron análisis de algunos agentes microbianos y de *E.coli* (Ver Tabla 4-3) sin encontrarse sus valores máximos referenciales. En este tipo de superficies se adhieren *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* debido a la contaminación cruzada a través de la leche y de la inadecuada manipulación por parte de los operadores; la grasa que está presente en los mesones debe ser eliminada ya que éste factor favorece al crecimiento microbiano e inhibe la acción eficaz de sanitizantes (Navia, et al., 2010: 118-119).

El hisopado de otras superficies inertes (pomos de la puertas y llave de un grifo de agua) de contacto indirecto con la leche arrojó los resultados que se aprecian en el tabla 4-3, en donde ninguna de las superficies mostraron la ausencia de microorganismos. En la llave de un grifo de agua se encontró un alto nivel de coliformes en contraste con el criterio microbiológico de la Guía técnica de Perú que establece  $<1 \log \text{ UFC/superficie muestreada}$ ; el origen de Coliformes puede explicarse por contaminación a partir del suelo o de los operadores del Centro de Acopio CA.1

De los otros grupos: aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias y *Escherichia coli* tampoco existen valores máximos permisibles para las superficies inertes. Los pomos de las puertas tanto del laboratorio como de los servicios higiénicos y de la llave del grifo presentaron valores similares de contaminación microbiana, dichas superficies constituyen un parámetro fundamental para indicar la calidad sanitaria del ambiente del centro de acopio CA.1 (MINSA, 2007).

La vestimenta de los 4 operadores no cumplió el límite para aerobios mesófilos  $<2,60 \log \text{ UFC/ cm}^2$  (Ver Tabla 4-3), establecido por la Norma oficial mexicana NOM-093-SSA1, revelando la falta de aseo que existe en el personal que maneja la leche cruda ya que no cuentan con ninguna vestimenta de protección al momento de realizar la recolección y el almacenamiento de la leche (Norma oficial mexicana NOM-093-SSA1, 1994. p.5).

*Staphylococcus aureus* en la vestimenta de cada operario evidenció valores entre  $2,90 \pm 0,03 \log \text{ UFC/cm}^2$  y  $2,55 \pm 0,11 \log \text{ UFC/cm}^2$  (Ver Tabla 4-3), esta bacteria puede transferirse a la leche a través del contacto directo con la piel pudiendo ocasionar infecciones cutáneas, para prevenir esta

contaminación se necesita adecuada protección y prácticas higiénicas de los operarios (Seija, 2008, p.258).

En el conteo de aerobios mesófilos para las manos de los operadores según lo establece la norma oficial de México NOM-093-SSA1 en el caso de las superficies vivas es 3,48 log UFC/ superficie muestreada, en el análisis efectuado se obtuvieron los siguientes resultados entre 3,49 y 3,75 log UFC/ superficie muestreada dichos valores indicaron un deficiente lavado de manos y/o el uso de productos de higiene inadecuados.

En el caso de *Staphylococcus aureus* en las manos de los operarios se obtuvieron valores similares (Tabla 4-3) los cuales sobrepasan al límite establecido por lo que se requiere que las personas se laven las manos correctamente empleando un desinfectante adecuado y también se practique usar guantes para evitar la presencia de este microorganismo que se lo encuentra por todo el cuerpo albergándose en las fosas nasales y en las uñas siendo capaz de originar intoxicaciones alimentarias (Chiriboga, 2018, p.30).

### 3.7 Resultados del análisis microbiológicos del aire

En la tabla 5-3 se presentan los resultados de aerobios mesófilos, hongos y levaduras en las diversas áreas examinadas durante tres semanas de muestreo en el centro de acopio de leche cruda CA.1 en el cantón Mocha provincia de Tungurahua

**Tabla 5-3:** Indicadores de calidad de aire

Microorganismo / Área	Aerobios mesófilos	Hongos y levaduras
Almacenamiento de la leche	2,09±0,12*	1,92±0,18**
Recepción de la leche	2,15±0,17	1,95±0,22
Laboratorio	1,88±0,25	1,75±0,35



\*UFC Unidades formadoras de colonias/m<sup>3</sup>

\*\*UPC Unidades propagadoras de colonias/m<sup>3</sup>

Realizado por: Katherin Altamirano, 2018

Actualmente en el Ecuador no existe una normativa sobre la carga microbiana ambiental para industrias de producción alimenticia pero en la Norma UNE 100012 del año 2005 se reglamenta para el recuento de aerobios mesófilos una población limitada 2,90 log UFC/m<sup>3</sup> (Norma española UNE 100012, 2005, p. 6). Los resultados obtenidos evidenciaron el cumplimiento del criterio establecido en la norma, a pesar de ello es indispensable que se controle las condiciones de limpieza tanto a nivel de las superficies inertes como las vivas para garantizar la calidad microbiológica adecuada del aire.

Tampoco existe una norma en donde se establezca la cantidad de hongos y levaduras que deben existir en los establecimientos de la industria alimentaria, la presencia de éstos se encuentran con facilidad en todos los ambientes en condiciones cálidas y húmedas, los hongos generan esporas las cuales pueden distribuirse en el aire, contaminando el ambiente y favoreciendo la contaminación cruzada (Alfaro, et al., 2014: p. 30).

## CONCLUSIONES

-Los exámenes microbiológicos y la lista de chequeo de las Prácticas Correctas de Higiene aplicados al centro de acopio de leche cruda CA.1 ubicado en el cantón Mocha provincia de Tungurahua revelaron que existe un deficiente cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene lo que promueve la potencial combinación de microorganismos contaminantes con la microbiota indígena de la leche comprometiendo su calidad sanitaria.

-Se detectaron fallas en la etapa de recolección y almacenamiento de la leche debido a la inadecuada manipulación por parte de los operadores y la falta de cadena de frío, factores que contribuyen a la proliferación microbiana.

-El nivel de cumplimiento de las Prácticas Correctas de Higiene en el centro de acopio de leche cruda CA.1 reveló un mayor déficit de los criterios asociados a los requisitos de los centros de acopio de leche cruda, mientras que los requisitos sobre los medios de transporte se cumplen desde 35% hasta 65% estimando la leche que procede de las 4 rutas de acopio.

-Los resultados de los análisis de indicadores de calidad microbiológica revelan niveles altos de microorganismos presentes en las superficies vivas e inertes y como es de esperarse en la leche acopiada, revelando un mal manejo de la leche desde su producción.

-Sin embargo frente a las evidencias de altos niveles de aerobios mesófilos, *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, coliformes y *E.coli*; *Salmonella* permanecieron ausentes revelando la inocuidad de la leche como materia prima para la industria láctea.

-Se destaca la contaminación fúngica y bacteriana del aire ambiental situación explicada por la falencia en la ubicación del centro de acopio CA.1, en cuya vecindad se observaron fuentes de contaminación y déficits de estructura y ventilación.

## **RECOMENDACIONES**

-Mejorar las condiciones en el transporte y almacenamiento de la leche cruda para que se cumplan con los requisitos de las Prácticas Correctas de Higiene

-Realizar los análisis físico químicos a diario y de todas las rutas de abastecimiento en el centro de acopio de leche cruda CA. 1 ubicado en el cantón Mocha provincia de Tungurahua para elaborar una base de datos que sirva al histórico

-Examinar la calidad del agua que se emplea en el centro de acopio debido que es utilizada para el procedimiento de limpieza de los tanqueros de leche cruda

-Crear conciencia en los operarios sobre la importancia de su producto y de las exigencias de calidad e inocuidad.



## BIBLIOGRAFÍA

*Acumedia 7112. Baird Parker.* [En línea] 2006. [Citado el: 21 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia\\_pi/7112\\_pi.pdf](http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7112_pi.pdf).

*Acumedia 7157. Plate Count Agar .* [En línea] 2006. [Citado el: 22 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia\\_pi/7157\\_pi.pdf](http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7157_pi.pdf).

*Acumedia 7341. Extracto de malta.* [En línea] 2017. [Citado el: 23 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia\\_pi/7341\\_pi.pdf](http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7341_pi.pdf).

*Acumedia 7425. Agar glucosa bilis rojo violeta.* [En línea] 2007. [Citado el: 20 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia\\_pi/7425\\_pi.pdf](http://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7425_pi.pdf).

**Agrocalidad, Ecuador.** *Manual de Procedimientos para vigilancia y control de la inocuidad leche cruda.* [En línea] 2013.[Citado el: 20 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://www.agrocalidad.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2014/03/Resolucion % 20Leche % 20Cruda -opt.pdf](http://www.agrocalidad.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2014/03/Resolucion%20Leche%20Cruda-opt.pdf) .pp. 5-114.

**Agudelo, A.** *Composición nutricional de la leche de ganado vacuno.* Lasallista [En línea] 2005 (Colombia). 2 (1). p.39 [Citado el: 22 de Agosto de 2018.] ISSN 1794-4449. Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/pdf/695/69520107.pdf>.

**Aguilar, A.** *Alimentos lácteos.*[En línea].Buenos Aires, 2008.[Citado el: 5 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/marco/CAA/Capitulo\\_08.htm](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/marco/CAA/Capitulo_08.htm).

**Albujar, R., et. al. Sapiens.** *Evaluación de la conservación de leche cruda en distintas regiones del Perú.* Dialnet [En línea] 2009 (Perú) pp. 38-39 [Citado el: 22 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [file:///C:/Users/Admin/Downloads/Dialnet-EvaluacionDeLaConservacionDeLecheCrudaEnDistintas R-61 71106.pdf](file:///C:/Users/Admin/Downloads/Dialnet-EvaluacionDeLaConservacionDeLecheCrudaEnDistintasR-6171106.pdf)

**Alfaro, M., et. al Sapiens.** *Implementación de un manual de ordeño higiénico en dos establecimientos lecheros y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en el departamento de Sonsonate*, [En línea] (tesis) (pregrado) Universidad de El Salvador. 2014. p.30 [Citado el: 3 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de <http://ri.ues.edu.sv/5990/1/13101559%20%282%29.pdf>.

**Armendáriz, L.** *Calidad de la leche*. [En línea] México, 2003. p.5 Universidad de Zulia [Citado el: 1 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/materialdeapoyoparapuebasdeplataforma\\_1693.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/materialdeapoyoparapuebasdeplataforma_1693.pdf)

**Armenteros, A., et. al Sapiens.** *Contaminación de la leche cruda*. [En línea] 2005. p.34 Agroindustria [Citado el: 17 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <https://agroindustriacurc.files.wordpress.com/2011/09/fuentes-de-contaminacion-de-la-leche-cruda.pdf>.

**Arzú, O., et. al Sapiens.** *Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción en una industria argentina*, UNNE [En línea] 2013. (Argentina) 7. [Citado el: 1 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/04-Veterinarias/V-063.pdf>

**Bachman, J.** *Factores que afectan la calidad de la leche*. [En línea] 2012. [Citado el: 19 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [file:///C:/Users/Admin/Downloads/5224-1-15072-1-10-20101004%20\(1\).html](file:///C:/Users/Admin/Downloads/5224-1-15072-1-10-20101004%20(1).html).

**Barneche, M.** *Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de quesos artesanales de pasta dura elaborados en la zona de Colonia, Uruguay*. [En línea] (tesis) (pregrado) Universidad de la República de Uruguay. 2012. p.31 [Citado el: 29 de Agosto de 2018.] p.31 Recuperado a partir de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/123456789/2723/1/FV-29988.pdf>.

**Bergamo, P., et. al Sapiens.** *Organic HACCP*. [En línea] 2017. [Citado el: 14 de Agosto de 2018.] pp.10-11. Recuperado a partir de [http://orgprints.org/4934/1/7\\_lechefinal.pdf](http://orgprints.org/4934/1/7_lechefinal.pdf).

**Berkow, F., et. al Sapiens.** *Salmonellosis*. [En línea] Iowa . 2005. p.20 [Citado el: Agosto de 8 de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/salmonellosis.pdf>.

**Bolaños, F.** *Efecto de la adición de sólidos no grasos sobre el rendimiento y características sensoriales del queso crema Zamorano.* [En línea] (tesis) (pregrado) Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. 2004. p.45 [Citado el: 23 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1974/1/AGI-2004-T006.pdf>.

**Calderón, A., et. al Sapiens.** *Calidad físico química y microbiológica de leche cruda en empresas ganaderas del sistema doble propósito en Montería.* Scielo, [En línea] 2012, (Colombia) 15. pp. 400-401 [Citado el: 23 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v15n2/v15n2a18.pdf>

**Carrera, R.** *Código Prácticas de Higiene para la leche y productos lácteos.* [En línea] pp.6-8 [Citado el: 20 de Agosto de 2018.]. Recuperado a partir de [file:///C:/Users/Admin/Downloads/CXP\\_057s%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Admin/Downloads/CXP_057s%20(1).pdf).

**Celis, M.** *Microbiología de la leche.* [En línea] Universidad Tecnológica Nacional de Argentina. 2009. pp.18-20 [Citado el: 28 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem\\_fi\\_qui\\_micrb\\_09/microbiologia\\_leche.pdf](http://www.edutecne.utn.edu.ar/sem_fi_qui_micrb_09/microbiologia_leche.pdf).

**Chiriboga, G.** *Evaluación de la calidad microbiológica de cuajada ácida refrigerada para su uso en la agroindustria láctea.* . [En línea] (tesis) (pregrado) Universidad Técnica del Norte. 2018. p.30 [Citado el: 2 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/8017/1/03%20EIA%20460%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf>.

**Contero, V.** *Evaluación higiénico-sanitaria de la quesera artesanal Cod. Q.4 ubicada en la parroquia Químiag, cantón Riobamba, provincia Chimborazo.* . [En línea] (tesis) (pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2017. p.58 [Citado el: 27 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/6792/1/56T00721.PDF>.

**Dávila, M., et. al Sapiens.** *Métodos de ensayos rápidos de detección de microorganismos en la leche.* Redvet . [En línea] 2006 (España) 7. pp.36-40 pp.36-40 [Citado el: 27 de Agosto de 2018.] ISSN 1695-7504 Recuperado a partir de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070706/070603.pdf>

**Díaz, F.** *Evaluación de la calidad de la leche cruda recibida en industrias lácteas de Manizales.* Scielo [En línea] 2016 (Colombia) 11. pp.81-82 [Citado el: 30 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v11n1/v11n1a08.pdf>

**Díaz, M.** *Leche y seguridad alimentaria*. Redalyc [En línea] 2015 (Colombia) 31. pp.3-4.pp.3-4. [Citado el: 25 de Agosto de 2018.] ISSN 0212-1611 Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309238518005> 2

**Dilaco.** *BactoScan* [En línea] 2012. [Citado el: 8 de Octubre de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.dilaco.com/img/presentaciones/Brochure%20BactoScan%20v2.pdf>.

**Enamorado, C.** *Evaluación microbiológica de la leche cruda recibida y de la línea de procesamiento de leche fluida en bolsa al 2% de grasa en la planta de lácteos de Zamorano*. [En línea] (tesis) (pregrado) Universidad de Zamorano.2003.p.22 [Citado el: 28 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1881/1/AGI-2003-T012.pdf>.

**Escobar, S.** *Administración de Alimentos y Medicamentos*. [En línea] 2012. [Citado el: 16 de Agosto de 2018.]p.9 Recuperado a partir de <https://www.fda.gov/downloads/Food/FoodborneIllnessContaminants/UCM316383.pdf>.

**Fernández, H.** *Composición de la leche*. [En línea] 2014. [Citado el: 19 de Agosto de 2018.] p.1. Recuperado a partir de [http://www.agrobit.com/Info\\_tecnica/Ganaderia/prod\\_lechera/GA000002pr.htm](http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/prod_lechera/GA000002pr.htm)

*Foss. Fossomatic* [En línea] 2014. [Citado el: 8 de Octubre de 2018.] Recuperado a partir de <https://www.myfoss.com/en/fossomatic>.

**Galeano, D.** *Aislamiento e identificación de Staphylococcus aureus en muestras de leche cruda procedente de diferentes predios del Departamento de Risaralda*. [En línea] (tesis) (pregrado) Universidad Libre Seccional Pereira..2017. p.28 [Citado el: 26 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://repositorio.unilibrepereira.edu.co:8080/pereira/bitstream/handle/123456789/832/AISLAMIENTO%20E%20IDENTIFICACION%20C3%93N%20.pdf?sequence=1>.

**Gallegos, J.** *Microbiología de Alimentos*. Primera edición. Ecuador. Riobamba : pp.113, 1997.

**Galván, M.** *Proceso básico de la leche y queso*. Revista UNAM [En línea] 2005 (México) 6. p.9. [Citado el: 12 de Agosto de 2018.]ISSN 1067-6079. Recuperado a partir de [http://www.revista.unam.mx/vol.6/num9/art87/sep\\_art87.pdf](http://www.revista.unam.mx/vol.6/num9/art87/sep_art87.pdf).

**García, C., et. al Sapiens.** *Grasa y proteína de la leche de vaca: Componentes, síntesis y modificación.* [En línea] Universidad Autónoma Metropolitana de Coyoacán 2014. .p. 87 [Citado el: 23 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <file:///C:/Users/Admin/Downloads/592-580-1-PB.pdf>.

**Gaspar, Luis & Molina, Baldomero.** *Foro Lechero.* [En línea] 2010. pp.7-8 [Citado el: 3 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro\\_lechero/Bienvenida\\_files/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf](https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf).

**Gómez, N.** *Estandarización y validación de la técnica de recuento de células somáticas del equipo DCC DeLaval frente a la técnica de microscopía directa en la Organización La Alquería S.A.* [En línea] (tesis) (pregrado) Pontificia Universidad Javeriana..2008. p.63 [Citado el: 5 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis216.pdf>.

**González, A.** *La industria láctea ecuatoriana se dinamizó este 2017.* El Comercio (2017), (Ecuador) Recuperado a partir de <https://www.elcomercio.com/actualidad/industria-lactea-ecuador-ventas-produccion.html>. 2017.

**Grass, José & Zambrano, Luis.** *Valoración de la calidad higiénica de la leche cruda en la asociación de productores de leche de Sotará-Asproleso.* [En línea] Scielo, 2008 (Colombia) 6. pp.60-65 [Citado el: 14 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v6n2/v6n2a08.pdf>

*Ibero media MM0424. E. coli cromogénico.* [En línea] 2012. [Citado el: 22 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://www.analisisavanzados.com/modules/mod\\_tecdata/PP10ECC%20E%20coli%20Chromogenic%20Agar.pdf](http://www.analisisavanzados.com/modules/mod_tecdata/PP10ECC%20E%20coli%20Chromogenic%20Agar.pdf).

**Jay, J.** *Microbiología de la leche cruda.* [En línea] 2010. p.3 [Citado el: 4 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.fcv.luz.edu.ve/images/stories/catedras/leche/microbiologia.pdf>.

**Kopper, G., et. al Sapiens.** *Ingeniería Agrícola y Alimentaria* Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. [En línea] 2016. p.35 [Citado el: 7 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>.



**Linares, P.** *Seguridad alimentaria de lácteos.* [En línea] 2010. pp.12-15 [Citado el: 18 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <https://tematico8.asturias.es/export/sites/default/consumo/seguridadAlimentaria/seguridad-alimentaria-documentos/lacteos.pdf>.

**Lomas, G.** *Buenas Prácticas de Higiene.* [En línea] 2018. p.23 [Citado el: 4 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de [https://tematico8.asturias.es/export/sites/default/consumo/seguridadAlimentaria/seguridadalimentariadocumentos/BUENAS\\_PRxCTICAS\\_HIGIxNICAS.pdf](https://tematico8.asturias.es/export/sites/default/consumo/seguridadAlimentaria/seguridadalimentariadocumentos/BUENAS_PRxCTICAS_HIGIxNICAS.pdf).

**Martínez, M.** *Calidad composicional e higiénica de la leche cruda recibida en industrias lácteas de Sucre.* Scielo [En línea] 2013 (Colombia), 11. p.98 [Citado el: 23 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a11.pdf>

**Medina, J.** *Calidad higiénica de la leche cruda en la industria láctea ecuatorina.* [En línea] (tesis) (pregrado) Escuela Superior Politécnica del Litoral. 2015. pp.68-70 [Citado el: 28 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <https://www.Dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/3951/1/6478.pdf>.

**Méndez, Viviana & Méndez, Luis.** *Caracterización de la calidad higiénica y sanitaria de leche cruda en algunos sistemas productivos de la región del alto de Chicamocha.* [En línea] Universidad de la Salle.2010. .p.80 [Citado el: 23 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <https://infolactea.com/wp-content/uploads/2016/12/T14.07-M523c.pdf>.

*MilkoScan. MilkoScan-FTI* [En línea] 2013. [Citado el: 8 de Octubre de 2018.] Recuperado a partir de [file:///C:/Users/Admin/Downloads/MilkoScan-FT1-Solution-Brochure-GB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Admin/Downloads/MilkoScan-FT1-Solution-Brochure-GB%20(1).pdf).

**Ministerio de de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca de Ecuador.** *Normativa Jurídica del Ecuador.* [En línea] Noviembre de 2013. [Citado el: 20 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <https://www.oficial.ec/resolucion-0016-reformese-resolucion-no-daj-2013461-02010213-21-noviembre-2013>.

**Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica.** *Reglamento Técnico: RTCR 401.* [En línea] 2006. [Citado el: 25 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.mag.go.cr/legislacion/2007/de-33812.pdf>.

**Ministerio de Salud de Colombia.** *Identificación de riesgos biológicos asociados al consumo de leche bovina en Colombia.* p.33 [En línea] 2011. [Citado el: 26 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-peligros-biologicos-en-leche.pdf>.

**Ministerio de Salud de Perú.** *Guía Técnica para el Análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.* [En línea] 2007. [Citado el: 1 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de [https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/RM\\_461\\_2007.pdf](https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM_461_2007.pdf)

**Moreno, F., et. al Sapiens.** *Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en el Departamento de Boyacá.* Dialnet [En línea] 2007, (Colombia) 14. p.45 [Citado el: 8 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de [file:///C:/Users/Admin/Downloads/DialnetAnalisisMicrobiologicoSuRelacionConLaCalidadHigie4943762%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Admin/Downloads/DialnetAnalisisMicrobiologicoSuRelacionConLaCalidadHigie4943762%20(1).pdf)

**Motta, P., et. al Sapiens.** *Factores inherentes a la calidad de la leche en la agroindustria alimentaria.* Revista colombiana de ciencia animal [En línea] 2014, (Colombia) 6. pp.225-229. [Citado el: 12 de Septiembre de 2018.] ISSN 223-242. Recuperado a partir de <file:///C:/Users/Admin/Downloads/265-Texto%20del%20art%C3%ADculo-791-1-10-20161214.pdf>

**Navia, D., et. al Sapiens.** *Las biopelículas en la industria de alimentos.* Dialnet, [En línea] 2010. (España) pp.118-119. [Citado el: 5 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6117671.pdf>

**Norma española UNE 100012.** *Higienización de sistemas de climatización.*

**NOM-093-SSA1.** *Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos*

**NTE INEN 0009.** *Leche cruda. Requisitos.*

**NTE INEN 1529-2.** *Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico.*

**NTE INEN 1529-5.** *Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos.* **Peña,**

**J., et. al Sapiens.** *Sitio Argentino de Producción Animal.* [En línea] 2010. pp.22-24 [Citado el: 7 de Agosto de 2010.] Recuperado a partir de [http://www.Produccionanimal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/78-mastitis.pdf](http://www.Produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf).

**Pilamunga, C.** *Evaluación higiénico-sanitaria de la quesera artesanal Cod.Q1 ubicada en la parroquia Químiag del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.* [En línea] (tesis) (pregrado).Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.2017. p.46 [Citado el: 27 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://dspace.esPOCH.edu.Ec/bitstream/123456789/6937/1/56T00739.pdf>.

**Poggio, T.** *Recepción y almacenamiento de la leche y otras materias primas*[En línea]. Madrid-España. pp.42-43.Reverté, 2008. [Citado el: 27 de Agosto de 2018.] : Recuperado a partir de <https://books.google.com.ec/books?id=5oFXDwAAQBAJ&pg=PA41&lpg=PA41&dq=via+ascendente+y+descendente+de+la+ubres>

**Posas, F.,et. al Sapiens.** *Control de calidad en centros de recolección y enfriamiento de leche.* Gobierno Nacional de Honduras. pp.10-11 [En línea] 2013. [Citado el: 15 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://www.agronegocioshonduras.org/wp-content/uploads/2014/06/control\\_de\\_calidad\\_en\\_centros\\_de\\_recoleccion\\_y\\_enfriamiento\\_de\\_leche.pdf](http://www.agronegocioshonduras.org/wp-content/uploads/2014/06/control_de_calidad_en_centros_de_recoleccion_y_enfriamiento_de_leche.pdf).

**Ramos, J.** *Organización Panamericana de la Salud.* [En línea] 2010. p.6[Citado el: 6 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://www.bvsde.paho.org/CDGDWQ/docs\\_microbiologicos/Bacterias%20PDF/Escherichia%20coli.pdf](http://www.bvsde.paho.org/CDGDWQ/docs_microbiologicos/Bacterias%20PDF/Escherichia%20coli.pdf).

**Reglamento de Control y Regulación de cadena de producción de leche de Ecuador.** *Consejo Nacional de Competencias.* [En línea] 2013. p.9 [Citado el: 8 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de [http://www.competencias.gob.ec/wp-content/uploads/2017/06/06NOR2013 ACUERDO03.df](http://www.competencias.gob.ec/wp-content/uploads/2017/06/06NOR2013%20ACUERDO03.df).

**Rodríguez, Martha & Aznar, Rosa.** *Red Española de Bacterias Lácticas.* [En línea]. p.10 [Citado el: 7 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://redbal.iata.csic.es/documentos/sabiasque/Que%20son%20las%20bacterias%20lacticas.pdf>.

**Román, J.** *Evaluación de la calidad físico química, higiénica y sanitaria de la leche cruda almacenada en frío.*[En línea]. 2011. p.148, Recuperado a partir de <file:///C:/Users/Admin/Downloads/14972-15481-1-PB.pdf>

**Romero, A., et. al Sapiens.** *Evaluación de la calidad de leche cruda de tres subregiones del departamento de Sucre, Colombia.* Revista colombiana de ciencia animal. [En línea] 2018 (Colombia) 10 p.43 [Citado el: 15 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [https://www.researchgate.net/publication/323952258\\_Evaluacion\\_de\\_la\\_calidad\\_de\\_leches\\_crudas\\_en\\_tres\\_subregiones\\_del\\_departamento\\_de\\_Sucre\\_Colombia](https://www.researchgate.net/publication/323952258_Evaluacion_de_la_calidad_de_leches_crudas_en_tres_subregiones_del_departamento_de_Sucre_Colombia)

**Salazar, D., et. al Sapiens.** *Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua.* [En línea] 2017. p.18 [Citado el: 20 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.cilecuador.org/descargas/LA%20LECHE%20DEL%20ECUADOR.pdf>

**Sejía, C.** *Etiopatogenia microbiológica.* [En línea] 2008. p.258 [Citado el: 2 de Septiembre de 2018.] Recuperado a partir de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>.

**Tomasso, S.** *Importancia de la leche y sus derivados.* [En línea] Colanta. 2015. p.4 [Citado el: 3 de Agosto de 2018] Recuperado a partir de [http://biblioteca.colanta.com.co/pmb/opac\\_css/doc\\_num.php?explnum\\_id=685](http://biblioteca.colanta.com.co/pmb/opac_css/doc_num.php?explnum_id=685).

**Valencia, Denicia & Ramírez, María.** *La industria de la leche y la contaminación del agua.,* Redalyc [En línea], 2009, (México) 16. pp.27-31 [Citado el: 12 de Agosto de 2018.]  
ISSN 0187 Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/pdf/294/29411996004.pdf>

**Viera, M.** *Parámetros de calidad de leche vacuno en los distritos de Apata, Matahuasi y Concepción en el valle del Mantaro.* [En línea] (tesis) Universidad Nacional Agraria La Molina. 2013. p.41 [Citado el: 24 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1751/Q04.V665T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**Villoch, M., et. al Sapiens.** *Calidad e inocuidad en la leche cruda de una cadena de producción de una provincia occidental de Cuba.* Scielo . [En línea] 2015 (Cuba) 37. [Citado el: 11 de Septiembre de 2018.] ISSN 2224 4700. Recuperado a partir de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-570X2015000200002&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-570X2015000200002&script=sci_arttext&tlng=en)

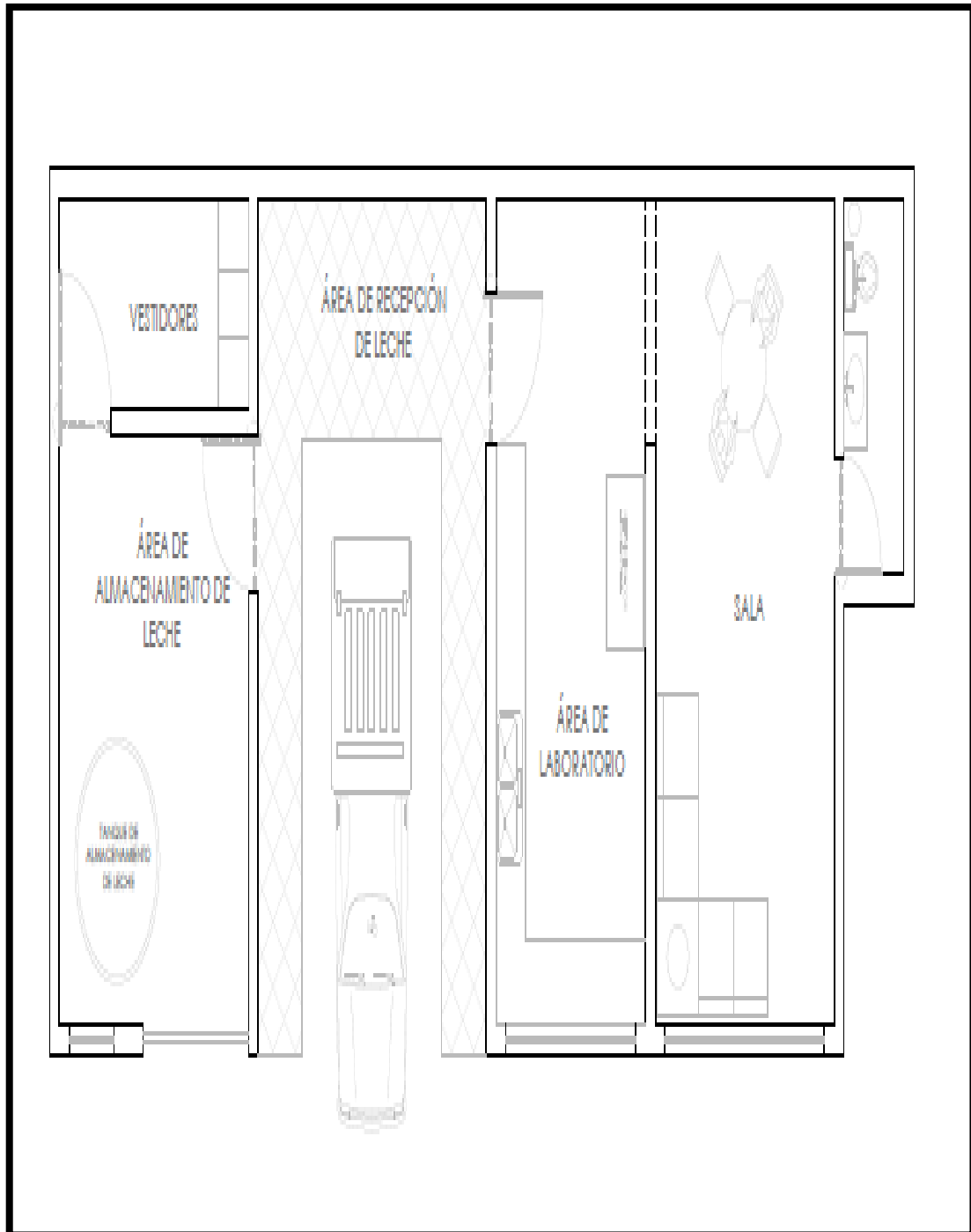
**Zambrano, D., et. al Sapiens.** *La producción de leche en Ecuador y Chimborazo.* Researchgate. [En línea] 2017. (Ecuador) p.10 [Citado el: 12 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [https://www.Researchgate.net/publication/322756060\\_La\\_produccion\\_de\\_leche\\_en\\_Ecuador\\_y\\_Chimborazo\\_nuevas\\_oportunidades\\_e\\_implicaciones\\_ambientales](https://www.Researchgate.net/publication/322756060_La_produccion_de_leche_en_Ecuador_y_Chimborazo_nuevas_oportunidades_e_implicaciones_ambientales). ISSN 1390-938x.

**Zamorán, D.** *Manual de procesamiento para la industria láctea.* [En línea] [Citado el: 15 de Agosto de 2018.] pp.24-25 Recuperado a partir de [https://www.jica.go.jp/nicaragua/espanol/office/others/c8h0vm000001q4bc-att/14\\_agriculture01.pdf](https://www.jica.go.jp/nicaragua/espanol/office/others/c8h0vm000001q4bc-att/14_agriculture01.pdf).

**Zela, J.** *Dirección General de Promoción Agraria* [En línea] 2005. pp.5-6 [Citado el: 5 de Agosto de 2018.] Recuperado a partir de [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3\\_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/\\$FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/$FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf).

## ANEXOS

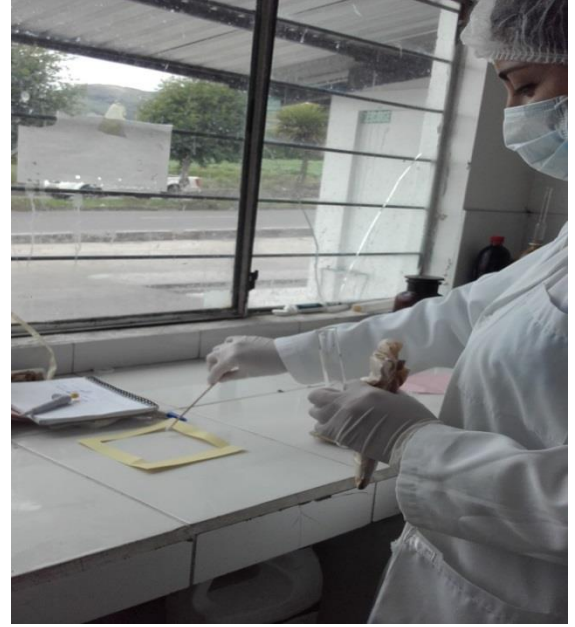
### Anexo A Plano del centro de acopio de leche cruda CA.1



**Anexo B** Toma de la muestra de la leche cruda (A1), muestreo de una superficie por hisopado (A2), muestreo del pomo de la puerta por hisopado (A3) y muestreo del aire por caída a placas (Agar malta y PCA) (A4)



A1



A2

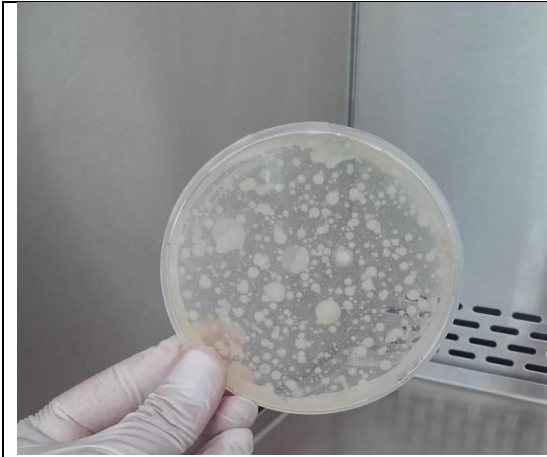


A3

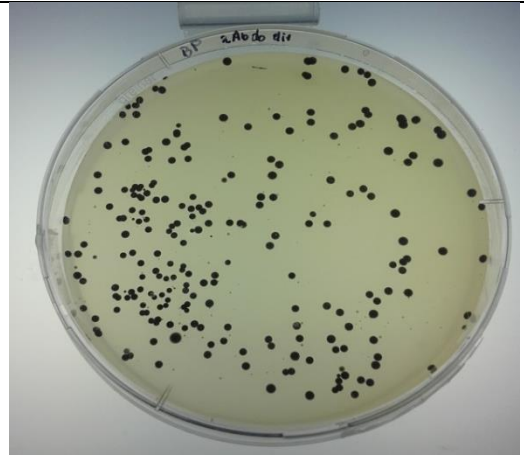


A4

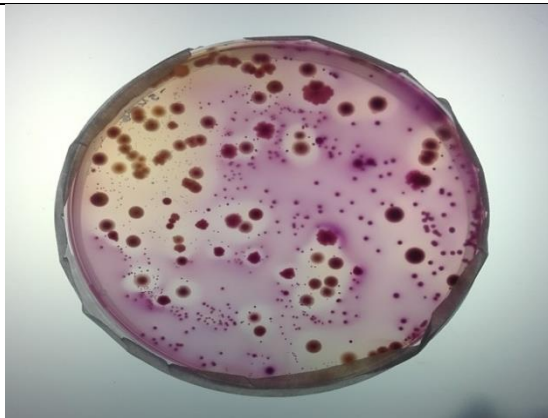
**Anexo C** Recuentos de colonias de aerobios mesófilos (C1), *Staphylococcus aureus*(C2), enterobacterias (C3), coliformes (C4a), *E.coli* (C4b), hongos y levaduras (C5)



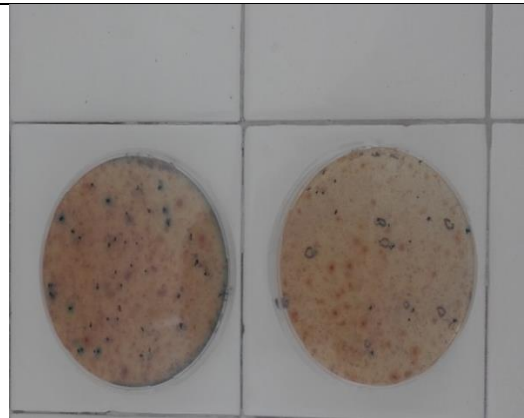
C1



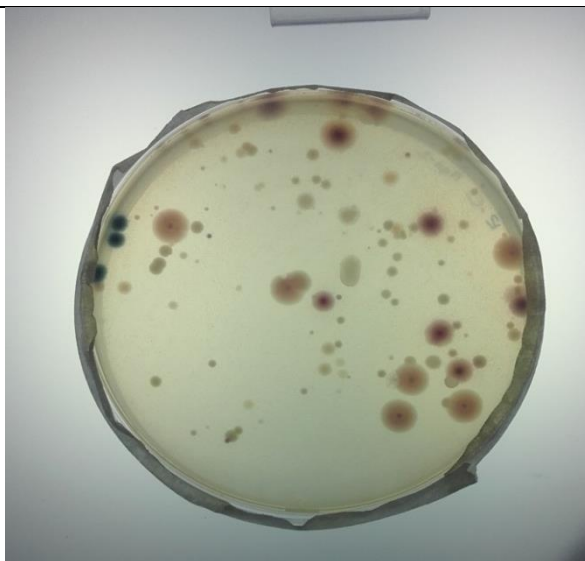
C2



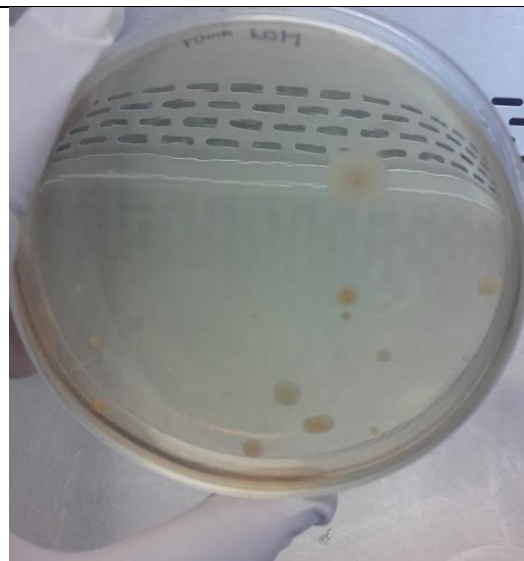
C3



C4a



C4b



C5



**Anexo D Informe de Laboratorio de Agrocalidad. Ensayos fisico-químicos y Contaje de células somáticas de la leche cruda de las 4 rutas de abastecimiento**

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	<b>LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE LECHE</b> Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAG, Tumbaco - Quito Teléf.: 2372-844/2372-845	<b>PGT/CL/09-F001</b>
	<b>INFORME DE ANÁLISIS</b>	<b>Rev. 6</b>
		<b>Hoja 1 de 1</b>

**"LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL SAE CON ACREDITACIÓN N° SAE-LEN-16-008"**

**DATOS DEL CLIENTE**

Informe N°: LN-CL E18-377  
 Fecha emisión Informe: 06/07/2018

Persona o Empresa solicitante: Katherin Altamirano

Dirección: Los Álamos

Teléfono: 2796-052

Correo Electrónico: pauly2260@gmail.com

Provincia: Chimborazo

Cantón: Riobamba

N° Orden de Trabajo: CL-18-CGLS-1622

N° Factura/Memorando: 007-4304

**DATOS DE LA MUESTRA:**

Tipo de muestra: Leche Cruda	Conservación de la muestra: Refrigerada
N° de Muestras: 4	Tipo envase: Apropriado
Propietario: Katherin Altamirano	Lugar de muestreo: Mocha
Provincia: Tungurahua	X: X
Cantón: Mocha	Coordenadas: Y: X
Parroquia: _	Altitud: X
Responsable de toma de muestra: Katherin Altamirano	Temperatura recepción muestra: 5.2 ° C
Fecha de toma de muestra: 02/07/2018	Fecha de inicio de análisis: 04/07/2018
Fecha de recepción de la muestra: 04/07/2018	Fecha de finalización de análisis: 04/07/2018

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS**

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	G (g/100ml)	P (g/100ml)	ST* (g/100ml)	SNG* (g/100ml)	CRIO* (°C)	AGUA AÑADIDA* (%)	CCS* (x1000/ml)	CBT* (x1000/ml)
CL-18-1996	C1	3.98	3.36	12.66	8.68	--	--	604	--
CL-18-1997	C2	3.92	3.45	12.86	8.94	--	--	350	--
CL-18-1998	C3	4.16	3.47	12.99	8.83	--	--	292	--
CL-18-1999	C4	3.94	3.35	12.68	8.74	--	--	590	--
Norma NTE INEN 9 Leche Cruda Requisitos		Min.3.0	Min.2.9	Min. 11,2	Min.8,2	Min.-0,536 Máx.-0,512	--	Máx. 700,000	--
Métodos		PEE/CL/002 Método Referencia ( AOAC 972.16 )				PEE/CL/013		PEE/CL/001	PEE/CL/003

ABREVIATURAS: G= Grasa; P= Proteína; ST= Sólidos totales; SNG= Sólidos no grasos; CRIO= Cruscopia. CCS= Contaje de células somáticas; CBT= Contaje total de bacterias; ml= Mililitros.

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	AC* (g/100ml)	AM1* (pos/neg)	ANT1* (pos/neg)	ANT2* (pos/neg)	(Cl)* (pos/neg)	NE* (pos/neg)	PE* (pos/neg)	SL* (pos/neg)
Norma NTE INEN 9: Leche Cruda Requisitos		Min. 0,13 Máx. 0,17	<0,5	Establecido en el CODEX CAC/MRL2		Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Métodos		PEE/CL/012	PEE/CL/009	PEE/CL/010	PEE/CL/011	PEE/CL/014	PEE/CL/005	PEE/CL/008	PEE/CL/020

ABREVIATURAS: AC= Acidez; AM1= Aflatoxina M1; ANT1= Grupo de antibióticos 1 (β-LACT-SULF-TETRA); ANT2= Grupo de antibióticos 2 (AMINOGLUCOSIDOS); Cl= Cloruros; NE= Neutralizantes; PE= Peróxidos; SL= Suero en leche; ml= Mililitros; MRL2= Límite máximo permitido.

Analizado por: Ing. Jenny Flores, Bioq. Patricio García

**Observaciones:**

- Los ensayos marcados con (\*) NO están incluidos dentro del alcance de la acreditación SAE.
- Las opiniones/interpretaciones/etc. que se indican en la Norma NTE INEN 9: Leche Cruda Requisitos, están FUERA del alcance de acreditación del SAE.
- La incertidumbre de medida reportada está basada en una incertidumbre típica multiplicada por el factor (k=2), proporcionando un nivel de confianza el 95%.
- Incertidumbre parámetro grasa: +/- 0.105 (Rango 2.70-4.00) g/100mL
- Incertidumbre parámetro proteína: +/- 0.086 g/100mL (Rango 2.90-3.50) g/100mL
- "Ver alcance específico de acreditación en: [www.acreditacion.gob.ec](http://www.acreditacion.gob.ec)

Anexo Gráficos: NA

Anexo Documentos: NA



**AGROCALIDAD**  
 AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO

Bioq. Patricio García  
 Responsable Técnico  
**LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE LECHE**  
 TUMBACO - ECUADOR

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin

## Anexo E Informe de Laboratorio de Agrocalidad. Detección de *Salmonella*

 <b>AGROCALIDAD</b> AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO	<b>LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA</b> Vía Interoceánica Km. 14½ y Eloy Alfaro, Granja del MAGAP, Tumbaco - Quito Teléf.: 02- 2372-844/2372-845	<b>PGT/MB/09-FO01</b>
		<b>Rev. 1</b>
	<b>INFORME DE ANÁLISIS</b>	Hoja 1 de 1

Informe N°: LN-MB-118-171  
 Fecha emisión informe: 12/07/2018

### DATOS DEL CLIENTE

Persona o Empresa solicitante: Katherín Altamirano

Dirección: Los Alamos

Teléfono: 099094370

Correo Electrónico: pauly2260@gmail.com

Provincia: Chimborazo

Cantón: Riobamba

N° Orden de Trabajo: MB-18-CGLS-1611

N° Factura/Memorando: 4438

### DATOS DE LA MUESTRA:

Tipo de muestra: leche	Conservación de la muestra: Refrigeración
Lote: -----	
Provincia: Chimborazo	Tipo de envase: envase plástico
Cantón: Riobamba	
Parroquia: -----	
Responsable de toma de muestra: Katherín Altamirano	
Fecha de toma de muestra: 02/06/2018	Fecha de inicio de análisis: 04/06/2018
Fecha de recepción de la muestra: 04/06/2018	Fecha de finalización de análisis: 12/07/2018

### RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN/REFERENCIA
MB-18-351	C1	Salmonella	Ausencia / presencia	PEE/B-MB/02	Ausencia	*
MB-18-352	C2	Salmonella	Ausencia / presencia	PEE/B-MB/02	Ausencia	*
MB-18-353	C3	Salmonella	Ausencia / presencia	PEE/B-MB/02	Ausencia	*
MB-18-354	C4	Salmonella	Ausencia / presencia	PEE/B-MB/02	Ausencia	*

Analizado por: Silvia Pachacama, Jorge Irazábal,

  
 Responsable Técnico  
 Microb. Jorge Irazábal  
 Laboratorio de Microbiología  

**AGROCALIDAD**  
 AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL FITO Y ZOOSANITARIO  
**LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**  
 TUMBACO - ECUADOR

Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Está prohibida la reproducción total o parcial de este informe sin autorización del Laboratorio.

**Anexo F** Lista de chequeo: Requisitos de medios de transporte de leche cruda

Descripción	N° de Ruta	Cumple	No cumple	No aplica	Tanquero	Bidones	Puntuación
El material del tanque o bidón de almacenamiento debe ser de acero inoxidable o aluminio					X		15
			X			X	0
					X		15
			X			X	0
El tanquero o bidón debe encontrarse en buen estado libre de cualquier contaminante o fugas o derrame de leche	1	X			X		5
	2	X				X	5
	3	X			X		5
	4	X				X	5
Los camiones cisterna o codo deben tener tubería de carga y descarga de leche provistas de uniones cruz o codos con tapa	1	X			X		10
	2			X		X	N/A
	3	X			X		10
	4			X		X	N/A
En los tanqueros con menos de 2000 litros, las rutas de recolección se fijan en base a distancia, tiempos y hora del recorrido a fin de proteger la calidad de la leche cruda	1		X		X		0
	2			X		X	N/A
	3		X		X		0
	4			X		X	N/A
Los tanques cisterna deben tener un sistema para control de la	1		X		X		0
	2			X		X	N/A

temperatura y en perfecto funcionamiento	3		X		X		0
	4			X		X	N/A
Se prohíbe transportar otros materiales( sólidos, líquidos o gases) con la leche cruda	1	X			X		15
	2	X				X	15
	3	X			X		15
	4	X				X	15
El medio de transporte debe estar rotulado indicando su contenido	1	X			X		5
	2		X			X	0
	3	X			X		5
	4		X			X	0
Las tapas de los tanques o bidones deben evitar la acumulación de residuos, siendo fáciles de operar, lavar y desinfectar	1	X			X		10
	2	X				X	10
	3	X			X		10
	4	X				X	10
El diseño del medio de transporte permite la evacuación de las aguas de lavado	1	X			X		5
	2	X				X	5
	3	X			X		5
	4	X				X	5
Los recipientes de leche deben limpiarse y desinfectarse después de su uso. Se cuentan con instrumentos de limpieza únicos para este fin y se almacenan en condiciones adecuadas	1		X		X		0
	2		X			X	0
	3		X		X		0
	4		X			X	0

Criterio de cumplimiento	Tanqueros	Bidones
Cumplimiento obligatorio para emisión de certificado de registro y mantenimiento del registro	45	30
Cumplimiento obligatorio en un plazo acordado entre las partes	40	20
Cumplimiento obligatorio de un año que corresponde a la inspección de vigilancia	15	15
Total	100	65

**Fuente:** Agrocalidad, 2013, pp.109-110

**Realizado por:** Katherin Altamirano

**Anexo G** Lista de chequeo: Requisitos de para centros de acopio de leche cruda

	Cumple	No cumple	No aplica	Puntuación
El centro de acopio controla a diario la recepción de leche cruda de sus proveedores		X		0
El centro de acopio controla la trazabilidad de la leche		X		0
El centro de acopio analiza las características sensoriales de la leche		X		0
El centro de acopio analiza la leche cruda de acuerdo a la Normativa Vigente		X		0
Los tanques de almacenamiento de leche cruda están provisto de termómetros funcionales y calibrados		X		0
Se verifica y registra la temperatura de refrigeración desde el centro de acopio hacia la industria y en la recepción de la industria		X		0
La leche enfriada en los centros de acopio debe destinarse solo a las plantas lácteas o procesos. No es para la venta directa.	X			4
En centro de acopio cuenta con un laboratorio básico o con los servicios de un laboratorio acreditado para análisis físico, químico, sensorial y microbiológico		X		0
El centro de acopio cuanta al menos con áreas de recepción, análisis, enfriamiento y entrega de leche cruda.	X			3
Las instalaciones deben ser de acuerdo al fin previsto	X			4
En centro de acopio se ubica en un lugar alejado de fuentes contaminantes		X		0
El centro de acopio dispone de un espacio adecuado para el desembarque de	X			3

leche( con pendientes suficientes para el drenaje fácil)				
El centro de acopio cuenta con un sistema de drenaje de aguas servidas y de lluvia hacia la alcantarilla.	X			2
El centro de acopio cuenta con una plataforma de recepción techada y está diseñada para facilitar la carga y descarga. Es de cemento y debe resistir al ácido láctico, la descarga debe tener pendiente y ser descargada en la alcantarilla.	X			3
El Centro de acopio debe contar con un área cerrada y sólida para los tanques de refrigeración. Deber tener adecuada ventilación, protegida con malla plástica			X	0
El centro de acopio dispone de un área exclusiva para la limpieza, desinfección y almacenamiento de recipientes. Provee de todas las facilidades para la limpieza de los transportes al finalizar la descarga de leche			X	0
El área destinada para la limpieza y almacenamiento de recipientes de leche está protegida con agentes externos de contaminación y cuenta con un área suficiente en relación a los recipientes que existen en el centro de acopio			X	0
El área que está destinada a la limpieza y almacenamiento está en óptimas condiciones y se ha identificado un área limpia y un área sucia de los recipientes de leche			X	0
Existen servicios sanitarios y área de vestidores localizados fuera de las instalaciones de manipulación de leche	X			2
Los servicios sanitarios y área de vestidores se encuentran en buenas condiciones, ordenados y limpios			X	0
El centro de acopio de leche cuenta con área de almacenamiento de insumos que			X	0

este identificada separada de las instalaciones de manipulación de leche				
El área para almacenamiento de insumos se encuentran en buenas condiciones, ordenados y limpios		X		0
El sistema de medición del volumen es correctamente manipulado e impide su contaminación		X		0
El centro de acopio cuenta con un sistema higiénico que permita medir el volumen de la leche recibida con exactitud		X		0
El centro de acopio cuenta con abastecimiento de agua potable permanente		X		0
El centro de acopio realiza un tratamiento adecuado en el sistema de almacenamiento de agua		X		0
El centro de acopio de leche cuenta con registros que se demuestren la calidad de agua que utilizan		X		0

Criterio de cumplimiento	Centro de acopio de leche cruda <2000 L/día
Cumplimiento obligatorio para emisión de certificado de registro y mantenimiento del registro	28
Cumplimiento obligatorio en un plazo acordado entre las partes	39
Cumplimiento obligatorio de un año que corresponde a la inspección de vigilancia	14
Total	81

Fuente: Agrocalidad, 2013, pp.111-114

Realizado por: Katherin Altamirano

## Anexo H Cálculos empleados para los recuentos de indicadores



-Para la leche de las cuatro rutas de abastecimiento se aplica la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\Sigma C}{V (m1+0,1 m2)d}$$

Dónde:

N= número de UFC

$\Sigma C$ = Sumatoria del número de colonias en las placas seleccionadas

V= Volumen inoculado

m1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada

m2= Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d= factor de la dilución menor (INEN 1529-5, 2006, p.3)

Los resultados son expresados en log UFC/mL

-En el caso de los mesones se muestrearon en 5 puntos diferentes obteniendo un volumen total de 50 mL y sus plantillas estériles fueron de 10x 10 cm

$$N = \frac{\Sigma C}{V (m1+0,1 m2)d}$$

Dónde:

N= número de UFC

$\Sigma C$ = Sumatoria del número de colonias en las placas seleccionadas

V= Volumen inoculado

m1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada

m2= Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d= factor de la dilución menor (INEN 1529-5, 2006, p.3)

A continuación se realiza la siguiente relación

Número de UFC	1 mL
	50 mL=x
X	100 cm <sup>2</sup>
	1 cm <sup>2</sup> = y

Los resultados son expresados en log UFC/ cm<sup>2</sup>

-Para la vestimenta de los cuatro operarios que se muestrearon en la parte del abdomen en un volumen de 10 mL y las plantillas estériles de 10x10 cm

$$N = \frac{\Sigma C}{V (m1+0,1 m2)d}$$

Dónde:

N= número de UFC

$\Sigma C$ = Sumatoria del número de colonias en las placas seleccionadas

V= Volumen inoculado

m1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada

m2= Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d= factor de la dilución menor (INEN 1529-5, 2006, p.3)

A continuación se realiza la siguiente relación

Número de UFC	1 mL
	10 mL=x
X	100 cm <sup>2</sup>
	1 cm <sup>2</sup> = y

Los resultados son expresados en log UFC/ cm<sup>2</sup>

-En el caso de las manos de los 4 operarios las dimensiones de las plantillas estériles fueron 5x5 cm en un volumen de 10 mL

$$N = \frac{\Sigma C}{V (m1+0,1 m2)d}$$

Dónde:

N= número de UFC

$\Sigma C$ = Sumatoria del número de colonias de dos diluciones consecutivas

V= Volumen del inóculo en mL

m1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada

m2= Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d= dilución menor (INEN 1529-5, 2006, p.3)

A continuación se realiza la siguiente relación

Número de UFC	1 mL
	10 mL=x
X	25 cm <sup>2</sup>
	1 cm <sup>2</sup> = y

Los resultados son expresados en log UFC/ superficie muestreada

-En el caso para el tanque de almacenamiento y otras superficies como que fueron el pomo de la puerta del laboratorio, pomo de la puerta de los servicios higiénicos y llave de un grifo de agua

$$N = \frac{\Sigma C}{V (m1+0,1 m2)d}$$

Dónde:

N= número de UFC

$\Sigma C$ = Sumatoria del número de colonias en las placas seleccionadas

V= Volumen inoculado

m1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada

m2= Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d= factor de la dilución menor

Los resultados son expresados en log UFC/superficie muestreada a excepción del tanque de almacenamiento que fue expresado en log UFC/mL

-A su vez para la superficie muestreada de la manguera su dimensión fue de 5X4 cm en volumen de 20 mL

$$N = \frac{\Sigma C}{V (m1+0,1 m2)d}$$

Dónde:

N= número de UFC

$\Sigma C$ = Sumatoria del número de colonias en las placas seleccionadas

V= Volumen inoculado

m1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada

m2= Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d= factor de la dilución menor (INEN 1529-5, 2006, p.3)

A continuación se realiza la siguiente relación

Número de UFC	1 mL
	20 mL=x
X	20 cm <sup>2</sup>
	1 cm <sup>2</sup> = y

Los resultados son expresados en log UFC/cm<sup>2</sup>

-Para el aire de las diferentes áreas

N=  $\Sigma$  de los cinco puntos de cada área \*factor k

Dónde

N= número de UFC

Factor k=80

Los resultados son expresados en log UFC/m<sup>3</sup>