



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Proyecto de Investigación previo a
la obtención del título de Ingeniero
en Alimentos

Título del Proyecto de Investigación

“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE DE BOVINOS DE DOBLE
PROPOSITO BAJO DOS SISTEMAS DE ORDEÑO EN CUATRO CANTONES DE
MANABÍ”

AUTOR:

Pablo Daniel Calderón Vega

DIRECTOR:

Ing. Wiston Javier Morales Rodríguez, M. Sc.

QUEVEDO - ECUADOR

2016

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Calderón Vega Pablo Daniel**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

F. _____
Calderón Vega Pablo Daniel
C.I. 1206100313

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Wiston Morales Rodríguez**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Pablo Daniel Calderón Vega**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Calidad microbiológica de la leche de bovinos de doble propósito bajo dos sistemas de ordeño en cuatro cantones de Manabí**” previo a la obtención del título de **Ing. en Alimentos**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....
Wiston Morales Rodríguez

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA

CARRERA DE INGENIERIA EN SISTEMAS

PROYECTO DE INVESTIGACION

Título:

**“CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE DE BOVINOS DE DOBLE
PROPOSITO BAJO DOS SISTEMAS DE ORDEÑO EN CUATRO CANTONES DE
MANABÍ”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de
Ingeniero en Alimentos

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS

Dr. Juan Avellaneda Cevallos

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Dr. Julio Vinueza Larreaga

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Christian Vallejo Torres

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

AGRADECIMIENTO

Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo, en especial se lo dedico a mis padres Daniel y Mariana, pilares fundamentales en mi vida. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora he logrado.

Su tenacidad y lucha insaciables han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mis hermanos y familia en general. A mi hermano Jigoro que me ayudo en varias ocasiones con consejos de su experiencia de la vida Universitaria, A mi hermana Nadia quien representó gran esfuerzo y tesón en momentos de decline y cansancio y a Melina Fernández que agradezco su ayuda, paciencia, palabras de aliento y empuje, a ellos este proyecto, que sin ellos, no hubiese podido ser.

DEDICATORIA

*Con mucho cariño a todos quienes
hicieron posible la realización
de esta investigación.*

RESUMEN EJECUTIVO

El presente proyecto de tesis se realizó en los cantones Calceta, Flavio Alfaro, Pedernales, El Carmen de la provincia de Manabí con las recolecciones de las muestras para elaborar los análisis de la calidad microbiológica de la leche y los análisis fueron realizados en el laboratorio de bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias "La María" y se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 2x4, se aplica el método deductivo ya que la calidad microbiológica es dependiente del buen manejo que se aplique en los dos diferentes tipos de ordeños ya sean manual o mecánico. El objetivo principal es determinar la calidad microbiológica de la leche en los sistemas bovinos de doble propósito en la provincia de Manabí, para Identificar bacterias de *Escherichia coli*, Coliformes totales, Aerobio, Reductasa. Y evaluar el sistema de manejo y transporte apropiado para lograr obtener una excelente calidad microbiológica de la leche. Los análisis demostraron que todas las muestras de la leche de los 4 diferentes cantones bajo el sistema de ordeño manual estuvieron contaminada excediendo los estándares de calidad de la leche cruda en los análisis de Aerobios, Coliformes Totales y Reductasa, en el cantón el Carmen incluso se encontraron bacterias de Escherichia Coli. Esto nos muestra escasas sanitaria en los proceso de ordeño, por otro lado los análisis bajo el sistema de ordeño mecánico fueron mejores, se mostró gran diferencia de calidad entre el cantón el Carmen y los cantones Calceta, Flavio Alfaro y Pedernales en los análisis microbiológicos.

Palabras Claves: Calidad microbiológica, Sistemas de ordeño, Coliformes totales, Coliformes fecales, Aerobios, Reductasa, Escherichia coli.

ABSTRAC

This thesis project was conducted in Calceta, Flavio Alfaro, Pedernales, El Carmen cantons of the province of Manabí with collections of samples to develop the analysis of the microbiological quality of the milk and the analyzes were performed in the laboratory of food science at the Faculty of Sciences Livestock La Maria It used a design used completely random (DCA) with 2x4 factorial arrangement deductive method is applied and that the microbiological quality is dependent on good management to be applied in two different milkings whether manual or mechanical. The main objective is to determine the microbiological quality of milk in cattle dual purpose systems in the province of Manabí to identify bacteria Escherichia coli, Total Coliform, Aerobic and Reductase in milk in cattle dual purpose systems in the province of Manabí Assess the management system and appropriate transportation in order to obtain an excellent microbiological quality of milk in cattle dual purpose systems in the province of Manabí. The analysis showed that all samples of milk from 4 different cantons under the system were contaminated milking exceeding quality standards of raw milk Aerobic in the analyzes, total coliforms and reductase in the Canton El Carmen even E.coli bacteria found This shows shortages in health milking process, on the other hand the analysis under the system of milking were better big difference in quality between the village of El Carmen and Calceta, Flavio Alfaro and Pedernales cantons in microbiological analysis showed

Keywords: Microbiological quality, milking systems, total coliforms, fecal coliforms, Aerobic, reductase, Escherichia coli.

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	vi
ABSTRAC.....	vii
INTRODUCCION.....	1
CAPÍTULO I CONTEXTUALIZACION DE LA INVESTIGACION	3
1.1. Problema de investigación.	4
1.1.1 Planteamiento del problema.....	4
1.1.2 Formulación del problema.....	4
1.1.3 Sistematización del problema.....	5
1.3. Objetivo.	5
1.3.1. Objetivo General.....	5
1.3.2. Objetivos específicos.....	5
1.4. Justificación.....	5
CAPÍTULO II FUNDAMENTACION TEORICA DE LA INVESTIGACION	7
2.1. Calidad de la leche.....	8
2.2. Tipos de ordeños	9
2.2.1. Ordeño manual	10
2.2.1.1. Desventajas y riesgos de contaminación del ordeño manual.....	10
2.2.2. Ordeño mecánico	10
2.2.2.1. Desventajas y riesgos de contaminación del ordeño mecánico	11
2.3. Manejo de la leche	11
2.3.1. Contaminación de la leche en el interior de la ubre	12
2.3.2. Fuentes de contaminación.....	12
2.4. Microbiología de la leche.....	13
2.5. Clasificación de los microorganismos.....	14
2.6. Contaminación de la leche cruda por <i>salmonella spp.</i>, <i>e. coli</i> o157, coliformes aerobios y Reductasa	15
2.7. Salmonella en la leche.....	15
2.8. Aerobios Mesófilos.....	15
2.9. Coliformes totales	16

2.10.	Escherichia coli	16
2.10.1.	Sintomatología	17
2.10.2.	Métodos para la detección y recuento el crecimiento de <i>E. coli</i> O157:H7	18
2.10.3.	Exposición al riesgo de <i>E. coli</i> O157:H	18
CAPÍTULO III METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION		19
3.1.	Localización	20
3.2.	Tipo de Investigación	20
3.3.	Métodos de Investigación	20
3.4.	Fuentes de recopilación de información.	21
3.5.	Diseño de la investigación.	21
3.5.1.	Esquema del Experimento y Combinación de los niveles del ensayo experimental	22
3.6.	Instrumentos de investigación.	23
3.7.	Tratamiento de los datos.....	23
3.7.1.	Modelo matemático:	24
3.8.	Recursos humanos y materiales.	24
3.8.1.	Materiales y Equipos	24
3.8.1.1	Reactivos.....	25
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES		26
4.1	Análisis Microbiológico	27
4.1.1	Determinación de <i>Escherichia Coli</i>	28
4.1.2	Determinación de Aerobios.....	29
4.1.3	Determinación de Coliformes Totales	31
4.1.4	Determinación de Reductasa.....	33
CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		34
5.1.	Conclusiones	35
5.2.	Recomendaciones	36
CAPÍTULO V I BIBLIOGRAFIA		37
CAPÍTULO V II ANEXOS		41

INDICE DE CUADRO

Cuadro 1.- Condiciones meteorológicas de los cantones a muestrear	20
Cuadro 2.- Esquema del experimento	22
Cuadro 3.- Tratamientos.....	22
Cuadro 4.- Esquema del ANDEVA y superficie de respuesta.....	23
Cuadro 5.- Promedios registrados en las variables de <i>E. Coli</i> , Aerobios y Coliformes en la calidad microbiológica de la leche Manabí - Ecuador.....	27

INDICE DE FIGURA

- Figura 1.- Determinación de la variable *e. coli* en la interacción de sistemas de ordeño por localidades como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador. . **29**
- Figura 2.- Determinación de la variable aerobios totales en la interacción de sistemas de ordeño por localidades como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador. . 30
- Figura 3.- Determinación de la variable coliformes totales en la interacción de sistemas de ordeño por localidades como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.
..... **32**
- Figura 4.- Determinación de la variable Reductasa en la interacción de sistemas de ordeño por localidades como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador....**33**

CODIGO DUBLIM

Título:	"Calidad microbiológica de la leche de bovinos de doble propósito bajo dos sistemas de ordeño en cuatro cantones de Manabí"				
Autor:	<u>Pablo Daniel Calderon Vega</u>				
Palabras clave:	Calidad microbologica	Sistemas de ordeños	Coliformes totales	Escherichia coli	Reductasa
Fecha de publicación:					
Editorial:					
Resumen: (hasta 300 palabras)	<p>Resumen .- Este proyecto de tesis se realizó en los cantones Calceta, Flavio Alfaro, Pedernales, El Carmen de la provincia de Manabí con las recolecciones de las muestras para elaborar los análisis de la calidad microbiológica de la leche y los análisis fueron realizados en el laboratorio de bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias "La María" y se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 2x4, se aplica el método deductivo ya que la calidad microbiológica es dependiente del buen manejo que se aplique en los dos diferentes tipos de ordeños ya sean manual o mecánico, El objetivo principal es Determinar la calidad microbiológica de la leche en los sistemas bovinos de doble propósito en la provincia de Manabí. Para contabilizar bacterias de <i>Escherichia coli</i>, Coliformes totales, Aerobio, Reductasa, y Evaluar el sistema de manejo y transporte apropiado para lograr obtener una excelente calidad microbiológica de la. (...)</p> <p>Abstract .- This thesis project was conducted in Calceta, Flavio Alfaro, Pedernales, El Carmen cantons of the province of Manabi with collections of samples to develop the analysis of the microbiological quality of the milk and the analyzes were performed in the laboratory of food science at the Faculty of Sciences Livestock La Maria It used a design used completely random (DCA) with 2x4 factorial arrangement deductive method is applied and that the microbiological quality is dependent on good management to be applied in two different milkings whether manual or mechanical, The main objective is to determine the microbiological quality of milk in cattle dual purpose systems in the province of Manabi to identify bacteria <i>Escherichia coli</i>, Total Coliform, Aerobic and Assess the management system and appropriate transportation in order to obtain an excellent microbiological quality of milk (...).</p>				

URI:	<u>(en blanco hasta cuando se dispongan los repositorios)</u>
------	---

INTRODUCCION

Ecuador cuenta con una población aproximada de 4.5 millones de bovinos para la producción de carne y leche, los mismos que están distribuidos en todo el territorio nacional, de los cuales el 51% están en la Región Interandina, 37% en el Litoral o Costa y el 12% en la Amazonía. Esta población ganadera se encuentra asentada en una superficie de 4.47 millones de hectáreas entre pasto cultivados y naturales. Con esta producción de vacunos, de las cuales apenas se faenan 650.000 y una producción diaria de 5 litros de leche por animal, con 427.000 ganaderías que implican más de 2'000.000 de personas, las cuales brindan seguridad alimentaria en leche y carne al Ecuador (1).

La calidad microbiológica se refiere a la concentración de la población microbiana de la leche, y presencia de microorganismos patógenos. Otras características, residuos de inhibidores; que pueden afectar la salud humana y los procesos de transformación de la leche. Los microorganismos psicótrofos pueden causar alteraciones en las características sensoriales y defectos físicos en los productos elaborados debido a la actividad proteolítica y lipolítica (2).

La buena calidad sanitaria referencia la ausencia de microorganismos patógenos como Salmonella, Coliformes totales, Coliformes fecales y Listeria monocytogenes entre otros, estos son los causantes de enfermedades asociadas con infecciones e intoxicaciones generadas por el consumo de alimentos contaminados (3).

Las provincias más ganaderas del país son: Manabí, Pichincha, Guayas y Loja. La Sierra produce el 73,50% de la leche líquida consumida diariamente en el país; 4,89 es el promedio nacional de litros de leche por vaca. La provincia de Manabí, la principal provincia ganadera del país, se mantiene constante en 0,9 reses/ha. Con una población ganadera de 783.592 cabezas (1).

Las condiciones de higiene y sanidad en las explotaciones lecheras tienen un efecto importante en la calidad microbiológica de la leche, cuanto mayores sean los cuidados

aplicados a la obtención higiénica de la leche y a la sanidad de los animales productores de leche, menores serán los contenidos microbianos en la misma (4).

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación.

1.1.1 Planteamiento del problema.

En la provincia de Manabí la mayoría de campesinos están acostumbrados hacer el ordeño manual lo cual dificulta poner las normas de higiene de la leche y a su vez puede haber más contaminación de patógenos que perjudique la salud, para ello es importante hacer un diagnóstico y recolección de muestras en diferentes cantones de Manabí.

Verificar la calidad microbiológica de la leche es indispensable para todas las ganaderías en el país, ya que el precio de la leche está basado en la calidad bromatológica que obtengan en los laboratorios.

1.1.1.1 Diagnóstico.

La importancia de la calidad microbiológica es fundamental en las ganaderías, y Manabí siendo una de las provincias de la costa con mayor producción lechera es fundamental que obtengan el mayor conocimiento de las buenas prácticas ganaderas, el ordeño repercute en la calidad microbiológica de la leche y expone la salud de sus consumidores.

1.1.1.2 Pronóstico.

El índice de las enfermedades como salmonelosis, hepatitis, fiebre tifoidea podría tener un incremento considerable en los consumidores. Pues la contaminación microbiológica de las bacterias con *Escherichia coli*, coliformes y aerobios pueden desencadenar en dichas enfermedades disminuyendo la comercialización lechera en este sector del país.

1.1.2 Formulación del problema.

¿Cuál de los dos sistemas de ordeños aportara una mayor calidad microbiológica de la leche?

1.1.3 Sistematización del problema.

¿Cuál será la bacteria que mostrara mayor presencia en los análisis microbiológicos?

¿Cuál será el sistema de ordeño con menor incidencia en contaminación microbiológica de la leche?

¿El índice de contaminación de la leche variara según cada localidad muestreada?

1.3. Objetivo.

1.3.1. Objetivo General.

- Determinar la calidad microbiológica de la leche en los sistemas bovinos de doble propósito en la provincia de Manabí

1.3.2. Objetivos específicos.

- Contabilizar bacterias de *Escherichia coli*, Coliformes totales, Aerobio y Reductasa en la leche en los sistemas bovinos de doble propósito en la provincia de Manabí
- Evaluar el sistema de manejo y transporte apropiado para lograr una excelente calidad microbiológica de la leche en los sistemas bovinos de doble propósito en la provincia de Manabí.

1.4. Justificación.

Manabí siendo una de las provincias más grandes del país, también es considerada como una provincia ganadera, ya que empresas lácteas como: Nestlé, Tony y Rey leche son unos de los mayores compradores por la demanda lechera en esta provincia.

Interesados por el bienestar de los consumidores que abarcar el mercado lechero de este sector, buscamos obtener resultados basado en análisis microbiológicos, para determinar la

calidad de los productos lácteos que son comercializados con la materia prima que provee la provincia de Manabí.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Calidad de la leche.

Se define por calidad de la leche, a las características nutricionales y microbiológicas; las características nutricionales se definen como el porcentaje de los diferentes constituyentes químicos como: proteínas, grasa, lactosa, minerales, vitaminas, sólidos no grasos y sólidos totales entre otros. La calidad microbiológica se refiere a la concentración de las bacterias de la leche, presencia de microorganismos patógenos, de residuos de antibióticos y medicamentos (inhibidores); que pueden afectar la salud humana y los procesos de transformación de la leche. Conteos altos de bacterias y de células somáticas, producen alteraciones en las propiedades nutritivas y organolépticas de la leche y reducen la vida útil de los derivados lácteos (5).

La calidad de la leche está representada esencialmente por la concentración en componentes, y por un bajo recuento bacteriano. Por lo tanto, la leche para el consumo humano debe estar libre de microorganismos patógenos, sedimentos y materias extrañas o nocivas, su nivel bacteriano total debe estar bajo, entre otras. Un alto recuento bacteriano está estrechamente asociado con pérdidas de producción lechera y disminución del volumen, además de los riesgos inherentes a la población de contraer ETAS (6).

En la calidad integral de la leche se adquiere una gran importancia en función a dos aspectos fundamentales como son la salud pública y su aptitud industrial, teniendo siempre a disposición todos los sectores encargados en la producción primaria, conservación, transporte, almacenamiento y transformación (5); Se necesita siempre que el comienzo de cualquier producción sea con animales sanos y apropiadas condiciones de alimentación y manejo, buenas prácticas de higiene, control tratamiento de mastitis y otras patologías, con el fin de ofrecer al consumidor productos inocuos, íntegros y legítimos (5).

La leche por ser una materia prima completa se constituye en un medio adecuado para la multiplicación de la mayoría de las bacterias contaminantes por su pH óptimo. Así la leche sea recogida en óptimas condiciones de un animal sano, siempre contiene células

provenientes de la sangre y de la glándula mamaria, además de algunos microorganismos que habitan normalmente en el canal del pezón (5).

La calidad microbiológica de la leche cruda tiene un cambio significativo durante su manejo y transporte, particularmente cuando no se cuenta con los medios para su enfriamiento inmediato una vez obtenida. Estos cambios ponen en riesgo el cumplimiento del requisito de calidad para ser considerada como leche apta para consumo humano. Al haber más cantidad de bacterias mesofílicas, puede existir un mayor riesgo de contaminación de la leche por patógenos, así como el crecimiento de los mismos en los productos terminados (4).

Para que la leche salga al mercado debe constar con características de calidad bacteriológicas que se enmarquen dentro de parámetros establecidos por la normativa vigente. Pero aun así existen lugares donde expenden leche cruda al consumidor sin tener un control sanitario realizado por instituciones que son responsables de precautelar la salud pública y la inocuidad de los alimentos de origen animal. Es decir que siempre que suceda esto la población está expuesta a un contagio de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs). Las ETAs provocan, todos los años, numerosas afecciones y fallecimientos, además afectan negativamente en la economía, en diferentes países de mayor o menor población. Es así que, la inocuidad y la calidad de los alimentos son imprescindibles para la seguridad alimentaria, la salud pública y el desarrollo económico de la población, aún más tratándose de un alimento perecedero como la leche de vaca (5).

2.2. Tipos de ordeños

El ordeño consiste en la extracción la leche almacenada en las ubres de las hembras en lactación, se puede realizar de forma manual o mecánica. En la actualidad se utiliza el ordeño mecánico de forma generalizada, que consiste en “la extracción rápida y completa de la leche sin dañar al pezón y al tejido mamario”, que se realiza mediante el empleo de elementos mecánicos que generan de manera discontinua y cíclica vacío a nivel del pezón, extrayendo la leche y conduciéndola a un recipiente. En realidad, sólo trata de copiar el método de succión que emplean las crías para la extracción de la leche (8).

2.2.1. Ordeño manual

El ordeño se practica de forma simultánea en dos glándulas de la ubre esto se realiza tomando las dos glándulas delanteras las dos de un lado o cruzadas, este método se lo conoce como a mano o a puño consiste en tomar con las manos la ubre y con los dedos presionar la base del pezón también se utilizan las manos para apretar las ubres con suavidad y empujar la leche (7).

2.2.1.1. Desventajas y riesgos de contaminación del ordeño manual.

Existen más riesgos de contaminación de la leche que en la del ordeño mecánico ya que está expuesta al medio ambiente y a las manos del ordeñador, también existe un menor índice de obtención de kilogramos por leche al año por lo que se ordeñan menos animales por el hombre en unidad de tiempo, y este puede producir lesiones a las ubres del animal produciendo una infección por contagio al ganado

2.2.2. Ordeño mecánico

Existen diversos sistemas de ordeño mecánico:

Ordeño móvil: consiste en una pequeña máquina móvil que dispone de todos los elementos necesarios para el ordeño y que se desplaza por el establo hasta los animales a ordeñar. Puede llevar incorporado el sistema de generación de vacío, ó bien puede acoplarse en los diferentes puestos de ordeño a una conducción fija de vacío. Es un sistema sólo válido para explotaciones muy pequeñas, muy raras ya en la actualidad (8).

Ordeño fijo: El equipo está ubicado de forma fija en la sala de ordeño y son los animales los que se desplazan para el ordeño. Su eficacia es mucho mayor, son los que nos vamos a encontrar en las explotaciones comerciales. Dentro del ordeño fijo nos podemos encontrar

con “Sistemas de ordeño a cántara”, donde la leche es recogida en este recipiente en la sala, y que hay que vaciar cada vez que se llena; y los “Sistemas de ordeño directo”, donde la leche llega a un recipiente (Unidad final) que va de forma automática mandando la leche al tanque de refrigeración. Este último sistema es más costoso pero lógicamente mucho más eficaz e higiénico, y es el que nos encontramos ya en la mayoría de las granjas. Dentro de los sistemas de ordeño fijo el último avance son los sistemas de ordeño voluntario, conocidos (8).

2.2.2.1. Desventajas y riesgos de contaminación del ordeño mecánico

Existe un riesgo de contaminación de la leche por ordeño mecánico que es en el que se debe tener mucho cuidado al momento de darle mantenimiento a las maquinas por lo que si no se le da el mantenimiento correspondiente puede dañar las glándulas mamarias del vacuno y ocasionar una contaminación grave en la leche y en el animal.

2.3. Manejo de la leche

El desarrollo microbiano en la leche ocasiona una serie de modificaciones químicas que pueden dar lugar a procesos alterativos y a procesos útiles. Muchos de sus componentes pueden degradarse, pero las alteraciones más acusadas resultan de la degradación de los tres componentes fundamentales: lactosa, proteínas y grasa (4).

La forma de recolección de las muestras al igual que el transporte y el almacenado deben ser con la mayor higiene para obtener una excelente calidad microbiológica de la leche cruda, sabiendo que la temperatura de la leche debe de ser de 4 a 5°C con el tiempo de transporte más corto posible.

La leche constituye un excelente medio de cultivo para determinados organismos, sobre todo para las bacterias mesófilos y, dentro de éstas, las patógenas, cuya multiplicación depende principalmente de la temperatura y de la presencia de otros microorganismos competitivos o de sus metabolitos (6).

Debe tenerse presente que la leche es un producto biológico obtenido de animales y, por lo tanto, plantea problemas de origen en su contaminación ya que a la salida de la glándula mamaria este producto trae presentes microorganismos que condicionan su posterior manejo (9).

2.3.1. Contaminación de la leche en el interior de la ubre

Aún en el caso de que la glándula mamaria se encuentre sana, se reconoce que las primeras porciones de leche ordeñada contienen microorganismos, disminuyendo su número a medida que el ordeño avanza (9).

A continuación vemos la tabla en la cual refleja lo anterior mencionado:

Leche primeras porciones	6 500 gérmenes/ml
Leche a mitad del ordeño	1 350 gérmenes/ml
Leche al final del ordeño	709 gérmenes/ml

Esto ocurre porque en la parte del pezón se encuentra colonizado por muchos microorganismos, como por ejemplo Staphilococcus, Corinebacterium, Coliformes, Bacilus, Pseudomonas, etc. Esta contaminación se ve desarrollada por el reflujo producido por la ordeñadora de tipo convencional, ocasionando un desarrollo de microorganismos que se colonizan en la punta del pezón, hacia el interior de la ubre (9).

2.3.2. Fuentes de contaminación

Las vías por las que la leche puede contaminarse son numerosas. Desde el proceso de ordeño, a través de material contaminado o de los pezones de la vaca, en contacto con heces, hasta la refrigeración posterior, la pasteurización y comercialización final. El agua con la que se limpian los utensilios y equipos utilizados durante el ordeño también puede ser una vía de

contaminación, así como el suelo, ya que, pese a que la leche no entra en contacto con éste, sí lo hace el animal y el personal que la manipula (10).

Para reducir los riesgos se establecen, vía normativa, requisitos de actuación que afectan al animal en la explotación, y al personal que, en alguno de los pasos de producción, entra en contacto con este alimento (10).

El **ordeño**, en la mayoría de los casos ya mecanizado, debe hacerse siempre bajo unas determinadas condiciones higiénicas, como limpiar los pezones y secarlos para evitar que la humedad, gran amiga de ciertos patógenos, ayude a su proliferación (10).

El **transporte** de la granja a la industria se realiza en camiones con cisternas adecuadas para mantener las condiciones de refrigeración y limpias para evitar la formación de patógenos. En la industria, la leche se somete a distintos procesos, como homogeneización y terminación o pasteurización, tras los que se obtendrá el producto final, listo para ser envasado (10).

La relación tiempo temperatura asume destacada relevancia para la conservación de la leche recién ordeñada, es así, que la cadena fría es fundamental para prevenir la multiplicación de los microorganismos patógenos en la leche. El producto extraído de la vaca debe llegar al local de almacenamiento con una carga microbiana variando entre 500 a 10 000 UFC x ml⁻¹. Es decir que se debe enfriar la leche a 4 °C, dentro de las dos primeras horas después del ordeño (11).

Además de la colecta de la leche a granel una de las estrategias que pueden ser adoptadas para mejorar la calidad de la leche es la utilización de un incentivo al productor como, el establecimiento de precios variables en función de calidad de la leche siendo ejemplo, de lo que ya ocurre con relación al pago diferenciado por el porcentaje de grasa (12).

2.4. Microbiología de la leche.

La leche cruda es un medio propicio para el crecimiento de microorganismos sumado a esto, la microflora tiene gran influencia sobre la calidad de la leche cruda (13).

La leche gracias a los componentes químicos y la abundante agua que tiene, es un lugar idóneo para el crecimiento de la flora bacteriana. Algunas bacterias pueden ser beneficiosas y otras pueden llegar a afectar a la salud.

2.5. Clasificación de los microorganismos.

El número de microorganismos presentes en la leche, dependiendo de los sistemas de limpieza y desinfección utilizados; cuando es obtenida en condiciones asépticas, oscila entre 100 y 1000 UFC/mL (3). La leche por lo general tiene su composición a ser susceptible de sufrir alteraciones debidas al crecimiento microbiano, particularmente cuanto la temperatura de conservación no es la adecuada. El desarrollo microbiano en la leche ocasiona varios tipos de deterioro como: la fermentación, coagulación, proteólisis, mucosidad, coloraciones diversas y producción de aromas y sabores anormales (14).

Muchos de los componentes pueden degradarse, pero las alteraciones más importantes resultan de la degradación de tres componentes fundamentales: lactosa, proteínas y grasa (9); La falta de calidad higiénica se traduce en el laboratorio como la cantidad de agentes bacteriológicos presentes en ella y se evalúa por el recuento de bacterias mesófilas que se encuentren en la leche; en Estados Unidos, Holanda y Australia se aceptan recuentos inferiores a 100.000 UFC/ml, en Colombia el límite permitido en leche cruda es hasta de 300.000 UFC/mL (15).

Debido la actividad bacteriana en la leche se deberse a la contaminación, provocando alteración en la composición, desarrollo de patógenos, formación de toxinas, etc., o bien por inoculación, como ocurre en los procesos de elaboración de los productos fermentados. Una alta carga de bacterias contaminantes en la leche disminuye la vida útil de los productos elaborados, desmejora la calidad organoléptica y nutricional, e interviene en los procesos de fermentación ácido láctica y en la coagulación enzimática promoviendo el deterioro o proteólisis de las caseínas (5).

2.6. Contaminación de la leche cruda por *salmonella spp.*, *e. coli* o157, coliformes aerobios y Reductasa

Salmonella spp., *E. coli* son especies bacterianas que causan problemas serios en la salud pública en el ámbito mundial. Estas bacterias, pueden estar presentes en la leche cruda y en el entorno de los hatos y se han asociado a varios brotes de ETA tras el consumo de leche o productos elaborados con leche sin pasteurizar (5).

Salmonella spp., *E. coli* entre otros, pueden llegar a la leche cruda provenientes de animales infectados. Las heces, la piel de los animales, el agua, el suelo, el polvo, los manipuladores, los equipos y utensilios, las manos de los ordeñadores pueden ser fuentes potenciales de estos microorganismos (5).

2.7. Salmonella en la leche.

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa del hombre y de los animales causados por microorganismos de las dos especies de *Salmonella* (*S. enterica* y *S. bongori*). Aunque fundamentalmente son bacterias intestinales, *Salmonella* está muy distribuida en el ambiente y se encuentra con frecuencia en vertidos de granjas, en las aguas residuales humanas y en cualquier material con contaminación fecal. En todos los países existe salmonelosis, pero parece ser más prevalente en áreas de producción animal intensiva, especialmente de aves y cerdos (16).

2.8. Aerobios Mesófilos

Estas bacterias crecen a temperaturas cercanas a la temperatura corporal, dentro de este grupo se encuentran los agentes etiológicos de la mastitis, la flora normal de la piel. La causa de un recuento alto de mesófilos aerobios se debe a la contaminación bacteriana de residuos de leche que han quedado en la superficie de los implementos usados en la obtención y almacenamiento de la leche, a ubres sucias o no higienizadas previo al ordeño y la no refrigeración rápida de la leche (17).

Los altos recuento de mesófilos aerobios en las épocas de mínima y máxima precipitación se deben a malas condiciones higiénicas de los establos, de los sitios de ordeño, falta de higiene en las manos de los operarios (18); falta de implementación de prácticas de higiene previo al ordeño como la realización de prácticas de higienización de los pezones, calidad bacteriológica del agua, secado de los pezones y manejo del ternero en sistemas doble propósito, una inadecuada rutina de limpieza y desinfección de los recipientes usados en el ordeño, falta de implementación de redes de frío para la conservación de la leche (17).

2.9. Coliformes totales

La presencia de coliformes es un indicador del grado de contaminación fecal, en el caso de la leche cruda, se convierte en un evaluador del grado de limpieza de las manos de los operarios, de la limpieza y desinfección de la piel de los pezones y de las pezoneras, entre otras. Se afirma que en las leches crudas no se pueden encontrar más de 1000 coliformes/ml, la legislación americana reconoce como norma 750 UFC/mL y se establece que la leche considerada como ideal debe contener menos de 50 UFC/mL (17).

2.10. Escherichia coli.

La *E. coli* es una bacteria común que vive en los intestinos de los animales y las personas. Existen muchas cepas de *E. coli*. La mayoría de estas cepas no son perjudiciales, aunque hay una variedad peligrosa llamada *E. coli* O157:H7 que produce una sustancia tóxica muy poderosa. Usted puede enfermarse muy gravemente si esta bacteria está presente en sus alimentos o en el agua (19).

Existen diversos alimentos asociados a las toxiinfecciones de *E. coli*. Pero la fuente más frecuente es la carne de vacuno y sus productos como; hamburguesas, carne picada, etc.) Que hayan sido poco cocinados, así como la leche cruda sin pasteurizar y los productos elaborados con ella (queso, nata, etc.) (20).

E. coli O157:H7, del grupo filogénico E, es una cepa enterohemorrágica (EHEC) que produce grandes cantidades de una o más potentes toxinas estrechamente relacionadas con las producidas por *Shigella dysenteriae*. La enfermedad aguda causada por la bacteria es llamada colitis hemorrágica y es caracterizada por severos cólicos y diarrea. Adicionalmente, la infección por *E. coli* O157:H7 puede causar el síndrome urémico hemolítico (SUH), una enfermedad severa caracterizada por hemólisis y fallas renales (20).

El ganado es la principal fuente de *E. coli* O157:H7. La contaminación de la canal durante el sacrificio es la ruta primaria que últimamente conduce a la contaminación de la carne picada de vacuno. Se ha indicado también que otros alimentos como: lechuga, coles de Bruselas, hortalizas, leche cruda y agua son las principales fuentes de transmisión. También, se ha reconocido como una fuente de infección, el contacto directo con animales portadores del microorganismo (20).

E. coli tiene la habilidad de sobrevivir y desarrollarse en el medio ambiente gracias a su versatilidad para aprovechar distintas fuentes de energía, además de ser un microorganismo poco exigente en sus requerimientos nutricionales. Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones favorece su integración a comunidades microbianas en una variedad de ambientes (19).

2.10.1. Sintomatología

La sintomatología de la enfermedad producida por esta bacteria se inicia generalmente de 1 a 2 días después de haber ingerido el alimento contaminado; aunque, existen reportes sobre periodos de 3 a 5 días. Los síntomas se inician con diarrea sin sangre, seguida por contracciones abdominales con dolor y episodios cortos de fiebre, la diarrea incrementa su intensidad durante las siguientes 24 a 48 horas, para iniciar una fase de 4 a 10 días con abundante sangre, acompañada por fuertes dolores abdominales y deshidratación moderada. La enfermedad es normalmente auto limitante (21).

2.10.2. Métodos para la detección y recuento el crecimiento de *E. coli* O157:H7

En el laboratorio es bastante difícil esta cepa, en contraposición a la mayoría de las *E. coli* crece mal o no lo hace a temperaturas de 44-45°, no produce β -glucoronidasa (MUG negativo) y no fermentan el sorbitol en 24h. Cuando este microorganismo se tiñe con Gram, se observan bacilos cortos Gram negativos. Es indol positivo (a veces negativo), reduce nitratos, citocromooxidasa negativa, manitol positivo, lactosa positiva, malonato negativo, sulfuro de hierro negativo, citrato negativo y Voges Proskaver negativo. La detección de este microorganismo según la técnica ISO 16654 para *E. coli* O157:H7, consiste inicialmente en enriquecimiento selectivo en caldo modificado de triptona de soya con novobiocina (20).

2.10.3. Exposición al riesgo de *E. coli* O157:H

La *E. coli* es considerado como un reservorio y transmisor de genes a otros miembros de la microbiota humana o animal. Por consiguiente, el tracto gastrointestinal se convierte en el portador ideal para la transferencia a gran escala de genes de resistencia antimicrobiana y de factores de patogenicidad. De hecho, en los últimos años, se ha registrado un aumento importante de cepas de *E. coli* resistentes a los antibióticos provenientes de animales sanos y sus productos destinados al consumo humano. Esta resistencia, al estar codificada principalmente en elementos genéticos móviles, facilita su diseminación en diferentes ecosistemas, incluyendo el humano. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud recomienda monitorizar la resistencia antimicrobiana en una « bacteria indicadora » como *E. coli* para analizar los fenotipos y mecanismos de resistencia que pudieran diseminarse a través de alimentos de origen animal y sus derivados, en diferentes áreas geográficas (19).

Aunque *E. coli* es el principal componente aerobio de la flora intestinal del hospedero animal, sus interrelaciones con este permiten separarla en 3 grandes grupos: cepas comensales, patotipos intestinales y patógenos extra intestinales. A su vez, con base en el análisis de iso-enzimas (MLEE, del inglés *Multilocus Enzyme Electrophoresis*) Algunos

estudios señalan que las cepas de *E. coli* aisladas del ambiente pertenecen al grupo filogenético, mientras que cepas contaminantes de alimentos pueden encontrarse en cualquiera de los 4 filogrupos (19).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La recolección de las muestras fue realizada en los cantones Calceta, Flavio Alfaro, Pedernales, El Carmen de la provincia de Manabí.

Cuadro 1.- Condiciones meteorológicas de los cantones a muestrear

	Cantones			
Datos meteorológicos	El Carmen	Pedernales	Calceta	Flavio Alfaro
Temperatura media (°C)	24	23	31	26
Humedad relativa (%)	91	95%	85%	78%
Precipitación (mm, anual)	2926	3000	1300	-
Elevación	387 mnm	108 mnm	-	350
Topografía	Ondulada	Regular	Ondulada	Montañosa

Fuente: INAMHI (2013)

3.2. Tipo de Investigación

Es de tipo experimental ya que se investiga los sistemas de ordeño y su efecto en la calidad microbiológica de la leche en la provincia de Manabí.

3.3. Métodos de Investigación.

En la investigación se utilizó el método deductivo ya que la calidad microbiológica es dependiente del buen manejo que se aplique en los dos diferentes tipos de ordeños ya sean manual o mecánico.

Se revisó la cantidad de *Escherichia Coli*, coliformes totales, aerobios y reductasa los cuales nos dieron la pauta para saber si la leche del ordeño manual llega a estar más contaminada que la del mecánico o viceversa.

Para la recolección de las muestras se procedió de la siguiente manera:

Se esterilizaron recipientes de vidrio en el auto-clave en el laboratorio de Ruminología de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, dichos recipientes fueron trasladados en cooler a los diferentes cantones para así recolectar las muestras del primer ordeño de la mañana, luego en los cooler se colocó geles refrigerantes para trasladar las muestras al laboratorio de microbiología y hacer los análisis mencionados.

3.4. Fuentes de recopilación de información.

Para obtener la información de manejo de los sistemas de ordeños fue través de las fuentes primarias ya que se realizaron encuestas a las diferentes ganaderías de las localidades a muestrear.

Una vez que las muestras fueron tomadas en estas ganaderías previamente encuestadas se realizaron los respectivos análisis y estos resultados se compararon con información secundaria, como artículos científicos, informes técnicos, o demás informaciones similares a este tema.

3.5. Diseño de la investigación.

En la presente investigación se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial de 2x4: el primer factor (A) corresponde a los sistemas de ordeño (manual y mecánico) el segundo factor (B) corresponde a cada localidad de la provincia de Manabí a muestrear (El Carmen, Pedernales, Calceta, Flavio Alfaro), con 5 repeticiones por cada tratamiento dando un total de 40 unidades experimentales. Para determinar diferencias entre tratamientos se empleara la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

3.5.1. Esquema del Experimento y Combinación de los niveles del ensayo experimental

Cuadro 2.- Esquema del experimento

FACTORES	NIVELES	
A) Sistemas de ordeño	Ordeño Manual	A1
	Ordeño Mecánico	A2
B) Localidades	Pedernales	B1
	Flavio Alfaro	B2
	Calceta	B3
	El Carmen	B4

Cuadro 3.- Tratamientos

TRATAMIENTOS			
	A Sistemas de ordeño	B Localidades	Combinaciones A x B
T1	Ordeño manual	Pedernales	Ordeño manual x Pedernales
T2	Ordeño manual	Flavio Alfaro	Ordeño manual x Flavio Alfaro
T3	Ordeño manual	Calceta	Ordeño manual x Calceta
T4	Ordeño manual	El Carmen	Ordeño manual x El Carmen
T5	Ordeño mecánico	Pedernales	Ordeño mecánico x Pedernales
T6	Ordeño mecánico	Flavio Alfaro	Ordeño mecánico x Flavio Alfaro
T7	Ordeño mecánico	Calceta	Ordeño mecánico x Calceta
T8	Ordeño mecánico	El Carmen	Ordeño mecánico x El Carmen

3.6. Instrumentos de investigación.

Los instrumentos que con los cuales se validaron la investigación fueron las encuestas directas, y procedimientos experimentales, el cual se realizó en el laboratorio de microbiología mediante las placas petrifil. Se realizó 3 tipos de análisis.

- *Escherichia coli*
- Coliformes totales
- Aerobios

Los resultados que fueron arrojados fueron comparados con las norma INEN para leche cruda

3.7. Tratamiento de los datos.

Los resultados de los análisis microbiológicos y los datos de que los ganaderos proporcionaron fueron tabulados en Excel, y luego pasaron al software estadístico InfoStat, aquí se evaluó los tratamientos aplicados. Para determinar diferencias entre tratamientos se empleara la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Cuadro 4.- Esquema del ANDEVA y superficie de respuesta

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamiento	(A x B -1)	7
A (Sistemas de Ordeño)	(A-1)	1
B (Localidades)	(B-1)	3

A x B (Sist. Ordeño)x(Localidades)	(A-1) (B-1)	3
E. Exp.	A.B (r-1)	32
Total	A.Br-1	39

3.7.1. Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + S_j + PS_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = total de una observación

μ = media general de una población

P_i = efecto de los sistemas de ordeño

S_j = efecto de las localidades a muestrear

PS_{ij} = interacción entre los sistemas de ordeño (A) por las localidades a muestrear (B)

E_{ijk} = efecto aleatorio (error experimental)

3.8. Recursos humanos y materiales.

Se contó con la colaboración de los docentes en mención, ambos dedicados a investigaciones vinculadas al sector lechero del país.

Ing. Wiston Morales R. (Docente Investigador)

Ing. Christian Vallejo T. (Docente Investigador)

Los materiales y equipos utilizados se detallan a continuación:

3.8.1. Materiales y Equipos

- Placa Petrifil

- Microscopio
- Pipetas
- Asas
- Marcador
- Etiquetas
- Mechero
- Vasos esterilizados para toma de muestras
- Contador de colonias
- Cámara de Inoculación
- Cooler's

3.8.1.1 Reactivos

- Peptona
- Alcohol

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Análisis Microbiológico

Promedios del efecto simple del sistema de ordeño (factor A), localidades (factor B) y interacción sistema de ordeño por localidades (A*B) sobre las variables de *E. Coli*, Aerobios y Coliformes.

Cuadro 5.- Promedios registrados en las variantes de *E. Coli*, Aerobios , Coliformes y Reductasa en la calidad microbiológica de la leche Manabí – Ecuador

FACTORES	E. Coli(UFC)	Aerobios(x10⁶ UFC)	Coliformes(x10⁶UFC)	Reductasa(h)
FACTOR A: Sistemas de ordeño				
A1 Manual	24.91	15.7	b	2.20
A2 Mecánico	Ausente	4.28	a	3.00
FACTOR B: Sectores				
B1 Pedernales	Ausente	10.9	b	2.80
B2 Flavio Alfaro	Ausente	2.89	a	2.60
B3 Calceta	Ausente	3.97	a	2.50
B4 El Carmen	<u>49.83</u>	<u>22.2</u>	c	<u>2.50</u>
INTERACCION				
T1= (Manual)x(Pedernales)	Ausente	12.9	d	2.60
T2= (Manual)x(Flavio Alfaro)	Ausente	5.09	b	2.20
T3= (Manual)x(Calceta)	Ausente	6.82	b c	2.00
T4= (Manual)x(El Carmen)	<u>99.65</u>	<u>43.7</u>	e	<u>2.00</u>
T5= (Mecánico)x(Pedernales)	Ausente	8.91	c	3.00
T6= (Mecánico)x(Flavio Alfaro)	Ausente	0.68	a	3.00
T7= (Mecánico)x(Calceta)	Ausente	1.12	a	3.00
T8= (Mecánico)x(El Carmen)	Ausente	0.7	a	3.00

CV%	480.4	16.03	18.91	9.62
-----	-------	-------	-------	------

*El C.V en la variable E. Coli esta elevado debido a que los sistemas de ordeños y las localidades no están influenciando ya que la localidad donde se presenta la incidencia del *Escherichia coli* no es en todas las ganaderías que fueron tomadas en cuenta para las repeticiones, si no solamente en dos. Por lo tanto el coeficiente de determinación es bajo ya que solo el 25% de esos datos podrían estar influenciados en los sistemas de ordeño o dos localidades.

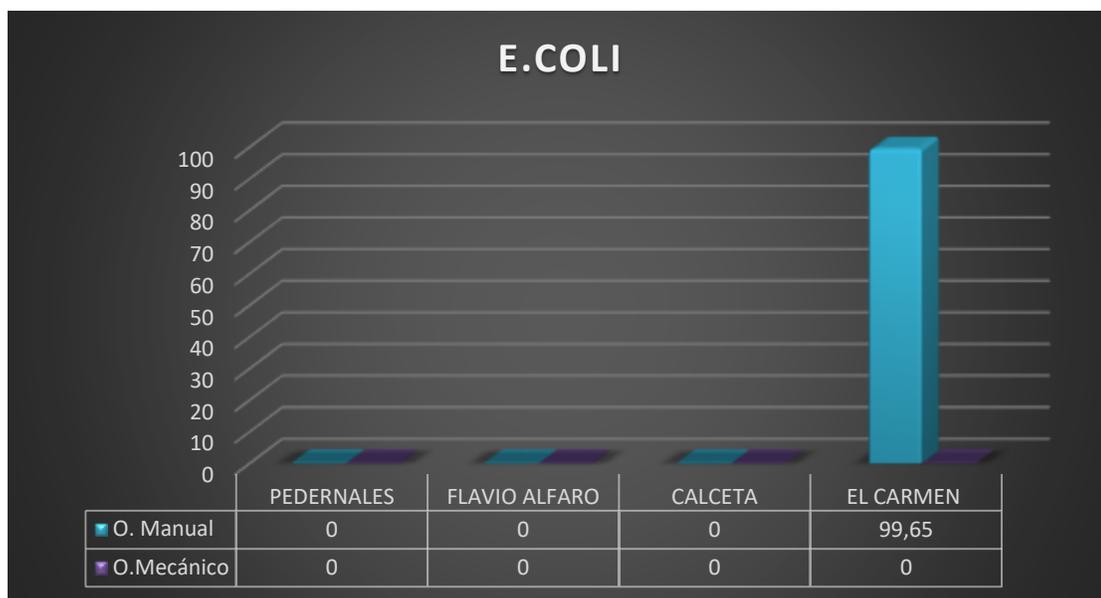
4.1.1 Determinación de *Escherichia Coli*

En la variable *Escherichia Coli* en el factor sistemas de ordeño se encontraron diferencias estadísticas significativas al igual que en el factor localidades según al análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), mostrando que el cantón El Carmen fue la única muestra que presentó contaminación en la leche obtenida mediante ordeño manual.

La bacteria del *Escherichia Coli* se encontraron en dos muestras que se recolectaron en el cantón El Carmen del ordeño manual esto puede ocurrir por la falta de conocimientos de los ganaderos del manual de las BPG (Buenas Prácticas Ganaderas) el cual señala la forma correcta e idónea para evitar la contaminación de la materia prima, la leche contaminada por *E. coli* no debe ser consumida ya que es causante de efectos que perjudican la salud. Algunas cepas de *Escherichia Coli* son capaces de crecer a temperaturas tan bajas como 7°C y tan altas como 46°C, siendo su temperatura óptima de crecimiento de 37°C, por lo que se ha determinado que la pasteurización de la leche es un tratamiento eficaz que destruirá más de 10^4 células de *Escherichia Coli* por mL. Por tanto se destruye con la pasteurización y también con el almacenamiento en frío (13).

La ausencia de *e. coli* en la mayoría de los tratamientos tiene relación directa con la encuesta realizada a los ganaderos (anexo 2) ya que un 70% de los encuestados confirman que realizan el lavado de manos antes del ordeño, siendo este una de las medidas higiénicas de un manual de BPG, ya que la correcta higiene del ordeñador influye en la calidad microbiológica de la leche.

Figura 1.- Determinación de la variable *e. coli* UFC en la interacción de sistemas de ordeño por localidades como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.



4.1.2 Determinación de Aerobios

En la variable aerobios totales tanto en los factores sistemas de ordeño como localidades se encontraron diferencias estadísticas significativas según al análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), asignándole un recuento de aerobios totales más bajo a la leche obtenida a través del ordeño mecánico.

En la interacción sistemas de ordeño por localidades se evidencian como mejores tratamientos a los efectuados a través del ordeño mecánico en cada una de las localidades ya que estos se encuentran dentro de los valores establecidos en la norma NTE INEN 1529:5 que establece un límite de ($1,5 \times 10^6$ UFC) para leches crudas.

Los análisis microbiológicos de aerobios son indicadores de la calidad del sistema de ordeño, al momento de efectuar el ordeño factores como: despunte, lavado y secado de las ubres repercutirá en la calidad microbiológica de la leche, factores que se cumplen en mayor medida en la leche que fue ordeñada de manera mecánica según la encuesta realizada a los productores que se presenta en el anexo 4,5 y 6.

La causa de un recuento alto de mesófilos aerobios a la contaminación bacteriana de residuos de leche que han quedado en la superficie de los implementos usados en la obtención y almacenamiento de la leche, a ubres sucias o no higienizadas previo al ordeño y la no refrigeración rápida de la leche (17). Los promedios registrados en ésta variable se muestran la figura 2

Figura 2.- Determinación de la variable aerobios totales en la interacción de sistemas de ordeño por localidades como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.



4.1.3 Determinación de Coliformes Totales

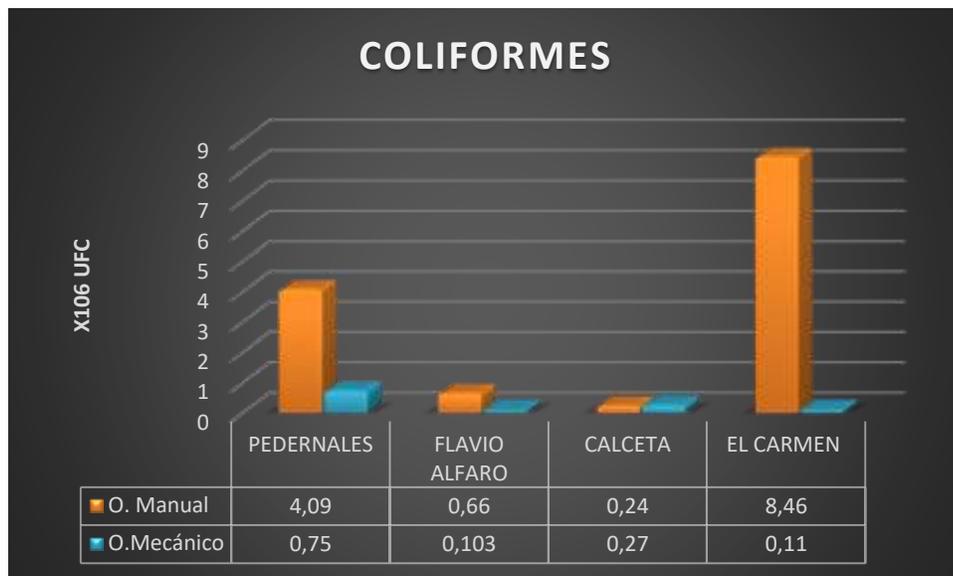
Para la variable Coliformes Totales en los factores sistemas de ordeño, y localidades se encontraron diferencias significativas estadísticas según al análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Mostrando el cantón El Carmen con mayor índice de contaminación en el ordeño manual.

Los análisis de Coliformes totales a los 4 cantones dieron como resultado que dichos cantones tienen altos índices de contaminación, la clasificación a la leche < 500 UFC/mL es clasificada como Premiun, < 1000 UFC/mL de Primera, > 5000 UFC/ml de Tercera, la autora de este artículo, la leche tendría una clasificación de Tercera.

Las leches crudas no se pueden encontrar más de 1000 coliformes/mL, la legislación americana reconoce como norma 750 UFC/mL y se establece que la leche considerada como ideal debe contener menos de 50 UFC/mL (17); Los valores obtenidos en esta investigación se encuentran muy por encima de estos reportes. El alto contenido de coliformes totales está directamente relacionado con un deficiente manejo higiénico-sanitario de la leche y además es un indicador de la posible presencia de cepas patógenas. (22)

Se debe hacer conocer las BPG, como secado de los pezones con papel desechable, uso de guantes de látex recomendados para el ordeño; prácticas higiénicas que garantizan pezones limpios, secos y sanos, que es la primera norma para obtener leche de excelente calidad bacteriológica (17)

Figura 3.- Determinación de la variable coliformes totales en la interacción de sistemas de ordeño por localidades como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.



4.1.4 Determinación de Reductasa

Para la Determinación de Reductasa en los factores de sistemas de ordeño, y localidades no se encontraron diferencias estadísticas según al análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

En este análisis demuestra déficits en el ordeño manual en los cantones El Carmen, Flavio Alfaro y Calceta quedando fuera de los rangos establecidos por la Norma NTE INEN 018 el cual el requisito de la leche cruda debe tener 3 horas mínimo, mientras que los cantones en el ordeño mecánico está dentro de los parámetros establecidos por dicha norma.

Según el Manual de Normas de Control de Calidad de Leche Cruda en Mexico (24) nos indicó una clasificación en base al tiempo de reducción de azul de metileno, (I) Buena calidad 5 horas (300 min), (II) Buena a Regular Calidad 2 – 4 horas (120 – 240 min), (III) Mala Calidad menor 2 horas (< 120 min).

Figura 4.- Determinación de la variable Reductasa en la interacción de sistemas de ordeño por localidades como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.



CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- ❖ La leche de los cantones estudiados se encontraron libre de bacterias de *Escherichia coli* a excepción del Cantón El Carmen lo cual es por falta de tecnificación y capacitación, es necesario que las personas que trabajan en la unidad de lácteos conozcan las buenas prácticas ganaderas, las buenas prácticas de higiene y manufactura.
- ❖ Todas las muestras de la leche de los 4 diferentes cantones bajo el Sistema de ordeño manual estuvieron contaminada excediendo los estándares de calidad de la leche cruda en los análisis de Aerobios, Coliformes Totales y Reductasa, en el Cantón El Carmen. Esto nos muestra deficiencia sanitaria en los proceso de ordeño, por otro lado los análisis bajo el sistema de ordeño mecánico fueron mejores, se mostró gran diferencia de calidad entre el cantón El Carmen y los cantones Calceta, Flavio Alfaro y Pedernales en los análisis microbiológicos.
- ❖ El cantón Flavio Alfaro fue la localidad con menor contaminación pues tuvieron valores bajos en aerobios, coliformes totales, reductasa y ausencia de *Escherichia coli*.

5.2. Recomendaciones

- ❖ Se recomienda el apoyo técnico, por parte de las entidades responsables para mejorar esta producción semi-tecnificada de leche, que es un volumen significativo para la producción y alimentación del país.

- ❖ Para futuras investigaciones es importante que se elabore un manual de buenas prácticas ganaderas para estas zonas, ya que es evidente la urgente aplicación del mismo.

- ❖ En otras investigaciones a realizar, referentes en calidad microbiológica de la leche, es impórtate que se incluya el análisis de salmonella ya que si no se cumple las Buenas Practicas de Ordeño es muy probable que las personas que consumen esta leche tenga problemas de salud.

CAPÍTULO V I

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Moreira, Loor, & Rivadeneira, adecuación de área de vacas en producción, bas Portoviejo Manabí Ecuador; 2008
- (2) Vásquez Ojeda E, Pérez Morales E, Hurtado Ayala L, Alcantara Jurado L, Evaluación de a calidad microbiológica de la leche. Iberoamericana de ciencias 2014; 1 (3)
- (3) Moreno FC, Mancera VM, Ávila LE, Vargas MR. Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). Resvista de Medicina Veterinaria. Colombia; 2007;14:61–83..
- (4) Celis M, Juarez D. Microbiología de la leche. In: Seminario de Procesos Fundamentales Físico-Químicos y Microbiológicos Especialización y Maestría en Medio Ambiente Laboratorio de Química, editor. Universidad Tecnológica Nacional. Argentina; 2009. p. 26.
- (5) Catucuamba T, Hernández J. El proceso de ordeño manual de la leche y su incidencia en la contaminación microbiologica en la Asociación Chirpued en Nariño - Colombia. Politecnica Estatal del Carchi; 2015.

- (6) Villa Uvidia D. Efecto de la variación de la temperatura en la calidad de la leche, en el centro de acopio Madrilac del cantón Guano. Universidad Agraria del Ecuador; 2015
- (7) Avila S, Romero L, Anatomía y fisiología de la glándula mamaria [en línea]. México: Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 2010.
- (8) Sánchez M, Martínez J. Producción animal e higiene veterinaria. [Tesis Licenciatura]. España: Universidad de Córdoba; 2007-2008.
- (9) Magariños H. Producción higiénica de la leche cruda. Producción y servicios Incorporados S.A. Calzada Mateo Flores. Guatemala Centroamérica. 2001; 96 p.
- (10) Chavarrias M. La complejidad microbiológica de la leche cruda. Eroski Consumer [Internet]. España; 2008 Dec 3; Available from: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2008/12/03/181883.php>
- (11) Sedesol. Manual de normas de control de calidad de leche cruda. 6ª Revisión. Liconsa. Dirección de producción; 2007: 1-28.
- (12) Gaspar G, Molina B, Coca R. CALIDAD DE LA LECHE CRUDA. Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz. 2010. p. 10.
- (13) Morales P, de la Cruz R, Leyva Ruelas A, Ybarra M, Calidad bacteriológica de leche cruda de cabra producida en Miravalles. Revista Mexicana de ingeniería química 2012; 11 (1): 45-54.
- (14) Calderón A, Martínez N, Cardona J. Determination of Protection Factors for Bovine Mastitis in Farms Managed Under the Double Purpose System in the Municipality of monteria. Med Vet. 2009;12:61–68
- (15) Patiño B, Roció E, Detección de Salmonella spp., Escherichia coli O157: H7 y Listeria monocytogenes, en muestras de leche bovina del sistema de producción

doble propósito colombiano. [Tesis Maestría]. Bogotá: Pontificia Universidad JAVERIANA; 2012.

- (16) Oie. Salmonelosis. 17th ed. 2007 OMDSA, 12, rue de Prony 75017, editors. Manual De La Oie Sobre Animales Terrestres. Paris; 2008. 1-18 p.
- (17) Calderón A, García F, Martínez G. Indicators of raw milk quality in different regions of Colombia. Rev MVZ Córdoba. 2006;11(1):725–737
- (18) Calderón R. Cuantificación de Factores de Riesgo de la mastitis en Sistemas de Producción élites En el altiplano Cundiboyacense. Universidad Nacional de Colombia; 2002
- (19) Guillen L, Millan B, Araque M. Caracterización molecular de cepas de *Escherichia coli* aisladas de productos lácteos artesanales elaborados en Mérida, Venezuela. Infectio 2014; 18 (3).
- (20) Elika. echerichia coli (internet) Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria; 2013 feb 28; <http://www.elika.net>
- (21) Xochitl MC, Pelcastre N, Elsa MC, Quiñónez I. Hamburguesas Escherichia Coli O157 : H7. Rev Digit Univ. 2004;5(7).
- (22) Bonivento J, Molina A, Maestre R, Garcia A. E-coli: en las canales de bovinos en plantas de beneficios: un peligro biológico con gran impacto para la salud pública, Bioceánicas 2011; 6 (2).

CAPÍTULO V II
ANEXOS

Anexo 1.- Encuesta realizada

Usted se lava las manos antes del ordeño	Si	No		
Usted realiza el proceso de flameado a las ubres antes del ordeño	Si	No		
Usted lava las ubres antes del ordeño	Si	No		
Usted realiza el despunte de los pezones antes de realizar el ordeño	Si	No		
Usted seca las ubres antes del ordeño	Si	No		
Usted utiliza tanque frio de almacenamiento	Si	No		
Qué tipo de recipiente utiliza durante el ordeño	plásticos	Aceros		
En que transporta usted la leche	Tanques plásticos	Tanques de acero		
Tiempo de transporte de la leche	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.
En qué tipo de recipiente transporta la leche antes de la venta	Caballo	Lancha	Vehículo propio	

Pregunta 1. ¿Usted se lava las manos antes de realizar el ordeño?

Respecto a la encuesta si las personas que realizan el ordeño se lavan las manos antes del proceso, el 80% de los encuestados respondieron que sí, y el 20% dijeron que no, Según las Buenas Prácticas en el manejo de la Leche que establece la FAO (25). es imprescindible que

todo el personal que realice el ordeño haga correctamente el proceso de lavado de manos y brazos con agentes de limpieza, con el fin de evitar contaminación cruzada hacia el hato y garantizar una leche de buena calidad.

Anexo 2.- Lavado de manos antes del ordeño como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.

¿Se lava las manos antes del Ordeño?						
SISTEMA DE ORDEÑO	SI		NO		TOTAL	
	n°	%	n°	%	n°	%
Manual	7	70%	3	30%	10	100%
Mecánico	7	70%	3	30%	10	100%
					20	

Pregunta 2. ¿Usted realiza el proceso del flameado en la ubre antes del ordeño?

Referente a la pregunta del flameado de la ubres que se realiza antes del ordeño en los resultados de la encuesta el 80% respondieron que no realizan el proceso de flameado ya que este es una técnica muy poco conocida y realizada según el reporte y el 20 % que si lo realizan, según el manual de Buenas Prácticas de Ordeño para producción de leche de calidad (26). el flameado es una rutina que se debe realizar para mejorar la limpieza de las ubres y de los pezones ya que al no existir pelos en los pezones se evita que se adhiera la suciedad en los mismos y el secado de los pezones al momento de lavar se realiza de manera más eficiente y se evita el goteo de agua.

Anexo 3.- Flameado de las ubres antes del ordeño como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.

¿Realiza el flameado a las ubres?						
SISTEMA DE ORDEÑO	SI		NO		TOTAL	
	n°	%	n°	%	n°	%
Manual	3	30%	7	70%	10	100%
Mecánico	6	60%	4	40%	10	100%
					20	

Pregunta 3. ¿Usted lava las ubres antes del ordeño?

En lo que concierne a la pregunta si realizan el lavado de ubres antes del ordeño los resultados de la encuesta fueron del 90% respondieron que si realizan el proceso previo al ordeño y el 10% que no lo realizan, según el manual de Buenas Practicas de Producción Primaria de Leche realizado en Colombia (27). indica que la ubre debe ser sometida a un procedimiento de limpieza que remueva todo tipo de suciedad que pueda estar adherida a los pelos y piel, durante el proceso de limpieza y desinfección de la ubre deberán utilizarse productos diseñados específicamente para este propósito y ser diluidos en agua tibia.

Anexo 4.- Lavado de ubres antes del ordeño como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.

¿Realiza el lavado antes del ordeño?						
SISTEMA DE ORDEÑO	SI		NO		TOTAL	
	n°	%	n°	%	n°	%
Manual	6	60%	4	40%	10	100%
Mecánico	7	70%	3	30%	10	100%
					20	

Pregunta 4. ¿Usted realiza el despunte de los pezones antes de realizar el ordeño?

En lo que concierne a la respuesta de la encuesta realizada en el despunte de las ubres antes del ordeño existe un 40% que no realizan este proceso antes del ordeño y el otro 60% si lo realizan, porcentaje que indica que los ganaderos son conscientes de los beneficios que genera al realizar esta práctica en la producción de leche y mejora de calidad. Según el manual de Buenas Prácticas de Ordeño para producción de leche de calidad (25). Consiste en eliminar el primer chorro de leche para desechar bacterias, y examinar la leche en un tazón de fondo oscuro. Con este procedimiento se puede detectar anomalía de la leche, como grumos, pus (mastitis clínica), sangre y además se pueden disminuir la cantidad de bacterias en los pezones. Nunca se debe realizar en las manos, en el piso o en las patas de la vaca.

Anexo 5.- Despunte de las ubres antes del ordeño como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.

¿Realiza el despunte de los pezones?						
SISTEMA DE ORDEÑO	SI		NO		TOTAL	
	n°	%	n°	%	n°	%
Manual	5	50%	5	50%	10	100%
Mecánico	6	60%	4	40%	10	100%
					20	

Pregunta 5. ¿Usted seca las ubres antes del ordeño?

En relación con la pregunta del secado de ubres antes del ordeño los resultados de la encuesta fueron que un 70 % no realizan el secado de ubres antes del ordeño y el 30% si lo realizan. Según el manual de Buenas Practicas de Producción Primaria de Leche realizado en Colombia (27). Las ubres deberán tener un adecuado secado para así evitar daños en los tejidos y este se realiza con un papel absorbente desechable, y nunca se debe utilizar el mismo papel para secar dos o más animales.

Anexo 6.- Secado de las ubres antes del ordeño como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.

¿Seca las ubres antes del ordeño?						
SISTEMA DE ORDEÑO	SI		NO		TOTAL	
	n°	%	n°	%	n°	%
Manual	3	30%	7	70%	10	100%
Mecánico	6	60%	4	40%	10	100%
					20	

Pregunta 6. ¿Usted utiliza el tanque frio para el almacenamiento?

Referente a la encuesta de la utilización de tanques fríos de almacén en el ordeño los resultados fueron del 90% no utilizan los tanques fríos de almacenamiento y el 10 % si lo utiliza. Según el manual de Buenas Practicas de Producción Primaria de Leche realizado en Colombia (27). el tanque destinado de almacenamiento de leche cruda enfriada deberá tener capacidad suficiente para almacenar la leche producida durante el tiempo que demora su recolección por la empresa industrializadora el cual no podrá ser superior a dos días, los tanques deberán estar dispuestos en tal forma que faciliten la circulación, el control y el aseo de los mismos.

Anexo 7.- Utilización de tanques fríos de almacenamiento durante y después del ordeño como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.

¿Usa el Tanque frio para el almacenamiento?						
SISTEMA DE ORDEÑO	SI		NO		TOTAL	
	n°	%	n°	%	n°	%
Manual	0	0%	10	100%	10	100%

Mecánico	4	40%	6	60%	10	100%
						20

Pregunta 7. ¿Qué tipo de recipiente utiliza durante el ordeño?

La encuesta demostró que durante el proceso del ordeño el 60% de los ganaderos utilizan recipientes plásticos para ir depositando la leche a medida que van ordeñando, y el 40% de los ganaderos utilizan recipientes de acero inoxidable. El Manual de Buenas Prácticas de Producción Primaria de Leche, sugiere que todos los recipientes que vayan a estar en contacto con la leche deben estar diseñados y fabricados con material sanitario de manera tal que puedan limpiarse, desinfectarse y mantenerse de forma que evite la contaminación. El equipo y los recipientes deben estar fabricados con materiales que no tengan efectos tóxicos para el uso que se destinan. Debe ser desmontable para su fácil supervisión (28).

Anexo 8.- Tipos de recipientes utilizados durante el ordeño, como indicador de la calidad microbiológica de la leche. Manabí-Ecuador.

¿Tipo de recipiente para el ordeño?						
SISTEMA DE ORDEÑO	PLASTICO		ACERO		TOTAL	
	n°	%	n°	%	n°	%
Manual	8	80%	2	20%	10	100%
Mecánico	3	30%	7	70%	10	100%
						20

|Anexo 9

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
E.COLI	120	0.25	0.20	480.40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo	130334.60	7	18619.23	5.20	<0.0001
TIPO DE ORDEÑO	18619.23	1	18619.23	5.20	0.0245
LOCALIDADES	55857.69	3	18619.23	5.20	0.0021
TIPO DE ORDEÑO*LOCALI..	55857.69	3	18619.23	5.20	0.0021

Error	401052.03	112	3580.82
Total	531386.63	119	

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 21.70811

Error: 3580.8217 gl: 112

TIPO DE ORDEÑO	Medias	n	
2.00	0.00	60	A
1.00	24.91	60	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 40.44521

Error: 3580.8217 gl: 112

LOCALIDADES	Medias	n	
3.00	0.00	30	A
2.00	0.00	30	A
1.00	0.00	30	A
4.00	49.83	30	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 67.81274

Error: 3580.8217 gl: 112

TIPO DE ORDEÑO	LOCALIDADES	Medias	n	
2.00	3.00	0.00	15	A
1.00	3.00	0.00	15	A
2.00	2.00	0.00	15	A
2.00	1.00	0.00	15	A
1.00	1.00	0.00	15	A
1.00	2.00	0.00	15	A
2.00	4.00	0.00	15	A
1.00	4.00	99.65	15	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
COLIFORMES	120	0.96	0.95	18.91

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo I)

	F.V.	SC	gl	CM	F	Valor p
Modelo		92058418.10	7	13151202.59	354.26	<0.0001
TIPO DE ORDEÑO		31914713.35	1	31914713.35	859.70	<0.0001
LOCALIDADES		31178489.62	3	10392829.87	279.96	<0.0001
TIPO DE ORDEÑO*LOCALI..		28965215.12	3	9655071.71	260.08	<0.0001
Error		4157798.09	112	37123.20		
Total		96216216.19	119			

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 69.89617

Error: 37123.1973 gl: 112

TIPO DE ORDEÑO	Medias	n	
2.00	502.98	60	A
1.00	1534.40	60	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 130.22623

Error: 37123.1973 gl: 112

LOCALIDADES	Medias	n	
3.00	499.54	30	A
2.00	525.89	30	A
1.00	1438.38	30	B
4.00	1610.95	30	C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 218.34469

Error: 37123.1973 gl: 112

TIPO DE ORDEÑO	LOCALIDADES	Medias	n	
2.00	2.00	313.77	15	A
2.00	4.00	323.84	15	A
1.00	3.00	508.30	15	A
2.00	3.00	490.78	15	A
1.00	2.00	738.00	15	B
2.00	1.00	866.01	15	B
1.00	1.00	2010.75	15	C
1.00	4.00	2898.06	15	D

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
AEROBIOS	120	0.95	0.95	16.03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC Tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F
Valor p				
Modelo	393066699.36	7	56152385.62	333.01
<0.0001				
TIPO DE ORDEÑO	70882367.40	1	70882367.40	420.36
<0.0001				
LOCALIDADES	108494211.70	3	36164737.23	214.47
<0.0001				
TIPO DE ORDEÑO*LOCALI..	213690120.26	3	71230040.09	422.42
<0.0001				
Error	18885732.21	112	168622.61	
Total	411952431.58	119		

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 148.96649

Error: 168622.6090 gl: 112

TIPO DE ORDEÑO	Medias	n	
2.00	1792.68	60	A
1.00	3329.81	60	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 277.54518

Error: 168622.6090 gl: 112

LOCALIDADES	Medias	n	
2.00	1446.56	30	A
3.00	1814.82	30	B
1.00	3285.71	30	C

4.00 3697.89 30 D
 Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Test : Tukey Alfa: 0.05 DMS: 465.34800

Error: 168622.6090 gl: 112

TIPO DE ORDEÑO	LOCALIDADES	Medias	n				
2.00	2.00	795.61	15	A			
2.00	4.00	804.23	15	A			
1.00	3.00	2587.64	15			C	
1.00	2.00	2983.25	15			C	
2.00	3.00	1041.99	15	A			
2.00	1.00	2097.52	15		B		
1.00	1.00	3588.17	15				D
1.00	4.00	6591.55	15				E

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

Anexo 10









