

**Evaluación de la Calidad Composicional, Sanitaria y Microbiológica de la Leche Cruda
Durante la Lactancia Completa en Vacas Holstein Mestizas en una Finca del Municipio
de Sapuyes- Departamento de Nariño**

Carlos Alberto Lima Rodríguez Zoot.

**Universidad de Nariño
Facultad de Ciencias Agrícolas
Maestría en Ciencias Agrarias Énfasis Producción Animal
Pasto – Nariño
2021**

**Evaluación de la Calidad Composicional, Sanitaria y Microbiológica de la Leche
Cruda Durante la Lactancia Completa en Vacas Holstein en una Finca del Municipio
de Sapuyes- Departamento de Nariño**

Carlos Alberto Lima Rodríguez Zoot.

Proyecto de Tesis de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de Magíster
en Ciencias Agrarias con Énfasis en Producción Animal

Director

Henry Jurado Gámez Zoot. Esp. M.Sc. Ph.D

**Universidad de Nariño
Facultad de Ciencias Pecuarias
Maestría en Ciencias Agrarias Énfasis Producción Animal
Pasto – Nariño
2021**

Nota de Responsabilidad

“Las ideas y conclusiones aportadas en el siguiente trabajo son responsabilidad exclusiva del autor”. **Artículo 1ro del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966** emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño

Nota de Aceptación

Edward Johnny Zambrano M.V.Z. M.Sc
Jurado Delegado

Guillermo Arturo Cárdenas Caycedo M.V. M.Sc.
Jurado evaluador

Efrén Guillermo Insuasty Santacruz Zoot. Esp. M.Sc.
Jurado evaluador

Henry Jurado Gámez Zoot. Esp. M.Sc. Ph.D.
Director

Agradecimientos

Con los más sinceros sentimientos de gratitud y admiración, a mis hermanos Jaime, Manuel, Rosa, Zoila, Orlando, Pedro, Patricia y Andrea Lima Rodríguez.

A mis abuelos, tíos, sobrinos, primos, cuñados, amigos y docentes.

A mis jurados de tesis

Edward Johnny Zambrano M.V.Z. M.Sc

Guillermo Arturo Cárdenas Caycedo M.V. M.Sc.

Efrén Guillermo Insuasty Santacruz Zoot. Esp. M.Sc.

A mi asesor de tesis Henry Jurado Gámez Zoot. Esp. M.Sc. Ph.D.

Al zootecnista John Jairo Parreño

A los estudiantes de pregrado Juan Carlos Bolaños y John Fredy

Al personal de laboratorios

Al Centro de Investigación en Ciencias Agrarias

Dedicatorias

A Dios, porque de la mano de Él y con su bendición todo obstáculo que se presenta en el trayecto de la vida es más llevadero, llegando de esta manera a obtener con éxito el objetivo final que es él lograr las metas y los sueños.

A mi madre Bertha María Rodríguez por brindarnos su amor infinito, enseñarnos a luchar con dedicación, respeto y responsabilidad, inculcando principios y valores, lo cual ha permitido llevar a buen término esta importante investigación.

A mi padre Carlos Lima Vásquez por heredarnos el gran legado y mejor ejemplo de trabajo, disciplina, ética y servicio a la sociedad, dando todo lo mejor de sí mismo.

A mis hijas Natalia, Yuliana y Karla por la inmensa alegría y felicidad que trajeron a mi vida, por enseñarme a valorar cada instante y darme la fortaleza para seguir luchando incansablemente.

A Lucero Mora por su apoyo incondicional en los buenos y malos tiempos por su amor y su lealtad.

Resumen

La leche es uno de los productos de origen animal de primera necesidad, que tiene un alto valor nutricional para la población. Al estar compuesto por diferentes nutrientes, se transforma en un medio ideal para el crecimiento de microorganismos patógenos, que pueden ser un riesgo para la salud del consumidor final. Por lo anterior, la calidad composicional, sanitaria y microbiológica son factores importantes para el consumo y la producción de derivados lácteos.

En Colombia, los estudios realizados para determinar la calidad de la leche cruda son escasos y para el departamento de Nariño, esta información es poca y muy fragmentada. Por ello, esta investigación pretende evaluar la calidad composicional, sanitaria y microbiológica de la leche producida por vacas Holstein mestizas de la finca San Antonio del municipio de Sapuyes- Nariño.

Se tomaron 1056 muestras de leche provenientes de 15 lactancias completas de vacas Holstein mestizas de la finca San Antonio. Las muestras se recolectaron durante el ordeño de la mañana y se realizaron cada 15 días a partir del quinto día postparto y durante toda la lactancia. Se determinó densidad, punto de congelamiento, acidez, pH, grasa (%), proteína (%), sólidos no gramos (%), lactosa (%), recuento de células somáticas (UFC/mL), antibióticos en leche y test de mastitis (CMT). Ademas, en las muestras positivas a CMT se determinó la presencia de enterobacterias, mohos y levaduras, *Staphilococcus aureus* y *E. coli*, y se evaluó antibiograma por Kirby Bauer. Con los registros de la finca se determinó la edad, numero de lactancia y producción (L) de cada animal, y se usó los valores de precipitacion reportados por el IDEAM para evaluar su correlación con las variables.

Se comparó los tercios de lactancia mediante un diseño de medidas repetidas en el tiempo con los muestreros y los animales como efectos aleatorios y el tercio de lactancia y los cuartos de la ubre como efectos fijos, las diferencias fueron identificadas con la prueba de

tukey a un nivel de significancia del 95%. Para relacionar las variables se utilizó un análisis de componentes principales y a partir de las correlaciones se graficó un Heatmap (mapa de calor) con dendrograma ajustado para la relación de variables.

La recolección y organización de la información se realizó en una hoja de cálculo excel y para el análisis de la información se utilizó el programa R 3.5.0 (2018).

Se evidenció diferencias entre tercios ($p<0,05$) para proteína (3,38, 3,28 y 3,6%), grasa (3,79, 3,80 y 3,92%), relación grasa/proteína (1,143, 1,118 y 1,098%), sólidos no grasos (7,81, 7,79 y 8,42%), sólidos totales (11,60, 11,57 y 12,38%), lactosa (5,35, 5,04 y 4,36%), acidez (0,135, 0,146 y 0,158) y pH (6,97, 6,63 y 6,53); mientras que el punto de congelamiento (-0,555, -0,559 y -0,558 °C), la densidad (1,034, 1,034 y 1,033 g/dL) y el recuento de células somáticas (328580, 269258 y 304940 /mL) fueron similares ($p>0,05$). Se encontró que el 1,99% de la muestras fueron positivas a CMT. Se observó una producción de 12,5, 8,57 y 4,24 litros/día para primero, segundo y tercer tercio de lactancia. Se halló enterobacteraceas, hongos y levaduras, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en las muestras positivas a CMT. Finalmente, se descubrió una relación entre proteína, grasa, SNG, sólidos totales y relación grasa/proteína, mientras que se determinó un efecto de la precipitación sobre el recuento de células somáticas y el test CMT. Se concluye que la leche evaluada tiene buenos parámetros composicionales, pero necesita mejorar en el manejo sanitario.

Palabras clave. Bovino, curva de lactancia, inocuidad, industria láctea.

Abstract

Milk is one of the staple products of animal origin, which has a high nutritional value for the population. Being composed of different nutrients, it becomes an ideal medium for the growth of pathogenic microorganisms, which can be a risk to the health of the end consumer. Therefore, the compositional, sanitary and microbiological qualities are important factors for the consumption and production of dairy products.

In Colombia, the studies carried out to determine the quality of raw milk are scarce and for the department of Nariño, this information is little and very fragmented. Therefore, this research aims to evaluate the compositional, sanitary and microbiological quality of the milk produced by crossbred Holstein cows from the San Antonio farm in the municipality of Sapuyes-Nariño.

1056 milk samples were taken from 15 complete lactations of crossbred Holstein cows from the San Antonio farm. Samples were collected during the morning milking and were performed every 15 days from the seventh day of delivery and throughout lactation. Density, freezing point, acidity, pH, fat (%), protein (%), non-fat solids (%), lactose (%), somatic cell count (CFU/mL), antibiotics in milk and test of mastitis (CMT). In addition, the CMT positive samples were determined for the presence of enterobacteriaceae, molds and yeasts, *Staphylococcus aureus* and *E. coli*, and an antibiogram was evaluated by Kirby Bauer. With the farm records, the age, lactation number and production (l) of each animal were determined, and the precipitation values reported by IDEAM were used to evaluate their correlation with the variables.

The lactation thirds were compared by means of a design of repeated measures in time with the samplings and the animals as random effects and the lactation third and the udder quarters as fixed effects, the differences were identified with the tukey test at a 95% significance level. To relate the variables, a principal component analysis was used and from the correlations a Heatmap was plotted with a dendrogram adjusted for the relationship of variables.

The collection and organization of the information was carried out in an excel spreadsheet and the program R 3.5.0 (2018) was used for the analysis of the information.

Differences between thirds ($p <0.05$) were evidenced for protein (3.38, 3.28 and 3.6%), fat (3.79, 3.80 and 3.92%), fat/protein ratio (1,143, 1,118 and 1,098%), non-fatty

solids (7.81, 7.79 and 8.42%), total solids (11.60, 11.57 and 12.38%), lactose (5.35, 5.04 and 4.36%), acidity (0.135, 0.146 and 0.158) and pH (6.97, 6.63 and 6.53); while the freezing point (0.555, 0.559 and 0.558 °C), the density (1.034, 1.034 and 1.033 g/dL) and the somatic cell count (328580, 269258 and 304940 CFU/mL) were similar ($p > 0.05$). 1.99% of the samples were found to be positive for CMT. A production of 12.5, 8.57 and 4.24 liters/day was observed for the first, second and third third of lactation. Enterobacteriaceae, fungi and yeasts, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* were found in the CMT-positive samples. Finally, a relationship between protein, fat, SNG, total solids and fat/protein ratio was discovered, while an effect of precipitation on the somatic cell count and the CMT test was determined. It is concluded that the evaluated milk has good compositional parameters, but needs improvement in sanitary management.

Keywords. Cattle, lactation curve, safety, dairy industry.

TABLA DE CONTENIDO

1. Planteamiento del Problema.....	16
2. Justificación.....	18
3. Objetivos.....	20
3.1 Objetivo General.....	20
3.2 Objetivos Específicos	20
4. Hipótesis Biológica.....	21
5. Estado del Arte.....	22
6. Marco Teórico	23
6.1 La leche bovina.....	23
6.2 Producción de leche en el mundo.....	24
6.3 Producción de leche en Colombia.....	26
6.4 Calidad de la leche cruda bovina.....	28
6.4.1 Composición físico química de la leche cruda.....	29
6.4.1.1 Proteína.....	29
6.4.1.2 Grasa.....	30
6.4.1.3 Relación grasa-proteína (g/p).....	30
6.4.1.4 Sólidos totales.....	31
6.4.1.5 Lactosa.....	31
6.4.1.6 Punto de congelamiento.....	32
6.4.1.7 pH y Acidez.....	33
6.4.1.8 Olor y Color.....	34
6.4.2 Calidad Microbiológica De La Leche Cruda	35
6.4.2.1 Microbiología de la leche cruda	35
6.4.2.2 Mohos y levaduras..	35
6.4.2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>.....	35
6.4.2.4 <i>Escherichia coli</i>.....	37
6.4.3 Calidad Sanitaria	38
6.4.3.1 California Mastitis Test (CMT). 1	38
6.4.3.2 RCS.....	38
6.4.3.3 Antibióticos en la leche.....	39
6.4.4 Variables de manejo y ambientales	40
6.4.5 Lactancia de hembras bovinas.....	41

6.4.6 Mastitis.	42
7 Materiales y Métodos.	44
7.1 Localización.	44
7.2 Animales y manejo.	44
7.3 Muestreo.	45
7.4 Determinación de variables.	46
7.4.1 Calidad composicional de la leche.	46
7.4.1.1 Lactoscan.	46
7.4.1.2 Acidez.	47
7.4.1.3 pH.	47
7.4.3 Calidad sanitaria de la leche.	48
7.4.3.1 California Mastitis Test (CMT, InmmuCell Corporation, Portland, EEUU).	48
7.4.3.2 Determinación de antibioticos en leche.	49
7.4.3.3 Recuento de células somáticas (RCS).	49
7.4.4 Calidad microbiológica de la leche.	50
7.4.4.1 Determinación de enterobacterias, mohos y levaduras, coliformes totales, <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>E. coli</i>.	50
7.4.4.2 Antibiograma.	51
7.4.5 Variables ambientales y de manejo.	51
7.4.6 Clasificación de variables.	52
7.4.6.1. Cuantitativas.	52
7.4.6.2 Cualitativas.	52
7.4.7 Manejo de Residuos de las muestras procesadas en el laboratorio de investigación PROBIOTEC-FORAPIS.	52
7.4.8 Implicaciones Éticas.	52
7.5 Análisis Estadístico.	53
7.5.1 Transformaciones.	53
7.5.2 Grasa/proteína.	54
7.5.3 Análisis.	54
7.5.4 Estadística.	54
8. Resultados y Discusión.	56
8.1 Evaluación de la Calidad Composicional de la Leche Cruda.	56
8.1.1 Proteína.	56
8.1.2 Grasa.	58
8.1.3 Relación grasa proteína.	60

8.1.4 Sólidos no grasos (SNG).....	61
8.1.5 Sólidos Totales (ST).	63
8.1.6 Lactosa.....	64
8.1.7 Acidez.....	65
8.1.8 pH.....	67
8.1.9 Punto de congelamiento.....	67
8.1.10 Densidad.	69
8.1.11 Producción de leche.	70
8.2. Determinar la Calidad Sanitaria de la Leche Cruda.....	71
8.2.3.1 Antibiograma por el método de Kirby Bauer.	77
9. Conclusiones.....	83
10. Recomendaciones	84
11. Bibliografía.....	85

Indice de figuras

Figura 1. Localización.	45
Figura 2. Almacenamiento de las muestras.	46
Figura 3. Prueba para la determinación de la acidez.	47
Figura 4. Prueba de antibióticos.....	49
Figura 5. Registro de la información.	55
Figura 6. Análisis de proteína.	56
Figura 7. Análisis para la grasa.....	59
Figura 8. Relación grasa proteína.	61
Figura 9. Sólidos no grasos.....	62
Figura 10. Sólidos totales.....	63
Figura 11. Lactosa.....	64
Figura 12. Acidez.....	66
Figura 13. pH.	67
Figura 14. Punto congelamiento.	68
Figura 15. Densidad.	69
Figura 16. Producción de leche.....	70
Figura 17. Recuento de células somáticas por tercio lactancia y cuarto de ubre.....	72
Figura 18. Precipitaciones en relación a california mastitis test (CMT).....	74
Figura 19. Análisis de muestras de leche para microbiología.	77
Figura 20. Halos de inhibición del antibiograma por técnica Kirby Bauer.	79
Figura 21. Mapa de calor de la correlación de la variables composicionales, microbiológicas y sanitarias de la leche cruda.	80

Indice de tablas

Tabla 1. Composición nutricional de la leche bovina.....	24
Tabla 2. Principales países productores de leche de vacuno.	26
Tabla 3. Análisis bromatológico para los suplementos de las vacas.	44
Tabla 4. Escala y rango para interpretación de la prueba CMT.....	48
Tabla 5. California mastitis test (CMT).....	74
Tabla 6. Resultados de la prueba microbiológica.	76
Tabla 7. Resultados del antibiograma por método de Kirby Bauer.....	78

1. Planteamiento del Problema.

La industria lechera tiene un importante reto frente a los consumidores, dado que las personas exigen productos de alta calidad e inocuidad (Muñoz et al., 2019). La calidad de la leche y sus productos derivados dependen de muchos factores, entre los que se encuentran el manejo nutricional y sanitario de los animales, el uso de la materia prima y la manipulación de la misma durante el proceso de ordeño (Jiménez et al., 2018).

Lo anterior evidencia la importancia del primer eslabón de la cadena, donde las variables de manejo y sanidad cumplen un rol importante en la obtención de leche de calidad (Martínez y Díaz, 2016). A pesar de que en Colombia se ha generado una normatividad que regula el pago por calidad (Resolución 000017 de 2012 del MADR), los productores aún no tienen como prioridad estos factores, su esfuerzo se concentra en una mayor producción de leche por animal/día, dejando de lado otros parámetros relevantes (Calderón et al. 2006).

Respecto a lo anterior, el acuerdo de competitividad de la cadena láctea colombiana (CNL, 2010) maneja el concepto de calidad de la leche en las tres dimensiones: higiénica, composicional y sanitaria. Al respecto, la investigación ha demostrado que estas variables de calidad pueden estar relacionadas entre sí y verse afectadas por factores externos como la nutrición, la genética, el número de lactancia y el manejo, haciendo que se altere estos parámetros en la leche cruda (Bagri *et al.* 2018).

Nariño es una de las principales zonas lecheras del país, representando el 4,1% de participación en la producción nacional (MADR, 2020). De acuerdo con el Consejo Nacional Lácteo (CNL, 2010), el departamento se encuentra en la macro-cuenca Suroccidente, que se constituye con los departamentos de Cauca y Putumayo. Dentro de las dificultades observadas en el sector, se encontró que los procesos de industrialización y transformación son bajos en comparación con otras regiones productoras del país, por lo que se evidencia un bajo conocimiento de los parámetros composicionales, microbiológicos y sanitarios de la

leche que se producen en Nariño, lo que disminuye la importancia que pone el ganadero sobre la identificación y mejoramiento de estos parámetros. Además, este desconocimiento genera pérdidas importantes para el productor y para la industria láctea en general, ya que la falta de información reduce la posibilidad de identificar problemas productivos y su posible solución (Carvajal et al. 2016).

Junto a lo anterior, la entrada en vigencia de la resolución 000017 de 2012 (MADR), condiciona a los productores de la zona, al ubicar a este departamento en la región uno (mayores productores), con lo que hay una mayor exigencia de estos parámetros. Con esto se puede crear pérdida de competitividad, que lleven a un detrimento de la productividad de la región. Por otra parte, la producción del departamento se cataloga como pequeños productores (84%), lo que dispersa de forma significativa los esfuerzos realizados por la institución gubernamentales (ICA, 2019). Además, una de las falencias que presenta esta resolución es lo relacionado a la calidad sanitaria de la leche (RCS/mL), que no está especificada y dificulta valorar la calidad de la misma.

2. Justificación

El mercado mundial de la leche exige más a los sistemas de producción, por lo que la competitividad se ha convertido en un pilar importante para mantener las empresas productoras de leche cruda (Cabrera y Calantari, 2016).

Así, la industria del sector lechero busca ofrecer a los consumidores productos lácteos confiables y sanos acordes a la nueva realidad que se está viviendo. De igual manera, es importante para mantener y conquistar nuevos mercados y competir con los productos que se importan al país. Por lo tanto, una leche y productos lácteos de calidad, que cumplan con los requisitos de aceptación del consumidor, serán productos competitivos (Glantz et al. 2010), de ahí viene la importancia de conocer los parámetros composicional, sanitario y microbiológico de este alimento para asegurar su calidad nutricional e inocuidad, ya que es importante para la salud del ser humano y la rentabilidad del sector lácteo.

La obtención de leche cruda de óptima calidad es una necesidad de primer orden para los productores, debido al nivel de competitividad que se está presentando en la actualidad. Así, los esfuerzos por mejorar el primer eslabón de la cadena permitirán un mejoramiento en toda la industria láctea por la obtención de un mejor producto para el mercado (Ning et al. 2018).

Dentro de los sistemas especializados en la producción de leche, las zonas de Antioquia, Boyacá, Cundinamarca y Nariño, ubicadas en el trópico alto, son las más importantes del país. Al respecto, Nariño cuenta con una producción de 766000 litros diarios distribuidos principalmente en los distritos lecheros de Guachucal, Pasto y Pupiales (MADR, 2020), lo que ubica al departamento como un actor importante en la producción de leche a nivel nacional.

Junto a lo anterior, el conocimiento sobre el estado actual de la producción de leche bovina en el departamento, en cuanto a la calidad composicional, higiénica y microbiológica,

tiene repercusiones en el establecimiento de planes sanitarios y productivos acordes con las necesidades de la región.

Dentro de los distritos lecheros del departamento de Nariño, el municipio de Sapuyes es representativo porque su producción se incluye con la producida en el municipio de Pupiales y se estima que concentra el 15% de la producción a nivel departamental, siendo uno de los distritos base de la lechería especializada.

Por lo tanto, la presente investigación busca conocer y analizar las variables composicionales, sanitarias y microbiológicas de la leche cruda obtenidas en una lactancia completa de vacas Holstein mestizas de la finca San Antonio del municipio de Sapuyes, Nariño.

A partir de lo anterior, se formula la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la calidad de los parámetros composicional, sanitario y microbiológico de la leche cruda, y cómo están relacionados con el sistema de manejo y el ambiente en la lactancia completa de vacas Holstein de una finca del municipio de Sapuyes en el Departamento de Nariño?

3. Objetivos

3.1 Objetivo General

Evaluar la calidad composicional, sanitaria y microbiológica de la leche cruda, el sistema de manejo y las variables ambientales durante la lactancia completa en vacas Holstein mestizas de la finca San Antonio del municipio de Sapuyes-Nariño

3.2 Objetivos Específicos

Evaluar la calidad composicional de leche cruda producida por vacas Holstein de la finca San Antonio del municipio de Sapuyes-Nariño.

Determinar la calidad sanitaria de la leche cruda producida por vacas Holstein de la finca San Antonio del municipio de Sapuyes-Nariño.

Analizar la calidad microbiológica y antibiograma de la leche cruda producida por vacas Holstein de la finca San Antonio del municipio de Sapuyes-Nariño.

Relacionar la calidad composicional, microbiológica y sanitaria de la leche cruda, el sistema de manejo y las variables ambientales en la leche cruda producida por vacas Holstein de la finca San Antonio del municipio de Sapuyes-Nariño

4. Hipótesis Biológica

Los parámetros composicional, sanitario y microbiológico de leche cruda en la lactancia completa de vacas Holstein mestizas en la finca San Antonio del municipio de Sapuyes-Nariño son de calidad y se encuentran relacionados con el sistema de manejo y las variables ambientales.

5. Estado del Arte.

Las investigaciones realizadas para el departamento de Nariño muestran variabilidad en los resultados obtenidos. El estudio realizado por Jurado et al. (2020) en los distritos de Pasto, Pupiales y Guachucal indica que los parámetros composicionales de estas regiones muestran valores superiores a los especificados por el decreto 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social, lo que evidencia el compromiso de los productores por ofrecer un producto de calidad al consumidor o la industria de transformación. En el mismo estudio, se observó problemas con el intervalo entre partos, que fueron superiores a los 450 días, demostrando deficiencias en el manejo reproductivo de los hatos, lo que conlleva a una reducción en la vida productiva de las vacas. En cuanto al conteo de células somáticas se observó una media de 300000 células/mL que se encuentran dentro de los valores de bonificación para los sistemas lecheros del país.

Por otra parte, los estudios de Muñoz et al. (2019) y Quitiaquez et al. (2021) encontraron un porcentaje promedio de 2,72, 3,17, 8,45 y 5,12 durante el primer tercio de lactancia para los parámetros grasa, proteína, sólidos no grasos y lactosa respectivamente; en el mismo orden se observó porcentajes de 2,74, 2,92, 8,44 y 5,03 para el segundo tercio y 2,36, 3,17, 8,43 y 5,12 para el tercer tercio de lactancia. Estos valores no cumplen con lo establecido en el decreto 616 de 2016 del Ministerio de la Protección Social y debe atenderse a los problemas que pueda presentar los hatos de la región.

Los estudios anteriores, también reportaron producciones de 20,33, 21,22 y 8,53 litros diarios para el primer, segundo y tercer tercio de lactancia. De igual manera, el recuento de células somáticas fue de 158477, 158892 y 138428 células/mL respectivamente, lo que evidencia un bajo conteo de este parámetro. Sin embargo, se debe aclarar que la muestra utilizada para la determinación del parámetro fue baja, lo que podría estar subestimando la verdadera media del departamento.

6. Marco Teórico

6.1 La leche bovina.

De acuerdo con Muehlhoff et al. (2013), la leche y los productos lácteos mejoran la nutrición y los medios de subsistencia de millones de personas de todo el mundo. Como parte de una dieta equilibrada, la leche y los productos lácteos son fuente importante de energía, proteínas y grasas. Además, los productos son ricos en micronutrientes esenciales para luchar contra la desnutrición en los países en desarrollo, donde las dietas de las personas pobres a menudo se basan en almidón o cereales y carecen de variedad.

Ocampo et al. (2016) señalan que la leche es un líquido secretado por hembras de todas las especies mamíferas, que tiene como fin primordial satisfacer las necesidades nutricionales de las crías recién nacidas, y que se ha convertido, para el ser humano, en una fuente de carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas y minerales muy apetecida, ya sea como leche o uno de sus derivados. De acuerdo con el decreto 616 emanado el 28 de febrero de 2006 y a través del cual se “expide el Reglamento Técnico... que debe cumplir la leche para el consumo humano...”, se define a la leche como el producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos obtenida por ordeño y sin ningún tipo de aditivo.

La leche de alta calidad es de interés para los agricultores, los consumidores y las empresas de procesamiento de leche (De la Cruz et al. 2018). Un producto con estas características permite al productor y comercializador obtener un precio justo en el mercado, mientras que a los procesadores se les garantiza una materia prima adecuada para la fabricación de productos lácteos (Sánchez et al. 2015), y a los consumidores se entrega un producto saludable a buen precio (Castro et al. 2017).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO (2019) menciona que la leche tiene importantes aportes nutricionales con valores de 3 a 4% de grasa, 3,5% de proteína y 5% de lactosa, además de otros componentes en menor cantidad.

Sin embargo, los valores pueden cambiar de acuerdo a la raza, y el estado sanitario y nutricional de los animales (Bondan et al. 2018). En la tabla 1 se observa el contenido nutricional, determinado por Rodríguez et al. (2015) en ganado bovino.

Tabla 1. Composición nutricional de la leche bovina

Nutriente	Contenido
Agua (g)	88,0
Energía (kcal)	61,0
Proteína (g)	3,2
Grasa (g)	3,4
Lactosa (g)	4,7
Minerales (g)	0,72

Rodríguez et al. (2015)

6.2 Producción de leche en el mundo.

La leche es uno de los productos agrícolas más demandados en el mundo. Su contenido nutricional aporta elementos esenciales para el ser humano y una gran versatilidad en la obtención de derivados con gran acogida y amplio reconocimiento (Cadavid *et al.* 2019).

De acuerdo con la FAO (2018)

“Alrededor de 150 millones de hogares en todo el mundo se dedican a la producción de leche.

En la mayoría de los países en desarrollo, la leche es producida por pequeños agricultores y la producción lechera contribuye a los medios de vida, la seguridad alimentaria y la nutrición de los hogares. La leche produce ganancias relativamente rápidas para los pequeños productores y es una fuente importante de ingresos en efectivo” (p. 8).

De igual manera, la FAO (2021) indica que en el año 2019 se tuvo una producción de 14170000 millones de litros, que representan 1928000 millones de dólares. La producción se ubicó en el cuarto lugar de los productos agropecuarios siendo uno de los más importantes en el mundo. En los diferentes países se ubica entre los primeros productos agrícolas de consumo y su demanda se encuentra en aumento. Sin embargo, cada vez es mayor la exigencia de un producto con alta calidad en el mercado.

La leche es producida por las hembras de los mamíferos, por lo cual, su consumo viene de varias especies. La leche de vaca representa el 82,7% de la producción mundial, seguida por la leche de búfalo (13,3%), cabra (2,3%), oveja (1,3%) y camello (0,4%). La producción de leche bovina para exportación se concentra en las regiones de Europa, Estados Unidos, Nueva Zelanda, Australia y Argentina, que son los cinco mayores exportadores y representa el 80% del comercio a nivel mundial (Hong et al., 2019).

Dentro del primer grupo de países exportadores, Europa y Nueva Zelanda incrementaron la exportación en un 5% durante los años 2015 a 2020; consolidando la industria como una de las más competitivas a nivel mundial (U.S.Dairy Export Council. 2020).

Sin embargo, cuando se habla de países productores, la lista cambia y otros países emergen (tabla 3); este fenómeno se observa porque algunos estados tienen una elevada producción, pero el alto consumo interno no deja excedentes para la exportación. Dentro de este grupo se encuentra China, la cual tiene que importar productos lácteos de otros países para suplir su demanda interna.

De acuerdo con la FAO (2019) la leche aporta el 3,7% de la energía y el 8% de la proteína y grasa en la alimentación de los continentes de Asia y África; mientras que, para Europa, el aporte es de 9,19 y 14% respectivamente. Se espera un incremento del consumo durante los próximos años, que llegue a un crecimiento del 125% para el 2030 como consecuencia del impulso de los mercados asiáticos.

La producción de leche creció de manera significativa, con un incremento del 32% durante los últimos 28 años. Sin embargo, el consumo per cápita ha disminuido, lo que indica que el aumento del consumo no es proporcional con el crecimiento poblacional. Lo anterior se puede atribuir a la caída de la producción en los países desarrollados y el desmonte gradual de los incentivos a los ganaderos, que tienen como consecuencia un mayor costo de

producción en la industria lechera. A pesar de ello, el ingreso de nuevos consumidores en el panorama permite prever un incremento de la demanda de este producto (Campos et al. 2019).

Tabla 2. Principales países productores de leche de vacuno.

Leche líquida	Millones de litros				
	2012	2013	2014	2015	2016
Unión Europea	143.750	144.850	150.850	154.550	156.400
India	129.000	134.500	140.500	147.000	154.000
Estados Unidos	91.010	91.277	93.485	94.620	96.343
China	33.960	35.750	38.800	39.050	37.300
Rusia	31.831	30.529	30.499	30.560	30.350
Brasil	23.008	24.259	25.489	34.830	32.576
Nueva Zelanda	20.567	20.200	21.893	21.582	21.370
México	11.434	11.451	11.624	11.900	12.100
Ucrania	11.378	11.488	11.426	10.864	10.680
Argentina	11.679	11.519	11.326	11.522	10.397
Australia	9.811	9.400	9.700	9.800	9.200
Canadá	8.614	8.443	8.437	8.773	9.100
Japón	7.631	7.508	7.334	7.379	7.420
Bielorrusia	6.796	6.670	6.733	7.077	7.200
Corea del Sur	2.111	2.093	2.214	2.169	2.126
Total	542.580	549.937	570.310	591.706	596.562

Fuente: Campos et al. (2019)

6.3 Producción de leche en Colombia.

La producción de leche bovina en Colombia se concentrada en tres grandes cuencas: altiplano cundi-boyacense, altiplano nariñense y los altiplanos norte y nordeste de Antioquia. Estos sistemas se caracterizan por ser sistemas de leche especializados. Se caracterizan por

usar razas europeas (*Bos Taurus*), especialmente la raza Holstein; un uso intensivo de los factores tierra, capital y mano de obra; al igual que el uso de fertilizantes, riego, rotación de praderas, utilización de suplementos alimenticios y dos ordeños en el día. Sin embargo, la producción se desarrolla en un 80% en minifundios, por lo que existe un alto grado de variabilidad en el producto final (Carulla y Ortega 2016).

El mismo autor sugiere que la producción promedio de leche por vaca está apenas por encima de los 5 L/d. El 80% de los productores tienen menos de 20 animales, el 15% de 20 a 50 y el 5% más de 50; lo que demuestra que la producción en la nación no es a gran escala, haciendo que se dificulte la estandarización de los sistemas de producción hacia una industria de alta eficiencia.

La producción de leche en Colombia se encuentra asociada con pequeños productores, lo que demuestra que es un factor de bienestar económico y seguridad agroalimentaria para el campesino. Sin embargo, la regulación de los sistemas de comercialización no ha permitido que estos obtengan lo justo por el producto que ofrecen. Aunado a ello, la falta de conocimiento y capacitación sobre buenas prácticas de manejo (BPM) y buenas prácticas de ordeño (BPO) aumenta el problema y desincentivan la producción (Kipnis et al. 2008).

Para el caso de Nariño, la producción se concentra en tres distritos: Pasto, Guachucal y Pupiales, que representan el 68% de la producción del departamento. Estos sistemas se caracterizan por desarrollarse en zonas de páramo con alturas entre los 2600 a 3200 msnm. Las razas predominantes son Holstein, seguida por la Normando y finalmente Jersey. Existe un alto grado de fragmentación de la producción, debido a una gran cantidad de minifundios, caracterizados por predios inferiores a las 4 hectáreas (Fernández et al. 2012).

6.3.1 Consumo per cápita de leche en Colombia. El consumo se encuentra en los 148 L/persona/año, establecido en los estratos más altos de la población debido a sus capacidades adquisitivas. Sin embargo, el consumo de nuestro país sigue siendo bajo en

comparación con el presentado por otros países industrializados como Estados Unidos, que tiene un consumo per cápita de 280 L/persona/año (FEDEGAN, 2018).

En Nariño, al igual que en Latinoamérica, existe poca información sobre la calidad composicional y sanitaria de la leche cruda producida y comercializada. Sin embargo, algunos estudios en la zonas sur-occidentales del departamento (mayores productores), como son Guachucal, Sapuyes, Cumbal y Pasto, muestran adecuados niveles de producción, pero un bajo contenido de sólidos, como consecuencia del tipo de cruces utilizados, que alrededor del 89% es Holstein (Jurado et al. 2020). Junto a lo anterior, la poca preocupación de los productores por la calidad de la leche, a pesar de que la legislación colombiana así lo establece, aumenta el desconocimiento sobre las variables de calidad que se produce en la región y que no permite hacer una comparación de las condiciones de producción de esta región con otras regiones del país y con otros productos exportados.

6.4 Calidad de la leche cruda bovina.

A nivel internacional, la calidad composicional de la leche se determina midiendo sus constituyentes y propiedades físico-químicas, que incluyen: agua, grasa, proteínas, densidad y punto crioscópico. La adulteración de este producto, está identificada por dos tipos, el primero por extracción de los constituyentes y el segundo por adición. El segundo representa mayor problema para la industria de procesamiento, ya que la materia prima se ve afectada de manera significativa, interfiriendo sobre la calidad higiénica, composicional y nutricional (Machado et al. 2018).

Por otra parte, la calidad sanitaria también juega un rol importante para la industria lechera; los antibióticos son útiles para el tratamiento de infecciones, sin embargo, su aparición en alimentos de origen animal puede causar efectos adversos para la salud pública, como la resistencia a los medicamentos (Riva et al. 2015) y la hipersensibilidad causada por

los grupos penicilinas y sulfonamidas (Raut et al. 2017). Su presencia en la leche también causa enormes pérdidas económicas en las industrias, al interferir con la fabricación de productos cultivados como los productos fermentados y en quesos, a través de la inhibición de los iniciadores; esto trae como consecuencia el rechazo de la leche en granjas con resultados positivos para antibióticos por parte de las empresas industrializadoras (Hossain et al. 2017). Por otra parte, los antibióticos utilizados en la práctica veterinaria son idénticos o están estrechamente relacionados con los utilizados en medicina humana, por lo que cualquier uso o exposición incorrecta en cualquiera de los dos puede resultar fácilmente en una resistencia cruzada (Raut et al. 2017).

6.4.1 Composición físico química de la leche cruda.

La composición físico química de la leche es un conjunto de parámetros con alta importancia para el productor y de forma especial para la industria de transformación e industrialización, que cada vez más exige un producto con estándares de calidad para estos parámetros. Al respecto, la legislación colombiana, a partir de 2012, expidió la resolución 00017 del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural que define el pago por calidad de la leche y los incentivos que se puede aplicar al productor para que mejore el producto que ofrece a la industria de procesamiento.

Dentro de las variables físico químicas tenemos las siguientes: proteína, grasa, sólidos no grasos, sólidos totales, lactosa, pH, acidez, punto de congelamiento, olor y color.

6.4.1.1 Proteína. La proteína tiene gran importancia para la industrialización láctea, debido a que tienen un efecto directo en el rendimiento y la aptitud tecnológica de la leche. Dentro de este grupo se tiene a la caseína, que posee un papel importante en la elaboración de quesos (Heck et al. 2009). Al ser este componente proteico fundamentalmente hidrofóbico, el contenido de caseína influye directamente en el tiempo de coagulación de todos los quesos y por ende en su calidad y rendimiento (Amalfitano, et al. 2019). La leche del bovino tiene un

contenido de proteína entre el 3 y el 4%, con tres categorías de nitrógeno proteico: 1) las caseínas, 2) las proteínas del lactosuero, y 3) las proteínas de la membrana del glóbulo graso (Manoni et al. 2020). Las primeras representan cerca del 85% de las proteínas lácteas, que se caracterizan por precipitarse cuando se incrementa la acidez de la leche (pH 4,5) y se encuentran unidas principalmente con fosfato de calcio $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)^2$ en una estructura sólida y esponjosa llamada micela.

6.4.1.2 Grasa. La grasa de la leche se halla como glóbulos microscópicos en una emulsión, su contenido puede variar entre 3,5 y 4,7% para vacas Holstein en una relación de 1,05 a 1,18 de grasa/proteína (expresada en gramos). Los estudios indican que la producción de grasa depende de la capacidad metabólica individual de cada vaca. El contenido de lípidos se constituye en su mayoría (cerca del 97%) por triacilgliceroles y el restante se encuentra compuesto por AGNE, colesterol, carotenos, vitaminas liposolubles y lípidos estructurales (Kayano et al. 2018).

6.4.1.3 Relación grasa-proteína (g/p). La tendencia mundial en la actualidad es a producir una leche más concentrada, especialmente en la fracción proteica y minerales y menos en la fracción lipídica. El desafío es grande ya que se confrontan dos grandes enfoques: o producir más volumen de leche, ya sea individual o por hectárea o producir más sólidos totales por vaca o por hectárea. El incremento en volumen de leche por animal, normalmente lleva aparejado una disminución de los sólidos totales, aun cuando al término de la lactancia, el total de kilos de proteína y grasa puedan ser superiores si se compara con vacas de menor producción, pero con leche más concentrada. Por otra parte, la composición de la leche está siendo afectada constantemente por factores tanto endógenos como exógenos que determinan día a día su composición (Zschiesche et al. 2020).

La determinación de la razón entre el contenido de grasa y proteína en la leche de ganado bovino es importante para la identificación de los efectos de la dieta sobre la salud ruminal de los animales. Al respecto se presenta la ecuación para su medición:

$$\text{Relación } (g/p) = \frac{\% \text{ de grasa}}{(\% \text{ de proteína} * 0.9)}$$

De acuerdo con la fórmula, los valores que se encuentren por debajo de 1 son un indicativo de acidosis ruminal subaguda, y determina un ajuste en la dieta para evitar complicaciones en la salud del animal.

6.4.1.4 Sólidos totales. Los sólidos totales (ST) que se miden en la calidad composicional de la leche corresponden a la suma de cuatro componentes: lactosa, grasa, proteínas y minerales. Debido a esta condición, hay varios aspectos que inciden en el contenido final de ST en la leche.

De acuerdo con Fernández et al. (2012) de la Universidad Agraria de La Habana (Cuba), la disminución en alguno de estos elementos puede influenciar el contenido total de los sólidos.

En general podemos decir que el factor que más influencia el porcentaje de ST es el contenido de grasa, debido a su gran variabilidad.

A este se suman otros factores, como son el estado de lactación, la edad de la vaca, la temperatura ambiente y el estado sanitario.

El decreto 616 de 2006 establece que los sólidos totales deben tener un mínimo de 11,30% en leche cruda bovina.

6.4.1.5 Lactosa. La lactosa es el principal carbohidrato de los mamíferos lactantes y es responsable del equilibrio osmótico entre la sangre y la luz alveolar de la glándula mamaria. Es el principal sólido de la leche bovina, y su síntesis y concentración se ven

afectadas principalmente por la salud de la ubre, el equilibrio energético y el metabolismo de la vaca (Haygert et al. 2018).

Debido a que este compuesto de la leche está relacionado con varios factores biológicos y fisiológicos, la información sobre la lactosa de la leche en la literatura varía desde las propiedades químicas hasta la heredabilidad y las asociaciones genéticas con rasgos de salud que pueden explotarse con fines de reproducción. Además, la lactosa contribuye al valor energético de la leche y es un ingrediente importante para las industrias alimentaria y farmacéutica (Costa et al. 2019).

A pesar de esto, la lactosa rara vez se ha incluido en los sistemas de pago de la leche, y nunca se ha utilizado como rasgo indicador en índices de selección. El interés por la lactosa ha aumentado en los últimos años, y un resumen de la información existente sobre la lactosa en el sector lácteo sería beneficioso para la comunidad científica y la industria láctea.

6.4.1.6 Punto de congelamiento. Dentro de los indicadores utilizados en los sistemas de industrialización de la leche, para determinar alteraciones se utiliza el punto de congelación o punto crioscópico (Abernethy, Bendall, & Holroyd, 2016). Este parámetro corresponde a la temperatura en la cual, la parte líquida y los solutos se encuentran en equilibrio, los valores normales de este indicador fluctúan entre -0,510 y -0,530 °C, debido a que se encuentran en equilibrio con la presión osmótica de la sangre (Juárez-Barrientos et al., 2014).

Sin embargo, el indicador puede variar según la raza del animal: de -0,516 para cruces entre Holstein y Arshire, -0,535 para animales Holstein y -0,532 en animales Arshire (Senevirathne et al. 2016).

Lo anterior, muestra la alta variabilidad que se presenta en estos parámetros, sin embargo, se puede observar que existe un rango entre los cuales se vinculan todos estos valores.

6.4.1.7 pH y Acidez. La acidez de una solución resulta de la ionización de grupos que se separan o se unen a los protones. La leche es un fluido biológico secretado por las células mamarias (glándula) que debe mantener la isotonicidad con el plasma sanguíneo. Además, las proteínas de la leche existen en su estado coloidal nativo solo cuando el pH de la leche se mantiene constantemente dentro del rango dado. Cualquier cambio en el pH desestabilizaría las proteínas y provocaría precipitación y gelificación. La determinación de la acidez de la leche es una medida rápida para comprender la estabilidad de la leche durante su procesamiento.

La concentración de iones de hidrógeno de la leche es de aproximadamente 10-66 por litro, lo que significa que el valor de pH de la leche es de 6,6. La leche recién extraída es anfótera al papel tornasol, es decir, convertirá el tornasol rojo en azul y el azul en rojo. El pH de la leche de vaca sana normal oscilará entre 6,4 y 6,6. Si el animal sufre una enfermedad de la ubre como mastitis, el pH sería más alto que el de la leche normal.

Debido a la variación en la composición que es el resultado de la actividad de la glándula mamaria, se observa una diferencia en el pH de la leche cruda y su capacidad tampón. En general el pH es más bajo en calostro (pH 6,0) y más alto en casos de mastitis (hasta pH 7,5) que la leche normal. La leche de calostro y mastitis difieren de la leche normal en la proporción de proteínas y ciertas sales (se observa que la proporción de proteínas y ciertas sales es diferente). Las leches bajas en fósforo, caseína y Ca^{2+} tienden a tener una acidez titulable baja, mientras que la acidez excesiva está relacionada con hipercetonemia, calcio inadecuado y un exceso de alimentos balanceados en la ración.

La acidez titulable se utiliza principalmente como método para clasificar la leche cruda en la planta. Al usar esto, debemos tener en cuenta la variación en la acidez natural de la leche y su capacidad amortiguadora. Las condiciones de almacenamiento también influirían en la acidez inicial, lo que significa que si la leche se mantiene expuesta al medio

ambiente durante mucho tiempo y hay un mayor recuento microbiano en la leche, no se puede detectar el aumento inicial de la acidez.

La acidez titulable también podría ser útil para controlar la salud de la ubre de un animal. Un cambio en la acidez titulable indica el cambio en la salud de la ubre.

6.4.1.8 Olor y Color. La apariencia de la leche es blanca. Es el resultado de su estructura física y química (Rossi et al. 2018). El color natural de la leche se debe al reflejo de la luz por los glóbulos de grasa dispersos, el caseinato de cálcico y el fosfato cálcico. La leche también contiene dos clases de pigmentos: solubles en agua y solubles en grasa. El pigmento soluble en agua, que imparte un color amarillo con fluorescencia verde al suero de leche, se denomina lactoflavina. Es mejor conocida como riboflavina o vitamina B2, pero también se la conoce como vitamina G o lactocromo (Franco et al. 2020).

La leche es relativamente rica en esta vitamina. El contenido de riboflavina en la leche de vaca oscila entre 1,16 y 1,31 µg/ml. La riboflavina es termoestable y sensible a la luz. Para la leche de vaca almacenada en recipientes abiertos en un refrigerador a 8°C (en la oscuridad), la pérdida de riboflavina oscila entre el 16,0% y el 23,4% (Justo et al. 2015). Un pigmento soluble que se encuentra en la grasa da a los productos lácteos su color amarillo característico. La profundidad del color depende de la cantidad de pigmento presente. El grupo de pigmentos llamados carotínicos incluye β-caroteno, retinol y xantofilas (es decir, luteína y zeaxantina). El color del caroteno varía de amarillo a naranja y rojo anaranjado intenso a medida que aumenta la concentración. La cantidad de caroteno en el aceite de mantequilla depende de la cantidad de caroteno en la comida de las vacas. Los carotínicos se sintetizan en plantas, pero no en animales. Los pastos verdes, las zanahorias de heno y el maíz son ricos en caroteno. En su estudio, Mogensen et al. (2012) encontraron concentraciones de 0,17 y 0,41 mg de β-caroteno y retinol, respectivamente, por litro de leche en cinco hatos de leche en Dinamarca. Se han sugerido muchos factores para explicar la

variabilidad de los carotenoides en la leche, incluidos factores no dietéticos, como la raza, la etapa de lactancia, el estado de salud de la ubre, la producción de leche y grasa, así como los rasgos genéticos.

6.4.2 Calidad Microbiológica De La Leche Cruda

6.4.2.1 Microbiología de la leche cruda. Al igual que otros productos alimenticios, la mala obtención y manejo de la leche puede provocar problemas de salud para el consumidor. Esta secreción de la glándula mamaria del bovino tiene un alto contenido nutricional, lo que establece que sea una adecuado medio de cultivo para todo tipo de bacterias, entre ellas patógenos oportunistas, lo que facilita la contaminación de la leche, sino se tiene un adecuado manejo (Lucey, 2015).

6.4.2.2 Mohos y levaduras. La incidencia de mastitis por levaduras suele ser baja en los rebaños lecheros, pero ha aumentado significativamente durante la última década. Se ha descrito que la mastitis fúngica está relacionada con el tratamiento dirigido contra otros patógenos mediante el uso de jeringas, cánulas o preparados antibióticos contaminados. Las lesiones en los pezones pueden predisponer al establecimiento de una candidiasis. Se ha informado que las infecciones intramamarias por levaduras son responsables de al menos el 10% de todos los casos clínicos observados en la práctica veterinaria (Ksouri et al. 2015), y la mayoría de los casos suelen ser leves. Aunque se han utilizado fármacos antimicóticos para el tratamiento de la mastitis por levaduras, no hay pruebas claras de la eficacia de esta terapia.

6.4.2.3 *Staphylococcus aureus*. Uno de los patógenos causantes de mastitis más comunes sigue siendo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), que puede aparecer tanto en variedades crónicas como agudas, con tasas de curación marcadamente bajas.

Se informa que entre el 10 y el 40% de los casos de mastitis son causados por esta bacteria en el mundo, lo que incrementa su importancia para el sector lechero (Kateete et al., 2010). La mastitis es un desafío global que puede resultar en pérdidas financieras para la

industria láctea y la economía debido a la calidad deficiente de la leche, los costos de tratamiento y la consecuente nueva infección de otras vacas (Schröeder et al. 2012). La leche cruda contaminada en las granjas puede dar lugar a problemas posteriores a lo largo de la cadena alimentaria que dan lugar a la contaminación alimentaria asociada a *S. aureus* (Jakobsen et al., 2011).

S. aureus es un microorganismo anaerobio facultativo Gran Positivo, que se encuentra distribuido en muchos de los ambientes del mundo. Para la industria láctea representa grandes pérdidas económicas, por el deterioro de la leche, la disminución de la producción de la hembra bovina e incluso la pérdida de animales por presentar cuadros severos de mastitis (Suarez et al. 2017).

Su etología ha demostrado que la bacteria al entrar en el pezón de la vaca invade de manera agresiva el tejido glandular y conductos secretores, produciendo abscesos que se convierten en reservorios del microrganismo; al reventar, diseminan la bacteria sobre las demás zonas del animal y al igual que el ambiente circundante (Perguson et al. 2010). Por ello, la detección temprana de la enfermedad es importante para el estatus sanitario de los sistemas de producción, ya que su contagio se da principalmente por contacto directo con la bacteria, ya sea través de las pezoneras de la máquina de ordeño, los utensilios para el manejo y ordeño de la vaca.

Por otra parte, el alto riesgo de transmisión de la cepa a los seres humanos incrementa el nivel de control de este microrganismo. Esto se debe a que la leche es un producto importante en la nutrición del ser humano, y la contaminación de cualquier producto lácteo puede desencadenar problemas de salud pública (Manjarrez-López et al. 2012).

En las vacas lecheras, *S. aureus* puede aislararse de la leche, así como de otros sitios corporales diferentes. Se cree que la transmisión de infecciones intramamarias por *S. aureus* ocurre principalmente durante el proceso de ordeño, pero esto ha sido poco investigado en

situaciones donde el ordeño manual es común. Además, el ordeño manual puede introducir posibilidades de transmisión entre los agricultores y su ganado. La similitud genética de los aislamientos dentro y entre granjas sugiere una transmisión contagiosa en la propagación de bacterias, mientras que una mayor variedad de genotipos dentro de rebaños o regiones sugiere más patógenos ambientales. La genotipificación no solo proporciona información sobre los modos de transmisión, sino que también se puede utilizar para identificar los factores de virulencia de las bacterias.

Debido a que el uso de fármacos antimicrobianos, tanto en humanos como en animales, está mal controlado, el *S. aureus* resistente a múltiples fármacos se aísla con frecuencia en bovino y humano. Para el caso de los seres humanos, existe una tendencia al aumento de la resistencia a los antimicrobianos como consecuencias.

6.4.2.4 *Escherichia coli*. *E. coli* causa inflamación de la glándula mamaria en vacas lecheras alrededor del parto y durante la lactancia temprana con síntomas clínicos locales llamativos y, a veces, sistémicos graves. Esta enfermedad afecta a muchas vacas de alta producción en hatos lecheros y puede causar varios casos de muerte por año en las situaciones más graves. Es bien sabido que los factores bacterianos, de las vacas y del medio ambiente son interdependientes e influyen en la susceptibilidad a la mastitis. Muchos estudios, realizados durante la última década, indican que la gravedad de la mastitis por *E. coli* está determinada principalmente por factores de la vaca más que por la patogenicidad del microorganismo. Durante la mastitis por *E. coli*, el estado de defensa del huésped es un factor cardinal que determina el resultado de la enfermedad. Hoy sabemos que el neutrófilo es un factor clave en la defensa de las vacas contra la infección intramamaria por *E. coli*. La eliminación eficaz del patógeno por los neutrófilos es importante para la resolución de la infección.

6.4.3 Calidad Sanitaria

6.4.3.1 California Mastitis Test (CMT). La prueba estima cualitativamente la cantidad de ADN en las secreciones de la leche. Esto es útil porque las concentraciones de ADN y glóbulos blancos están directamente correlacionadas con el reactivo CMT lisa, haciendo que gelifique las células y el ADN. El grado de formación de gel se puede utilizar para estimar el número de glóbulos blancos en la muestra de leche. La prueba se lee subjetivamente como negativo, traza, +1, +2 y +3; estas puntuaciones se equiparan bien con los niveles de células somáticas. La CMT es más útil para detectar mastitis subclínica y, aunque precisa, tiene poca utilidad en la mastitis clínica aguda (Janosi y Baltay, 2004).

La prueba CMT mostrará un puntaje alto en vacas primerizas y vacas al final de la lactancia, justo antes del secado; en ambos casos, se debe evitar interpretarla como indicativo de mastitis subclínica.

6.4.3.2 RCS. Según la resolución 000017 de 2012 del Ministerio de Agricultura (2012), la calidad higiénica de la leche se define como la condición que hace referencia al nivel de higiene mediante el cual se obtiene y manipula la leche. En este orden de ideas, el recuento de células somáticas por mililitro (RCS/mL) en la mayoría de los casos puede estar asociado a patologías como la mastitis, la cual puede definirse como una reacción inflamatoria de la glándula mamaria, que produce alteraciones físicas y químicas en la leche, aumento del número de células somáticas por la presencia de microorganismos patógenos y finalmente cambios como es la pérdida de la funcionalidad (Calderón y Rodríguez, 2008).

Por tal razón, el recuento de células somáticas (RCS) es uno de los parámetros de mayor interés para determinar el estado sanitario de las ubres y la calidad de la leche. Este parámetro aumenta en proporción directa con la severidad del cuadro infeccioso. En una leche libre de mastitis subclínica, el RCS es bajo (< 100.000 RCS/mL). El incremento del RCS depende del patógeno causante de la mastitis (Rodríguez et al., 2015). El alto RCS se

asocia con inflamación de la ubre, lo que conduce a problemas bacteriológicos en la leche, una alteración en su composición y, finalmente, las principales modificaciones de las características del producto lácteo en comparación con los valores normales (Le Maréchal et al., 2011). Sin embargo, además de su función inmune en la ubre y funciones protectoras en la leche, recientemente se ha demostrado que los RCS influyen de manera positiva en la composición y las propiedades tecnológicas de los productos lácteos, participando en la calidad final de los productos a través de sus enzimas endógenas.

El estudio realizado por Martínez y Gómez (2013) estableció que la leche producida en la mayoría de los departamentos de Colombia tiene deficiente calidad higiénica, que es el resultado de inapropiadas condiciones de manejo durante la cadena productiva. De igual manera, los mismos autores encontraron que una gran proporción de muestras presentan altos porcentajes de acidez, que se relacionan con el crecimiento microbiano en la leche y deficiencia en la refrigeración. En características como grasa, sólidos totales y proteína, la leche presenta grandes atributos, gracias a los excelentes porcentajes que presentan con referencia a las exigencias de calidad, establecidas en el Decreto 616 de 2006.

6.4.3.3 Antibióticos en la leche. Cada año, 63151 toneladas de antibióticos se utilizan en el ganado en todo el mundo. En la cría de animales, los antibióticos se aplican con fines terapéuticos y profilácticos. Debido a algunos efectos positivos, se han utilizado múltiples antibióticos veterinarios (AV) en todo el mundo que promover el crecimiento y el tratamiento del ganado (Han et al. 2019).

El uso global de antimicrobianos en animales es el doble en comparación con los humanos. Muchos estudios han demostrado que porciones significativas (30% -70%) de antibióticos se liberan inalterados, es decir, con actividad antimicrobiana potencial en el medio ambiente. Tras su liberación, la mayoría de los antibióticos son persistentes y biológicamente activos.

Al respecto, la leche es un alimento muy consumido en el mundo que también tiene un gran valor para la salud humana. Sin embargo, los residuos de antibióticos se encuentran principalmente en la leche debido a su uso indiscriminado como tratamiento de enfermedades infecciosas de los animales. Junto a lo anterior, algunos antibióticos se utilizan como aditivos para piensos, que es otra fuente de residuos de antibióticos en la leche, responsable en última instancia de la posible importancia para la salud pública.

6.4.4 Variables de manejo y ambientales

La leche y los productos lácteos son componentes importantes de la dieta del mundo. La composición de la leche cruda determina, en gran medida, el valor nutricional y las propiedades agroindustriales de la leche. Por tanto, existe un gran interés en mantener una buena calidad. La composición de la leche varía con la etapa de lactancia, alimentación, estado de salud de la vaca y factores genéticos (Fox y McSweeney, 1998), y también depende de las condiciones climáticas (Stoop et al., 2009).

Las vacas Holstein, entre otras razas lecheras importadas, contribuyen significativamente a la producción de leche y la industria láctea. Sin embargo, a la importación de razas lecheras europeas que se realiza en nuestro país, le sigue un desempeño insatisfactorio bajo las condiciones tropicales (El-Khadrawy et al. 2015).

Se han investigado las variaciones estacionales en la producción y composición de la leche. Singh et al. (2020) estudiaron la influencia de las condiciones climáticas y la temporada en la composición de la leche en granjas lecheras ubicadas en el centro y sur de Suecia. Estos autores encontraron un menor contenido de grasa de la leche en verano en comparación con la leche de invierno y atribuyen las diferencias a los cambios de la temperatura. Por otra parte, Bouraoui et al. (2002) observaron una disminución significativa en la producción de grasa y proteína de la leche y un aumento significativo en el recuento de

células somáticas (SCC) de las vacas Holstein lactantes durante el periodo seco en comparación con el periodo lluvioso.

Un estudio retrospectivo de 4 años realizado en vacas Holstein (Rastani et al. 2001) observaron un aumento significativo en el SCC durante agosto y septiembre, periodo que se caracterizó por el incremento de las lluvias.

La información sobre el índice de temperatura-humedad (THI), el porcentaje de grasa y proteína de la leche y las relaciones entre el SCC y los patógenos ambientales es escasa. Pero estudios realizados en España muestran indicios que esta relación puede alterar la composición de la leche.

Además, hasta la fecha, existe escasez de información en la literatura con respecto a la variación estacional del recuento de coliformes, patógenos de las glándulas mamarias para SCC, coliformes y porcentaje de grasa, lactosa, proteína, sólidos totales y sólidos no grasos.

En muchos países en desarrollo, la producción de leche varía mucho según el tamaño del hato, la raza de ganado y las prácticas de ordeño. Sin embargo, los sistemas de producción suelen estar dominados por pequeñas explotaciones agrícolas. Por lo tanto, diariamente se entregan volúmenes relativamente pequeños de leche de numerosas granjas a cooperativas intermedias que abastecen a las unidades industriales.

Al respecto, Sraïri et al. (2009) sostienen que en esas cadenas lácteas de dos etapas, la calidad de la leche podría mejorarse centrándose en las prácticas agrícolas en lugar de en las pruebas de las entregas individuales. De hecho, es difícil analizar la calidad debido a limitaciones técnicas, económicas y logísticas.

6.4.5 Lactancia de hembras bovinas.

La lactancia o curva de lactación describe la producción de leche desde el fin de la fase calostral hasta el momento de secado. Su duración aproximada es de 300 días, y se

divide en temprana, media y tardía. Cada etapa comprende 100 días, esto es, de 0 a 100 días, de 101 a 200, y de 201 a 300 días. Esta última se extiende en algunas hembras.

Una curva de lactancia típica aumenta rápidamente desde el parto hasta el pico de producción y luego disminuye gradualmente a medida que avanza la lactancia. Las variaciones en la forma de la curva de lactancia provienen de factores que incluyen antecedentes genéticos, número de parto, dieta y otras influencias ambientales (Abdelkrim et al. 2021).

El conocimiento de la forma de la curva de lactancia es valioso en un contexto de manejo, especialmente para decisiones que dependen del tiempo. Esta curva permite determinar el pico de producción de leche y de esta manera, ayudar a los productores o a los administradores a planificar estrategias de alimentación para mantenerlo el mayor tiempo posible. Además, la persistencia de la producción de leche es un aspecto importante del rendimiento total. Una vaca con una curva de lactancia más plana en comparación con otra vaca con la misma producción total de leche de 305 días puede experimentar menos estrés y tener una mayor eficiencia alimenticia (Chiapella et al. 2020).

6.4.6 Mastitis.

La mastitis subclínica se considera como la enfermedad con mayor prevalencia en el ganado bovino, que tiene un impacto importante sobre los sistemas de producción de leche y la obtención de sus derivados. Se considera la enfermedad con mayor costo en la industria láctea, por lo que su identificación y manejo dentro de los sistemas es muy importante (Ruiz-Gil et al., 2016).

Ponce y Villoch (2010) mencionan que esta enfermedad muestra cambios en las condiciones físicas de la leche y la ubre, tiene un efecto reductor de la producción y altera los

componentes de la leche. Además, puede presentar cuadros clínicos como inflamación en la ubre.

7 Materiales y Métodos

7.1 Localización.

La presente investigación se realizó en la finca lechera San Antonio, que está ubicada en el corregimiento de El Espino perteneciente al municipio de Sapuyes (figura 1). Se encuentra a 12 km del municipio de Túquerres vía a Tumaco, a una altura de 2800 m.s.n.m., con temperatura promedio de 11°C, precipitación media anual de 800 mm y humedad relativa del 75%. De acuerdo con la clasificación de Holdrige (1967), la finca se encuentra ubicada en una zona de bosque húmedo montano (bh-M).

7.2 Animales y manejo

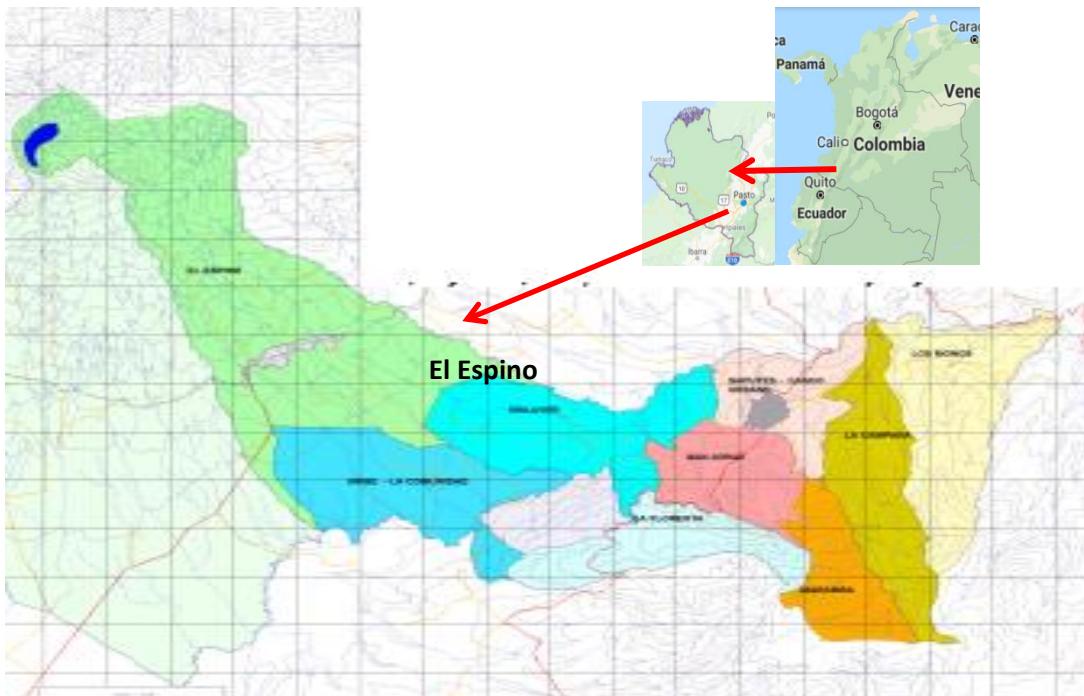
Se seleccionaron 15 hembras preñadas que estaban cerca del parto con un peso promedio de 650 ± 80 kg. Como criterio de inclusión se utilizaron vacas de raza Holstein mestizo (cruces) y sin ninguna patología preexistente previo diagnóstico realizado por el Médico Veterinario de la finca. Los animales se mantuvieron en un sistema rotacional, el cual consta de 5 lotes con periodo de ocupación de 20 días y 50 días de descanso. La alimentación de las hembras se basó en una pradera de pasto Saboya (*Holcus lanatus*) y Kikuyo (*Cenchrus clandestinum* Hochst. ex Chiov) y se suplementaron con 2 kg de alimento al día, un kilogramo de balanceado comercial (tabla 3) y un kilogramo de papa gambera troceada y fresca (tabla 3). Los animales tuvieron agua a disposición, proveniente de una nacimiento natural de la finca, lo que significa que la tomaron en forma *ad libitum*.

Tabla 3. Análisis bromatológico para los suplementos de las vacas.

Nutriente	Balanceado Comercial	Papa
Proteína	18	6,75
Grasa	4	0,37
Fibra		
Cruda	12	1,79
Cenizas	12	3,62

En cuanto al manejo sanitario de la finca, esta cuenta con certificación en buenas prácticas ganaderas y con las vacunas de Brucelosis y Fiebre Aftosa. En cada ordeño se realizó el control de mastitis mediante California Mastitis Test (CMT) durante la mañana.

Figura 1. Localización.



Fuente: Esquema de ordenamiento territorial del Municipio de Sapuyes (2021).

7.3 Muestreo

Se recolectaron dos muestras de 30 mL de leche de cada cuarto de la ubre durante toda la lactancia de las hembras. Se realizaron 1056 tomas en total.

Para la recolección de muestras se tuvo en cuenta las disposiciones generales de la guía para el muestreo descrita en la Norma Técnica colombia (NTC) 666, las Buenas Prácticas Ganaderas (BPG), y Buenas Prácticas de Ordeño (BPO) (López et al. 2016).

Las muestras tomadas se refrigeraron inmediatamente a 4°C y fueron llevadas al laboratorio en un periodo no máximo de 4 horas. Las muestras para las pruebas microbiológicas fueron tomadas en recipientes plásticos estériles (figura 2).

Figura 2. Almacenamiento de las muestras.



7.4 Determinación de variables

7.4.1 Calidad composicional de la leche. Para ello, se determinó las variables físicas-químicas: acidez, pH, densidad, proteína, lactosa, grasa, sólidos no grasos, sólidos totales, punto de congelamiento, y las variables organolépticas color y olor.

7.4.1.1 Lactoscan. Las variables proteína, grasa, sólidos no grasos, lactosa, densidad y punto de congelamiento se determinaron mediante el equipo para análisis de leche Lactoscan (Ultrasonic milkanalyzer, Bulgaria, 6000 Stara Zagora). Los procedimientos para el equipo se validan por la empresa mediante las siguientes normas: proteína (AOAC 345), Grasa (AOAC 367), sólidos no grasos (AOAC 402); para el caso colombiano, los métodos se encuentran avalados en la NTC 4659 de 1999, NTC 5860 de 2011 y NTC 399 de 2018 respectivamente.

El procedimiento realizado fue el siguiente: se tomaron 25 mL de muestra en un beaker para luego permitir que el equipo succionará la muestra. Luego de un (1) minuto los resultados del equipo aparecieron en el display, por lo que se procedió a realizar su registro en formatos diseñados para esta labor.

7.4.1.2 Acidez. La acidez se determinó por titulación con hidróxido de sodio (NaOH 0,01 N) mediante el procedimiento descrito en la Norma Técnica Colombiana (NTC) 4978 de 2001 (ver figura 3). Para ello, se tomaron 9 mL de leche y fueron vertidos en un vaso de precipitación. Por otra parte, en una bureta se colocó hidróxido de sodio a 0,01 N. Se procedió a colocar cuatro gotas de fenolftaleína en la leche y se tituló dejando caer el hidróxido de sodio sobre la muestra. Se dejó de agregar hidróxido cuando se observó un color rosa persistente. Enseguida se midió la cantidad utilizada para la titulación y se calculó la acidez de acuerdo con la fórmula.

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{mL \text{ NaOH gastado} * \text{Normalidad NaOH} * \text{eq. G ác. láctico}}{mL \text{ o g de muestra de leche}}$$

eq. G = 0.09 (P.M. ácido láctico = 90/1000 g = 0.09 g)

Figura 3. Prueba para la determinación de la acidez.



7.4.1.3 pH. Para ello, se utilizó la Norma Técnica Colombiana (NTC) 4978 de 2001, ajustada con el procedimiento de Urbina et al. (2017) para muestras de leche cruda. Se tomó una muestra de 10 mL en un beaker, y se procedió a introducir el electrodo del pH-metro

(Jeson KJD, Toronto, Canadá), previamente lavado con agua destilada, y se esperó a que el equipo realice la lectura del pH y se mostrará en el display.

7.4.3 Calidad sanitaria de la leche.

En esta acápite se realizó el test CMT, se evaluó la presencia de antibioticos en leche y el recuento de células somáticas.

7.4.3.1 California Mastitis Test (CMT, InmmuCell Corporation, Portland, EEUU). Esta prueba fue realizada durante el ordeño de la mañana, mientras se tomaba las muestras de leche. La prueba se realizó en una paleta de plástico con 4 cavidades marcadas con las letras A, B, C y D, se colocó muestras de leche (aproximadamente 10 mL) de cada cuarto y se agregó una cantidad equitativa de reactivo de la CMT (Goopel). La paleta se agitó en forma circular para mezclar el reactivo con la leche. Luego de 10 segundos, se observó el resultado mientras se continuaba moviendo la paleta.

La interpretación de los resultados se puede observar en la tabla 4.

Tabla 4. Escala y rango para interpretación de la prueba CMT.

Escala de CMT	Rango relativo del nivel de células somáticas (cs/ml)	Interpretación
Negativo (Sin grumos)	< 200.000	Cuarto sano
Trazas (grumos leves)	150.000 – 400.000	Mastitis subclínica
1(presencia de grumos)	400.000 – 1.200.000	Mastitis subclínica
2 (grumos medianos)	1.200.000– 5.000.000	Infección seria
3 (grumos grandes)	> 5.000.000	Infección muy seria

Las muestras de leche de los cuartos positivos (trazas) para CMT fueron utilizadas para realizar el antibiograma por el método de Kirby Bauer (1959).

7.4.3.2 Determinación de antibioticos en leche. La determinación se sustenta en el Codex Alimentarius (2010), el decreto 616 de 2006 y la NTC 5371 de 2005. Para ello, se utilizó el kit Charm MRL Beta-Lactamas (Charms Sciences INC, Lawrence, EEUU).

Primero se verificó la temperatura del incubador ROSA, la cual debe encontrarse en $55 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Antes se identificó las tiras con el código de la vaca para mantener un control, y así se dispuso en la incubadora, manteniéndola plana. Enseguida se expuso el compartimiento de la muestra, levantando la tapa hasta la línea rotulada con “Peel to Here”, evitando levantar la tira blanca debajo del tape. Luego, con una pipeta de $3 \mu\text{L}$, se aspiró la muestra, evitando la formación de espuma, manteniendo la pipeta verticalmente, lentamente se depositaron los $3 \mu\text{L}$ de muestra en el compartimiento para la misma, justo al lado de la línea indicadora. Se reselló la tapa sobre el compartimiento de muestra. Finalmente, se cerró la tapa de la incubadora y se incubó por 8 minutos. Al terminar el proceso, se removió las tiras de la incubadora ROSA con la muestra hacia abajo para ser interpretada (ver figura 4).

Figura 4. Prueba de antibióticos



La tira muestra una linea control (c), una línea de betalactámico (BL) y una línea de tetraciclinas (TE). Cuando una de las líneas (BL, TE) o ambas presenta coloraciones similares o más intensas a la control se identificó como una muestra positiva.

7.4.3.3 Recuento de células somáticas (RCS). Se realizó mediante el procedimiento propuesto para Buenas Prácticas de Ganadería (BPG), detallado en el protocolo de Corpolic

(2010) para muestras de leche cruda. Se usó el Contador de células somáticas de Charm (Charms Sciences INC, Lawrence, EEUU). Para la evaluación se tomó una muestra con la pipeta del proveedor y se agregó una gota en el pocillo de la tira medidora, hasta que esta la absorba totalmente, enseguida se agregó una gota del reactivo de goopol. Luego, se dejó la tira 45 minutos en una zona oscura, para finalmente proceder a hacer la lectura de la tirilla en el lector digital: esto se hizo colocando la tira con el lado del pocillo hacia dentro del contador y se pulsó la función medir, se esperó a que el equipo leyera la tirilla y determinara el recuento de células somáticas, que se observa en el display del contador.

7.4.4 Calidad microbiológica de la leche. Se determinó la presencia de enterobacterias, mohos y levaduras, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Además, se realizó antibiograma por el método de Kirby Bauer para las muestras positivas al test CMT.

7.4.4.1 Determinación de enterobacterias, mohos y levaduras, coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y *E. coli*.

Para esta evaluación se usaron los kits de detección rápida de Charms (Charms Sciences INC, Lawrence, EEUU):

- Enterobacterias Peel Plate SA enterobacteraceas©. Se observó las colonias rojas/púrpura través del lado claro de la prueba. Cada punto representa 1 UFC. La suma de estos puntos se reportó como UFC/mL de la muestra analizada.
- Hongos y levaduras (Peel Plate SA mohos y levaduras©). Se observó las colonias a través del lado claro de la prueba. Cada punto azul ó azul/gris/ verde/cafe representa una UFC. La suma de estos puntos se reporta como UFC/mL de Levaduras y Mohos Totales de la muestra analizada.

- *Staphylococcus aureus* (Peel Plate SA Staphylococcus aureus©). se utilizó la prueba Peel Plate SA Staphylococcus aureus © (Charms Sciences INC, Lawrence, EEUU) (Quitiaquez et al. 2021), la cual se basa en el agar selectivo de Baird Parker y sustratos de enzimas colorimétricas múltiples para el crecimiento e identificación mediante colorimetría. La identificación del microorganismo se observó como puntos de color violeta con punto blanco luego de realizar la respectiva incubación a 37°C por 12 horas.
- *E. coli* (Peel Plate SA *Escherichia coli*©). Se observó las colonias través del lado claro de la placa. Cada punto coloreado, azul y rojo representa 1 UFC de coliformes. La suma de estos puntos se reporta como el UFC de coliformes totales/ml de la muestra analizada.

7.4.4.2 Antibiograma. Se realizó prueba de sensibilidad a los antibióticos mediante la técnica de Kirby Bauer (1966). Se tomó con un hisopo una muestra de la leche a evaluar, posteriormente se procedió a sembrar la caja de Petri con agar Mueller Hinton por la técnica de estría. Enseguida se llevaron las cajas a incubar a 37 °C por 12 horas. Se colocó dos antibióticos por caja.

Después de este tiempo, se procedió a medir el diámetro del halo producido alrededor de los discos teniendo en cuenta los parámetros establecidos para estas mediciones según los laboratorios de referencia. Los antibióticos evaluados fueron Cefalexina CL 30 µg, Gentamicina CN 10 µg, Lincomicina L 23, Penicilina P 10 IU, Trimetropin Sulfa 25 µg y Amoxicilina AX 15 µg.

7.4.5 Variables ambientales y de manejo. Para las variables ambientales, se tomaron los valores de humedad, precipitación y temperatura emitidos por el IDEAM durante el

periodo comprendido entre el 3 de septiembre de 2019 a 10 de noviembre de 2020 en el municipio de Sapuyes (IDEAM, 2020).

Ademas, se tuvo en cuenta los registros de las vacas evaluadas y se determinó la edad, número de lactancias y la producción diaria de leche.

7.4.6 Clasificación de variables. Las variables se clasificaron de la siguiente manera:

7.4.6.1. Cuantitativas. Acidez, pH, proteína, grasa, sólidos no grasos, lactosa, sólidos totales, punto crioscópico, recuento de células somáticas.

7.4.6.2 Cualitativas. Antibioticos, test de mastitis (CMT), determinación de *Staphilococcus aureus*, mohos y levaduras, coliformes totales y *E. coli*, enterobacterias y Antibiograma.

7.4.7 Manejo de Residuos de las muestras procesadas en el laboratorio de investigación PROBIOTEC-FORAPIS. El manejo de los residuos se realizó mediante los procedimiento establecidos por la Universidad de Nariño para residuos biológicos, ya que las muestras fueron procesadas en el laboratorio del grupo de investigación PROBIOTEC-FORAPIS, que se encuentra adscrito a la Universidad. Los residuos inertes se dispusieron en los contenedores de color verde o canasta de la basura ordinaria, mientras que los residuos biológicos, todo lo derivado del contacto con la leche, se ubicaron en los contenedores rojos y en bolsa roja, para que el personal del aseo de los laboratorios de la Universidad de Nariño realicen la recolección y eliminación correcta de estos residuos.

7.4.8 Implicaciones Éticas. El Autor de la presente Tesis de Maestría realizó todas las actividades de recolección, almacenamiento, procesamiento y análisis de la información con la mayor rigurosidad posible y con los códigos de ética establecidos por las autoridades colombianas e Internacionales, para ello tuvo en cuenta el Decreto 2344 de 1982 emitido por

el Ministerio de la Protección Social, la Resolución 1067 de 1991 del Ministerio de Agricultura, la ley 84 de 1989 del Congreso de la República y la ley 1774 de 2016 del Congreso de la República.

Por otra parte, se debe aclarar que la presente investigación requirió bajos niveles de intervención en los animales utilizados, dado que no se les administra ningún tipo de tratamiento invasivo. Además, de tomarse las muestras durante el momento del ordeño, factor que no se considera estresante para el animal, ya que se encuentra en su rutina de manejo.

7.5 Análisis Estadístico

7.5.1 Transformaciones. Para una interpretación correcta de las variables. Los parámetros de grasa, proteína, sólidos no grasos y sólidos totales se transformaron a kilogramos mediante la fórmula propuesta en la resolucion 000017 de 2012 del Ministerio de Agriculatura y Desarrollo Rural (MADR), que se presenta a continuación:

$$Valor \text{ kg} = Valor \% * \text{densidad de la leche} * 10$$

De igual manera, la producción, que se encontraba expresada en litros, se transformó a kg mediante la siguiente fórmula:

$$Kg \text{ leche} = \text{Densidad} * \text{Volumen} (l)$$

Finalmente, los valores de recuento de células somáticas se transformaron a *score* de células somáticas mediante la formula propuesta por Ali y Shook (1980), con el fin de corregir la normalidad de la variable.

$$SCC = ((\log 2 (RCC)/100000) + 3$$

7.5.2 Grasa/proteína. Para ello, se determinó la razón de grasa sobre proteína y se expresó como ratio.

7.5.3 Análisis. Se tomó como unidad experimental la vaca, con un número total de 15 sujetos, de cada animal se realizó 20 tomas de leche por cada cuarto de la vaca, tomas que fueron distribuidas en recolecciones cada 15 días a partir del quinto día de lactancia (para evitar el calostro).

7.5.4 Estadística. Se utilizó estadística descriptiva y gráficos estadísticos para interpretar los resultados. Los cambios durante la lactancia se determinaron mediante una estanderización de las curvas de lactancia a 305 días (Wilmink 1987), para luego desarrollar un modelo de medidas repetidas en el tiempo, donde los animales y los muestreos se incluyeron como efectos aleatorios y los cuartos de la ubre y el tercio de lactancia como efectos fijos. Para evaluar la mejor estructura de covarianza en los modelos (sin estructura, autoregresiva, autoregresiva de primer orden) se usó el criterio de información Bayesiano (BIC) y Criterio de información de Akaike (AIC).

La relación entre todas las variables se determinó con la técnica de componentes principales, cuya matriz de correlaciones se graficó en un mapa de calor (Heatmap), a este se adhirió una dendrograma para seleccionar variables que permitan agrupar las variables y mejorar la comprensión de la relación. El ajuste de los modelos fueron evaluados mediante el estadístico de Fisher a un nivel de significancia del 95% para seleccionar el mejor y se buscó que la variabilidad explicada por el mismo fuera mayor al 80%. La recolección y organización de la información se realizó en una hoja de cálculo Excel© y para el análisis de la información se utilizó el programa estadístico R 3.5.0 (2018) con los paquetes FactoMiner 2.4 (2020) y ggplot 3.5.5 (2021).

Figura 5. Toma de muestras.



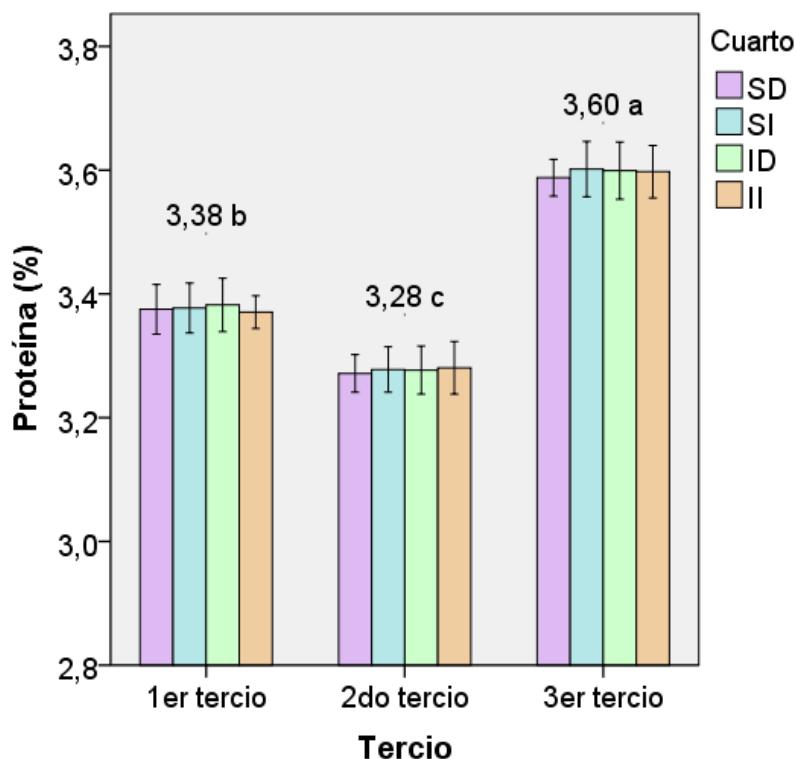
8. Resultados y Discusión.

8.1 Evaluación de la Calidad Composicional de la Leche Cruda.

8.1.1 Proteína.

Se encontró mayor concentración de proteína en el último tercio, seguido del primero y el segundo, mientras que no se observó diferencias entre los cuartos (Figura 6). Al evaluar la cantidad de gramos de proteína producida se encontró una producción total de 10,46 kg de proteína por lactancia.

Figura 6. Análisis de proteína.



Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

Rodríguez et al. (2015) y Lemus et al. (2008) observaron cambios similares en el porcentaje de proteína de la leche durante la lactancia de hembras bovinas de la raza Holstein puras y mestizas. Este fenómeno se puede entender por cambios en el contenido de agua, especialmente durante la lactancia tardía (último tercio), que concentra la proteína y genera un mayor porcentaje. De igual manera, los resultados reportados por Muñoz et al. (2019) y

Quitiaquez et al. (2021) en diferentes estudios indican valores de proteína de 3,00, 2,92 y 3,17% para el primero, segundo y tercer tercio de lactancia en el trópico alto de Nariño; estos datos son menores a los reportados en la figura 6; una posible respuesta a este fenómeno se debe a la calidad de forraje ofrecido a los animales que permite una mejor expresión de su potencial genético; mejores condiciones sanitarias, dado que se observó un adecuado plan sanitario; así como el uso de buenas prácticas de ordeño, que reduce los riesgos de enfermedades en los animales.

También, se debe tener en cuenta que no existieron diferencias significativas entre los cuartos de la ubre ($p>0,05$). Igual respuesta se observó en el estudio de Valckenier et al. (2021) quienes observaron valores similares de proteína para los cuartos en vacas Holstein mestizas en pastoreo de mezcla de raigrás y trébol. Este fenómeno puede responder a que el animal se encuentra expuesto a condiciones similares de manejo, y la incidencia de mastitis en el hato fue muy baja, siendo este uno de los factores que afecta de forma individual a los cuartos (Halasa y Kirkeby, 2020). Además, la ración de los animales fue establecida para suplir sus requerimientos nutricionales y con ello, se evitó la presencia de problemas metabólicos que generen cambios en la composición por cuartos.

De acuerdo con García et al. (2014), la proteína de la leche de vacas Holstein mestizas oscila entre 3,0 y 3,68%, valor que está dentro de lo encontrado en esta investigación (3,28 a 3,60%). Al respecto, Cipolat-Gotet et al. (2013) indican que la proteína es muy importante para la industria láctea, debido a su influencia sobre muchos de los derivados de la leche, entre los que se tiene a los quesos, el yogur, entre otros. De igual manera, Sun et al. (2019) manifiestan que la proteína láctea contiene diferentes proteínas con características particulares, entre las que se encuentra el grupo de las caseínas y las proteínas de suero. El primer grupo representa cerca del 85% de las proteínas (alfa, beta y kappa caseína), se

encuentra entre 25 a 28 g/L de leche y se caracteriza por estar asociado con el fosfato cálcico (caseinatos cálcicos).

El restante 15% son proteínas de suero, entre las que encontramos alfa-lactoalbúmina, beta-lactoglobulina, inmunoglobulinas y seroalbúminas.

El estado de lactancia muestra influencia en la composición de la leche. Este fenómeno responde a los cambios en la concentración de la proteína, que se ve alterada por el contenido de agua. Los estudios realizados por Marsh et al. (2021) indican que durante el pico de producción (finales del primer tercio e inicios del segundo tercio), la cantidad de agua presente en la leche se incrementa, lo que hace que se observe un menor contenido de proteína durante este periodo y se tenga una falsa disminución de su porcentaje, razón que establece las diferencias en los resultados estadísticos encontrados.

Finalmente, se debe mencionar que la proteína es uno de los componentes de la leche que menores cambios presenta con la modificación nutricional, ambiental o sanitaria, ya que está muy regulada por los componentes genéticos de las razas (Leduc et al. 2021).

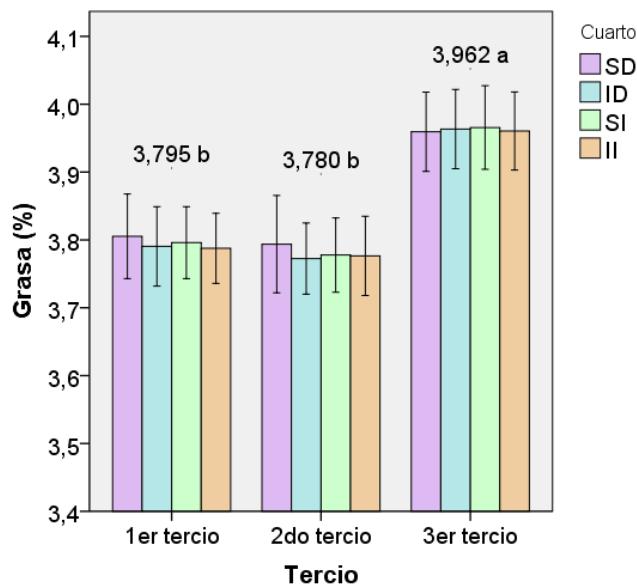
8.1.2 Grasa.

La grasa mostró diferencias significativas para el tercio de lactancia. Este parámetro tuvo un incremento en su contenido en el tercer tercio de lactancia ($p<0,05$, Figura 7).

Al respecto, Stoop et al. (2009) manifiestan que la reducción durante este periodo es consecuencia de los cambios en la energía del animal, dado que al inicio del segundo tercio se encuentra el pico de producción y esto trae como efecto un balance energético negativo, y una mayor utilización de los nutrientes, entre los que se encuentra la grasa. Junto a lo anterior, Philipe et al. (2019) mencionan que a medida que se incrementa la producción de leche; esta aumenta en mayor porcentaje el contenido de agua, lo que ocasiona que la

cantidad de grasa se vea diluida durante los primeros tercios de lactancia y por consiguiente se observe una merma en su porcentaje.

Figura 7. Análisis para la grasa.



Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

De igual manera, el decreto 616 indica que la leche cruda debe contener un mínimo de 3% de grasa para cumplir con las características técnicas de la leche, observándose valores de 3,78 a 3,96% demostrando elevados niveles, que traen beneficios para el productor y la industria; al respecto, la grasa se utiliza en muchos productos derivadas de la leche, especialmente lo concerniente a la producción de mantequilla y cremas, que son un valor agregado para la industria lechera. Los estudios realizados en el trópico alto de Nariño muestran un comportamiento menor, ya que se observa porcentajes de 2,72, 2,74 y 2,36 para primero, segundo y tercer tercio de lactancia (Muñoz et al. 2019, Quitiaquez et al. 2021). Estos cambios en el contenido de grasa puede ser consecuencia del tipo de manejo que se realice a los animales; el factor nutricional juega un rol importante para aumentar este parámetro, lo que señala que la alimentación cubre de forma satisfactoria las necesidades del

rebaño. Al respecto, Hanuš et al. (2018) refieren que la grasa de la leche es un componente que obtiene la vaca de tres fuentes: la primera a través de la alimentación, la segunda, las reservas corporales y la tercera, la síntesis de *novo* (proceso que sintetiza la grasa a partir de estructuras carbonadas). En este aspecto, las dos primeras son más importantes debido a que con ellas se puede modificar en cierta medida el aporte de grasa del animal mediante el suministro de fuentes externas (alimentación), caso contrario a la proteína, que tiene un alto componente genético para su variación y por ello, se necesita recurrir a la selección de los animales para lograr mejores resultados (Kalač y Samková, 2010).

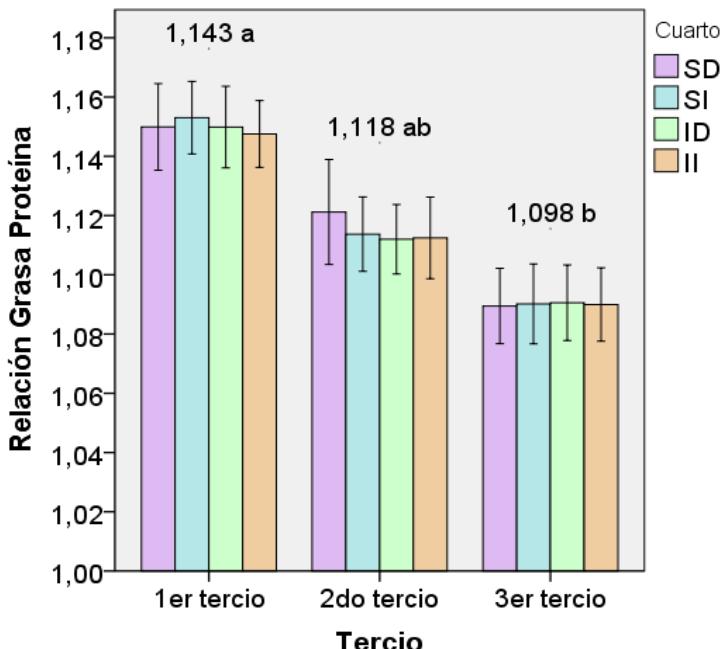
Informes de vacas Holstein cruzadas con Jersey, Pardo Suizo y Simmental indican que el contenido de grasa de la leche de vaca disminuye a partir del segundo tercio de lactancia y se incrementa durante el tercero resultados que son congruentes con lo observado en la investigación. Por otra parte, Reinhardt et al. (2013) no observó diferencias, esto posiblemente a la forma como se tomaron las muestras, dado que se realizó un muestreo mensual para cada animal, reduciendo de manera importante la variabilidad y precisión de las muestras obtenidas.

8.1.3 Relación grasa proteína.

La relación grasa proteína mostró valores similares entre los tercios de lactancia ($p>0,05$). Los valores para esta relación deben estar entre 1,01 a 2, lo que indica que las estimaciones obtenidas están dentro del rango expuesto (Figura 8). Esto es importante, dado que la relación muestra el estado metabólico del animal. Cuanto el valor obtenido es inferior a 1 se determinan deficiencias nutricionales para la vaca, mientras que valores superiores a 2 son un indicador de excesivo suministro de alimentos energéticos, y por consiguiente, la presencia de futuros problemas de producción para el animal, esto como consecuencia de un engrasamiento excesivo de la glándula mamaria que disminuye el número de células

secretoras de leche en la ubre y con ello, una disminución de la producción (Ryman et al. 2015).

Figura 8. Relación grasa proteína.



Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

Los estudios realizados por Gunter et al. (2011) demostraron que la relación grasa/proteína se ve afectada por factores como la raza y el manejo, la primera depende de factores genéticos, mientras que la segunda de factores ambientales. Esto se puede comprender, dado que, el cambio de la cantidad de proteína está ligado al componente genético y la grasa se puede modificar con el manejo. De acuerdo con lo anterior, la relación entre ambos parámetros (grasa y proteína) es correcta, evidenciando una adecuada alimentación de los animales. De igual manera, los resultados descartan la existencia de problemas sanitarios en el hato, que son un factor importante para cambios en la composición de la leche (Gansen et al. 2014).

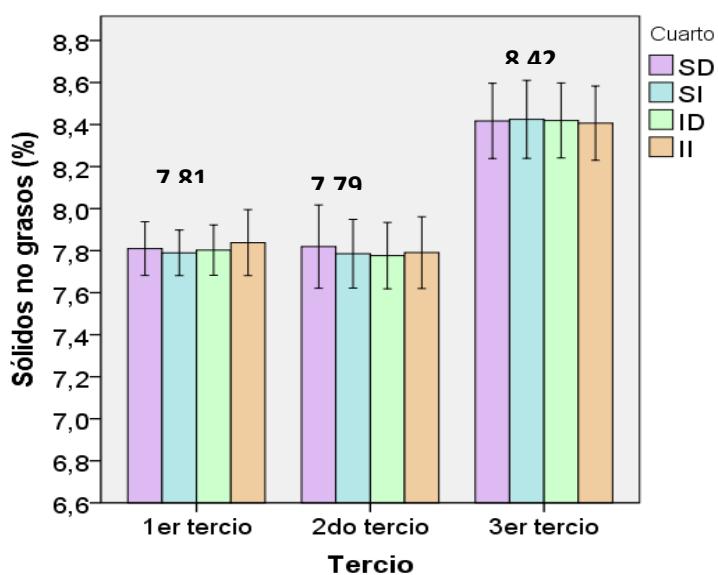
8.1.4 Sólidos no grasos (SNG).

Como ha venido sucediendo con las otras variables, el contenido de sólidos no grasos (SNG) mostró diferencias en el tercio de lactancia ($p<0,05$, Figura 9). Los resultados son

similares a los reportados por Cardona et al. (2010), quien menciona un porcentaje de 6,31 a 7,23 SNG en ganado Holstein mestizo en pastoreo. Sin embargo, se debe tener en cuenta que durante el estudio realizado por este autor se encontró que los animales presentaron problemas nutricionales, factor que disminuyó los parámetros de composición de la leche, incrementando la hipótesis que el manejo nutricional de las vacas del hato San Antonio fue buena.

Para el caso del departamento de Nariño, Quitiaquez et al. (2021) y Muñoz et al. (2019) hallaron valores de 8,45, 8,44 y 8,43% para el primero, segundo y tercer tercio de lactancia respectivamente. Estos valores, como se mencionó en para otros parámetros, son mayores para el primero y segundo tercio (7,98 a 8,53%), sin embargo, se debe tener en cuenta que la información viene de diferentes estudios, lo que podría explicar los cambios en el contenido de SNG en esta investigación, la cual utilizó los mismos animales para evaluar cada tercio.

Figura 9. Sólidos no grasos.

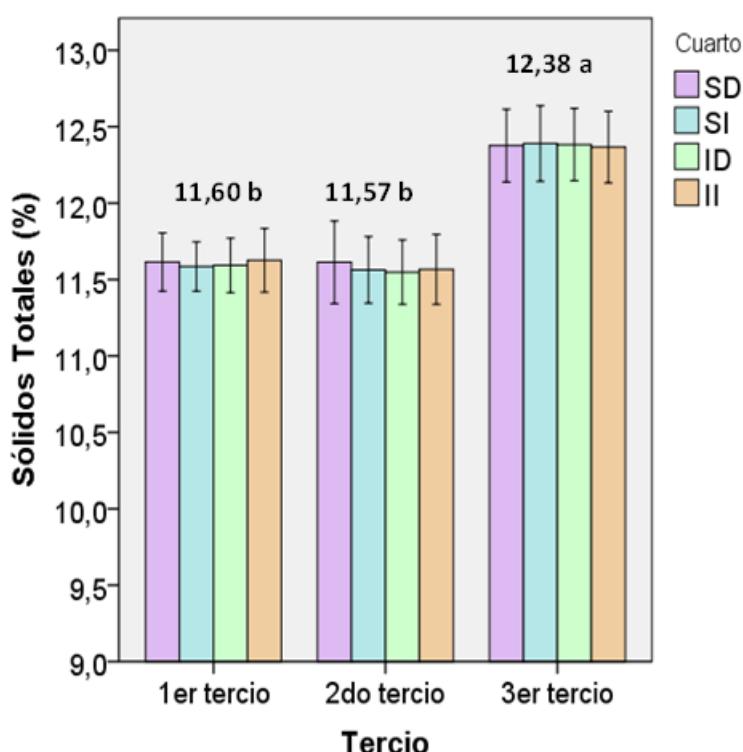


Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

8.1.5 Sólidos Totales (ST).

Este parámetro presentó resultados estadísticos similares a SNG ($p<0,05$ Figura 10), esto se explica porque este parámetro no fue medido de forma directa, sino que se obtuvo mediante fórmula matemática, de la cual los sólidos no grasos tienen un peso preponderante.

Figura 10. Sólidos totales.



Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

Por otra parte, los resultados son similares a los obtenidos por Gallego-Castro et al. (2017) con valores entre 11,61 a 11,86 para ganado Holstein en zonas superiores a los 2600 msnm. Al respecto, el decreto 616 de 2006 menciona que la leche cruda debe tener un contenido mínimo de 11,3% de sólidos totales; esto indica que las muestras obtenidas están dentro de lo requerido por la norma y por consiguiente es una leche con buenas características para este parámetro.

Los resultados para sólidos totales reflejan el comportamiento de los otros componentes de la leche, dado que es la suma de todos ellos; esto explica porque se observa un incremento durante el tercer tercio de lactancia en este parámetro, ya que se tiene un incremento de la misma en las variables evaluadas anteriormente. Los estudios han dilucidado un incremento de sólidos al final de la lactancia como consecuencia de una disminución en el contenido de agua de la leche, esto hace que los niveles de producción de leche disminuyan por incremento del contenido de agua que presenta y se dé la sensación de un incremento en los sólidos totales (Kammal et al. 2018; Brink et al. 2019; Man y Curone, 2020).

8.1.6 Lactosa.

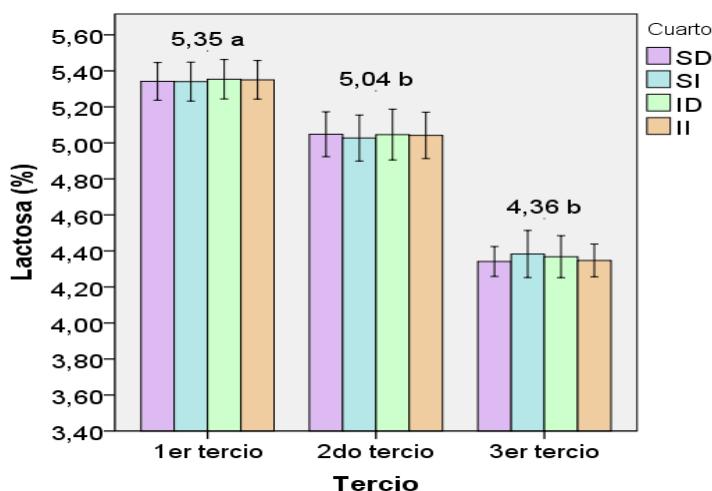
El parámetro mostró diferencias entre los tercios y se observó un decrecimiento desde el primero hasta el tercer tercio de lactancia (Figura 11, $p<0,05$). Los reportes para vacas Holstein muestran porcentaje de 4,78 a 5,23 en diversos estudios (Córdoba et al. 2010, O'Sullivan et al. 2019), valores que son cercanos a lo encontrado en la Figura 11. De igual manera, Quitiaquez et al. (2021) indican valores similares para toda la lactancia (5,12 a 5,18%) en los tres distritos lecheros de la cuenta de Nariño (Pasto, Guachucal y Pupiales), lo que evidencia manejos similares para los sistemas de la región.

La lactosa es el azúcar de la leche y tiene una importancia relevante para la elaboración de productos fermentados, dado que es el combustible energético de las bacterias, esto proceso bioquímico trae como subproducto el ácido láctico, que genera algunas de las características más deseables de los productos fermentados (Kanurić et al. 2018).

La lactosa, a diferencia de los otros componentes de la leche, disminuye durante la lactancia, como se observa en la figura 11. Si se tiene en cuenta que este parámetro está muy relacionado con el contenido de agua, se explica de manera adecuada su reducción en el tiempo. Al respecto, Sobti et al. (2020) indican que la lactosa tiene un alto componente

osmótico y por consiguiente una fuerte influencia sobre el agua, por lo que regula la cantidad que ingresa al alveolo; cuando se incrementa su concentración se establece un desplazamiento desde fuera del alveolo hacia su interior, lo que incrementa el contenido de agua que se secreta en la leche.

Figura 11. Lactosa.



8.1.7 Acidez.

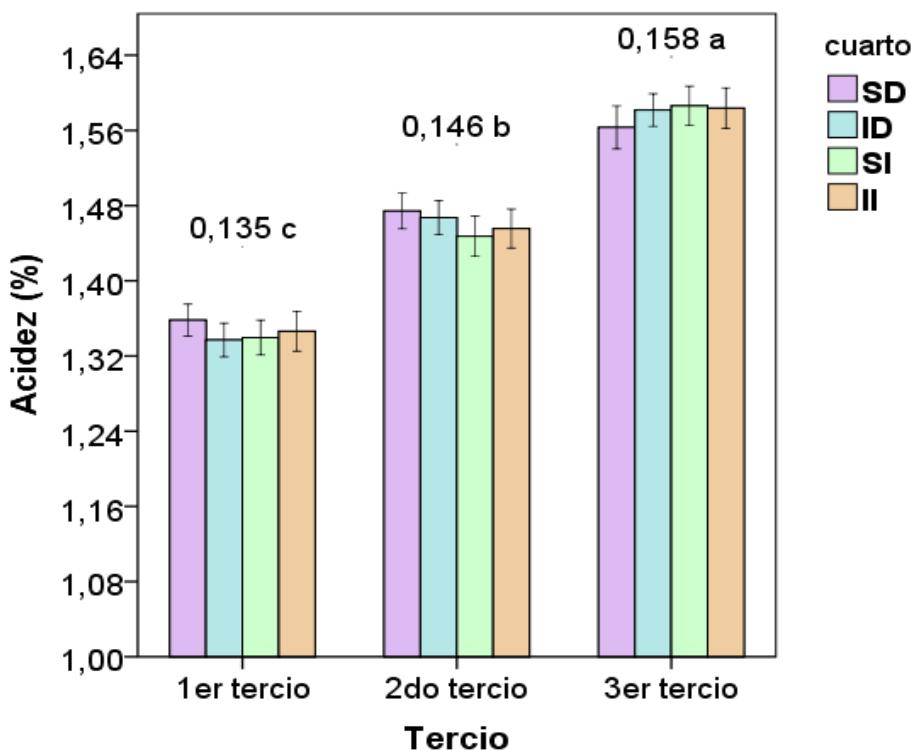
La acidez mostró cambios en la lactancia, lo que indica que durante este tiempo el parámetro se incrementa ($p<0,05$, Figura 12).

El decreto 616 de 2006 menciona que la acidez expresada como porcentaje de ácido láctico debe estar entre 0,13 y 0,17, rango en el cual se presenta los resultados de esta investigación. De esta manera, se demuestra que los animales no presentaron problemas sanitarios y nutricionales, dado que factores microbiológicos afectan de forma significativa sus valores.

La acidez es un parámetro importante para determinar la calidad de la leche, sin embargo, esta toma mayor importancia para la industria de transformación cuanto se realiza la evaluación de la leche cruda al momento de llegar al centro de acopio, aunque se debe aclarar que esta acidez se denomina desarrollada por cuanto se establece por los procesos de

fermentación microbiana no deseables, y es una consecuencia directa del nivel de refrigeración de la leche. Este tipo de procesos afectan las características organolépticas y su industrialización, por lo que es uno de los parámetros que se determina en las pruebas de plataforma para determinar la calidad de la leche (Samková et al. 2012).

Figura 12. Acidez



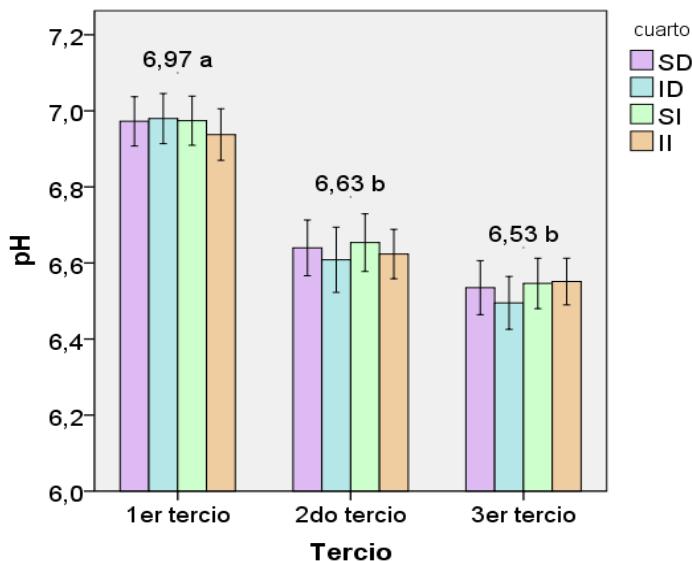
Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

La acidez tiene un impacto importante sobre la elaboración de varios productos lácteos como el yogur, kumis entre otros. Además puede evidenciar la presencia de problemas sanitarios en el hato, o en su refrigeración y transporte luego de extraída de la vaca. Sin embargo, los resultados muestran que el parámetro no tuvo alteraciones durante la lactancia, y las diferencias observadas corresponden a cambios en la concentración de proteínas de la leche que alteran su pH.

8.1.8 pH.

Los resultados indicaron que este parámetro disminuye con el cambio de tercio de lactancia, lo que muestra un comportamiento inverso a lo observado en la acidez (Figura 13). El estudio realizado por Quitiaquez et al. (2021) muestra valores de 7,01 y 6,79 para el primero y tercer tercio de lactancia, valores que se encuentran por encima de lo reportado en esta investigación. Al respecto, Negrí (2005) indica que la leche de ganado bovino debe estar entre 6,5 y 6,8, esto como consecuencia de la presencia de sustancias como la caseína, aniones fosfóricos y cítricos, que reducen el pH de la leche. Al presentar un menor pH que los reportes de la literatura, se identifica un adecuado manejo del hato lechero, por cuanto se demuestra que no existen problemas sanitarios en la ubre de las vacas.

Figura 13. pH.



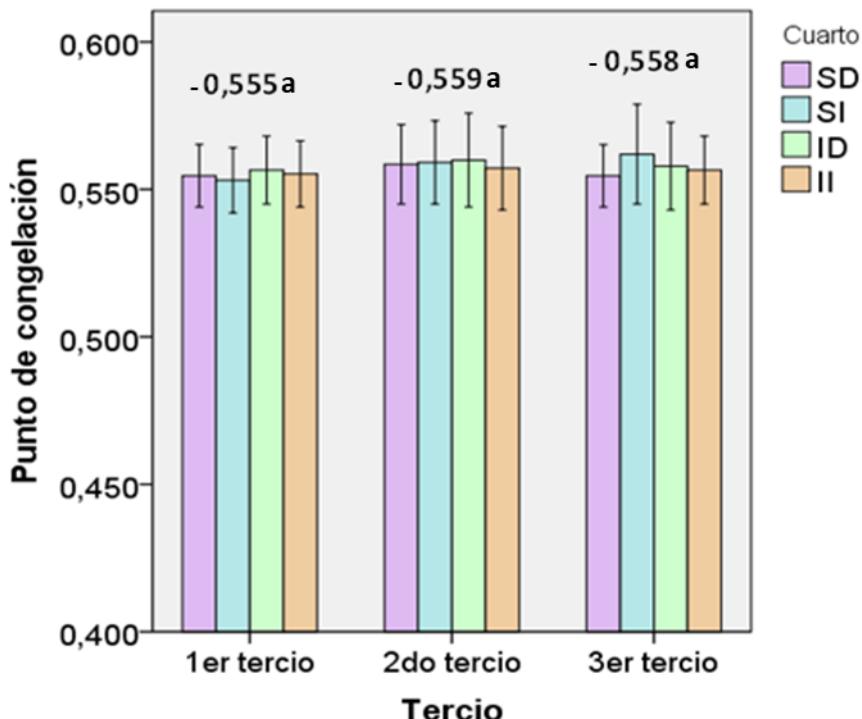
Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

8.1.9 Punto de congelamiento.

Este parámetro no tuvo cambios significativos a través de la lactancia ($p>0,05$, Figura 14). Lo que muestra que no se ve afectado en el tiempo. Al respecto, el decreto 616 de 2006

indica que este parámetro debe encontrarse entre -0,550 y -0,530 lo que muestra que están dentro del rango especificado por la normatividad colombiana.

Figura 14. Punto congelamiento.



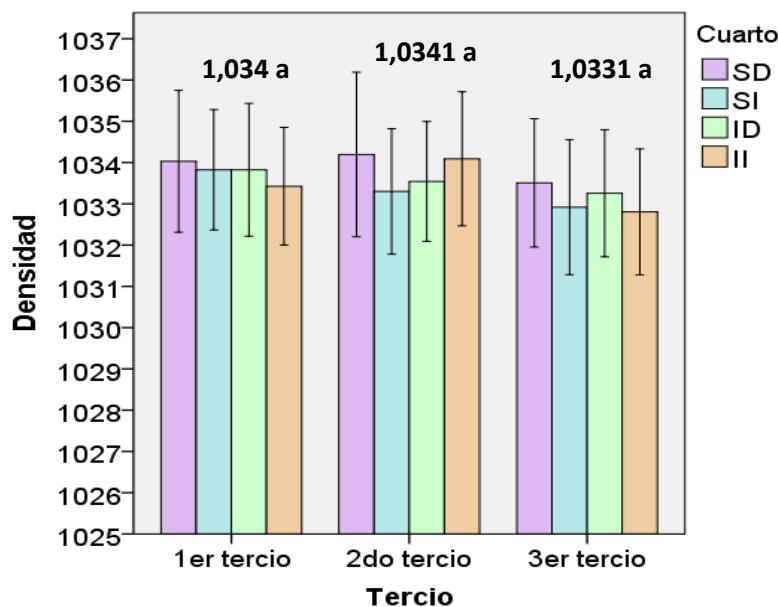
Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

Por otra parte, los resultados de Quitiaquez et al. (2021) fueron inferiores con valores de -0,517 a -0,527, que están por debajo de lo encontrado en esta investigación. Como se indicó antes, en la investigación mencionada, estos valores fueron tomados de diferentes grupos, lo que podría justificar los valores mayores de esta investigación. El punto de congelamiento tiene importancia para la identificación de leches adulteradas, en lo referente a la adición agua a la leche, o un incremento del contenido de lactosa en la leche que acarrea una mayor absorción de agua en la ubre y el consiguiente aumento de la humedad de la leche (Zagorska y Ciprovica 2013).

8.1.10 Densidad.

La densidad no presentó modificaciones durante los tercios de lactancia ($p>0.05$, Figura 15).

Figura 15. Densidad.



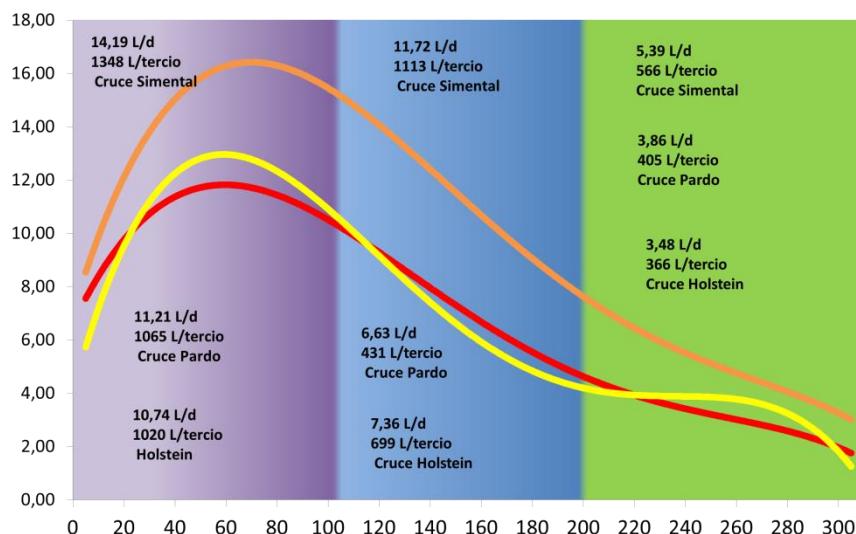
Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

Los valores reportados marcan un punto medio cercano a 1,032. La normatividad y los estudios realizados en Nariño muestran un rango de 1,030 a 1,032 (Decreto 616 2006; Quitiaquez et al. 2021). La lactosa es una de los constituyentes que puede modificar este parámetro. Sin embargo, esto no sucedió, ya que se esperaba una disminución en los tercios de lactancia como si se observó en la lactosa. Estos resultados son congruentes con lo encontrado por Alcântara et al. (2012) quienes observaron que este parámetro físico no se altera durante la lactancia a pesar de presentarse cambios en los valores composicionales de la leche.

8.1.11 Producción de leche.

Se encontraron diferencias estadísticas significativas en la producción a través de la lactancia ($p<0.05$, Figura 16). La mayor producción se observó en el primer tercio, que fue descendiendo hasta el tercer tercio. Los estudios realizados en el departamento de Nariño muestra valores de producción promedio de 14 litros por vaca en zonas de ganadería especializada, caracterizada por el uso de razas puras, alimento balanceado comercial y la utilización de pasturas mejoradas (Navia et al. 2015), y un promedio general de 7,6 litros para todo Nariño (Orjuela 2018); estos cambios entre los dos valores mostrados se deben a que el departamento cuenta con un alto porcentaje de minifundio, donde se produce muy poca leche, con un promedio de 2 vacas en producción por productor, las cuales no tienen manejo nutricional y sanitario, lo que reduce su productividad y disminuye el promedio general.

Figura 16. Producción de leche.



Línea naranja: cruce Holstein con Simental. Línea amarilla: cruce Holstein con Pardo. Línea roja: Holstein mestizo. Fondo morado lactancia temprana o primer tercio. Fondo azul lactancia media o segundo tercio. Fondo verde lactancia tardía o tercer tercio.

Se observó un mayor pico de producción para el cruce Simental, esto se debió a que los animales con este cruce estaban en tercera lactancia o más. Al respecto, Hunter et al. (2020) indican que el potencial máximo de producción para el ganado bovino se observa

luego de la tercera lactancia, aunque se reduce después de la sexta. Esto explica las diferencias observadas en la gráfica.

Estudios realizados por Quitiaquez et al. (2021) y Muñoz et al. (2019) muestran valores de 20,33, 21,22 y 8,53 L/día para el primero, segundo y tercer tercio de lactancia respectivamente, lo que evidencia una menor producción en la finca de Sapuyes. Los valores promedio de producción por tercio para todos los cruces fueron de 12,05, 8,57 y 4,24 L/día, que están acordes con lo reportado por Ortiz et al. (2020) en vacas Holstein mestizas.

La producción de leche es un parámetro importante para el productor, dado que, de éste depende en gran medida sus ingresos económicos. Aunque, cada vez más, se observa la necesidad de mejorar los parámetros compositionales como consecuencia del pago por calidad de la leche, que a nivel de Colombia se encuentran reglamentados según la Resolución 000017 de 2012 del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia.

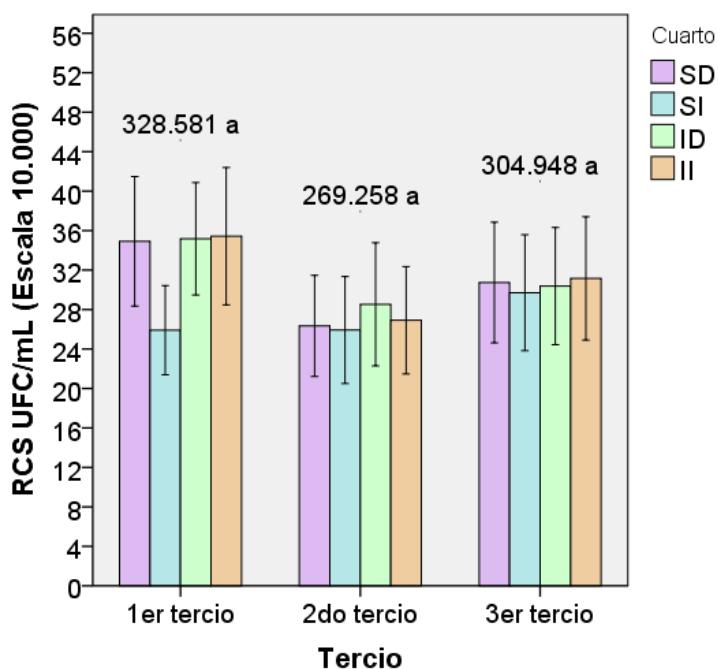
Los cruces presentan mayor adaptación a las condiciones de producción del departamento. Estos cruces, para el caso de Nariño, han evolucionado bajo las condiciones de altura, manejo nutricional y sanitario de las zonas altas, dándoles ventajas en comparación a las razas puras. Esto indica que hay un menor rendimiento de los sistemas productivos, pero se observa una disminución en los problemas sanitarios y los costos de producción (Newman et al. 2015).

8.2. Determinar la Calidad Sanitaria de la Leche Cruda.

8.2.1 Recuento de células somáticas (RCS). Para el caso del recuento de células somáticas, los resultados demostraron valores entre 50000 a 690000 UFC/mL con un promedio de 250000 UFC/mL. De igual manera, los resultados no difirieron entre tercios de lactancia y cuarto de la ubre a un nivel de significancia del 95% (Figura 17). Al respecto, Jurado et al. (2020) observaron valores de 50000 hasta 2000000 UFC/mL en tres regiones de Nariño, con un promedio de 350000 UFC/mL.

El recuento de células somáticas (RCS) ha sido uno de los identificadores tradicionales para la detección de problemas sanitarios en los hatos lecheros (Sharma et al. 2011). Entre estos problemas la mastitis es una enfermedad que tiene serias repercusiones en los sistemas de leche especializados. Junto a lo anterior, la mastitis subclínica es un factor preponderante dado que el problema puede estar presentándose y no ser detectado con facilidad; por ello, los parámetros como el RCS ayudan al productor a identificar posibles presencias de microbiota no deseable y que puede ser la causante de problemas como la baja en la producción, problemas reproductivos y una mayor incidencia de reemplazo de hembras en el hato (Suriyasathaporn et al. 2000).

Figura 17. Recuento de células somáticas por tercio lactancia y cuarto de ubre.



Media para el tercio (promedio cuatro cuartos) encima de las barras, letras diferentes muestran diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$). SD: cuarto superior derecho, SI: cuarto superior izquierdo, ID: cuarto inferior derecho, II: cuarto inferior izquierdo.

Como se mencionó, el recuento de células somáticas se utiliza para predecir el estado de salud de las glándulas mamarias. Se puede suponer que los recuentos de células altos indican un aumento de la inflamación y, muy a menudo, infecciones intramamarias. Por lo

tanto, el riesgo de mastitis es significativamente mayor en los rebaños con mayores valores de células por mL en comparación con los rebaños con un recuento de células menores a 200.000 células/mL, afirmación que evidencia problemas sanitarios en el hato evaluado. En promedio, se puede afirmar que con un mayor recuento celular, también es mayor la frecuencia de tratamiento de la aplicación de antibióticos en las vacas lecheras. Basado en esta interacción existe cierta información que indica una relación entre el nivel de recuento de células somáticas del rebaño y la detección de residuos de antibióticos en la leche (Leslie et al., 2019; Ruegg, 2015).

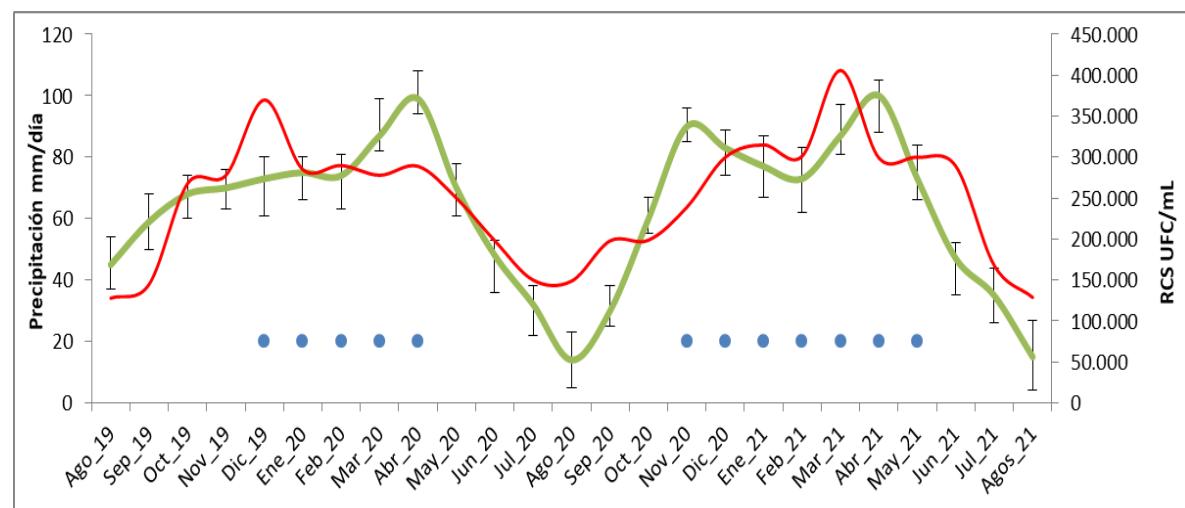
Al respecto, Kund et al. (2017) indica que RCS de 100.000 o menos indica un hato no infectado, donde no hay pérdidas de producción significativas debido a mastitis subclínica, Un umbral de 200.000 determinaría si una vaca está infectada con mastitis. Las vacas con un resultado superior a 200.000 tienen una alta probabilidad de infectarse al menos en un trimestre y las vacas infectadas con patógenos importantes tienen un RCS de 300.000 o más. Los resultados demostraron estar por encima de lo recomendado por la literatura, aunque se debe tener en cuenta que la leche para industria tiene una tolerancia de hasta las 400000 UFC/mL en las condiciones de Colombia. Sin embargo, esto puede cambiar por la entrada en vigencia de los tratados de libre comercio, que restringirán la exportación de productos lácteos provenientes de leches con valores superiores a los 300000 UFC/mL. En el análisis se observó que existe una relación directamente proporcional entre este conteo y la precipitación, observándose un incremento del RCS en época de invierno. Esto se explica por una mayor exposición de la ubre a humedad y barro del hato, ya que se observó durante esta época encharcamiento de los potreros y generación de lodo que incrementa las posibilidades de infección de la ubre.

8.2.2 Prueba de California Mastitis Test (CMT). La prueba de California Mastitis Test (CMT) fue positiva en 21 muestras de las 1056 tomadas, lo que representa el 1,99% del total muestreado (Tabla 5). No se observó cambios sustanciales entre los tercios de lactancia ($p>0,05$). Sin embargo, se encontró una relación significativa entre la precipitación y las respuestas positivas a CMT, como también se evidenció la relación con el RCS (Figura 18).

Tabla 5. California mastitis test (CMT).

Tercio	CMT		Total
	Negativo	Positivo	
1er	410 (98,6%)	6 (1,4%)	416
2do	294 (98,0%)	6 (2,0%)	300
3er	331 (97,4%)	9 (2,6%)	340

Figura 18. Precipitaciones en relación a california mastitis test (CMT).



Los puntos azules identifican casos positivos a CMT, Línea verde precipitación, línea roja RCS. Fuente: IDEAM

Los resultados indican que con valores superiores a 75 mm/día de precipitación, se observa positividad a las prueba de CMT.

Objetivo 3. Determinar y analizar la calidad microbiológica y antibiograma de la leche cruda producida por vacas Holstein de una finca del municipio de Sapuyes-Nariño.

8.2.3 Análisis microbiológico. Las muestras positivas a CMT se evaluaron para determinar la presencia de conteo de mesófilos, *S. aureus*, enterobacterias, mohos y levaduras, y *E. coli* (tabla 6). Todos los microorganismos estuvieron presentes en las muestras, aunque, como se mencionó anteriormente, el número de muestras positivas a CMT fue bajo (1,99%).

De los microorganismos evaluados, *S. aureus* y *E. coli* son bacterias más comúnmente asociadas con la presencia de mastitis, pero el primero es más recurrente en los hatos lecheros especializados del mundo. Los problemas que generan las infecciones intramamarias tiene un impacto directo sobre la productividad, por cuanto afecta la calidad composicional de la leche y su manejo requiere el uso de antibióticos que evitan su comercialización durante el periodo de retiro del medicamento (Maity et al. 2020). De igual manera, la presencia de estos microorganismos altera la composición de la leche con un incremento en la acidez y la consiguiente pérdida de estabilidad de los componentes de la leche, que trae como consecuencia una fácil precipitación de los mismos (Stocco et al. 2020).

Por otra parte, *E. coli* es un huésped natural del tracto gastrointestinal del bovino. Sin embargo, los estudios demuestran que un mal manejo sanitario incrementa la probabilidad de contaminar la leche con este microorganismo. Aunque en menor cuantía, los casos de mástitis por este microorganismo se pueden dar, con la consiguiente pérdida de productividad en los hatos lecheros.

De lo anterior, se evidencia un riesgo de presentar problemas con este tipo de microorganismos, dado que los resultados indican que están presentes. Sin embargo, por la baja incidencia de casos en la evaluación, el problema aún puede ser manejado de manera

eficiente, sin menoscabar el potencial de infección que se podría generar por no colocar atención a estos resultados.

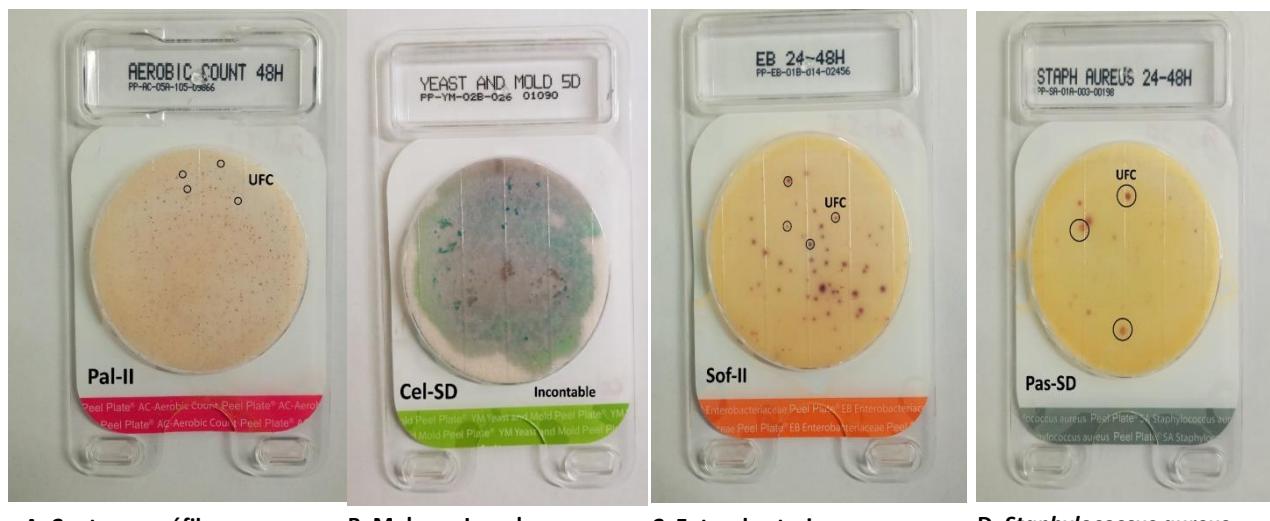
Los estudios en Colombia demuestran que *S. aureus* está presente en los sistemas de leche especializados y por ello, su identificación y control son importantes. Se indica que la pérdida para el productor en la zona de Bogotá, va desde un 10% hasta un 20% de las utilidades, esto muestra el alto impacto que genera en la rentabilidad por gastos en su control y pérdida de leche producida (Calderón y Rodríguez 2008; Rodríguez 2006; Vásquez et al. 2018).

Tabla 6. Resultados de la prueba microbiológica.

Cuarto	mesofilos erobiosAerobic count	<i>Staphylococcus aureus</i>	Enterobacterias	Mohos y levaduras	<i>E. coli</i>
SI	+	+	+	+	-
SD	+	+	+	+	-
II	+	+	-	+	+
ID	+	+	+	+	-
SI	+	+	+	+	+
SD	+	+	+	+	+
II	+	+	+	+	+
ID	+	+	+	+	+
SI	+	+	-	+	+
SD	+	+	-	+	-
II	+	+	+	+	+
ID	+	+	+	+	+
SI	+	+	+	+	-
SD	+	+	-	+	+
II	+	+	+	+	+
ID	+	+	+	+	+
SI	+	+	+	+	-
II	+	+	+	+	+

+ indica muestra positiva al microorganismo, - indica una muestra negativa.

Figura 19. Análisis de muestras de leche para microbiología.



A. Conteo mesófilos

B. Mohos y Levaduras

C. Enterobacterias

D. *Staphylococcus aureus*

La muestras se identifican como puntos de color morado o violeta en el cultivo.

8.2.3.1 Antibiograma por el método de Kirby Bauer.

Los resultados para el antibiograma se pueden observar en la tabla 7. No se encontró resistencia a los antibióticos evaluados, pero algunas muestras tuvieron valores intermedios para la penicilina y cepquinone, lo que podría estar demostrando la posibilidad de tener bacterias resistentes con el tiempo. Al parecer, no existe una relación entre el antibiograma y los cuartos de la ubre, ya que los valores intermedios estuvieron distribuidos de manera aleatoria sobre todos los cuartos (tabla 7, figura 20), sin embargo, se requiere profundizar más en este aspecto, dado que como se ha venido mencionando, la cantidad de muestras que fueron positivas a CMT es baja para realizar inferencias concluyentes.

Por otra parte, se observó que las muestras de leche de una de las vacas no tuvieron crecimiento bacterial. Esto se explica por el suministro de medicamentos para el control de la mastitis y que pudo alterar la microbiota presente en la ubre.

Los resultados de cepas con resistencia intermedia pueden ser consecuencia de un inadecuado manejo de estos medicamentos en el hato. Los estudios realizados por Vergara et al. (2017) demostraron una presencia de 3% de bacterias resistentes en hatos lecheros de

Brasil, bajo condiciones de pastoreo, entre las que se observó *E. coli* y *S. aureus*, lo que evidencia valores más bajos en la finca de Sapuyes.

Tabla 7. Resultados del antibiograma por método de Kirby Bauer.

CUARTO	GEN 10 µg	TSM 25 µg	AMC 20 µg	CEF 30 µg	PEN 10 U	D 30 µg	FFC 30 µg	CEQ 30 µg
SI	21,5 S	19,5 S	27 S	25 S	27 I	23 S	26,5 S	25 S
SD	21 S	21 S	34 S	23 S	23,3 I	24,5 S	23,5 S	17 I
II	18 S	22 S	41 S	41 S	39 S	25 S	33,5 S	27 S
ID	21,5 S	26 S	34 S	38 S	23 I	22 S	37 S	16,5 I
SI	18,5 S	29 S	44 S	41,5 S	37 S	24 S	35 S	27 S
SD	18,5 S	30 S	42 S	41 S	36 S	24 S	35 S	27 S
II	18 S	27,5 S	38 S	39 S	38,5 S	22,5 S	34,5 S	25 S
ID	21 S	29 S	39 S	47 S	43 S	27 S	35 S	27 S
SI	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
SD	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
II	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
ID	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
SI	28 S	SC	38 S	SC	35 S	25 S	39 S	22 S
SD	SC	SC	35 S	44 S	SC	SC	SC	27 S
II	SC	SC	SC	SC	36 S	27,5 S	SC	SC
ID	20,5 S	27 S	46 S	43 S	36,5 S	24,5 S	35,5 S	27,5 S

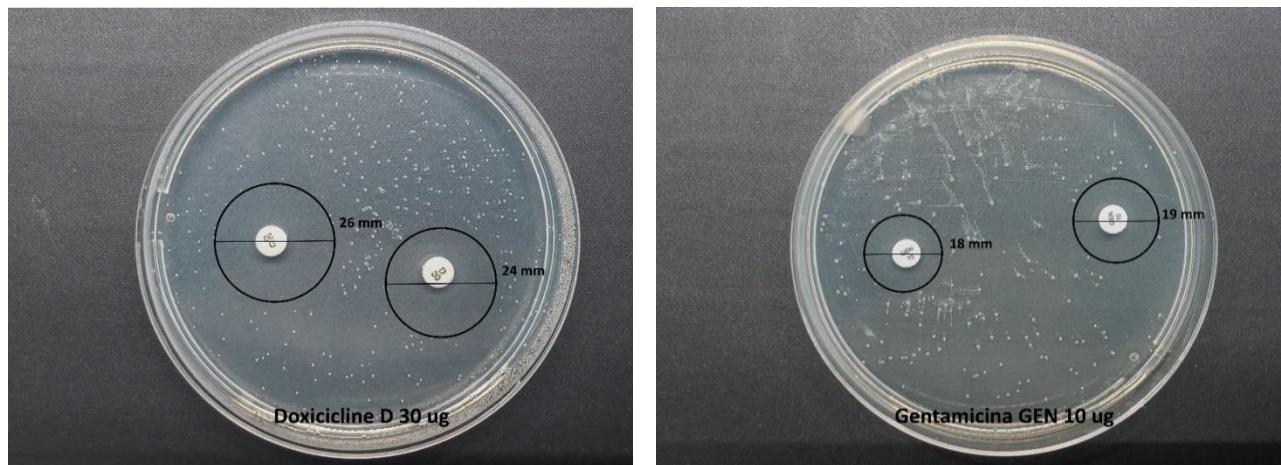
S: sensible; I: intermedio; R: resistente; SC: sin crecimiento bacteriano. Los laboratorios utilizados como referencia fueron los siguientes:

Las malas prácticas clínicas con antibióticos y otras sustancias veterinarias han incrementado la aparición de bacterias resistentes a este tipo de sustancias, que se constituyen en un problema de salud pública. Por ello, la identificación de estos microorganismos resistentes es importante para adecuar su manejo y evitar su propagación en el hato.

Revisiones realizadas en Colombia muestran como el sector pecuario es uno de los focos principales de mal manejo de los antibióticos, esto debido a problemas en la regulación nacional, que no establece prohibiciones adecuadas para la compra y venta de estos productos, haciendo que el productor realice de manera empírica el manejo de las enfermedades bovinas y con ello, un incremento de las probabilidades de generar bacterias resistentes (Arenas y Moreno, 201).

Junto a lo anterior, las infecciones causadas por bacterias resistentes se asocian a una mayor morbilidad, mortalidad y costo del tratamiento que las causadas por bacterias sensibles de la misma especie, lo que incrementa la necesidad de su constante verificación (Scinger et al. 2019). Sin embargo, no se encontró una relación entre la presencia de bacterias resistentes y la calidad composicional de la leche como se verá más adelante.

Figura 20. Halos de inhibición del antibiograma por técnica Kirby Bauer.

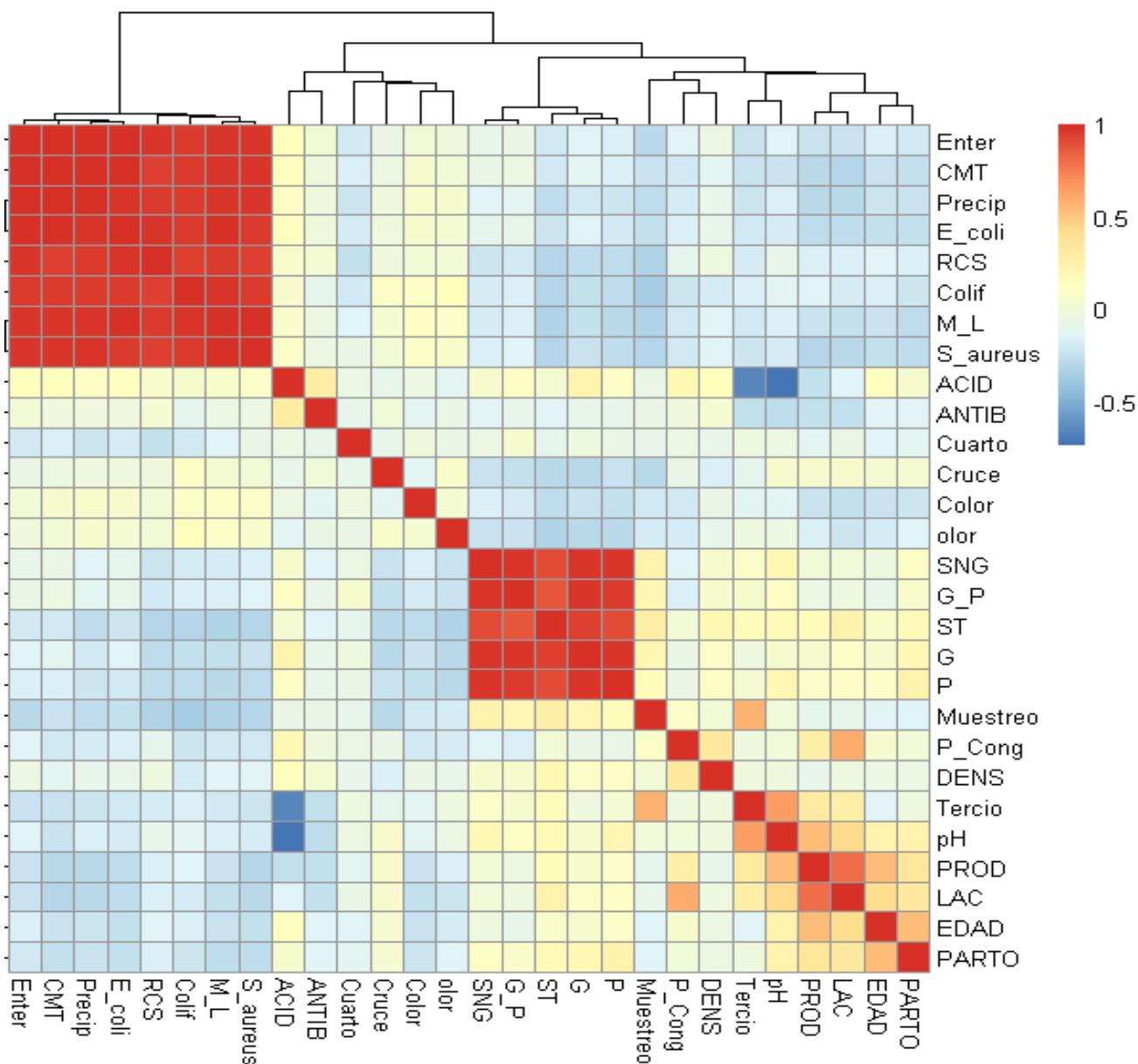


Objetivo 4. Establecer y analizar la relación entre la calidad composicional, microbiológica y sanitaria con las variables ambientales y de manejo.

Se evaluó la estructura relacional de 28 variables mediante un heatmap (mapa de calor) que se puede observar en la figura 21. Los resultados mostraron 5 grupos claramente identificables. El primero grupo lo componen las variables CMT, época (precipitación), RCS/mL y la presencia de enterobacterias, mohos y levaduras, *S. aureus* y *E. coli*. El segundo grupo está compuesto por las variables composicionales: proteína, grasa, sólidos no grasos, sólidos totales y relación grasa-proteína. El tercer grupo lo constituyeron las variables edad y parto. El cuarto grupo lo constituyen las variables pH, producción y lactosa.

Se debe especificar que el modelo explicó el 87% de la variabilidad total de la matriz, indicando una muy buena identificación de las relaciones existentes.

Figura 21. Mapa de calor de la correlación de las variables composicionales, microbiológicas y sanitarias de la leche cruda.



La relación entre las variables composicionales se explica por su origen, dado que se sintetizan en su mayoría en la glándula mamaria, lo que relaciona su producción y su distribución porcentual en la leche (Del Castillo y Larriaga, 2004). Junto a lo anterior, es comprensible que la relación grasa/proteína también se observe en este grupo como efecto de una obtención directa de parámetros composicionales de la leche. Al respecto, Jurado et al.

(2020) también identificó la relación entre los componentes de la leche en lecherías especializada del departamento de Nariño, demostrando que se relaciona por los volúmenes de producción, siendo este el factor vinculante.

El segundo grupo estuvo representado por las pruebas microbiológicas evaluadas y la época (precipitación). Como se mencionó en el apartado microbiológico, la relación estrecha entre estas variables y las precipitación responde a problemas de encharcamiento en los potreros de la finca, que incremento la probabilidad de ensuciar las ubres, aunado un incremento de la humedad del ambiente, que permite una mayor proliferación de los microorganismos con mayores posibilidades de infección de la ubre.

Denis et al. (2021) observaron una relación directa entre los cambios de precipitación del lugar y la presencia de mastitis, en el estudio se concluyó que las infecciones producidas por los microorganismos *E. coli* y *S. aureus* fueron debidas a factores como el incremento de la humedad, una mayor exposición del personal del ordeño a excrementos de los animales como consecuencia de un mal manejo al ingreso del ordeño y problemas de patas en los animales que sensibilizaban a las hembras.

El tercer grupo está compuesto por el muestreo, el tercio y la acidez. Para las dos primeras variables, el factor que los relaciona es el tiempo, dado que se toman las muestras en este. Sin embargo, no se puede explicar de manera más adecuada su relación con la variable acidez; al parecer, el aumento de la acidez a través de la lactancia, como se observó por los tercio, refleja esta relación, pero el efecto no es de causalidad.

El pH, la producción y la lactosa formaron el último grupo. Se debe tener en cuenta que la relación observada para las tres fue la más baja de todos los grupos. Como se mencionó en el apartado de la lactosa, esta tiene una relación directa con la cantidad de agua en la leche, dado que es uno de los componentes que mantiene la presión osmótica al interior de los alveolos. Si, se tiene en cuenta el porcentaje más elevado en la leche es el agua, la

relación está explicada desde el punto de vista fisiológico. Por otra parte, la presencia del pH en este grupo no se comprende en su totalidad, posiblemente se debe a que el pH tiene una disminución durante la lactancia, lo mismo que sucede con la producción y la lactosa, lo que estaría mostrando una relación vinculada al tiempo, más no a las variables obtenidas.

9. Conclusiones

Los parámetros composicionales de la leche cruda producida en la finca San Antonio del municipio de Sapuyes muestran porcentajes superiores a los exigidos por la norma nacional mostrando un buen manejo nutricional.

La prueba CMT y el recuento de células somáticas (RCS) se vieron afectados por el incremento de la precipitación con mayores casos positivos para el primer y mayores valores para el segundo.

Los microorganismo enoterobacterias, mohos y levaduras, *S. aureus* y *E. coli* estuvieron presentes en todas las muestras positivas a CMT, aunque solo representaron el 1,99% de las muestras evaluadas.

Se encontró relación entre las variables composicionales proteína, grasa, sólidos no grasos y sólidos totales. De igual manera, se encontró una relación entre la presencia de microorganismos y la precipitación.

10. Recomendaciones

Se recomienda establecer un plan sanitario para la época de incremento en la lluvia, dado que los resultados demostraron una relación entre esta y la presencia de organismos patógenos.

Se debe extender la investigación hacia otras fincas del municipio para obtener una visión más amplia de las particularidades de la región.

Se debe mejorar las buenas prácticas de ordeño para obtener un producto de mayor calidad a las planta de industrialización.

Se debe verificar las buenas prácticas ganaderas para detectar falencias en el manejo del hato.

11. Bibliografía

- Abdelkrim, A. B., Puillet, L., Gomes, P., & Martin, O. (2021). Lactation curve model with explicit representation of perturbations as a phenotyping tool for dairy livestock precision farming. *animal*, 15(1), 100074.
- Abernethy, G. A., Bendall, J. G., & Holroyd, S. E. (2016). Advances in testing for adulteration and authenticity of dairy products. In *Advances in food authenticity testing* (pp. 461-490). Woodhead Publishing.
- Alcântara, L., Fontan, R., Bonomo, R., De Souza J., Sampaio, V. y Pereira, R. (2012). Density and dynamic viscosity of bovine milk affect by temperature and composition. International Journal of Food Engineering, 8(1): 34-56.
- Ali, A. K. A., & Shook, G. E. (1980). An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. *Journal of Dairy Science*, 63(3), 487-490.
- Ali, A. y Shook, G. (1984). An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. *Journal of Dairy Science*, 63:487-490.
- Amalfitano, N., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Malacarne, M., Summer, A., & Bittante, G. (2019). Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis. *Journal of dairy science*, 102(4), 2903-2917.
- Bagri, D. K., Pandey, R. K., Bagri, G. K., Kumari, R., & Bagdi, D. L. (2018). Effect of subclinical mastitis on milk composition in lactating cows.
- Bauer, A. W., Perry, D. M., Kirby, W. M. (1959). Single-disk antibiotic-sensitivity testing of staphylococci: An analysis of technique and results. *AMA archives of internal medicine*, 104(2), 208-216.
- Bondan, C., Folchini, J. A., Noro, M., Quadros, D. L., Machado, K. M., & González, F. H. D. (2018). Milk composition of Holstein cows: a retrospective study. *Ciência Rural*, 48.

- Bouraoui, R., Lahmar, M., Majdoub, A., & Belyea, R. (2002). The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Animal Research*, 51(6), 479-491.
- Cabrera, V. E., & Kalantari, A. S. (2016). Economics of production efficiency: Nutritional grouping of the lactating cow. *Journal of dairy science*, 99(1), 825-841.
- Cadavid, Á. Z., Mejía, C., Solarte, L., Suárez, J. F., Molina, C. H., Molina, E. J., ... & Manzano, L. (2019). Leucaena intensive silvopastoral system: The CIPAV experience in Colombia. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 7(4), 353-358.
- Calderón, A., & Rodríguez, V. C. (2008). Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 21(4), 582-589.
- Calderón, A., García, F. y Martínez, G. (2006). Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 11(1): 725-737.
- Campos, J. R., Zúñiga, J. J. R., Segura, M. B., Badilla, G. C., Leitón, B. V., & König, S. E. (2019). Software Vampp Bovino como instrumento de mediación dialógica entre el sector productivo bovino y la academia. *Universidad En Diálogo: Revista De Extensión*, 9(2), 99-116.
- Carulla, J. E., & Ortega, E. (2016). Sistemas de producción lechera en Colombia: retos y oportunidades. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 24(2), 83-87.
- Carvajal, R. M. E., Goyes, V. E. H., Martínez, E. A. L., Delgado, B. E. M., & Montenegro, C. D. T. (2016). Análisis de factores económicos que influyen en los eslabones de la cadena láctea en Nariño. Libros Editorial UNIMAR.

- Castro, L. A. G., Ledesma, L. M., & Arizala, J. A. (2017). Producción, calidad de leche y beneficio: costo de suplementar vacas Holstein con Tithonia diversifolia. *Agronomía Mesoamericana*, 357-370.
- Chiapella, L. C., & Garcia, M. D. C. (2020). Performance evaluation of different computational methods to estimate Wood's lactation curve by nonlinear mixed-effects models. *Communications in Statistics-Simulation and Computation*, 1-11.
- Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., De Marchi, M. y Bittante, G. (2013). Factors affecting variation of different measures of cheese yield and milk nutrient recovery from an individual model cheese-manufacturing process. *Journal of Dairy Science*, 96(12), 7952-7965.
- Consejo Nacional Lácteo. 2010. Acuerdo de competitividad de la cadena láctea. Bogota (DC). p. 78.
- Costa, A., Lopez-Villalobos, N., Visentin, G., De Marchi, M., Cassandro, M., & Penasa, M. (2019). Heritability and repeatability of milk lactose and its relationships with traditional milk traits, somatic cell score and freezing point in Holstein cows. *Animal*, 13(5), 909-916.
- De la Cruz, E. G., Simbaña Díaz, P., & Bonifaz, N. (2018). Gestión de calidad de leche de pequeños y medianos ganaderos de centros de acopio y queserías artesanales, para la mejora continua. caso de estudio: Carchi, Ecuador. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 27(1), 124-136.
- El-Khadrawy, H. H., Ahmed, W. M., Zaabal, M. M., & Hanafi, E. M. (2015). Lights on drugs used for treatment of ovarian disorders in farm animals. *Global Veterinaria*, 14(3), 393-399.

FAO. Composición de la leche. Online: PORTAL LÁCTEO. Online [Citado el 6 julio de 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/composicion-de-la-leche/es/>

Fedegan (2018). Nariño busca mejorar la alimentación bovina y calidad de leche.

<https://www.fedegan.org.co/noticias/narino-busca-mejorar-la-alimentacion-bovina-y-calidad-de-leche>

Ferguson, D. D. Smith, T. C., Moritz, E. D., Larson, K. L., & (2010). The environment as a factor in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission. *Reviews on environmental health*, 25(2), 121-134.

Fernández Bolaños, O. F., Trujillo Graffe, J. E., Peña Cabrera, J. J., Cerquera Gallego, J., & Granja Salcedo, Y. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista electrónica de Veterinaria*, 13(11), 1-20.

Ferraretto, L. F., Crump, P. M., & Shaver, R. D. (2013). Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. *Journal of dairy science*, 96(1), 533-550.

Fox, P. F., McSweeney, P. L., & Paul, L. H. (1998). Dairy chemistry and biochemistry. Franco-Lopez, J., Duplessis, M., Bui, A., Reymond, C., Poisson, W., Blais, L., ... & Ronholm, J. (2020). Correlations between the composition of the bovine microbiota and vitamin B12 abundance. *Msystems*, 5(2), e00107-20.

Gallego-Castro, A., Mahecha-Ledesma, L. y Angulo-Arizala, J. (2017). Producción, calidad de leche y beneficio: costo de suplementar vacas holstein con *Tithonia diversifolia*. *Agronomía Mesoamericana*, 28(2), 357-370.

García, C., Montiel, R. L. A., & Borderas, T. F. (2014). Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación. *Archivos de zootecnia*, 63, 85-105.

- Glantz, M., Devold, T. G., Vigarud, G. E., Måansson, H. L., Stålhammar, H., & Paulsson, M. (2010). Importance of casein micelle size and milk composition for milk gelation. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1444-1451.
- Halasa, T., & Kirkeby, C. (2020). Differential Somatic Cell Count: Value for Udder Health Management. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 1153.
- Han, M., Gong, L., Wang, J., Zhang, X., Jin, Y., Zhao, R., ... & Chen, Y. (2019). An octuplex lateral flow immunoassay for rapid detection of antibiotic residues, aflatoxin M1 and melamine in milk. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 292, 94-104.
- Hanuš, O., Samková, E., Křížová, L., Hasoňová, L., & Kala, R. (2018). Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability—a review. *Molecules*, 23(7), 1636.
- Haygert-Velho, I. M., Conceição, G. M., Cosmam, L. C., Alessio, D. R., Busanello, M., Sippert, M. R., ... & Velho, J. P. (2018). Multivariate analysis relating milk production, milk composition, and seasons of the year. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90, 3839-3852.
- Heck, J. M. L., Schennink, A., Van Valenberg, H. J. F., Bovenhuis, H., Visker, M. H. P. W., Van Arendonk, J. A. M., & Van Hooijdonk, A. C. M. (2009). Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *Journal of dairy science*, 92(3), 1192-1202.
- Holdridge, L. R. (1967). Life zone ecology. *Life zone ecology.*, (rev. ed.)).
- Hossain, M. K., Nahar, K., Shokryazdan, P., Abdullah, N., Hamid, K., & Jahromi, M. F. (2017). Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Cheese, Yogurt and Poultry Faeces. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(9), 2991-2998.

ICA, (2019). Productores de leche, en Nariño, continúan certificando sus predios en Buenas Prácticas Ganaderas. <https://www.ica.gov.co/noticias/productores-leche-certifican-predios-bpg-narino>.

IDEAM. (2020). Seguimiento de la Precipitación. <http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/precipitacion-mensual-por-ano>

Jakobsen, R. A., Heggebø, R., Sunde, E. B., & Skjervheim, M. (2011). *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. *Food Microbiology*, 28(3), 492-496.

Janosi, S. Z., & Baltay, Z. S. (2004). Correlations among the somatic cell count of individual bulk milk, result of the California Mastitis Test and bacteriological status of the udder in dairy cows. *Acta Veterinaria Hungarica*, 52(2), 173-183.

Jiménez, G., Tobón, J., & Abuabral, Y. (2018). Elementos de gestión empresarial en la ganadería bovina del trópico de altura en Colombia (No. Doc. 20112) CO-BAC, Bogotá).

Jurado-Gámez, H. A., Solarte-Portilla, C. E., Burgos-Arcos, Á. J., González-Rodríguez, A., & Rosero-Galindo, C. (2020). Relationship of the compositional content and sanitary quality of Holstein cows' milk of the high tropic of Nariño. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 11(2), 421-434.

Kalač, P., & Samková, E. (2010). The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech Journal of Animal Science*, 55(12), 521-537.

Kanurić, G., Milanović, D., Ikonijć, B., Lončar, S., Iličić, D., Vukić, R., y Vukić, V. (2018). Kinetics of lactose fermentation in milk with kombucha starter. *Journal of food and drug analysis*, 26(4), 1229-1234.

- Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A., ... & Najjuka, F. C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 9(1), 1-7.
- Kayano, M., Itoh, M., Kusaba, N., Hayashiguchi, O., Kida, K., Tanaka, Y., ... & Gröhn, Y. T. (2018). Associations of the first occurrence of pathogen-specific clinical mastitis with milk yield and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 85(3), 309-316.
- Kipnis, A., André, M. C. D., Campos, M. R. H., Borges, L. J., Pimenta, F. C., & Serafini, A. B. (2008). Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. *Food Control*, 19(2), 200-207.
- Ksouri, S., Djebir, S., Hadef, Y., & Benakhla, A. (2015). Survey of bovine mycotic mastitis in different mammary gland statuses in two north-eastern regions of Algeria. *Mycopathologia*, 179(3-4), 327-331.
- Le Maréchal, C., Thiéry, R., Vautour, E., & Le Loir, Y. (2011). Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products—a review. *Dairy Science & Technology*, 91(3), 247-282.
- Leduc, A., Souchet, S., Gelé, M., Le Provost, F., & Boutinaud, M. (2021). Effect of feed restriction on dairy cow milk production: a review. *Journal of animal science*, 99(7), skab130.
- Lemus-Ramírez, V., Guevara-Escobar, A. y García-Muñiz, J. (2008). Curva de lactancia y cambio en el peso corporal de vacas Holstein-Friesian en pastoreo. *Agrociencia*, 42(7), 753-765.

- López, J., Cordero, A., & Buendia, M. (2016). Certificar con Buenas Prácticas Ganaderas hace más eficiente los recursos de una explotación pecuaria. *Agroindustrial Science*, 6(2), 175-183.
- Lucey, J. A. (2015). Raw milk consumption: risks and benefits. *Nutrition today*, 50(4), 189.
- Machado Peña, Y., Soto Senra, S. A., Uña Izquierdo, F., (2018). Eficiencia bioproduktiva y financiera en fincas lecheras del sector privado. *Revista de Producción Animal*, 30(1), 13-21.
- Machado, S. C., Fischer, V., Stumpf, M. T., & Stivanin, S. C. B. (2017). Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(4), 340-347.
- Maity, S., Das, D., & Ambatipudi, K. (2020). Quantitative alterations in bovine milk proteome from healthy, subclinical and clinical mastitis during *S. aureus* infection. *Journal of Proteomics*, 223, 103815.
- Manjarrez López, A. M., Díaz Zarco, S., Salazar García, F., Valladares Carranza, B., Gutiérrez Castillo, A. D. C., Barbabosa Plliego, A., ... & Velázquez Ordoñez, V. (2012). Identificación de biotipos de *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras de producción familiar con mastitis subclínica en la región centro-este del Estado de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3(2), 265-274.
- Manoni, M., Di Lorenzo, C., Ottoboni, M., Tretola, M., & Pinotti, L. (2020). Comparative proteomics of milk fat globule membrane (MFGM) proteome across species and lactation stages and the potentials of MFGM fractions in infant formula preparation. *Foods*, 9(9), 1251.

Marsh, S. R., Pridham, K. J., Jourdan, J., & Gourdie, R. G. (2021). Novel Protocols for Scalable Production of High Quality Purified Small Extracellular Vesicles from Bovine Milk. *Nanotheranostics*, 5(4), 488.

Martínez Miranda, M. & Díaz Arango, F. (2016). Evaluación de la calidad de la leche cruda recibida en industrias lácteas de Manizales. *Producción+ Limpia*, 11(1): 75-84.

Martinez, M. M., & Gomez, C. A. (2013). Calidad composicional e higiénica de la leche cruda recibida en industrias lácteas de Sucre, Colombia. *Biotecnología en el sector Agropecuario y agroindustrial*, 11(2), 93-100.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). (2012). resolucion 000017 de 2012; Por el cual se establece el pago de la leche cruda al proveedor. Colombia 2012.

Ministerio de la Protección Social (2006). Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expenda, importe o exporte en el país. Disponible en:
<https://www.ica.gov.co/getattachment/15425e0f-81fb-4111-b215-63e61e9e9130/2006d616.aspx>

Mogensen, L., Kristensen, T., Søegaard, K., Jensen, S. K., & Sehested, J. (2012). Alfa-tocopherol and beta-carotene in roughages and milk in organic dairy herds. *Livestock Science*, 145(1-3), 44-54.

Muehlhoff, E., Iannotti, L., & McMahon, D. (2013). Review of milk and dairy programmes affecting nutrition. *Journal of Development Effectiveness*, 5(1), 82-115.

Muñoz-Domínguez, L., Jurado-Gámez, H. y Quitiaquez-Montenegro, D. (2019). Valoración de calidad composicional, sanitaria, y microbiológica de leche cruda en diferentes tercios de lactancia. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 19(2): 34-51.

- Muñoz-Domínguez, Jurado Gámez, H., M, Luis., Quitiaquez-Montenegro, D., Fajardo-Argoti, C., & Insuasty-Santacruz, E. (2019). Evaluación de la calidad composicional, microbiológica y sanitaria de la leche cruda en el segundo tercio de lactancia en vacas lecheras. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 66(1), 53-66.
- Navia, J. N., Muñoz, D. A., & Solarte, J. G. (2015). Caracterización biofísica y socioeconómica de fincas ganaderas de leche en el municipio de Guachucal, Nariño. *Temas agrarios*, 20(1), 113-129.
- Newman, J. H., Holt, T. N., Cogan, J. D., Womack, B., Phillips, J. A., Li, C., ... & Hamid, R. (2015). Increased prevalence of EPAS1 variant in cattle with high-altitude pulmonary hypertension. *Nature communications*, 6(1), 1-5.
- Ning, T., Dong, Z., Ao, C., Zhang, G., Erdene, K., Zhang, F. Q. y Zhang, L. (2018). Effects of continuous low dose infusion of lipopolysaccharide on inflammatory responses, milk production and milk quality in dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102(1), e262-e269.
- Ocampo, R., Gomez, C., Restrepo, D., & Cardona, H. (2016). Estudio comparativo de parámetros composicionales y nutricionales en leche de vaca, cabra y búfala, Antioquia, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 177-186.
- Orjuela Echandía, G. C. (2018). Plan de muestreo para caracterizar a los productores de las cuencas lecheras del departamento de Nariño.
- Ortiz-Uriarte, B. P., Rosa-Padilla, N. L., López-López, R., Curbelo-Rodríguez, J., Negrón-Pérez, V. M., & Ortiz-Colón, G. (2020). Comparison of milk production and calving intervals between Slick and WildType Holsteins in a tropical grazing production system. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 28(3/4), 145-153.

- O'Sullivan, M., Horan, B., Pierce, K. M., McParland, S., O'Sullivan, K., & Buckley, F. (2019). Milk production of Holstein-Friesian cows of divergent Economic Breeding Index evaluated under seasonal pasture-based management. *Journal of dairy science*, 102(3), 2560-2577.
- Ponce, P y Villoch, A. M. (2010). Buena práctica de producción lechera para Cuba. Estrategia para su aplicación. *Revista de Salud Animal*, 32(3), 192-197.
- Quitiaquez-Montenegro, D., Muñoz-Domínguez, L., Jurado-Gámez, H. (2021). Valoración de calidad composicional, sanitaria, y microbiológica de leche cruda en diferentes tercios de lactancia. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 19(2): 34-56.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rastani, R. R., Andrew, S. M., Zinn, S. A., & Sniffen, C. J. (2001). Body composition and estimated tissue energy balance in Jersey and Holstein cows during early lactation. *Journal of Dairy Science*, 84(5), 1201-1209.
- Raut, R., Mandal, R. K., Kaphle, K., Pant, D., Nepali, S., & Shrestha, A. (2017). Assessment of antibiotic residues in the marketed meat of Kailali and Kavre of Nepal. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 5(3), 386-389.
- Reinhardt, T. A., Sacco, R. E., Nonnecke, B. J., & Lippolis, J. D. (2013). Bovine milk proteome: quantitative changes in normal milk exosomes, milk fat globule membranes and whey proteomes resulting from *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of proteomics*, 82, 141-154.
- Riva, A., Borghi, E., Cirasola, D., Colmegna, S., Borgo, F., Amato, E., ... & Morace, G. (2015). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw milk: Prevalence, SCC

mec typing, enterotoxin characterization, and antimicrobial resistance patterns. *Journal of food protection*, 78(6), 1142-1146.

Rodríguez Martínez, G. (2006). Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogotá, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(12), 35-55.

Rodriguez, C. E., Saavedra, G. F., & Gómez, D. F. (2015). Efecto de la etapa de lactancia sobre la calidad fisicoquímica de leche en vacas de raza Holstein y Normando. *Zootrop*, 33, 23-35.

Rodríguez, E., Saavedra, F. y Gómez, F. (2015). Efecto de la etapa de lactancia sobre la calidad fisicoquímica de leche en vacas de raza Holstein y Normando. *Zootecnia Tropical*, 33(1): 23-35.

Rossi, G., Schiavon, S., Lomolino, G., Cipolat-Gotet, C., Simonetto, A., Bittante, G., & Tagliapietra, F. (2018). Garlic (*Allium sativum L.*) fed to dairy cows does not modify the cheese-making properties of milk but affects the color, texture, and flavor of ripened cheese. *Journal of dairy science*, 101(3), 2005-2015.

Ruiz Gil, A. K., Peña Rodríguez, J., & Remón Díaz, D. (2016). Mastitis bovina en Cuba. Artículo de revisión. *Revista de Producción Animal*, 28(2-3), 39-50.

Ryman, V. E., Packiriswamy, N., & Sordillo, L. M. (2015). Role of endothelial cells in bovine mammary gland health and disease. *Animal health research reviews*, 16(2), 135-149.

Samková, E., Špička, J., Pešek, M., Pelikánová, T., & Hanuš, O. (2012). Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *South African Journal of Animal Science*, 42(2), 83-100.

- Sánchez, T., Lamela, L., López, O., & Benítez, M. (2015). Influencia del probiótico Sorbifauna en la producción y calidad de la leche de vacas mestizas en pastoreo. *Pastos y Forrajes*, 38(3), 183-188.
- Schröder, M., Lutz, N. L., Tangwan, E. C., Hajazimi, E., & Vetter, W. (2012). Phytanic acid concentrations and diastereomer ratios in milk fat during changes in the cow's feed from concentrate to hay and back. *European Food Research and Technology*, 234(6), 955-962.
- Senevirathne, P. G. N. D., Mangalika, U. L. P., Adikari, A. M. J. B., & Nayananjalie, W. A. D. (2016). Evaluation of cow factors and milk composition on freezing point depression of cow milk. *International Journal of Livestock Research*, 6(5), 61-67.
- Sharma, N., Singh, N. K. y Bhadwal, M. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(3), 429-438.
- Singh, A. K., Bhakat, C., Mandal, D. K., Mandal, A., Rai, S., Chatterjee, A., & Ghosh, M. K. (2020). Effect of reducing energy intake during the dry period on milk production, udder health, and body condition score of Jersey crossbred cows in the tropical lower Gangetic region. *Tropical animal health and production*, 52(4), 1759-1767.
- Srairi, M. T., Benhouda, H., Kuper, M., & Le Gal, P. Y. (2009). Effect of cattle management practices on raw milk quality on farms operating in a two-stage dairy chain. *Tropical animal health and production*, 41(2), 259-272.
- Stocco, G., Summer, A., Cipolat-Gotet, C., Zanini, L., Vairani, D., Dadousis, C., & Zeconi, A. (2020). Differential somatic cell count as a novel indicator of milk quality in dairy cows. *Animals*, 10(5), 753.

- Stoop, W. M., Bovenhuis, H., Heck, J. M. L., & Van Arendonk, J. A. M. (2009). Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows. *Journal of dairy science*, 92(4), 1469-1478.
- Suárez, C. A., Abatángelo, V., Peressutti Bacci, N., Boncompain, C. A., Amadio, A. A., Carrasco, S., & Morbidoni, H. R. (2017). Broad-range lytic bacteriophages that kill *Staphylococcus aureus* local field strains. *PLoS One*, 12(7), e0181671.
- Sun, Y., Wang, C., Sun, X., & Guo, M. (2019). Comparative proteomics of whey and milk fat globule membrane proteins of Guanzhong goat and Holstein cow mature milk. *Journal of food science*, 84(2), 244-253.
- Suriyasathaporn, W., Schukken, Y. H., Nielen, M., & Brand, A. (2000). Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *Journal of dairy Science*, 83(6), 1248-1255.
- Valckenier, D., Piepers, S., Schukken, Y. H., De Visscher, A., Boyen, F., Haesebrouck, F., & De Vliegher, S. (2021). Longitudinal study on the effects of intramammary infection with non-aureus staphylococci on udder health and milk production in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 104(1), 899-914.
- Vásquez, N. R., Silva, J. A. F., & Baena, L. G. P. (2018). Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, (36), 75-87.
- Wilmink, J. B. M. (1987). Comparison of different methods of predicting 305-day milk yield using means calculated from within-herd lactation curves. *Livestock Production Science*, 17, 1-17.

- Zagorska, J., & Ciprovica, I. (2013). Evaluation of factors affecting freezing point of milk. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 7(2), 106-111.
- Zschiesche, M., Mensching, A., Sharifi, A. R., & Hummel, J. (2020). The Milk Fat-to-Protein Ratio as Indicator for Ruminal pH Parameters in Dairy Cows: A Meta-Analysis. *Dairy*, 1(3), 259-268.