

**Trabajo de Diploma en opción al título de
Ingeniero Agrónomo**

Proyecto científico productivo

**Propuesta para el mejoramiento de la calidad higiénico-sanitaria de
la leche producida en la empresa Pecuaria Genética de Matanzas.**



Autora: Leydi Isabel Ramos Padrón

Tutores: Aymara Valdivia Ávila

José Vega Alfonso

Matanzas, 2018

*Perder con clase y vencer con osadía,
porque el mundo pertenece a quien se atreve
y la vida es mucho más para ser insignificante.*

Charles Chaplin

Declaración de Autoridad

Declaro que yo, **Leydi Isabel Ramos Padrón**, soy la única autora de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

Firma

DEDICATORIA

A mi familia y mi linda Ana.

AGRADECIMIENTOS

- A mi mamá que me dio ánimos de seguir estudiando, de apoyarme en los proyectos de mi vida con insistencia y amor.
- A mi persona favorita, Ana, por su amor inigualable hacia mí y hacerme seguir adelante.
- A mis abuelos bellos por su preocupación, cariño y los buenos consejos.
- A mi hermano por regalarme su sonrisa y su amor.
- A mis tías(os), los de cerca y los de lejos, por apoyarme siempre y confiar en mí.
- A mis tutores por la confianza depositada en mí e inmensa paciencia.
- A cada profesor de para UMCC, en especial a Camacho, Hectico, Yasmaly, Liriano y Liddrey.

OPINIÓN DEL TUTOR

El trabajo de diploma “Propuesta para el mejoramiento de la calidad higiénico-sanitaria de la leche producida en la Empresa Pecuaria Genética de Matanzas”, de la diplomante Leydi Isabel Ramos Padrón. Se desarrolló como respuesta a una solicitud realizada por directivos de esta entidad con el fin de incrementar la calidad de este producto.

Este proyecto aborda un tema de actualidad y gran interés social ya que la necesidad de obtener mayores volúmenes de leche con la calidad requerida es una prioridad para las empresas agropecuarias del país. La diversidad de factores que influyen sobre esta problemática exigió el máximo esfuerzo de la estudiante para apropiarse de los conocimientos necesarios para ofrecer una respuesta adecuada y viable.

Durante la realización del trabajo de diploma la alumna mostró responsabilidad, independencia y defendió sus criterios y puntos de vistas. Se distinguió por la alegría y creatividad con que enfrentó las dificultades que se presentaron en esta etapa. Teniendo en cuenta estos criterios proponemos al tribunal evaluador la aceptación de este proyecto como ejercicio de culminación de estudios para alcanzar el título de Ingeniería Agrónoma.

Dra. C. Aymara Valdivia Avila

MSc. José Vega Alfonso

.Lista de abreviaturas

CAME: Consejo de Ayuda Mutua Económica

CEPAL: Comisión Económica para América Latina y el Caribe

CCS: conteo de células somáticas

CMT: prueba de california para el diagnóstico de mastitis

ONEI: Oficina Nacional de Estadística e Información

TRAM: tiempo de reducción del azul de metileno

Índice

1. Introducción.....	1
2. Problema.....	3
3. Hipótesis	4
4. Fundamentación.....	5
4.1. Antecedentes históricos de la producción de leche en Cuba	5
4.2. La leche de vaca y sus propiedades nutricionales	6
4.2.1. Componentes de la leche.....	7
4.3. Calidad de la leche.....	11
4.4. Indicadores que determinan la calidad higiénico-sanitaria de la leche.....	13
4.5. Factores que afectan la calidad higiénica- sanitaria de la leche	17
4.5.1. Factores relacionados con el animal	17
4.5.2. Factores fisiológicos.....	17
4.5.3. Factores ambientales	18
4.6. Prácticas generales de higiene que deben seguirse durante el ordeño para garantizar la calidad higiénico-sanitaria de la leche.....	19
4.7. Empleo de extractos de plantas en la prevención de la mastitis	21
5. Objetivos	23
5.1. Objetivo general:	23
5.2. Objetivos específicos:	23
6. Resultados esperados.....	24
7. Métodos y procedimientos. Cronograma.....	25
7.1 Determinaciones que se emplearán para evaluar la calidad higiénico-sanitaria de la leche producida en las vaquerías.....	25
7.2.Evaluación del empleo de los extractos acuosos de plantas medicinales en la antisepsia final del pezón	27

8. Recursos necesarios y presupuesto	30
9. Valoración económica-financiera	34
10. Bibliografía	35

1. Introducción

La leche es uno de los productos de origen animal más consumidos por la población a nivel mundial. Fernández *et al.*, (2015) la define como un alimento completo y equilibrado, que proporciona un elevado contenido de nutrientes en relación con su contenido calórico, por lo que su consumo debe considerarse necesario desde la infancia a la tercera edad.

En Cuba la leche tiene una alta demanda ya que aún no se alcanzan los niveles productivos que cumplan las necesidades de toda la población. Esta situación ha provocado que este producto se destine fundamentalmente al consumo de sectores vulnerables de la sociedad como niños, ancianos y mujeres embarazadas. Alcanzar los niveles óptimos de calidad en las producciones lácteas es una prioridad para las empresas ganaderas.

Los indicadores de calidad de la leche pueden afectarse debido a las inadecuadas prácticas de ordeño, la limpieza deficiente de las ubres y del ambiente de ordeño, la baja disponibilidad de agua potable, las inadecuadas condiciones higiénicas de las instalaciones, de los utensilios y el personal. Unido a los largos intervalos de tiempo, desde su obtención hasta el punto de venta sin refrigeración ni uso del Stabilak (Martínez *et al.*, 2015).

Por otra parte debe tenerse en cuenta que la rentabilidad económica en las empresas lecheras por lo general depende en gran medida de la calidad de la leche a granel (Leitner, *et al.*, 2012). La misma está relacionada directamente con su composición química-bromatológica y con la higiene con que se obtiene y es testificada por laboratorios creados con estos fines.

La mejora de la calidad- higiénico -sanitaria de la leche influye sobre el precio de la misma y el costo de su producción. En la Empresa Pecuaria Genética de Matanzas (EPGM) en el año 2018 se produjeron 10 294,3 ML de leche y las pérdidas por la

calidad de este producto superaron los dos millones de pesos. Para mejorar esta situación los directivos de esta entidad solicitaron a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Matanzas la realización de investigaciones que contribuyan a solucionar esta problemática.

Para dar respuesta a esta demanda se propone la ejecución de un proyecto que contemple entre sus principales tareas: el desarrollo de diagnósticos para determinar los principales factores que deterioran la calidad higiénico-sanitaria de este producto y la realización de acciones para lograr mejorar sus condiciones de obtención y almacenamiento. El cumplimiento de los objetivos propuestos en este documento permitirá la entrega a la población de un producto inocuo y en mejores condiciones.

2. Problema

El objetivo fundamental de la Empresa Pecuaria Genética de Matanzas es la producción de leche para satisfacer las necesidades de la población, sin embargo, se conoce que en el año 2018 esta entidad tuvo pérdidas por encima de los dos millones de pesos por deficiencias en la calidad de este producto.

3. Hipótesis

La determinación de los principales factores que influyen en el deterioro de la calidad higiénico-sanitaria de la leche en la EPGM y la toma de medidas como el desarrollo de cursos de capacitación en esta temática al personal que en ella labora y la búsqueda de nuevos productos para emplearse en la antisepsia final de los pezones, posibilitará la mejora de la calidad higiénico-sanitaria de este producto.

4. Fundamentación

4.1. Antecedentes históricos de la producción de leche en Cuba

Las explotaciones de ganado vacuno en Cuba comenzaron desde la época de la colonización española. Incluso, con el auge de la producción azucarera, en algunos de los grandes ingenios de la parte oriental hubo ganadería vacuna. Estos ingenios importaban animales de raza para los programas de cruzamiento y servían como centros de mejoramiento genético para el ganado de las regiones cercanas (Pacheco *et al.*, 2017).

A mediados del siglo XVI la ganadería pasa a ser la actividad económica fundamental en la isla, favorecida por sus características de satisfacer tanto las necesidades internas, como las demandas del comercio exterior. La abundancia de tierras y la posibilidad de conservar los cueros y el tasajo este último, alimento ideal para los pasajeros de las flotas determinaron el auge de esta actividad dentro de las estructuras del incipiente capitalismo colonial de exportación en Cuba (Aguilar *et al.*, 2004).

Antes del triunfo de la Revolución existía una ganadería mayoritariamente extensiva, con líneas genéticas carniceras adaptadas a las condiciones climatológicas de la región. La producción lechera se consideraba complementaria y se destinaba sobre todo al autoconsumo (García, 2003).

Desde 1959, en el país se propició el desarrollo de una ganadería lechera que tenía como subproducto la carne; para ello se creó una estructura de grandes empresas estatales que agrupaban más del 75 % de los animales en lecherías con 120-280 vacas, ordeño mecanizado, manejo de pastos artificiales, así como una fuerte industria de procesamiento (Pérez, 1999).

Desde la década de los sesenta del pasado siglo comienza a ejecutarse un proyecto dirigido a potenciar la ganadería, con énfasis en la producción lechera (Aguilar *et al.*, 2004). La ganadería estatal representaba el 80 % del total nacional y estaba organizada en 106 empresas especializadas; sin embargo, el modelo altamente

dependiente de insumos generó importantes resultados hasta finales de la década del 80 cuando se logró un consumo *per cápita* de 150 litros de leche por habitante (Ponce, 2009).

La desaparición del Consejo de Ayuda Mutua Económica (CAME), encabezado por la Unión Soviética y donde Cuba se veía favorecida, así como el fortalecimiento del bloqueo económico de Estados Unidos a la isla cambiaron drásticamente las condiciones de producción y los resultados hasta ese periodo, lo que conllevó a un completo replanteamiento en diferentes aspectos (Pérez, 1999). El mayor efecto de ese periodo fue el cambio en la tenencia del ganado del sector estatal al cooperativo y campesino con la producción de pequeños volúmenes (campesinos con menos de 10 vacas). Unido a esto, la pérdida de la capacidad de refrigeración, con la que se logra cubrir solo el 15 % de las unidades lecheras, generó múltiples problemas en el sector lácteo nacional (Martínez, *et al.*, 2017).

La producción mundial de leche en el año 2014 alcanzó la cifra de 780 millones de toneladas y en América Latina y el Caribe se produjeron alrededor de 84,8 millones de toneladas, con un incremento del 30% en la década 2004-2014 (Díaz, 2014; Sabourin *et al.*, 2014). Según la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL) (2013) en la mayoría de los países en desarrollo son los pequeños agricultores quienes producen la leche, para garantizar su alimentación y la nutrición de sus familias.

En Cuba en el año 2014 se produjeron más de 385 millones de litros de leche y más del 72 % de esta producción se encontró en manos del sector cooperativo y campesino (MINAG, 2014). La Oficina Nacional de Estadística e Información (ONEI) (2016) indicó que en nuestro país existían 4 045,9 miles de cabezas de ganado vacuno y se produjeron 493,9 Mt de leche, de las cuales 59,1 Mt corresponden al sector estatal y 434, 8 Mt al sector no estatal.

4.2. La leche de vaca y sus propiedades nutricionales

La leche es una fuente de proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales. Es uno de los alimentos más vulnerables a las alteraciones físico-química y al deterioro

por microorganismos (Barrera, 2012). Se considera un alimento importante para el ser humano y para el resto de los mamíferos (Agudelo *et al.*, 2005).

A partir de la leche se obtienen los derivados lácteos mediante técnicas de separación de nutrientes o modificaciones bioquímicas de alguno de ellos. En general, estos tienen características organolépticas, composición química y valor nutritivo diferentes a los de la leche de partida, dependiendo del proceso tecnológico que se realice.

La composición de la leche varía en función de factores como la especie y raza animal, la alimentación, el momento del ordeño y el periodo post-parto, entre otros. Se trata de un alimento líquido con un aporte energético considerable (65 kcal/100 g), cuyo componente mayoritario es el agua (86-88 %) y en el que coexisten en equilibrio nutrientes en estado de disolución, dispersión coloidal y emulsión (Díaz, 2012).

4.2.1. Componentes de la leche

Proteínas

La leche y los derivados lácteos son alimentos importantes en todas las etapas de la vida, especialmente en la infancia y adolescencia. Esto se debe a su contenido de proteínas, minerales y otros micronutrientes que promueven el desarrollo esquelético, muscular y neurológico (Heller y Flores, 2016).

Las proteínas presentes en la leche junto al flúor y otros elementos de la dieta, son decisivos para alcanzar un buen desarrollo de las piezas dentarias y mantenerlas sanas. Otros componentes participan en el logro de la salud dental. Existen estudios que confirman que el consumo de leche ofrece un beneficio anticariogénico cuando se acompaña de una higiene oral correcta (Fernández *et al.*, 2015).

El contenido de proteína de la leche es del 3,5% (varía de 2,9 % a 3,9 %). La proteína láctea es una mezcla de numerosas fracciones proteicas diferentes y de pesos moleculares distintos. Las mismas se clasifican en dos grandes grupos: caseínas (80 %) y proteínas séricas (20 %) (Agudelo *et al.*, 2005).

Lípidos o grasas

Los lípidos están entre los constituyentes más importantes de la leche, si se tienen en cuenta aspectos económicos, nutritivos y las características físicas y organolépticas que le confieren a este producto. La leche entera de vaca se comercializa con 3,5 % de grasa, la cual aporta aproximadamente el 50 % de la energía suministrada. Los componentes fundamentales de la materia grasa son los ácidos grasos que representan el 90 % de la masa de los glicéridos y se clasifican en saturados e insaturados (Rodríguez, 2006). La producción de grasa depende de la capacidad metabólica individual de cada vaca (Soyeurt *et al.*, 2006, Hradecká *et al.*, 2008) y de su alimentación (Fievez *et al.*, 2012). La tabla 1 contempla los principales ácidos grasos presentes en la leche de vaca.

Tabla 1. Principales ácidos grasos presentes en la leche de vaca, porcentaje aproximado (tomado de García, C.A. *et al.*, 2014).

Nombre común	Nomenclatura química	%	Número de átomos			Enlaces dobles	Estado ⁴
			C ¹	H ²	O ³		
Ácidos grasos saturados							
Butírico	Butanoico	4,5	4	8	2	0	Líquido
Caproico	Hexanoico	2,2	6	12	2	0	
Caprílico	Octanoico	2,5	8	16	2	0	Sólido
Cáprico	Decanoico	3,8	10	20	2	0	
Láurico	Dodecanoico	5,0	12	24	2	0	
Mirístico	Tetradecanoico	11,0	14	28	2	0	
Palmítico	Hexadecanoico	25,0	16	32	2	0	
Esteárico	Octadecanoico	7,0	18	36	2	0	
Ácidos grasos monoinsaturados							
Oleico	Octadecenoico <i>cis</i> -9 ⁽⁴⁾	3,0	18	34	2	1	
Ácidos grasos poliinsaturados							
Linoleico	Octadecadienoico <i>cis</i> -9,12	2,0	18	32	2	2	Líquido
Linolénico	Octadecatrienoico <i>cis</i> -6,9,12	0,7	18	30	2	3	
Araquidónico	Eicosatetraenoico <i>cis</i> -5,8,11,14	0,7	20	32	2	4	

⁽¹⁾carbono; ⁽²⁾hidrógeno; ⁽³⁾oxígeno; ⁽⁴⁾a temperatura ambiente; ⁽⁵⁾isomería espacial.

Minerales

La leche bovina contiene una fracción mineral 7-9 g·L⁻¹(leche fluida) de alto interés para la salud humana especialmente para los niños, embarazadas y la mujer menopáusica. La distribución y concentración de estos elementos en las fases en equilibrio de la

leche son diferentes de acuerdo al mineral en cuestión, lo que permite concentrarlos en el producto final en función del procedimiento industrial que se aplique. En la fase acuosa se encuentran disueltos, conjuntamente con lactosa y compuestos nitrogenados solubles, sales minerales u orgánicas como citratos, fosfatos y cloruros de calcio, potasio, magnesio, sodio y trazas de hierro (Closa *et al.*, 2003).

La dieta del animal no afecta la concentración de calcio, fósforo y magnesio de la leche. Sin embargo una deficiencia de cobre en la misma puede afectar el contenido de este mineral. Por otro lado, si la alimentación aporta una mayor cantidad de elementos como cobalto, boro, molibdeno, flúor, selenio, yodo o bromo, su concentración en la leche también puede incrementarse (IICA, 2015). Durante el último período de lactancia aumenta la concentración de algunos minerales en la leche, tales como calcio, fósforo, sodio y el cloro. (Closa *et al.*, 2003).

Los niveles de minerales en la leche pueden variar de acuerdo con las cantidades de estos elementos en el suelo, el alimento y el forraje que se le suministre al animal. Además, el contenido mineral también puede cambiar por numerosos factores como la raza, el periodo de lactación, el clima y la estación del año (Park *et al.*, 2013).

Vitaminas

La leche contiene vitaminas como la A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, C, carotenos, nicotinamida, biotina, ácido fólico, su concentración está sujeto a grandes oscilaciones. El calostro posee una extraordinaria riqueza vitamínica, contiene de 5 a 7 veces más vitamina C y de 3 a 5 veces más vitaminas B2, D y E que la leche normal. También influye la época del año, el clima, el ambiente y la alimentación; este último factor repercute especialmente en los carotenos y en la vitamina A como consecuencia de la abundante ingestión de carotenos cuando la base de la alimentación son los forrajes frescos (Agudelo *et al.*, 2005).

Según Celis y Juárez (2009) las vitaminas se clasifican en dos grupos según su solubilidad en lípidos o en agua:

- I. **Vitaminas liposolubles presentes en la leche:** vitamina A (100 a 500 mg/L); vitamina D (2 mg·L⁻¹); vitamina E (500 a 1 000 mg·L⁻¹); vitamina K (trazas). Estas vitaminas son resistentes al calor y se encuentran en la materia grasa.

- II. **Vitaminas hidrosolubles presentes en la leche:** las vitaminas B1 y B2 son las más abundantes (400 a 1 000 mg·L⁻¹). La vitamina B12 está presente en muy pequeñas cantidades. También se encuentran el ácido nicotínico (5-10 mg·L⁻¹) y el ácido ascórbico (10 a 20 mg·L⁻¹). Se localizan en la fase acuosa.

Enzimas

Las enzimas lácteas se originan en el organismo. Llegan a la leche procedente de la sangre o de las células (Agudelo *et al.*, 2005). Se presentan como proteínas simples o como apoproteínas en los complejos lipoprotéicos. Se pueden encontrar en todo el sistema, sobre la superficie del glóbulo graso, asociado a las micelas de la caseína y en forma simple en suspensión coloidal. Las más importantes son: fosfatasa alcalina (sirve como indicador de la deficiente pasteurización), lipasa, proteasa y xantina oxidasa (DGPA, 2005).

Agua

El agua es el soporte de los componentes sólidos de la leche y se encuentra presente en dos estados: como agua libre que es la mayor parte (intersticial) y como agua adsorbida en la superficie de los componentes (Celis y Juárez, 2009).

Lactosa

La lactosa o azúcar de la leche es el hidrato de carbono mayoritario y su contenido se sitúa entre 4-5 % (Díaz, 2012). Participa en la síntesis de glucolípidos cerebrósidos (esenciales en el desarrollo neurológico temprano) y de glicoproteínas. También facilita la absorción de calcio (Fernández *et al.*, 2015). Funciona como sustrato metabólico

para las bacterias intestinales, actúa como receptor de patógenos, induce y refuerza la respuesta inmune frente a estos (Zivkovic y Barile. 2011).

La lactosa es el factor limitante en la producción de leche, o sea que la cantidad de leche que se produce dependerá de la formación de lactosa. Se distingue de los demás azúcares por su estabilidad en el tracto digestivo del hombre y es la única fuente de galactosa para el mismo (Celis y Juárez, 2009).

La lactosa producida depende de la glucosa que sea posible retener en la glándula mamaria y del estado de salud de esta; cuanto mayor es el número de células somáticas en la leche, menor es el contenido de lactosa (Ramos *et al.*, 2015).

4.3. Calidad de la leche

Según Fernández *et al.* (2010) la calidad se define como “un proceso de mejoramiento continuo donde todas las áreas de la empresa, institución, entre otros, participan activamente en el desarrollo de productos y servicios que satisfagan las necesidades del cliente, logrando con ello mayor productividad”.

La leche de calidad es aquella que posee una composición (grasa, proteína, lactosa, vitaminas y minerales) de excelencia, que presenta recuentos microbianos bajos (higiénica), está libre de patógenos y no posee contaminantes físico-químicos (Fernández *et al.*, 2010). Estos autores consideran además que para obtener productos lácteos de calidad es requisito indispensable contar con leche de buena calidad.

La leche debe poseer una buena calidad Independiente del uso para que se destine, sobre todo si se emplea para el consumo directo, lo cual significa que además de tener un adecuado contenido de nutrientes tiene que ser inocua para el consumidor. Es necesario que este producto al salir de los hatos conserve su calidad para garantizar la confianza del consumidor. Sin embargo, puede alterarse durante su transporte y comercialización (Oliver *et al.*, 2005).

La calidad de la leche puede dividirse en dos partes principales: la composicional y la higiénico-sanitaria. La primera comprende los requisitos de composición físico-química que debe tener este producto, se valora mediante el control de su contenido de sólidos

totales, entre los más importantes se destacan la grasa y la proteína; parámetros constituyentes de la leche que establecen su valor nutricional (Delgado *et al.*, 2016).

Dentro de la calidad higiénica se debe valorar la calidad microbiológica que se considera entre los aspectos legales para la comercialización de este producto. Se establece que debe poseer un contenido no mayor de 100,000 unidades formadoras de colonias por mL ($\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$) y como máximo un número de coliformes de 1 000 $\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Astiz, 2010 y Fernández *et al.*, 2010). Para realizar estas evaluaciones se emplean varios métodos como el recuento de microorganismos aerobios mesófilos (Martínez y Gómez, 2013) y el tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM) (Artica, 2016).

La leche constituye un alimento fundamental y básico en la alimentación humana que sufre diferentes transformaciones industriales para su venta al consumidor (leche tratada térmicamente pasteurizada, esterilizada o UHT) o bien para la elaboración de productos lácteos. El control de su calidad desde su origen es fundamental para obtener productos que cumplan las exigencias legales de calidad y que satisfagan las expectativas de los consumidores desde el punto de vista bromatológico (García *et al.*, 2014).

Según el Grupo Empresarial de la Industria Alimentaria (2015) el sistema de pago por calidad vigente clasifica la leche en tres clases, donde se toma como base la prueba de TRAM. Se aplica bonificación por incremento de grasa y penalizaciones por bajo peso específico ($\text{densidad} < 1,029 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y positividad a la prueba de california para el diagnóstico de mastitis o California mastitis test (CMT). Es importante mantener la calidad de la leche desde la finca a la bodega, al centro de acopio o a la planta de procesamiento. Para ello, es imprescindible cumplir con la organización y la higiene durante la recolección y el traslado al destino final; este debe ser en el menor tiempo posible, contar con registros para el control y la trazabilidad mediante la identificación de cada animal y los eventos fundamentales en un libro para cada finca, como la identificación individual, la producción de leche, la genética (madre, semental), la salud, la calidad, la reproducción y el mínimo de costos (Ponce *et al.*, 2005).

El mercado de leche cruda en Cuba es regulado por la Resolución No. 152 y la Norma Cubana (NC-448, 2006), ambas consideran que este producto es uno de los de mayor impacto en la salud pública por ser un alimento de alto riesgo, debido a que su calidad e inocuidad se pueden ver comprometidas desde el ordeño hasta la llegada al consumidor (Martínez *et al.*, 2017).

4.4. Indicadores que determinan la calidad higiénico-sanitaria de la leche

Inga (2017) plantea que para determinar si la leche está adulterada, se requiere la realización de análisis rápidos con el fin de obtener resultados inmediatos y eficaces. Los principales requisitos que se evalúan para determinar la calidad de la leche son: densidad ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), índice crioscópico ($^{\circ}\text{C}$), refracción, acidez (%), grasa, sólidos (%) y presencia de bacterias patógenas y antibióticos. (Vásquez *et al.*, 2012).

Densidad

Según Castro (2003) se utiliza un lactómetro diseñado para cuantificar el peso específico de la leche a una temperatura determinada. Esta prueba permite detectar adulteraciones de este producto por separación de la grasa, adición de agua o leche descremada. También puede emplearse para calcular aproximadamente el contenido de sólidos no grasos. La prueba se realiza transcurrida las 4 horas después del ordeño, ya que en un período inferior la leche sufre un proceso de contracción e incremento de peso específico hasta que se estabiliza.

La densidad a una temperatura de 15°C varía entre $1,030$ y $1,033 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Mercado *et al.*, 2014). El valor de este indicador para leche entera es de aproximadamente de $1,032 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, la leche descremada tendrá $1,036 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ y la aguada aproximadamente de $1,029 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (UNAD, 2016).

Acidez

La acidez expresada como ácido láctico debe estar en el rango de $0,13$ a $0,18$ gramos de ácido láctico por 100 mL (Mercado *et al.*, 2014). Esta determinación permite apreciar el grado de deterioro que causan los microorganismos lácticos en este producto. Es un indicador de la higiene y la conservación con la que se obtiene el mismo (Fernández *et al.*, 2010 y Brousett *et al.*, 2015).

Se ha comprobado que existe una buena correspondencia entre el resultado de la prueba del alcohol y leches con acidez desarrollada (Chavez *et al.*, 2004). Negri (2005) considera que esta prueba tiene la ventaja de ser rápida y sencilla, pero cuando se emplea es necesaria la medición de pH en las muestras para interpretar correctamente los resultados.

Grasa

Agudelo *et al.*, (2005) consideran que la grasa láctea se sintetiza en su inmensa mayoría en las células secretoras de la glándula mamaria y constituye cerca del 3% de la leche. Su contenido puede variar debido a factores como la raza, la alimentación y el estado sanitario de la ubre, disminuye significativamente cuando se presentan procesos inflamatorios o infecciosos. Se puede cuantificar con el empleo del método de Gerber (Nielsen, 2003).

El tratamiento térmico influye en la estructura composicional de la leche de tal forma que aparenta contener menos grasa de la que posee. Lo que en realidad se debe a un cambio en la aglomeración de los glóbulos de la grasa (Inga, 2017).

Sólidos totales

Este término se refiere al contenido de grasa, lactosa, proteínas, o sea, a todos los componentes de la leche con excepción del agua, como la diferencia que hay entre el porcentaje de agua con respecto al cien por ciento (Chacón, 2017).

El valor económico y nutricional de la leche está directamente relacionado con su contenido de sólidos totales. Se conoce que a mayor cantidad de los mismos se obtiene un mayor rendimiento al procesar la leche para obtener queso u otros derivados (Shearer, 2003).

Prueba de tiempo de reducción del azul metileno (TRAM)

Esta prueba se utiliza para determinar de manera indirecta la calidad higiénica de la leche, sirve para valorar la contaminación de este producto. El colorante más empleado en la industria láctea para realizar esta determinación es el azul de metileno, pero también se pueden utilizar la resazurina y el cloruro de 2, 3, 5, trifenil-tetrazolium, ya que son compuestos fácilmente absorbibles por las células vivas y se decoloran a una velocidad proporcional a la actividad de las enzimas reductasas microbianas (García *et al.*, 2014). En la tabla 2 se muestra la clasificación de la calidad de la leche a partir del tiempo de decoloración del azul de metileno



Figura 1: Tubo de leche con indicador azul de metileno a tiempo 0 (izquierda) y tubo de leche con indicador azul de metileno al cabo de 7 horas de incubación (derecha) (tomado de García, *et al.* 2014)

Tabla 2. Clasificación de la calidad de la leche a partir del tiempo de decoloración del azul de metileno (tomado de García, *et al.* 2014).

Calidad de la leche	Tiempo de decoloración	Número estimado de bacterias por mL
Buena	5 horas	100.000-200.000
Regular a buena	2-4 horas	200.000-2.000. 000
Mala	≤ 2 horas	2-10 millones

Prueba de California (CMT)

Cipolatti y Lizarraga. (2016) definen la mastitis como una inflamación de la glándula mamaria causada por la invasión de patógenos, los cuales producen toxinas que pueden dañar los tejidos secretores de leche. En algunos casos puede deberse a trauma físico de la ubre, por ejemplo magulladuras. En la mayoría de las granjas la mastitis es el resultado del desafío bacteriano que es transmitido de vaca a vaca debido a la falta de higiene, procedimientos anómalos de ordeño o contaminación ambiental.

En Cuba la mastitis subclínica tiene una mayor prevalencia en los rebaños que la clínica. Constituye una de las principales causas de la disminución de la producción y la composición láctea (Ruíz *et al.*, 2012). En esta forma clínica de la enfermedad no son visibles los cambios en la ubre o en la leche, estos solo se perciben al realizar la prueba de CMT, debido al incremento de la presencia de células somáticas en la leche (Sharma *et al.*, 2011 y Mera *et al.*, 2017).

La tabla 3 muestra los cambios que ocurren en la composición de la leche con elevados conteos de células somáticas (CCS). Se observa una reducción en el contenido de grasa y caseína y un aumento en el contenido de suero de leche (Armenteros, 1998).

Tabla 3. Cambios en la composición de la leche asociados a elevados conteos de células somáticas (según Armenteros, 1998).

Componente	Leche normal	Leche con elevados CCS	Variación (%)
Sólidos totales (%)	12,4	12,0	3,2
Grasa (%)	3,5	3,2	8,6
Proteína (%)	3,6	3,2	11,0

En los últimos años la escasez del reactivo California en el mercado cubano ha provocado una disminución de los diagnósticos de mastitis subclínica. Por lo tanto, la búsqueda de otros reactivos que puedan reemplazar a este último con igual eficiencia

puede tener un impacto importante en la ganadería lechera y en la calidad de la producción, con este objetivo se han realizado investigaciones para evaluar otros productos como el dodecilo con resultados positivos (Ruiz *et al.*, 2016).

Otros análisis que se realizan para evaluar la calidad higiénica de la leche son el recuento de bacterias mesófilas aerobias, el recuento de células somáticas y la ausencia de residuos de antibióticos (Moreno *et al.*, 2007 y Martínez *et al.*, 2017).

4.5. Factores que afectan la calidad higiénica- sanitaria de la leche

4.5.1. Factores relacionados con el animal

Factores genéticos

Constituye hoy uno de los factores más relevantes a considerar en la composición de la leche, puesto que la grasa y la proteína son caracteres genéticos con alta heredabilidad. Al tener en cuenta que el pago de la leche está basado en el nivel de sólidos, se debe enfocar la selección de sementales basado en el rendimiento de grasa más proteína láctea, lo que resultará no solo en un incremento en la producción de leche sino también en mayores porcentajes de grasa y proteína (sólidos) y en sus rendimientos individuales (Viera, 2013).

La raza influye en el porcentaje de grasa de la leche (Mestawet *et al.*, 2012). En animales mestizos entre las razas Holstein y Criolla se encontraron valores de grasa entre 3,99 y 4,30 % (Fernández y Tarazona, 2015).

4.5.2. Factores fisiológicos

Salud de la ubre

Los microorganismos que pueden alcanzar la ubre pueden llegar a contaminar la leche antes o después del ordeño, los mismos pueden llegar por vía mamaria ascendente o descendente. Por vía ascendente, lo hacen bacterias que se adhieren en la piel de la ubre y posterior al ordeño, entran a través del esfínter del pezón (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp.y coliformes). La vía descendente o hematogena la utilizan los microorganismos que pueden causar enfermedades sistémicas o tienen la

propiedad de movilizarse por la sangre y a través de los capilares mamarios llegar a infectar la ubre (*Salmonella sp.*, *Brucella sp.*, *Mycobacterium tuberculosis*) (Fernández *et al.*, 2010). Estos agentes causales están presentes en diferentes sustancias y materiales como el aire del establo, la leche, el agua, los alimentos y las heces (Motta *et al.*, 2014).

Etapa de lactación

La cantidad de lactosa en la leche presenta cambios en las distintas etapas de la lactancia. Es baja en el calostro, aumenta en la primera semana, permanece estable hasta el sexto mes y entonces disminuye nuevamente hasta el final de la lactancia. La grasa y los sólidos no grasos disminuyen con las lactancias sucesivas, hay una caída de alrededor de 0.1 % en la segunda, tercera y cuarta lactancia después de las cuales el descenso es menos pronunciado. La leche de vacas individuales puede mostrar variación de día en día (Artica, 2014).

4.5.3. Factores ambientales

Medio externo

Algunas de las fuentes de contaminación de la leche están relacionadas con factores a los que está expuesto el animal y provienen del medio ambiente, la alimentación, el manejo productivo-sanitario y la exposición a insectos y roedores. Estos contaminantes pueden llegar al animal por ingestión, contacto directo o administración de medicamentos veterinarios (Martínez *et al.*, 2017).

La causa más frecuente del aumento del número de microorganismos en la leche es la limpieza insuficiente del equipo de ordeño, los tanques de leche o los utensilios. Además los residuos de leche que quedan sobre las superficies suministran nutrientes para el crecimiento y la multiplicación microbiana (Ruíz *et al.*, 2012).

El ordeñador

Tiene un papel importante en la contaminación de la leche, sobre todo en el ordeño manual. Es frecuente observar como el personal encargado del ordeño no se lava las manos y peor aún se las humedece con la misma leche para lograr lubricación que

facilite el ordeño. Se ha señalado al ordeñador como responsable de la contaminación de la leche con microorganismos patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Leptospira* sp., *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus* sp. y otros). Además de las heridas infectadas en manos y brazos que pueden ser fuentes de algunos de estos microorganismos (Chacón, 2017).

Temperatura

La leche cuando sale de la cisterna mamaria, presenta una temperatura de 35 a 37 °C, si se considera que se ha efectuado un ordeño en sus tres fases (estimulación, ordeño y apurado) en buenas condiciones sanitarias y con un flujo controlado, estas temperaturas se multiplican rápidamente y la acidifican, por lo que al cabo de cierto tiempo resulta no apta para el consumo. Para evitar este inconveniente y preservar la calidad inicial de la leche cruda hasta el momento de su tratamiento es necesaria su refrigeración a temperaturas entre 4 y 7 °C (Artica, 2014).

4.6. Prácticas generales de higiene que deben seguirse durante el ordeño para garantizar la calidad higiénico-sanitaria de la leche.

Los indicadores de calidad de la leche pueden afectarse debido a las inadecuadas prácticas de ordeño (Martínez *et al.*, 2015). El conjunto de operaciones que componen la rutina de ordeño se pueden agrupar en tres fases: rutina antes del ordeño, durante el ordeño y después del ordeño (Ortiz *et al.*, 2014).

Buenas prácticas antes del ordeño

El piso y las paredes del local de ordeño deben limpiarse todos los días, antes de ordeñar, con agua y detergente, se deben retirar los residuos de estiércol, tierra, alimentos o basura. Los utensilios de ordeño deben ser lavados con agua y detergente antes del ordeño. Aunque se sepa que estos utensilios se lavan correctamente después del ordeño, lo mejor es revisarlos antes de usarlos para eliminar la presencia de residuos, suciedad acumulada o malos olores que puedan contaminar la leche (FAO. 2011).

Se debe ordeñar siempre con ropa de trabajo limpia y exclusiva para el ordeño; tener uñas aseadas y recortadas, cabello limpio y cubierto. Lavarse las manos y secarlas antes de comenzar esta labor, cada vez que se ordeñe una vaca deben lavarse y secarse las manos (Ortiz *et al.*, 2014).

Buenas prácticas después del ordeño

Una vez finalizado el ordeño, enjuagar los utensilios con agua fría; esto evita que se peguen la grasa y las impurezas existentes. Limpiar con agua caliente y detergente, preferentemente con bactericida, y esponja o cepillo todos los utensilios. También los liencillos deben ser lavados con agua fría, y luego agua caliente y detergente. Enjuagar todo y eliminar el detergente con agua limpia a temperatura ambiente. Proceder a realizar un enjuague con agua limpia; eliminar el líquido sin secar, y poner boca abajo y al sol. Los liencillos se cuelgan al sol (Nieto *et al.*, 2012).

González (2015) plantea que si la leche se obtiene en zonas cálidas requiere enfriamiento mecánico con cámaras frigoríficas o tanques enfriadores de leche, que además de contar con la unidad de refrigeración posean homogeneizador para facilitar la agitación de la misma. Si se disponen de recursos económicos se puede invertir en un sistema de pre-enfriamiento rápido para acelerar el proceso. El enfriamiento después del ordeño debe ser inmediato y debe llegar rápidamente a los 4 °C.

Alimentación

Deben diseñarse y aplicarse programas de control para reducir al mínimo o impedir la introducción de contaminantes mediante los concentrados, silos, henos o las prácticas de alimentación. Cuando se utilizan alimentos fermentados como los silos, éstos deben prepararse, almacenarse y utilizarse de tal forma que se reduzca al mínimo el riesgo de contaminación de la leche (Benavides *et al.*, 2014).

Medicamentos veterinarios

Los residuos de antibióticos en la leche, además de ser un peligro para la salud humana y los procesos de industrialización de la leche, tienen implicaciones económicas. El mercado actual de lácteos es cada vez más exigente en productos

libres de residuos; por lo tanto, obtener leche libre de antibióticos, es un elemento esencial para la comercialización (Parra *et al.*, 2003).

Es conocido que los residuos de medicamentos que se presentan en alimentos de origen animal pueden decrecer al someterse a cocción pero su estabilidad es dependiente de factores como tiempo y temperatura de cocción (Heshmati, 2015). En estudios realizados se demostró que inclusive con la aplicación del tratamiento térmico en el caso de la penicilina solo un 8 % de actividad se pierde luego del proceso de pasteurización normal, aunque si es sometida a tratamientos más severos como a 90 °C por 30 minutos, se destruye como máximo el 20 % de su actividad (Ortiz *et al.*, 2014). Tian *et al.*, (2016), consideran que antibióticos como los betalactámicos y las tetraciclinas son más termolábiles mientras que las sulfonamidas son más termoestables.

Un ejemplo del grado de afectación que sufre la leche por estos contaminantes es mencionado por Ortiz *et al.* (2014), quien manifiesta que: la leche de un animal tratado con 200 mg de penicilina G, es capaz de contaminar la leche de 8 000 vacas, si no se cumplen los respectivos tiempos de retiro y la correspondiente separación de la leche contaminada.

4.7. Empleo de extractos de plantas en la prevención de la mastitis

Astiz (2010) considera entre los pilares que deben tenerse en cuenta para prevenir la presentación de la mastitis la necesidad de realizar eficientemente la rutina del ordeño. Cotrino (1999) contempla en la ejecución de esta actividad la desinfección de la punta del pezón después del ordeño. Para realizar esta operación se utilizan productos químicos a base de cloro, yodo u otros compuestos como clorhexidina, cuyo inadecuado uso puede tener efectos negativos sobre los pezones y el medio ambiente. Es por ello que se sugiere la utilización de soluciones de origen natural, las que por sus características y propiedades bactericidas, podrían reemplazar a los productos químicos en el control de la mastitis (Vargas, 2012).

Las plantas medicinales constituyen excelentes fuentes para la búsqueda de nuevos productos con actividad antimicrobiana. En diversos estudios se ha comprobado la actividad antibacteriana de extractos vegetales de diferentes especies de plantas medicinales. El extracto etanólico de hojas de *Hamelia patens* Jacq tuvo efecto antibacteriano frente a *S. aureus* y *S. epidermidis* (Rubio *et al.*, 2018).

El aceite esencial de *Minthostachys verticillata*, conocida como "peperinar" mostró actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas productoras de mastitis (Cariddi y Montironi, 2013). Los extractos etanólicos de hojas de *Piper auritum* tuvieron actividad antibacteriana contra cepas patógenas causantes de mastitis bovina, lo que sugiere su uso potencial en el tratamiento de esta enfermedad (Pérez, 2017 y Valdivia *et al.*, 2018).

Se estima que de las 250 000 especies de plantas existentes en el planeta, solo del 5-15 % se han estudiado sistemáticamente (Bautista, 2007). Los estudios que validen el uso empírico de muchas plantas medicinales todavía son escasos (Jiménez *et al.*, 2016).

5. Objetivos

5.1. Objetivo general:

Incrementar la calidad higiénico-sanitaria de la leche producida en la EPGM.

5.2. Objetivos específicos:

- Determinar los principales factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de la leche en la EPGM.
- Desarrollar cursos de capacitación a los trabajadores y directivos de la empresa en temáticas afines al manejo del ordeño y la calidad higiénico-sanitaria de la leche.
- Evaluar el empleo de extractos acuosos de plantas medicinales en la antisepsia final del pezón.

6. Resultados esperados

- Determinación de los principales factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de la leche en la EPGM.
- Incremento del nivel de conocimiento de los trabajadores de la empresa en las temáticas relacionadas con la calidad higiénico-sanitaria de la leche.
- Disminución en un 20 % de las pérdidas por calidad higiénico-sanitaria de la leche en la EPGM.
- Disponibilidad de nuevos productos naturales para utilizarse en la antisepsia final del pezón.

7. Métodos y procedimientos. Cronograma

El proyecto cuenta con cuatro etapas que se desarrollarán en la Universidad de Matanzas y La Empresa Pecuaria Genética de Matanzas.

Primeramente se llevará a cabo la determinación de las necesidades de capacitación de los trabajadores de la empresa. Esta tarea se realizará con el empleo de un conjunto de herramientas como: observaciones, análisis de documentos, entrevistas y encuestas, elaboradas previamente por los docentes involucrados en el proyecto. Los estudiantes del grupo científico estudiantil se encargarán de recopilar la información necesaria en las vaquerías de la empresa. Los datos se procesarán con la utilización de métodos matemáticos y mediante el empleo de software.

Se llevarán a cabo inspecciones sorpresivas a las vaquerías, con el objetivo de evaluar los siguientes aspectos:

- Ejecución de la rutina de ordeño.
- Higiene de la sala y el equipo de ordeño.
- Salud e higiene del vaquero.
- Funcionamiento del equipo de ordeño.

Se tomarán muestras de leche en los tanques guarda de las vaquerías inspeccionadas para evaluar su calidad higiénico-sanitaria y relacionarla con los resultados obtenidos en las visitas. El análisis de estos resultados permitirá determinar los principales factores que intervienen en el deterioro de la calidad de la leche en la empresa.

7.1 Determinaciones que se emplearán para evaluar la calidad higiénico-sanitaria de la leche producida en las vaquerías.

Determinación de la acidez

Se realizará según la Norma Cubana NC 71: 2000. Se utilizará una pipeta volumétrica de 10 mL. A la porción de ensayo se le añadirán 5 gotas de solución alcohólica de fenolftaleína al 1 % y se valorará con una solución de hidróxido de sodio 1 M, hasta que se aprecie un cambio de color ligeramente rosado.

Determinación de la densidad de la leche

La densidad se determinará según la Norma Cubana NC 119: 2006. En esta prueba se utilizará el termo lactodensímetro.

Determinación de la grasa de la leche.

La grasa se determinará con el empleo del método de Gerber (Nielsen, 2003).

Determinación de los sólidos totales de la leche.

Los sólidos totales se cuantificarán según las Normas Cubanas establecidas Norma Cubana NC 6731: 2001.

Prueba de reducción del azul de metileno (TRAM).

Se efectuará según la Norma Cubana NC 282: 2006. Se utilizará una solución de azul de metileno al 1 % como colorante que se añadirá a 10 mL de la muestra de leche. Posteriormente las muestras se incubarán en un baño termostataado a 37 °C, que se mantendrá tapado para evitar que penetre la luz. Las dos primeras lecturas se realizarán cada 30 minutos y posteriormente cada una hora a partir del inicio del ensayo. Se medirá el tiempo en que decoloré la columna de leche, las 4/5 partes o totalmente.

Prueba de sedimentación.

Se efectuará con el empleo de la norma Cubana NC 595: 2011. Se añadirán 500 mL de la muestra de leche al lactosedimentador, Se tapaná la parte superior del mismo y se inyectará aire con un insuflador de goma hasta que toda la leche pase a través del disco de algodón. Se extraerá el disco y se secará a temperatura ambiente, posteriormente se comparará con los patrones y se expresará el resultado (grados de impureza) según la tabla establecida en la norma técnica.

Prueba de California para el diagnóstico de la mastitis

Esta determinación se realizará según la Norma Cubana NC 118: 2001. Se depositarán 2 mL de la muestra de leche en una cápsula, se añadirán 3 mL de reactivo de

California. Se agitará cuidadosamente la mezcla resultante, con movimientos circulares a la capsula y se observará la reacción a los 15 segundos.

En dependencia de las características que presenta la reacción, se obtendrá uno de los resultados siguientes: Negativo (-), trazas (T), positivo débil (+), positivo (++) y positivo fuerte (+++).

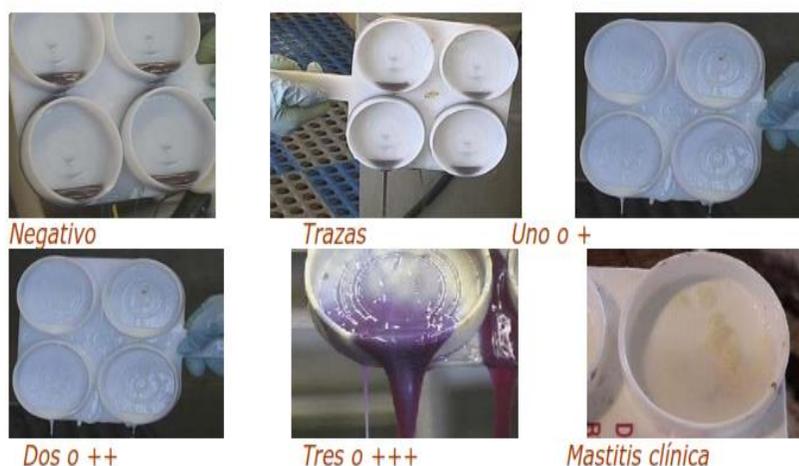


Figura 2: Interpretación de la prueba de California en mastitis (tomado de González. 2018).

Teniendo en cuenta el análisis de los resultados obtenidos en las encuestas y las inspecciones realizadas en las vaquerías se diseñarán las capacitaciones que se impartirán a los directivos y trabajadores de la empresa.

7.2. Evaluación del empleo de los extractos acuosos de plantas medicinales en la antisepsia final del pezón

Con el objetivo de evaluar *in vitro* e *in vivo* diferentes extractos de plantas medicinales para emplearlos en la antisepsia final del pezón, se realizará un análisis de los trabajos que se han desarrollado en el Centro de Estudios de Biotecnología, en esta temática.

También se tendrá en cuenta la presencia de las plantas elegidas en las vaquerías de la EPGM.

Posteriormente se prepararán los extractos escogidos y se efectuará el aislamiento de los microorganismos causantes de mastitis en las vaquerías. Esta última acción se llevará a cabo a partir de la toma de muestras de leche de los cuartos que resulten positivos a la prueba de California. Posteriormente se realizará la siembra en medio Agar Cerebro corazón y se incubarán a 37 °C por 24 horas. Las colonias diferentes se sembrarán en Agar nutriente.

La evaluación *in vitro* del efecto de los extractos vegetales sobre los microorganismos infecciosos productores de mastitis se llevará a cabo con el empleo del método de difusión en Agar por pocillos (Pérez *et al.*, 1990). Se sembrarán las bacterias aisladas de la leche de vacas que padecen mastitis en la superficie del medio Agar Mueller-Hinton y se realizarán pocillos donde se añadirá la solución de los productos naturales. Las placas se incubarán durante 24 horas a 37 °C y posteriormente se medirá el diámetro de la zona de hidrólisis.

Se seleccionarán los extractos que obtengan los mejores resultados en la evaluación *in vitro* para realizar las pruebas *in vivo*. Esta parte del proyecto se desarrollará en vaquerías pertenecientes a la empresa. Se emplearán cuatro grupos de animales en los que se distingan: el grupo control y tres grupos en los cuales se aplicarán dosis diferentes de los extractos.

Durante el desarrollo del experimento se observará periódicamente a los animales tratados con la finalidad de determinar si la aplicación de los extractos causa daños a la ubre de las vacas. También se realizarán tomas de muestras por hisopajes a los pezones de los animales para determinar la disminución de la población microbiana, como consecuencia de la aplicación de los extractos, según el método de pruebas microbiológicas del pezón descrito por Soto y González (2016). Se diagnosticará la presencia de mastitis subclínica en todos los grupos experimentales mediante la prueba de California al inicio y al final del experimento para contabilizar la presentación

de nuevos casos de la enfermedad. Los resultados obtenidos se procesarán estadísticamente.

Cronograma de trabajo

Primera etapa: Determinación de las necesidades de capacitación de los trabajadores de la empresa en la temática de calidad higiénico-sanitaria de la leche.

Fecha: enero 2020-marzo 2020

Segunda etapa: Determinación de los principales factores que influyen en el deterioro de la calidad higiénico-sanitaria de la leche de la EPGM.

Fecha: abril 2020- septiembre 2020

Tercera etapa: Realizar las capacitaciones a los trabajadores y directivos de la empresa, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en las dos primeras etapas.

Fecha: septiembre 2020- julio 2021

Cuarta etapa: Evaluación *in vitro* e *in vivo* de extractos acuosos de plantas medicinales en la antisepsia final del pezón y análisis de los resultados

Fecha: julio 2021-diciembre 2022.

8. Recursos necesarios y presupuesto

En las tabla 4 se muestran los recursos materiales, disponibles en las instituciones involucradas en la puesta en marcha del proyecto.

Tabla 4. Recursos materiales necesarios que aportan las instituciones participantes en el proyecto.

Aporte institucional	Materiales
Laboratorio de calidad de la leche de la EPGM	Cristalería y miscelánea
	Agua destilada y corriente
	Balanza digital
	Autoclave
	Refrigerador
	Termolactodensímetro
	Centrífuga
	Zaranda termostatada
	Baño termostatado
Universidad de Matanzas	Incubadora
	Gabinete de flujo laminar
	pHmetro digital
	Microscopio óptico
	Mechero Bunsen

En la tabla 5 se muestran los principales recursos humanos de las entidades que participan en el proyecto.

Tabla 5. Recursos humanos que aportan la Universidad de Matanzas y la EPGM para la ejecución del proyecto.

RECURSOS HUMANOS PRINCIPALES			
NOMBRE Y APELLIDOS	Grado Científico	Categoría científica, docente o tecnológica	Entidad
Aymara ValdiviaAvila	Dra. C.	Titular	UM
José Vega Alfonso	M. Sc.	Auxiliar	UM
Leydi Isabel Ramos Padrón	Ing.	-	
Ileana Sarmentero Bon	Dra. C.	Titular	UM
Yunel Pérez Hernández	Dra. C.	Titular	UM
Yasmary Rubio Fontanills	Lic.	Instructora	UM
Marlen Rodríguez Oliva	Dra. C.	Titular	UM
Agustín Beruvides	M. Sc.	Auxiliar	UM
Conrado Camacho Campos	M. Sc.	Auxiliar	UM
Angelina Mendoza	M.V.	Instructora	EPGM
Odelin Brea Maure	Dra. C.	Titular	UM

Es preciso señalar que en la ejecución del proyecto también participarán estudiantes de la carrera de Agronomía de la Universidad de Matanzas.

Se necesitará además la compra de algunos materiales para llevar a cabo la capacitación, realizar los ensayos de evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de la leche producida en las vaquerías y determinar la efectividad de la aplicación de los extractos vegetales en la antisepsia final del pezón. Estos recursos se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Recursos que se necesita comprar para realizar el proyecto.

	Materiales	Cantidad	Costo (CUC)	Costo (USD)
Para la capacitación	Hojas	1 000 unidades	8,00	-
	Combustible (gasolina)	300 L	328,93	-
	Laptop	1 unidad	-	300,00
Reactivos de laboratorio para realizar las determinaciones microbiológicas	Caldo nutriente	5 Frasco de 500 g	-	16,00
	Agar nutriente	1 Frasco de 1kg	-	12,00
	Caldo Mueller –Hinton	1 Frasco de 500 g	-	30,00
	Agar Mueller –Hinton	1 Frasco de 500 g	-	41,00
	Caldo cerebro corazón	1 Frasco de 1 kg	-	10,00
	Agar cerebro corazón	1 Frasco de 500 kg	-	12,00
	Gasa	50 unidades	-	3,77
	Algodón	500 g	-	1,92
	Hisopos	100 unidades	-	9,01
	Alcohol etílico	10 L	-	72,00
Reactivos para determinar la calidad higiénico-sanitaria de la leche	Azul de metileno	1 kg	-	10,00
	Fenolftaleína	1 kg	-	11,50
	Hidróxido de sodio	1 kg	178,63	-
	Ácido sulfúrico	5 L	-	47,64
Para la evaluación de los extractos en la antisepsia final del pezón	Propolina	5 Frasco de 500 ml	-	142,00
	Reactivo de California	5 L	-	78,75
	Detergente líquido	5 L	8,60	-
TOTAL	-	-	524,16	797,59

Por concepto de compra de los reactivos se contabiliza un gasto de 797,59 USD ya que estos productos son importados. Para la compra del resto de los materiales se planifica un gasto de 524,16 CUC. El precio unitario en USD que se informa en la tabla 7 fue extraído de los sitios web: <https://spanish.alibaba.com>, <https://mercadolibre.com.mx> y

<https://sigmaaldrich.com>. No se planifican otros costos ya que no se incluyen los gastos de salario, viáticos, entre otros.

9. Valoración económica-financiera

Como se puede apreciar en la tabla 8 al cierre del año 2018 el plan de producción de leche en la EPGM se cumplió al 82 %, dejándose de producir 2 248,6 L de este producto por diferentes causas.

Tabla 7. Cumplimiento del plan de producción de leche en el año 2018 en la EPGM.

Indicadores	Plan	Real
Producción de la leche de vaca (ML)	12 542,9	10 294,3
Precio de venta (\$/L)	4,50	4,24
Ingresos (MP)	56 443,1	43 647,8
Pérdidas(MP)	-	- 2 623,4

Desde el punto de vista económico, el incremento de la calidad higiénico sanitaria de la leche ejerce un efecto positivo en los indicadores económicos-productivos en la Empresa Pecuaria Genética de Matanzas. Según los datos ofrecidos por Cárdenas (comunicación personal, 14 de junio, 2019) la empresa tuvo una pérdida de 2 623,4 MP fundamentalmente por las variaciones del precio a partir de este concepto.

La ejecución de este proyecto permitirá incrementar la calidad de la leche, lo cual repercutirá positivamente en los ingresos de la empresa. Además se determinarán los principales factores que afectan estos indicadores con el objetivo de elaborar planes de medidas que permitan disminuir las pérdidas por este concepto. El desarrollo de las capacitaciones a los directivos y obreros que se contemplan entre las tareas del mismo permitirá incrementar el nivel de conocimientos acerca de esta temática.

Se dispondrán de nuevos productos naturales para realizar la antisepsia final pezón. Operación comprendida en la rutina del ordeño con la finalidad de evitar la presentación de mastitis en las vacas. Además, debe considerarse el impacto que tiene la mejora de la calidad-higiénico sanitara de la leche en la salud de los consumidores. Esta situación cobra especial relevancia ya que una parte de la leche obtenida en esta entidad se destina al consumo directo de los habitantes de los poblados cercanos a las vaquerías, sin que la misma sea pasteurizada en el Empresa ECIL.

10. Bibliografía

1. Agudelo, G., Diver, A. y Bedoya, M. 2005. Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Corporación Universitaria Lasallista. Colombia. 38 (2): 38-42.
2. Aguilar, R., Bu, A., Dresdner, J., Fernández, P., González, A., Polanco, C. y Tansini, R. 2004. La ganadería en Cuba: desempeño y desafíos. Uruguay. Instituto Nacional de Investigaciones Económicas. 16p.
3. Astiz, S. 2010. La producción de leche de calidad y origen: ¿Cómo se trabaja en las explotaciones de bovino lechero? Friziona Española. 178:106-111.
4. Armenteros, M. 1998. Evaluación de un desinfectante mamario postordeño de origen natural. Tesis en Opción de Grado Científico de Doctor en Ciencias. La Habana, Cuba.
5. Artica, L. 2016. Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos, 3era edición, Ed. Libros y Ediciones TEIA. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo. Perú. p 93-103.
6. Artica, M.L. 2014. Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos. Perú Libros y editoriales, TEIA. 143 p.
7. Barrera, J.A. 2012. Determinación de vida útil de la leche cruda envasada y después pasteurizada (LTLT) vs. leche pasteurizadas y embazadas por procedimientos tradicionales. Trabajo de Diploma en opción al título de licenciado de ciencia de los alimentos. Universidad Austral de Chile.
8. Bautista, M. 2007. Monografía de plantas utilizadas como anticancerígenas en la medicina tradicional hidalguense. Trabajo de Diploma en opción al título de licenciada en farmacia. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
9. Benavides, D., Evangelista, C.J. y Suárez, M.C. 2014. Recomendaciones para mejorar la calidad higiénica, sanitarias y composicional de la leche. Colombia. SENA. Colciencias. CNLM. 36p.
10. Brousett, M., Torres, A., Chambi, A., Mamani, B., Gutiérrez, H. 2015. Calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de leche cruda en las cuencas ganaderas de la región Puno –Perú. Scientia Agropecuaria. 6(3):165-176.

11. Castro, G. 2003. Introducción al control de calidad de la leche cruda. Guía práctica. La universidad del Zulia. Colombia. 24p.
12. Celis, M. y Juárez, D. 2009. Microbiología de la leche. En: Seminario de Procesos Fundamentales Físico-Químicos y Microbiológicos. edUTecNe 2009. Universidad Tecnológica Nacional. 12p.
13. CEPAL. 2013. IICA. Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas. Una mirada hacia América Latina y el Caribe, Santiago de Chile: CEPAL, FAO, San José: IICA. (CD).
14. Chacón, F.B. 2017. Evaluación de los análisis físicos-químicos de la leche bovina. Trabajo de Diploma en opción al título de médico veterinario zootecnista. Universidad politécnica salesiana. Cuenca.
15. Chavez, M.S., Negri, L.M., Taverna, M.A. y Cuatrín, A.L. 2004. Bovine milk composition parameters affecting the ethanol stability. J Dairy Res. 71: 201-206.
16. Cicolatti, F.G. y Lizarraga, S.E. 2016. Análisis de la calidad higiénica y sanitaria de la leche en un tambo de la localidad de villa Valeria (Córdoba). Facultad de ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. 39p.
17. Closa, S.J.; De Landeta, M.C. y Anderica, D. 2003. Contenido de nutrientes minerales en leches de vaca y derivados de Argentina. ALAN. 53(3): p. 320-324.
18. Cotrino, J.V. 1999. Influencia de la actividad bacteriana en la calidad y composición de la leche. Memorias del segundo seminario sobre competitividad en leche y carne: 251-259.
19. Delgado C.P., Parisaca, V., Quispe, I., Delgado, E., y Aduviri, M. 2016. Evaluación de la calidad de la leche cruda bovina (*Bostaurus*) en la Comunidad Mazo Cruz del departamento de la Paz-Bolivia. S.A. Research, Ed. SelvaAndina Animal Science. 44.
20. Díaz, R.C. 2012. Grupo de alimentos: alimentos de origen animal. Fundamentos de nutrición. 1ª ed. Tenerife: Servicio de Publicaciones Universidad de La Laguna. p. 430-434.
21. Díaz, T. 2014. Contribución de la producción pecuaria a la seguridad alimentaria y nutricional ya la reducción de la pobreza en América Latina y el Caribe. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 48(1): 3-4.

22. Dirección General de Promoción Agraria (DGPA). 2005. Aspectos Nutricionales y Tecnológicos de la leche. Ministerio de Agricultura. Dirección de crianzas. 60p.
23. FAO. 2011. Buenas prácticas de ordeño. Manual I. Guatemala. FAO B0952. 20p.
24. Fernández, A., Luciano, M., Paredes, L.M., Quispe, G.S., Pareja, J.L., Moore, J.L., Pérez, L.CH., Lázaro, CH.O. y Palomino, W.C. 2010. Tecnología productiva en lácteos. Calidad de la leche. Programa modular. Proyecto lácteos. 84p.
25. Fernández, E.F., Martínez, J.H., Martínez, V.S., Moreno, J.V., Collado, L.Y., Hernández, M.C. y Morán, F.R. 2015. Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutrición Hospitalaria*. 31 (1): 92-101.
26. Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, J. M., Stefanov, I. and Vlaeminck, B. 2012. Milk odd- and branched chain fatty acids as biomarkers of rumen function – An update. *Animal Feed Science and Technology*. 172(1-2),51-65.
27. Fernández, J. y Tarazona, G. 2015. Factores que Influyen en la Composición de la Leche en el Sector el Retorno, Parroquia Sabanilla, Cantón Zamora, Provincia de Zamora Chinchipe -Ecuador. *Revista Politécnica*. Septiembre, 36.
28. García, A. 2003. Sustitución de importaciones de alimentos en Cuba: necesidad vs. posibilidad. Universidad de La Habana, Centro de Estudios de la Economía Cubana. En: El XXIV Congreso de la Asociación de Estudios Latinoamericanos, LASA, Dallas, Texas, EE. UU.
29. García, C.A.; Montiel, R.L. y Borderas, T.F. 2014. Grasa y proteína de la leche de vaca: componentes, síntesis y modificación. *Archivos de zootecnia*. Vol. 63 (R): 85-105.
30. González, P. 2015. Manual buenas prácticas de ordeño. Primera edición. Ed. Caritas de Perú. p 8-31.
31. Gonzalez, K. 2018. Mastitis en la vaca. *Zootecnia y veterinaria es mi pasión* [en línea]. Disponible en: [Consulta: marzo, 18 2019].
32. Heller, H.S. y Flores, Q.M. 2016. Niño pequeño, preescolar y escolar. *Gaceta Médica de México*. Permanyer. 152 (1): 22-28.
33. Heshmati, A. 2015. Impact of Cooking Procedures on Antibacterial Drug Residues in Foods : A Review. *J FoodQualHazards Control*. 2:33-7.

34. Hradecká, E.; Panicke, L. and Hanusová, L. 2008. The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. *Czech J Anim Sci.* 53: 238-245.
35. Inga, Z.L. 2017. Control de la calidad en la densidad de la leche. Trabajo de Diploma en opción al título de ingeniero en alimentos. Universidad técnica de Machala. UTMACH.
36. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). 2015. Caracterización del valor nutricional de alimentos. PROCISUR. Montevideo. Uruguay. 46p.
37. Instrucción 03. Grupo Empresarial de la Industria Alimentaria. 2015. Cuba. p.2.
38. Jiménez, S.V., Nieto, C.A., Jiménez, E.M., Alvarado, B. 2016 Antiinflammatory, free radical scavenging and alpha-glucosidase inhibitory activities of *Hamelia patens* and its chemical constituents. *Pharmaceutical Biology.* 54(9): 1822-1830.
39. Leitner, G.; Merin, U.; Lemberskiy-Kuzin, L., Bezman, D.; Katz, G. 2012. Real-time visual/near-infrared analysis of milk-clotting parameters for industrial applications. *Animal.* 6.7: 1170-1177.
40. Martínez, A., Ribor, A.E., Villoch, A.C, Montes de Oca, N., Remón, D.D. y Ponce, P.C. 2017. Calidad e inocuidad de la leche cruda en las condiciones actuales de Cuba. Mayabeque. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). 52p. (reseña).
41. Martínez, A.; Villoch, A.; Ribot, A.; Montes de Oca, N.; Riverón, Y. y Pastor, P. 2015. Calidad e inocuidad en la leche cruda de una cadena de producción de una provincia occidental de Cuba. *Rev. Salud Animal.* 37(2): 79-85.
42. Pérez, L. 2017. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de *Piper auritum* Kunth. Tesis presentada en opción a alcanzar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba.
43. Martínez, M.M. y Gómez, 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.

44. Mera, A.R., Muñoz, E.M., Artieda, R.J., Ortíz, T.P., González, S.R. y Vega, F.V. 2017. Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. Revista electrónica de Veterinaria. 18(11): 1-16.
45. Mercado, M.; González, V., Rodríguez, D. y Carrascal, A.K. 2014. Perfil sanitario nacional de leche cruda para consumo humano directo. Pontificia Universidad Javeriana, Colombia, p.1-142.
46. Mestawet, T.A.; Gima, A.; Adnøy, T.; Devold, T.G.; Narvhus, J.A. y Vegarud, G.E. 2012. Milk production, composition and variation at different lactation stages of four breeds in Ethiopia. Small Rum Res. 105: 176-181.
47. MINAG.2014. Balance anual del grupo ganadero. La Habana. Ministerio de la Agricultura.10p.
48. Moreno, F.V., Rodríguez, G.M., Méndez, M.V., Osuna, Á.L. y Rocío, V.M. 2007. Revista de Medicina Veterinaria. 14: 61-83.
49. Motta, D.P., Rivera, M., Malhory, S., Duque, T.J. y Guevara, F.A. 2014. Factores inherentes a la calidad de la leche en la agroindustria alimentaria. Ciencia animal. 6 (1): 223-242.
50. NC 71:2000. Determinación de acidez. Vig. Agosto 2000.
51. NC 118:2001. Prueba de California para el diagnóstico de Mastitis. Vig. 2001.
52. NC 119:2006. Determinación de la densidad o peso específico de la Leche. Vig. Mayo 2006.
53. NC 282:2006. Prueba de Reducción del Azul de Metileno (TRAM). Vig. 2006.
54. NC-448. 2006. Norma Cubana. Norma de especificaciones de calidad para leche cruda. Vig. 2006.
55. NC 595:2011. Prueba de sedimentación. Vig. Mayo 2011.
56. NC 6731. Leche, crema y leche evaporada. Determinación del contenido de sólidos totales. Vig. 2001.
57. Negri, L.M. 2005. El pH y la acidez de la leche. Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. 2º edición. INTA. 161p.
58. Nielsen, S. 2003. Food Analysis. Ed. Kluwer Academic/Plenum Publ. p. 131-142.
59. Nieto, D., Berisso, R., Demarchi, O. y Scala, E. 2012. Manual de buenas prácticas de ganadería bovina para la agricultura familiar. Argentina. FAO. 169p.

60. Oliver, S. P., Jayarao, B. M. y Almeida. 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog Dis.* 2(2): 115-29.
61. ONEI. 2016. Anuario Estadístico de Cuba 2015. Oficina Nacional de Estadística e Información. La Habana. EDICIÓN 2016. 240p.
62. Ortiz, T., Gutiérrez, S., Rodríguez, H. y Olivera, M. 2014. Manual de buenas prácticas de ordeño. Colombia. Universidad de Antioquia. 45p.
63. Pacheco, M.F., Landa, Y.S., Rodríguez, D.A., López, J.R., Hernández, A.M., Brutau, K.P., Alfonso, M.E., Lopetegui, C.M., Fajardo, D.N., Domínguez, J.G., Hevia, B.C., Thureaux, O.G., Méndez, F.G., Sánchez, M.D., Hernández, U.L., Urbano, L.B., Dubouchet, L., Alayo, Y., Fortuna, Y.E. y Hidalgo, P.A. 2017. La cadena de la carne vacuna en Cuba. Estudio de su situación en seis municipios de las provincias de Granma y Santiago de Cuba. La Habana. Cuba. 57p.
64. Park, Y.W.; Albenzio, M.; Sevi, A. 2013. Milk Quality Standards and Controls. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health:* 261-287p.
65. Parra, T., Peláez, S., Londoño, A.J., Pérez, A., Rengifo, B. 2003. Los residuos de medicamentos en la leche Problemática y estrategias para su control. Neiva. El Poirá S.A. 80p.
66. Pérez, C., Paul, M. and Bazerque, P. 1990. An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Bio. Med. Exp.* 15: 113- 115. 51-Pérez, L. 2017. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de *Piper auritum* Kunth. Tesis presentada en opción a alcanzar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba.
67. Pérez, L. 2017. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de *Piper auritum* Kunth. Tesis presentada en opción a alcanzar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba.
68. Pérez, R. 1999. Ganadería cubana en transición (en línea) En: *World Animal Review*. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/x1700t/x1700t03.htm> (Consulta: 2 abril del 2019).

69. Ponce, P. 2009. Un enfoque crítico de la lechería internacional y cubana. *Salud Animal*. 31(2):77-85.
70. Ponce, P., Armenteros, M., Villoch, C., Montes de Oca, N. y Carreras, J. 2005. Evaluación de riesgos microbiológicos y químicos de la activación del sistema lactoperoxidasa en leche cruda [en línea]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/uats/rtv_files/2005/rtv0505.htm. [Consulta: mayo, 18 2019].
71. Ramos, R., Bufon, V., Molin, K., Walter, E., Rezende, M., Fagnani, R., and Ludovico, A. 2015. Relationship between somatic cell counts and milk production and composition in jersey cows. *Health Animal Magazine*. 37:137-142p.
72. Rodríguez, N.R. 2006. Evaluación de la calidad del manjar de leche aplicando tres tipos de sustrato (pectina, sacarosa y maicena). Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero en industrias pecuarias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
73. Rubio, F., Y.; Valdivia, A.; Camacho, C.; Matos, M.; Sosa, M. y Pérez, Y. 2018. Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de *Hameliapatens* Jacq. *Biología Vegetal*. 18 (1): 37-45.
74. Ruíz, A.K., González, D. y Peña, J. 2012. Situación de la mastitis bovina en Cuba. REDVET. Consultado 25 mayo de 2019. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121212.html>.
75. Ruiz, G.A., Peña, R.J. y Remón, D.D. 2016. Mastitis bovina en Cuba. Artículo de revisión. *Revista Producción Animal*. 28(2). p 39-50.
76. Sabourin, E., Samper, M. y Sotomayor, O. 2014. Políticas públicas y agriculturas familiares en América Latina y el Caribe: balance, desafíos y perspectivas. Santiago de Chile. CEPAL. 20p.
77. Sharma, N., Singh, N.K. and Bhadwal, M.S. 2011. Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 24, No.3: 429 – 438.
78. Shearer, J.K. 2003. La producción de leche de calidad. Florida, USA. IFAS.
79. Soto, Z. y González, S. 2016. Efecto de ácido hipocloroso como presellador en un grupo de vacas lecheras en la finca Logroño en Soacha, Cundinamarca. Trabajo de grado en opción al título de medicina veterinaria. Universidad de La Salle. Colombia.

80. Soyeurt, H.; Dardenne, P.; Gillon, A.; Croquet, C.; Vanderick, S.; Mayeres, P.; Bertozzi, C. and Gengler, N. 2006. Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds. *J Dairy Sci.* 89: 4858-4865.
81. Tian, L., Khalil, S., Bayen, S. 2016. Effect of thermal treatments on the degradation of antibiotic residues in food. *CritRevFoodSciNutr.* Vol. 57: 17.
82. UNAD. 2016. Definición, Composición, Estructura Y Propiedades De La Leche. Manual de composición y propiedades de la leche. FAO.
83. Valdivia, A.; Rubio, Y.; Camacho, C.; Brea, O.; Matos, M.; Sosa, M. y Pérez, Y. 2018. Avances en Investigaciones Agropecuaria. 22(1):77-89.
84. Vargas, N. 2012. Control de mastitis bovina utilizando dos productos naturales para dipping. Período primavera-verano. Tesis presentada en opción a alcanzar el título de Ingeniero Agrónomo. Valdivia, Chile.
85. Vásquez, J., Loaiza, E. y Olivera, M. 2012. The hygienic and sanitary quality of raw milk collected. *Orinoquia.* p.14.
86. Viera, V.M. 2013. Parámetros de calidad de leche de vacuno en los distritos de Apata, Matahuasi y concepción en el Valle del Mantaro. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina.
87. Zivkovic, A.M. and Barile, D. 2011. Bovine milk as a source of functional oligosaccharides for improving human health. *Adv. Nutr.* 2: 284-289.