

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y  
COMPOSICIONAL DE LA LECHE CRUDA BOVINA, EN LA EMPRESA  
DE LÁCTEOS EN EL CORREGIMIENTO DE CATAMBUCO, MUNICIPIO DE  
PASTO, DEPARTAMENTO DE  
NARIÑO

RICHARD ROBERTH ENRIQUEZ GUERRERO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCION Y PROCESAMIENTO ANIMAL  
PROGRAMA DE ZOOTECNIA  
SAN JUAN DE PASTO  
2012

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y  
COMPOSICIONAL DE LA LECHE CRUDA BOVINA, EN LA EMPRESA  
DE LÁCTEOS EN EL CORREGIMIENTO DE CATAMBUCO, MUNICIPIO DE  
PASTO, DEPARTAMENTO DE  
NARIÑO

RICHARD ROBERTH ENRIQUEZ GUERRERO

Informe final presentado como requisito para optar por el título de  
ZOOTECNISTA.

Director  
HENRY JURADO GAMEZ  
Zoot. Esp. M.Sc. Ph.D.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCION Y PROCESAMIENTO ANIMAL  
PROGRAMA DE ZOOTECNIA  
SAN JUAN DE PASTO  
2012

**“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son  
responsabilidad exclusiva de los autores”.**

**Artículo 1º del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966 emanado del Honorable  
Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.**

**Nota de aceptación:**

---

---

---

---

---

---

---

**HENRY JURADO GAMEZ Zoot. Esp. M.Sc. Ph.D.**  
**Director**

---

**EFRÉN INSUASTY SANTACRUZ Zoot. M.Sc.**  
**Jurado delegado**

---

**ZULLY XIMENA SUAREZ Ing. Agroindustrial.**  
**Jurado**

**San Juan de Pasto, Marzo de 2012**

### ***Quiero dedicar este trabajo***

*A mi Señor, Jesús, quien me dio la fortaleza, la fe, la salud y la esperanza para terminar mis estudios*

*A mis padres, por todo lo que me han dado en esta vida, especialmente por sus sabios consejos y por estar a mi lado en los momentos difíciles.*

*A mi “Mamita” Elisa quien con su simpleza me ha ayudado a encontrar la luz cuando todo es oscuridad.*

*A mi “Papito” Agustín por siempre haber confiado en mis capacidades y haberme enseñado el valor de la responsabilidad.*

*A mis hermanos Nixon, Sonia y Liliana por escucharme, soportarme y convertirse en mis mejores amigos.*

*A mis lindos sobrinos Danilo, Carolina y Sebastián por contagiarme la alegría de vivir.*

*A mi abuelita Mercedes, quien con su sonrisa me demuestra que cada día vivido vale la pena.*

*A mis abuelitos, quien desde el cielo me guían y estoy seguro que en estos momentos están orgullosos de mí.*

*A mi familia, por acompañarme en cada una de las locuras que he emprendido y ser siempre mis más fervientes seguidores.*

*A mis maestros Henry Jurado, Efrén Insuaty, Zully Suarez, Luis Alfonso Solarte, por su gran apoyo y motivación en la culminación de este trabajo.*

*A mis amigos de la U: Carolina, Juan Benavidez, Juan Narváez, Julie, Wilson, Wilmer, Nathaly, Daniel, Ginna, Jhon P, Camilo y mi Zootecnia.*

*A todos y cada uno de mis hermanos de mi vida, con los cuales crecí y sigo viviendo cada día de mi vida como si fuera el último.*

*A M. J, gracias por haberme enseñado a vivir.*



*“Siempre estarán en mí...esos buenos momentos que pasamos sin saber”*

***Richard Robert Enríquez Guerrero***

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor expresan sus agradecimientos a:

Henry Jurado Gámez, Zoot. Esp. M.Sc Ph.D. Profesor Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

Efrén Insuasty Santacruz, Zoot. M.Sc. Profesor Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuárias.

Zully Ximena Suarez, Ingeniera Agroindustrial. Profesor Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Agrícolas.

Luís Alfonso Solarte Portilla, Zoot. Esp. Secretario Académico. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

Lucila Ríascos, Jefe de Laboratorios Especializados. Universidad de Nariño.

La Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa de Zootecnia de la Universidad de Nariño. Laboratorios de fisiología animal.

Laboratorios especializados Universidad de Nariño.

Empresa de Lácteos del corregimiento de Catambuco.

Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la culminación de este trabajo.

## RESUMEN

El objetivo fundamental de esta investigación se basó en determinar la calidad físico-química, microbiológica y composicional de la leche cruda bovina que ingresa a la empresa de Lácteos en el corregimiento de Catambuco. Se recolectaron diez muestras de 350-450 ml cada una, según el método oficial de la AOAC provenientes de tres proveedores de leche cruda del sector del corregimiento de Catambuco; la selección de las muestras se realizó teniendo en cuenta las características del muestreo aleatorio estratificado, con distribución proporcional al volumen o contribución de cada proveedor; teniendo como criterio de selección el número de cantinas de leche provistas por cada uno. Una vez muestreadas, se identificaron y ubicaron en cavas provistas de gel congelado las cuales fueron transportadas inmediatamente al laboratorio especializado de la Universidad de Nariño, donde se realizaron los análisis el mismo día de la recolección.

Se realizaron dos muestreos; en el primer muestreo se recolectó cinco muestras del proveedor A, con el segundo muestreo las cinco restantes de los proveedores B y C, obteniendo un total de 10 muestras analizadas, todos los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos fueron analizados por duplicado. Se determinaron los siguientes parámetros de plataforma: análisis ultrasónico, acidez por alizarina, alcohol y titulación con NaOH 0.1 N, densidad y pH. Detección de neutralizantes alcalinos, determinación de peróxido de hidrógeno, formol o formaldehído, agua oxigenada, método de yoduro de potasio, harinas y almidones, agua adicionada, hipocloritos y dióxido de cloro, suero. Detección de antibióticos mediante test rosa charm, reducción del azul de metileno y titulación con resazurina. Análisis microbiológico para coliformes totales, fecales y mesófilos. Análisis composicional para grasa, proteína, sólidos totales y sólidos no grasos.

Se trataron los resultados obtenidos mediante estadística descriptiva (media, análisis de varianza, desviación típica, coeficiente de variación para proteína, grasa, acidez, agua añadida, SNG, sólidos totales, coliformes totales, fecales y mesófilos). Las pruebas cualitativas se tomaron como variables categóricas.

De acuerdo a los estudios realizados se pudo concluir que las muestras analizadas no cumplen con los requisitos exigidos por el decreto 616 de 2006 del Ministerio de la protección Social para los parámetros densidad, pH, grasa, proteína, SNG y sólidos totales presentado valores por debajo del estipulado.

Algunas muestras presentaron alteración por agua añadida, suero y acidez por encima del rango permisible para leche fresca.

En cuanto al análisis microbiológico se pudo comprobar recuentos de UFC/ml por encima de los rangos inocuos para leches crudas de buena calidad, incumpliendo la resolución 3095 de 1997 del MS y el 017 de 2012 del MADR para leche cruda. En cuanto al manejo sanitario se corroboró que son leches negativas para antibióticos de la familia de los betalactámicos y tetraciclinas, además se encuentran dentro del límite permitido por la unión europea. Para las pruebas de adulterantes se reportó ausencia de neutralizantes, formol, agua oxigenada, harinas, almidones e hipocloritos.

**Palabras clave:** Calidad higiénica de la leche, calidad sanitaria de la leche, calidad composicional de la leche.

## ABSTRACT

The main objective of this research was based on determining the quality physicochemical, microbiological and compositional quality of raw bovine milk entering the company dairy in the corregimiento of Catambuco. Were collected ten samples of 350-450 ml each, according to the official method from AOAC of three suppliers of raw milk in the corregimiento of Catambuco sector; the selection of the samples was carried out taking into account the characteristics of the random sampling, stratified, with proportional distribution to the volume or contribution of each provider; taking the number of milk canteens provided by each as a selection criterion. Once sampled, they were identified and placed in frozen gel provided cellars which were immediately transported to a specialized laboratory of the University of Nariño, where analyses were performed on the same day of the gathering.

Were two sampling; in the first sampling took five samples of the provider A, with the second sampling the five remaining of the suppliers (B) and (C), obtaining a total of 10 samples, all physicochemical parameters and microbiological were analyzed by duplicate. Identified the following parameters of platform: ultrasonic analyses, acidity by Alizarin, alcohol and qualifications with NaOH 0.1 N, density and pH. Detection of neutralizing alkali, determination of peroxide of hydrogen, formaldehyde or formaldehyde, oxygenated water, method of iodide of potassium, flours and starches, which water, hypochlorites and chlorine dioxide, serum. Detection of antibiotics using test rosa Charm, reduction of qualifications with resazurina and methylene blue. Microbiological analysis for total, fecal coliforms and mesophiles. Compositional analysis for fat, protein, total solids and solids not fatty.

Dealt with the results obtained through the descriptive statistics (average, analysis of variance, standard deviation, coefficient of variation for protein, fat, acidity, water added, SNF, total solids total and fecal coliforms, mesophiles). Qualitative tests were taken as categorical variables. According to studies one could conclude that the samples do not comply with the requirements laid down by the Decree 616 in 2006 of the Ministry of Social protection in terms of parameters such as density, pH, fat, protein, SNF and total solids measured values provided below. Some samples showed altered by added water, serum and acidity above the allowable range for fresh milk.

For analysis it was found microbiological counts of CFU / ml above the ranges safe for raw milk quality. In breach of resolution 1997 of 3095 and the MS 017, 2012 of MARD for raw milk. With regard to health management was confirmed that antibiotics are negative milks the family of beta-lactams and tetracyclines also are within the limit allowed by the European Union. For testing adulterants reported absence of neutralizing, formaldehyde, hydrogen peroxide, flours, starches and hypochlorites.

**Keywords:** hygienic quality of milk, sanitary quality of milk compositional quality of milk.

## CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCION	20
1 DEFINICION Y LIMITACION DEL PROBLEMA	22
2 FORMULACION DEL PROBLEMA	24
3 OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GENERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4 MARCO TEORICO	26
4.1 LA LECHE	26
4.1.1 Calidad composicional	26
4.1.1.1 El agua	27
4.1.1.2 Proteína	27
4.1.1.3 Sólidos totales	28
4.1.1.4 Grasa	29
4.1.1.5 Sólidos no grasos	29
4.1.2 Propiedades físico-químicas	29
4.1.2.1 Prueba de acidez	29
4.1.2.1.1 Prueba de alcohol	30
4.1.2.1.2 Prueba de alizarol o alizarina	31
4.1.2.2 Índice lactométrico	31
4.1.2.3 Densidad	31
4.1.2.4 Acidez titulable	32
4.1.2.5 pH	32
4.1.2.6 Ekomilk, analizador automático de leche	33

4.1.3	Calidad Higiénica	34
4.1.3.1	Prueba de azul de metileno	34
4.1.3.2	Prueba de resazurina	35
4.1.3.3	Recuento total de mesófilos	36
4.1.3.4	Coliformes totales y fecales	37
4.1.4	Adulterantes de la leche	37
4.1.4.1	Adulteración con antibióticos	38
4.1.4.2	Adulteración con cloruros	39
4.2	DESCRIPCION DE LA EMPRESA	40
5	METODOLOGÍA	41
5.1	LOCALIZACIÓN	41
5.2	DISEÑO METODOLÓGICO	41
5.2.1	Muestreo	41
5.2.2	Materiales y métodos	42
5.2.3	Procedimiento	42
5.2.4	Fase de laboratorio	43
5.3	Protocolo para análisis de plataforma	43
5.3.1	Acidez	43
5.3.1.1	Prueba de alizarina o alizarol	43
5.3.1.2	Prueba de alcohol	43
5.3.1.3	Acidez mediante titulación con NaOH al 0.1 N	43
5.3.1.3.1	Equipo	44
5.3.1.3.2	Reactivos	44
5.3.1.3.3	Método	44
5.3.2	Densidad	44
5.3.2.1	Método	45

5.3.3 Método ultrasónico ekomilk	45
5.3.4 pH	45
5.4 PROTOCOLO PARA LA DETECCIÓN DE ADULTERANTES EN LECHE CRUDA	45
5.4.1 Neutralizantes alcalinos	45
5.4.1.1 Identificación de neutralizantes alcalinos	46
5.4.1.1.1 Reactivos	46
5.4.1.1.2 Procedimiento	46
5.4.1.1.3 Interpretación	46
5.4.1.2 Formol o solución de formaldehído (Prueba de Hehner)	46
5.4.1.2.1 Reactivos	46
5.4.1.2.2 Procedimiento	46
5.4.1.2.3 Interpretación	47
5.4.1.3 Agua oxigenada o solución de peróxido de hidrógeno (Método Arnold y Mentzer)	47
5.4.1.3.1 Reactivos	47
5.4.1.3.2 Procedimiento	47
5.4.1.3.3 Interpretación	47
5.4.1.4 Método de yoduro de potasio	47
5.4.1.4.1 Interpretación	47
5.4.1.5 Harinas y almidones (Prueba de lugol)	48
5.4.1.5.1 Reactivos	48
5.4.1.5.2 Procedimiento	48
5.4.1.5.2 Interpretación	48
5.4.1.6 Agua adicionada mediante el método refractométrico (Lac Bertuzzi)	48
5.4.1.7 Hipocloritos y dióxido de cloro (Bacoxin), prueba de selección	49

5.4.1.7.1	Reactivos	49
5.4.1.7.2	Procedimiento	49
5.4.1.7.3	Interpretación	50
5.4.1.8	Suero	50
5.4.1.8.1	Reactivos	50
5.4.1.8.2	Procedimiento	50
5.4.1.8.3	Interpretación	50
5.5	PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS EN LECHE	50
5.5.1	Recuento de coliformes totales, fecales y mesófilos	50
5.5.1.1	Materiales	50
5.5.1.2	Procedimiento	51
5.5.1.2.1	Dilución de la muestra de alimento	51
5.5.1.2.2	Inoculación del alimento	52
5.5.1.2.2.1	Prueba presuntiva para coliformes totales	52
5.5.1.2.2.2	Prueba confirmativa para coliformes totales y fecales	52
5.5.1.2.3	Interpretación de resultados	54
5.5.1.2.4	Recuento de mesófilos	54
5.5.2	Técnica de reducción de azul de metileno	57
5.5.2.1	Equipo	57
5.5.2.2	Reactivos	57
5.5.2.3	Procedimiento	57
5.5.3	Prueba de resazurina	58
5.5.3.1	Procedimiento	58
5.6	PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS	58
5.7	PROTOCOLO PARA ANÁLISIS COMPOSICIONAL DE LA LECHE CRUDA	59

5.7.1	Sólidos totales	59
5.7.2	Sólidos no grasos	59
5.7.3	Grasa	59
5.7.3.1	Porcentaje de grasa en leche entera mediante método Gerber	59
5.7.3.1.1	Equipo	59
5.7.3.1.2	Reactivos	59
5.7.3.1.3	Técnica	60
5.7.3.1.4	Lectura	60
5.7.4	Proteína	60
5.7.4.1	Proteína mediante el método Kjeldahl	60
5.7.4.1.1	Materiales y aparatos	60
5.7.4.1.2	Reactivos	61
5.7.4.1.3	Digestión	61
5.7.4.1.4	Destilación y valoración	62
5.8.	DISEÑO EXPERIMENTAL	63
5.8.1	Media aritmética	63
5.8.2	Desviación estándar	64
5.8.3	Coeficiente de variación	64
6.	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	65
6.1	PRESENTACION DE RESULTADOS	65
6.2	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	70
6.2.1	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS	72
6.2.1.1	Coliformes totales y fecales	72
6.2.1.2	Mesófilos	73
6.2.1.3	Azul de metileno	74
6.2.1.4	Resazurina	75

6.2.2 Pruebas físico-químicas	75
6.2.2.1 Prueba de alcohol	75
6.2.2.2 Prueba de alizarina	76
6.2.2.3 Neutralizantes alcalinos	78
6.2.2.4 Prueba de formol o formaldehido	78
6.2.2.5 Harinas y almidones	78
6.2.2.6 Suero	78
6.2.2.7 Yoduro de potasio	79
6.2.2.8 Hipocloritos y dióxido de cloro	80
6.2.2.9 Peróxido de hidrogeno	80
6.2.2.10 Densidad	80
6.2.2.11 pH	81
6.2.2.12 Acidez titulable	82
6.2.2.13 Agua añadida	83
6.2.3 Determinación de antibióticos	83
6.2.3.1 Prueba de antibióticos	83
6.2.4 Calidad composicional	85
6.2.4.1 Proteína	85
6.2.4.2 Grasa	86
6.2.4.3 Solidos totales	87
6.2.4.4 SNG	87
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	88
7.1 CONCLUSIONES	88
7.2 RECOMENDACIONES	90
BIBLIOGRAFIA	91
ANEXOS	96

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Componentes principales de la leche	30
Cuadro 2.	Requisitos para la leche cruda	35
Cuadro 3.	Test de azul de metileno	37
Cuadro 4.	Interpretación de resultados para la prueba de resazurina	38
Cuadro 5.	Calidad higiénica de la leche cruda.	39
Cuadro 6.	Interpretación de resultados para la prueba de resazurina	58
Cuadro 7.	Estándares de calidad composicional para leche	71
Cuadro 8.	Calidad higiénica de la leche	71
Cuadro 9.	Medición de la acidez o alcalinidad para leche cruda.	77

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. NMP	56
Tabla 2. Estadística descriptiva de variables físico-químicas en leche cruda.	66
Tabla 3. Variables categóricas para análisis fisicoquímico.	67
Tabla 4. Estadística descriptiva para microbiología de leches crudas.	68
Tabla 5. Estadística descriptiva de variables composicionales en leche cruda.	69
Tabla 6. Clasificación de las leches de acuerdo con algunos parámetros de calidad.	70
Tabla 7. SNG por formula algebraica.	96
Tabla 8. SNG mediante ultrasonido.	96
Tabla 9. Sólidos totales.	97
Tabla 10. Proteína cruda (ekomilk).	97
Tabla 11. Proteína cruda por Kjeldahl.	98
Tabla 12. Grasa por Gerber.	98
Tabla 13. Densidad (ekomilk).	99
Tabla 14. Lactodensímetro.	99
Tabla 15. Coliformes fecales.	100
Tabla 16. Mesófilos.	100
Tabla 17. Coliformes totales.	101
Tabla 18. Agua añadida.	101
Tabla 19. Datos estadística descriptiva.	102

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Método de diluciones sucesivas	52
Figura 2. Procedimiento para la determinación del número más probable	53
Figura 3. Recuento de mesófilos aerobios	55
Figura 4. Reacción de la alizarina	77
Figura 5. Coagulación de la leche mediante ebullición	79
Figura 6. Medición de la densidad.	81
Figura 7. Prueba de antibióticos.	84
Figura 8. Incubación mediante método Gerber.	86

## GLOSARIO

**ACIDEZ:** poder de combinación de un ácido con una base.

**ADULTERANTES:** sustancias extrañas utilizadas con el fin de enmascarar o adulterar ciertos compuestos.

**AGAR:** sustancia coloide preparada de ciertas algas asiáticas, se emplea como medio de cultivo mezclado con sangre, peptona.

**ALMIDÓN:** fécula blanca, ligera y suave al tacto que se encuentra en diferentes semillas.

**ANTIBIÓTICO:** medicina que impide la multiplicación de los microbios.

**BACTERIA:** microorganismo vegetal unicelular, de forma alargada (bacilo) o esférica (coco).

**CASEINA:** compuesto albuminoideo de la leche que forma el queso.

**CALDO BVB:** caldo bilis brillante, se utiliza para detectar presencia coliformes totales.

**COLIFORMES TOTALES:** microorganismos indicadores de contaminación.

**DENSIDAD:** relación entre la masa de un cuerpo y la del agua o del aire que ocupa el mismo volumen.

**GLÁNDULA:** órgano de origen epitelial cuya función es la de segregar ciertas sustancias.

**LACTODENSIMETRO:** elemento utilizado para medir la densidad de la leche.

**LECHE:** líquido blanco, opaco, de sabor dulce, segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos: la leche es un alimento completo y equilibrado.

**NMP:** número más probable.

**UFC:** unidad formadora de colonia.

## INTRODUCCIÓN

En el concepto de aseguramiento total de la calidad en la cadena agroalimentaria de la leche bovina, se deben tener en cuenta referentes de calidad en términos de la composición química y su relación con el aporte nutricional y su caracterización como materia prima para el procesamiento tecnológico. En la actualidad, la calidad constituye una ventaja competitiva fundamental para alcanzar y mantener un lugar protagónico en el proceso de producción, transformación y comercialización de la leche<sup>1</sup>.

Si bien la importancia de la calidad e inocuidad de la leche ha sido reconocida, factores sociales y económicos han propiciado un retraso en la implementación de políticas eficientes para el desarrollo de la industria lechera. En efecto, el constante crecimiento de diferentes eslabones en la cadena láctea; llámese productores, intermediarios, plantas de acopio y procesadoras plantea una dificultad para la optimización de la producción ya que cada sistema se maneja en forma independiente por su propietario, aumentando de esta manera la posibilidad de incurrir en prácticas que afecten la calidad e inocuidad de la leche.

Según Novoa:

Algunas de estas prácticas tratan de aumentar el volumen, la conservación o disimular la falta de calidad, cuando las condiciones de manejo no son las apropiadas. Esta situación genera la necesidad de establecer mecanismos de control muy estrictos para evitar el recibo de leches adulteradas o alteradas que pueden causar serios tropiezos en la industria láctea o poner en peligro la salud del consumidor.<sup>2</sup>

El mismo autor argumenta que la leche puede llevar consigo sustancias de eliminación sin valor nutritivo como urea, residuos de medicamentos, pesticidas y plaguicidas. Estas sustancias de eliminación aunque estén presentes en

---

<sup>1</sup>PIÑEROS GOMES, Gregorio; TELLEZ I, Gonzalo y CUBILLOS, Alexander. La calidad como factor de competitividad en la cadena láctea Caso: Cuenca lechera del Alto Chicamocha. Boyacá, 2010. P. 11

<sup>2</sup> NOVOA C, Carlos Fernando. Consideraciones sobre la calidad de la Leche. Universidad Nacional de Colombia [.cfnovoac@unal.edu.co](mailto:cfnovoac@unal.edu.co).2009. [online]. [Fecha de consulta diciembre 28 de 2011]. Disponible en Internet: <[www.tecnolacteos.com/tecnolacteos/homa/dateien/carlos-novoa.pdf](http://www.tecnolacteos.com/tecnolacteos/homa/dateien/carlos-novoa.pdf)>

cantidades traza, tienen un gran impacto en los procesos de transformación y en la salud del consumidor.<sup>3</sup>

El presente proyecto pretende evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda bovina recibida y procesada en las instalaciones de la empresa de Lácteos en el corregimiento de Catambu; para así establecer las pautas de calidad, como requisito para implantar las políticas de sanidad y salubridad dispuestas para las empresas de producción de alimentos, además de optar por certificaciones de calidad que permitan a la empresa competir en grandes superficies comerciales.

---

<sup>3</sup> *Ibid.*

## 1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

La calidad de la leche tiene que ver con varios aspectos, tales como su composición, propiedades físico-químicas, higiene, condiciones sanitarias y propiedades sensoriales; estas propiedades influyen sobre su valor nutricional y rendimiento industrial.<sup>4</sup>

El presente proyecto pretende evaluar la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda bovina recibida y procesada en las instalaciones de la empresa Lácteos Valle de Atríz; para así establecer las pautas de calidad, como requisito para implantar las políticas de sanidad y salubridad dispuestas para las empresas de producción de alimentos, además de optar por certificaciones de calidad que permitan a la empresa competir en grandes superficies comerciales.

La calidad de la leche está definida por diferentes características tanto nutricionales como microbiológicas. Entre estas características podemos encontrar los sólidos totales, en los cuales se encuentran todos los nutrimentos que hacen de la leche un excelente alimento y un perfecto caldo de cultivo para diferentes microorganismos.

Calderón, menciona que:

La calidad microbiológica se refiere a la concentración de las bacterias de la leche, presencia de microorganismos patógenos, de residuos de antibióticos y medicamentos (inhibidores); que pueden afectar la salud humana y los procesos de transformación de la leche. Conteos altos de bacterias y de células somáticas, producen alteraciones en las propiedades nutritivas y organolépticas de la leche y reducen la vida útil de los derivados lácteos.<sup>5</sup>

---

<sup>4</sup> PIÑEROS, Op.cit., p. 11.

<sup>5</sup> Calderón A. Cuantificación de factores de riesgo de mastitis en sistemas elite de producción de leche en el altiplano Cundiboyacense. Tesis de Maestría, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, 2002.

En cuanto al rendimiento de los derivados lácteos está condicionado por su valor nutricional y su aptitud para diferentes procesos agroindustriales, además de otorgar las propiedades funcionales de los nutrientes presentes en el producto terminado.

## 2. FORMULACION DEL PROBLEMA

En Colombia la reglamentación es clara y se considera que la leche es uno de los alimentos de mayor riesgo en la salud pública y además hace mención de las responsabilidades en las que incurren las industrias que atenten contra la salud de las personas.<sup>6</sup>

Actualmente se establecen los parámetros de calidad de la leche cruda para procesamiento industrial según decreto 616 de 2006.<sup>7</sup> Para el cumplimiento de estas disposiciones la Norma Técnica Colombiana establece los parámetros de calidad que debe cumplir como materia prima para su industrialización.<sup>8</sup>

En respuesta a dicha normatividad, la Empresa de Lácteos en el corregimiento de Catambuco, en su empeño por mantener la calidad de sus productos requiere la implementación de los procedimientos y técnicas que provean la información necesaria para determinar la calidad de la leche que ingresa a la planta de procesamiento, además de implementar técnicas encaminadas a brindar herramientas de juicio que impidan que los productos elaborados por dicha empresa no sean perjudiciales para el consumidor final, además de enmarcarla como productora de bienes de calidad en un contexto de competitividad nacional en el sector de alimentos y derivados lácteos.

---

<sup>6</sup> COLOMBIA. MINISTERIO DE SALUD. Decreto 3075 de 1997

<sup>7</sup> COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Decreto 616 del 28 de Febrero de 2006.

<sup>8</sup> NORMA TECNICA COLOMBIANA, 399.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la calidad físico-química, microbiológica y composicional de la leche cruda bovina en la Empresa Lácteos Valle de Atríz, Municipio de Pasto, Departamento de Nariño.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Valorar la calidad fisicoquímica de la leche cruda a través de pruebas de plataforma como acidez mediante prueba de alizarina, acidez por método del alcohol, acidez titulable con NaOH, densidad, pH y análisis con equipo ultrasónico ekomilk en la Empresa Lácteos Valle de Atríz.
- Analizar la calidad fisicoquímica de la leche cruda mediante identificación de neutralizantes alcalinos, formol o solución de formaldehído, agua oxigenada, harinas y almidones, agua adicionada, suero, hipocloritos y dióxido de cloro, método de yoduro de potasio.
- Evaluar la inocuidad de la leche cruda mediante técnica rosa charm para residuos de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas utilizando la tecnología R.O.S.A (Rapid One Step Assay).
- Examinar la calidad microbiológica de la leche cruda mediante recuento estándar en placa de mesófilos, reducción del azul de metileno (reductasa) y resazurina.
- Determinar la calidad composicional de la leche cruda en los parámetros de grasa, proteína, sólidos no grasos y sólidos totales en la Empresa Lácteos Valle de Atríz.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 LA LECHE

La legislación colombiana señala a la leche como un producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción.<sup>9</sup>

Según la norma técnica colombiana:

La leche cruda debe presentar un aspecto normal, estar limpia y libre de calostro, preservativos, colorantes, materias extrañas y olores objetables o extraños; obtenida a partir de animales sanos libre de enfermedades. Para los límites máximos de aflatoxina M1, residuos de medicamentos veterinarios y de plaguicidas se tendrán en cuenta las normas nacionales de carácter oficial o en su defecto lo establecido en el Codex Alimentarius.<sup>10</sup>

**4.1.1 Calidad composicional.** Es la condición que hace referencia a las características fisicoquímicas de la leche. Como indicadores de la calidad composicional de la leche se toman los contenidos de sólidos totales, proteína y grasa; sin embargo los componentes menores o las propiedades fisicoquímicas pueden ser determinantes en el comportamiento de la leche al momento de ser procesada.<sup>11</sup>

Químicamente, la leche es uno de los fluidos más completos que existen. El término “sólidos totales” se utiliza ampliamente para indicar los componentes con exclusión del agua y el de “sólidos no grasos” cuando se excluye el agua y la grasa. El agua representa aproximadamente entre un 82% y un 82.5% de la leche, los sólidos totales alcanzan habitualmente la cifra de 12% hasta un 13% y los

---

<sup>9</sup> MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL, Op.cit.

<sup>10</sup> NTC, Op. cit.

<sup>11</sup> NOVOA, Op. cit.

sólidos no grasos se encuentran muy cerca del 9%.(Paseiro 1980, citado por Agudelo y Bedoya 2005).<sup>12</sup>

#### **4.1.1.1 El agua.** Lerche asevera:

El agua es la fase dispersante, en la cual los ácidos grasos y demás componentes de mayor tamaño se encuentran emulsionados o suspendidos. Las sustancias proteicas se encuentran formando un coloide en estado de “sol” liófilo (caseína y globulina) o liófilo (albumina), mientras que la lactosa y las sales se hallan en forma de solución verdadera.

El peso específico de la leche oscila entre 1.027 y 1.035 con una media de 1.032. El punto de congelación se encuentra por término medio entre -0.54°C y -0.55°C (valores límites -0.51 y -0.59 °C) en virtud de la lactosa y las sales disueltas; la técnica de su determinación se llama crioscopia y ha sido también aceptada en el examen de la leche para determinar posibles adulteraciones por la adición de agua. Igualmente puede influir sobre el punto de congelación de la leche la acidificación, en cuyo caso el punto crioscópico disminuye.<sup>13</sup>

**4.1.1.2 Proteína.** La proteína contenida en la leche es del 3,5% (variando desde el 2.9% al 3.9%). Esta “proteína láctea” es una mezcla de numerosas fracciones proteicas diferentes y de pesos moleculares distintos. Las proteínas se clasifican en dos grandes grupos: caseínas (80%) y proteínas séricas (20%).<sup>14</sup>

---

<sup>12</sup> PASEIRO, L Perfecto. Control de la calidad de la leche. Universidad de Santiago. Facultad de Farmacia. Departamento de bromatología y tecnología y análisis químico aplicado. Santiago de Chile, 1980. p. 21-42 citado por AGUDELO GÓMEZ, Divier Antonio y BEDOYA MEJÍA, Oswaldo. Composición nutricional de la leche del ganado vacuno. Revista Lasallista de investigación. Vol.2. No.1. corporación universitaria Lasallista. Antioquia, Colombia. 2005. p.39.

<sup>13</sup> LERCHE, Martin. Inspección veterinaria de la leche. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 1.69; p.188.

<sup>14</sup> COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACA; [Citado 18 de Diciembre de 2011]. Disponible en [http:// 195.77.47.34 / veterinaria / vacuno / resulta.htm](http://195.77.47.34/veterinaria/vacuno/resulta.htm)1.999.

La caseína es la proteína más abundante, además de ser la más característica de la leche por no encontrarse en otros alimentos, existen tres tipos de caseínas (Alfa, Beta y Kappa caseína), en la leche también se encuentra la albúmina y la globulina. El valor biológico de la caseína en la alimentación obedece a su contenido en aminoácidos esenciales que se separan de la parte acuosa por acción de enzimas como la renina o la quimiocina, que son las responsables de la precipitación de la proteína en la elaboración de quesos.<sup>15</sup>

#### **4.1.1.3 Sólidos totales.** Para Novoa:

En la medida en que una leche tenga mayor contenido de sólidos totales, tiene más valor económico, pues dará mayor rendimiento en los procesos industriales y será más nutritiva. Los sólidos totales se pueden analizar por el método gravimétrico que consiste en secar una muestra de leche a una temperatura que no provoque reacciones de caramelización ni pérdida de sustancias diferentes al agua.

También es posible averiguar el contenido aproximado de sólidos a través de fórmulas empíricas a partir de la densidad y del contenido de grasa. Existe una correlación negativa entre el contenido de sólidos de la leche y la producción. Las razas especializadas en producción de leche, la producen con menor contenido de sólidos que las de doble propósito o las razas criollas. El contenido de sólidos también varía con la fase de lactancia, siendo mayor al inicio y final de esta. Normalmente se espera tener valores de 11.5 a 12.0% para las razas de alta producción y de 12.0 a 13.0% para las de baja producción.<sup>16</sup>

#### **4.1.1.4 Grasa.** Lerche, sostiene 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; se encuentra en forma de partículas emulsionadas o suspendidas en pequeños glóbulos microscópicos, cuyos diámetros pueden variar de 0.1 a

---

<sup>15</sup> LERCHE., Op. Cit.39

<sup>16</sup> NOVOA CASTRO, Carlos. Zootecnista. Esp. M.Sc. (c) en Ciencias - Química. Profesor Asistente Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA. Universidad Nacional de Colombia.

0.22 micrones que se encuentran rodeados de una capa de fosfolípidos que evitan que la grasa se aglutine y pueda separarse de la parte acuosa. La grasa de la leche puede sufrir alteraciones causadas por la acción de la luz, del oxígeno y enzimas (lipasas). Los procesos hidrolíticos oxidativos conducen a la formación de peróxidos, aldehídos, cetonas y ácidos grasos libres, originándose así alteraciones del sabor que se hace sebáceo o rancio.<sup>17</sup>

#### **4.1.1.5 Sólidos no grasos.** Piñeros, et al sostienen que:

Otro parámetro para evaluar la calidad composicional de la leche es el contenido de sólidos no grasos (SNG), que se obtiene restando la grasa del contenido de sólidos totales. En este grupo están las proteínas, la lactosa y los minerales.

El contenido de SNG tiene relación con el índice de refracción, por lo cual se puede obtener indirectamente por el refractómetro o lactómetro de Bertuzzi, que arroja una lectura llamada índice lactométrico. Este valor aproximado también se puede obtener por fórmulas empíricas basadas en la densidad y el contenido de grasa. Los SNG tienen una variabilidad algo menor que los sólidos totales y su valor oscila entre 8.4 y 9.2%. Valores por debajo de este rango pueden evidenciar leches muy pobres o con agua adicional y valores superiores hacen sospechar la adición de sólidos utilizados como correctores de densidad (cloruro de sodio, sacarosa o almidón).<sup>18</sup>

En el cuadro 1 se muestran los componentes de un litro de leche.

**4.1.2 Propiedades físico-químicas.** Además de la composición, las propiedades físico-químicas de la leche también nos dan información acerca de su calidad y de las condiciones en que el producto llega a la planta para su procesamiento y transformación.

#### **4.1.2.1 Prueba de acidez.** Para Corrales, et al:

---

<sup>17</sup> LERCHE., Op. Cit.,p.40

<sup>18</sup> PIÑEROS, Op. Cit.,p.19

La acidez es el poder de combinación de un ácido con una base. La acidez total se expresa en porcentaje de ácido en 100 ml o en 100 g de muestra. Para determinar la acidez de la leche se utilizarán métodos cualitativos de orientación o descarte tales como la prueba del alcohol, la prueba del alizarol y la prueba de ebullición. También métodos cuantitativos como la titulación con hidróxido de sodio 0.1 Normal, en presencia de fenolftaleína al igual que el método potenciómetro para determinación del pH.<sup>19</sup>

### Cuadro 1. Componentes principales de la leche.

Componente	g/1000g
Agua (g)	880
Lactosa (g)	46
Grasa (g)	36
Triglicéridos	35
Fosfolípidos	0.5
Esteroles, carotenos, tocoferoles	0.5
Sustancias nitrogenadas (g)	32
Caseína	26
Proteínas séricas	4.5
Sustancias nitrogenadas no proteicas	1.5
Sustancias minerales (g)	<b>7</b>
Ácidos orgánicos	<b>1.5</b>
Gases (CO <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> , N <sub>2</sub> )	
Enzimas (fosfatasa, plasmina, catepsina, lipasa, catalasa, peroxidasa, etc.)	
Microorganismos	
Células somáticas	

Fuente: Wastra, Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos, Ed. Acribia, Zaragoza, 2001.

**4.1.2.1.1 Prueba del alcohol.** Esta prueba reemplaza la prueba de ebullición. Se mezcla la leche con alcohol neutro, 68% en peso en proporción 1:1, y se observa si hay formación de grumos o precipitado. Tiene la ventaja sobre la prueba de ebullición que es más fácil de realizar a nivel de campo o de plataforma de recibo y además se puede volver más o menos exigente dependiendo del grado de alcohol que se utilice.

<sup>19</sup> CORRALES, Luz. SEPULVEDA, José. HIGUERA, José, "La Leche su procesamiento y Su Control" En: Colombia 2005. ed: Centro De Publicaciones Universidad Nacional De Colombia ISBN: 958-8526-1 v. 1 p. 324.

Las leches con alto grado de acidez o con desbalance salino dan positivo a esta prueba. Aunque la mayoría de resultados positivos se deben a un elevado nivel de acidez, algunas muestras que presentan acidez y Ph normales dan positivo a la prueba, principalmente por altos contenidos de cloruros, calcio y sodio. Esta prueba se realiza para recibir la leche a nivel de finca o de plataforma.<sup>20</sup>

**4.1.2.1.2 Prueba de la alizarina o alizarol.** Esta prueba además de indicar el grado de acidez de una leche, también revelará la neutralización de las mismas (leches alcalinas).<sup>21</sup>

**4.1.2.2 Índice lactométrico.** Se determina con un refractómetro llamado lactómetro de Bertuzzi, con el objeto de controlar adiciones de agua a la leche. El índice lactométrico de la leche está relacionado con los sólidos no grasos y su valor oscila entre 8.4 y 9.2. Valores por debajo de este rango indican adición de agua, mientras que valores por encima indican adición de sólidos como sal, azúcar y almidones, entre otros, que usualmente se utilizan como correctores de densidad para disimular la adición de agua. Esta prueba tiene la ventaja de ser rápida, sencilla y de fácil aplicación a nivel de campo.<sup>22</sup>

**4.1.2.3 Densidad.** Novoa menciona que:

Esta prueba se determina con el termolactodensímetro de Quevenne y se realiza también con el objeto de controlar la adición de agua a la leche. El valor de la densidad de la leche debe estar entre 1.030 a 1.033 g/cm<sup>3</sup> según la legislación colombiana, aunque la mayoría de las muestras presentan valores de 1.029 a 1.032 g/cm<sup>3</sup>. Valores por debajo indican adición de agua y valores por encima indican adición de sólidos extraños a la leche.

Esta prueba es fácil de realizar, pero debe tenerse en cuenta que es necesario hacer corrección por temperatura cuando no se lee a 15°C, y por lactodensímetro cuando éste presenta diferencia en la lectura con respecto al método de referencia. La desventaja de tomar la densidad como parámetro para evaluar adición de agua a la leche, es que su lectura

---

<sup>20</sup> NOVOA, Op. Cit.,p.22

<sup>21</sup> CORRALES, Op. cit

<sup>22</sup> NOVOA, Op. cit p.22

depende de todos los componentes incluyendo la grasa, la cual tiene una amplia variabilidad, generando demasiada incertidumbre en los resultados. La prueba es útil para determinar adición de agua, cuando ésta sobrepasa el 10%.<sup>23</sup>

**4.1.2.4 Acidez titulable.** El mismo autor afirma que leche fresca presenta una reacción ligeramente ácida, de 0.14 a 0.17% p/v expresada como ácido láctico, debido al contenido de los ácidos fosfórico, cítrico, carbónico y a la caseína. La acidez titulable de la leche, usualmente se determina con solución patronada de hidróxido de sodio y fenolftaleína como indicador.

A medida que las bacterias se desarrollan en la leche, utilizan la lactosa transformándola en ácidos orgánicos principalmente láctico, aumentando así el nivel de acidez. Cuando la acidez alcanza el valor de 0,22%, las proteínas de la leche se precipitan con el calentamiento, lo cual le impediría ser sometida al proceso de pasteurización.

Por esta razón la leche ácida es rechazada por la mayoría de los industriales de la leche. Niveles por debajo de 0.13% p/v, podrían indicar adición de agua, neutralización de la leche con sustancias alcalinas o leches mastíticas. Las leches pobres en caseína también presentan niveles de acidez por debajo de lo normal. Niveles por encima de lo normal se presentan por almacenamiento prolongado de la leche sin suficiente refrigeración, o por falta de higiene en su manejo.<sup>24</sup>

**4.1.2.5 pH.** Novoa, asevera que:

Un valor en la leche fresca está entre 6.5 y 6.8. Algunas empresas prefieren evaluar el pH en vez de la acidez titulable de la leche. Aunque a medida que aumenta la acidez, el pH desciende y viceversa, esta relación no es perfecta, debido a que la leche tiene capacidad buffer, lo cual hace que con leves cambios en la acidez titulable, no se observen cambios en el pH. Cuando se le coloca agua adicional a la leche, desciende la acidez titulable, pero el pH no cambia. Valores de pH menores de 6.4 indican que se han presentado procesos de acidificación en la leche y en este caso no puede soportar tratamientos térmicos. Valores por encima de 6.9 indican neutralización con sustancias alcalinas o presencia de mastitis.<sup>25</sup>

---

<sup>23</sup> *Ibíd.*, p.24

<sup>24</sup> *Ibíd.*, p.24.

<sup>25</sup> *Ibíd.*, p.24.

**4.1.2.6 Ekomilk, analizador automático de leche.** Son analizadores ultrasónicos automáticos portátiles para verificar la calidad de la leche. Estos equipos son ideales para centros de acopio, tambos e industrias lácteas. Los analizadores ultra ultrasónicos de la leche de Ekomilk se diseñan para el análisis rápido y rentable de los contenidos de agua agregada, grasa, sólidos de leche no grasos, pH, temperatura, conductividad, proteína y densidad de la leche.<sup>26</sup>

En el cuadro 2 se presentan las propiedades fisicoquímicas de la leche, las cuales sirven para controlar que la leche no haya sufrido alteraciones ni adulteraciones.

**Cuadro 2. Requisitos para la leche cruda.**

Parámetro/Unidad	Leche cruda	
Grasa % m/v mínimo	3.00	
Extracto seco total % m/m mínimo	11.30	
Extracto seco desengrasado % m/m mínimo	8.30	
	min	max
Densidad 15/15°C g/ml	1.030	1.033
Índice Lactométrico	8.40	
Acidez expresado como ácido láctico %m/v	0.13	0.17
Índice °C	-0.530	-0.510
Crioscópico °H	-0.550	-0.530

Fuente: Ministerio de la protección Social. Decreto 616 de 2006<sup>27</sup>

En el artículo 17 del decreto 616 de la legislación colombiana, además se estipula parámetros que debe cumplir de la leche cruda de los animales bovinos como:

- Debe presentar estabilidad proteica en presencia de alcohol 68% m/m ó 75% v/v.
- Cuando es materia prima para leche UHT o ultra pasteurizada debe presentar estabilidad proteica en presencia de alcohol al 78%v/v

<sup>26</sup> [http://clasipar.paraguay.com/ekomilk\\_analizador\\_automatico\\_de\\_leche\\_1097632.html](http://clasipar.paraguay.com/ekomilk_analizador_automatico_de_leche_1097632.html)

<sup>27</sup> MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto 616 de 2006.

- No debe presentar residuos de antibióticos en niveles superiores a los límites máximos permisibles determinados por la autoridad sanitaria competente de acuerdo con la metodología que se adopte a nivel nacional.<sup>28</sup>

**4.1.3 Calidad higiénica.** Para Figueroa, el contenido microbiano de la leche cruda dice mucho de su calidad. Está en función por una parte, de la higiene mantenida en el proceso de obtención de la leche, es decir la limpieza de las instalaciones de ordeño, de las condiciones de almacenamiento y del transporte y, por otra, del estado sanitario de la vaca, especialmente de la ubre.<sup>29</sup>

Se refiere a la cantidad y tipo de bacterias presentes en la leche como consecuencia del manejo durante el ordeño, el almacenamiento y el transporte de la misma. La leche además de ser un medio nutritivo, es también un medio favorable desde el punto de vista físico para la multiplicación de los microorganismos y por ser un producto de origen animal sujeto a una gran diversidad de métodos de producción, se puede contaminar con un amplio espectro de microorganismos presentes en pezones, canal del pezón, superficies de la ubre, ubres mastíticas, agua contaminada utilizada en los sistemas de lavado, equipos de ordeño, etc.<sup>30</sup>

Existen muchos indicadores de calidad higiénica, entre los que se pueden mencionar los presentados a continuación.

#### **4.1.3.1 Prueba de azul de metileno.** Según Novoa:

Esta prueba se basa en la actividad reductora de las bacterias, de manera que cuando se incuba a 37°C una muestra de leche a la cual se le ha colocado el colorante azul de metileno, el color azul va desapareciendo a medida que la actividad de las bacterias reduce el potencial redox.

El tiempo de reducción del azul de metileno, es inversamente proporcional al número de bacterias. Tiempos de reducción del azul de metileno

---

<sup>28</sup> *Ibíd.*

<sup>29</sup> FIGUEROA C. 2004. Manual de buenas Prácticas en producción de leche caprina. Secretaría de agricultura ganadería desarrollo rural pesca y alimentación. Valenzuela.

<sup>30</sup> NOVOA, Op. Cit., p 26.

menores de dos horas significan que la calidad higiénica de la leche es muy pobre, pudiendo llegar a contener dos a cinco millones de bacterias por ml; tiempos de reducción de más de 6 horas indican buena calidad higiénica, con recuentos menores de 100.000 bacterias por ml.

Aunque no existe una correlación perfecta entre el tiempo de reducción del azul de metileno y el recuento de coliformes totales, la prueba es sencilla y de fácil aplicación.

Esta prueba no es muy apropiada para la evaluación de la calidad higiénica de las leches refrigeradas, debido a que se relaciona con el recuento de bacterias mesófilas pero no con las psicrótrofas y psicrófilas; tampoco genera información acerca de las bacterias termodúricas. Es importante realizar pruebas para asegurarse que la leche analizada esté libre de antibióticos e inhibidores pues su presencia distorsionaría los resultados de la prueba.<sup>31</sup>

### Cuadro 3. Test azul de metileno.

Decoloración	No. Bacterias/ml	Calidad
5 horas	100.000 a 200.000	Buena
2 a 4 horas	200.000 a 2 millones	Buena a regular
Menos de 2 horas	Más de 2 millones	Insuficiente

Fuente: Manual de métodos fisicoquímicos para el control de calidad de la leche y sus derivados. ICONTEC 2004.<sup>32</sup>

**4.1.3.2 Reducción de la resazurina.** En 1929 el indicador resazurina fue introducido en Alemania como un sustituto del azul de metileno para pruebas de reducción en leche, desde entonces esta prueba se ha venido utilizando cada vez más por requerir menos tiempo. La resazurina es más electropositiva y más sensible que el azul de metileno para detectar ligeros cambios en el potencial de óxido reducción, por lo que permite obtener resultados más rápidos (en 1 ó 3 horas) y mayor sensibilidad para reconocer la presencia de calostro y leches anormales.

La prueba se realiza en la leche en forma similar a la del azul de metileno, pero las lecturas y la interpretación de los resultados deben hacerse siguiendo diferentes

<sup>31</sup> Ibíd., p 26

<sup>32</sup> Manual de métodos fisicoquímicos para el control de calidad de la leche y sus derivados. ICONTEC. 2004.

normas. Así, en la llamada “prueba de 1 hora” se incuba las muestras hasta 36 °C y al cabo de 1 hora se observa su color preferiblemente con luz fluorescente contra un fondo gris neutro.<sup>33</sup>

Se realiza la clasificación conforme a la siguiente tabla:

**Cuadro 4. Interpretación de resultados de la prueba de resazurina**

Muy buena o excelente	Azul celeste
Buena	Violeta azulado
Mediana, regular (aceptable):	Violeta rojizo
Mala	Rojo – rosa
Muy mala	Incoloro

Fuente: Schonherr, 1959<sup>34</sup>

**4.1.3.3 Recuento total de mesófilos.** Para Novoa, el recuento total de bacterias mesófilas es el principal indicador de la calidad higiénica de la leche. En la medida que este recuento aumenta, la leche ha sufrido mayor grado de contaminación bacteriana. El análisis se realiza en agar no selectivo, con incubación a 37°C durante 48 horas, aunque existen métodos electrónicos de conteo de bacterias que son muy rápidos y que tienen buena correlación con el conteo en plato. Sin embargo este recuento no distingue entre bacterias causantes de enfermedades o provenientes del deterioro de la leche y lactococos benéficos que naturalmente están presentes en esta.

Pero cuando el recuento de mesófilos es alto, se sabe que su incremento se debe a fallas en las prácticas de higiene en la obtención y manejo de la leche. Una leche higiénica normalmente contiene menos de 100.000 unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml), mientras que una leche mal manejada puede contener de 2 a 20 millones de UFC/ml. Aunque este recuento es muy importante en la determinación de la calidad de la leche cruda, muchas veces se prefiere utilizar el tiempo de reducción del azul de metileno, por costos y rapidez en la obtención de los resultados.<sup>35</sup>

<sup>33</sup> A.O.A.C. Methods of Analysis of Association of Analytical Chemists. A.O.A.C., P.O. Box 540, Benjamin Franklin Station, Washington 4, D.C. 1965.

<sup>34</sup> Schonherr, 1959.

<sup>35</sup> NOVOA, Op. Cit., p 28.

En la tabla siguiente se puede apreciar los límites permisibles de UFC/ml según la norma técnica colombiana

#### **Cuadro 5. Calidad higiénica de la leche cruda.**

<b>REGION</b>	<b>Recuento total de Bacterias UFC</b>
Región 1	175.000 – 200.000

Fuente: MADR. Res.017 de 2012<sup>36</sup>

**4.1.3.4 Coliformes totales y fecales.** Identifica a una serie de bacterias de la familia enterobacteriaceae que incluye a los gérmenes escherichia, enterobacter y klebsiella; microorganismos Gram negativos usualmente capsulados, no esporulados que fermentan la lactosa y que causan cuadros de mastitis.

Generalmente presentan cuadros de mastitis que van de ligera a severamente agudo (Salvador y Abner, 2005). La presencia de estas bacterias refleja un pobre manejo higiénico de la rutina de ordeño (limpieza de la piel de los pezones, manos y pezoneras) y la exposición de la leche a materia fecal. (Salamanca, 1998).<sup>37</sup>

#### **4.1.4 Adulterantes de la leche.** Según Hazard:

La leche puede ser adulterada en forma voluntaria o involuntaria. En esencia, la adulteración se puede definir como algo que se agrega a la leche y que produce cambios en el volumen y/o en su composición química. Uno de los contaminantes más frecuentes es el agua, la cual es detectada por las plantas lecheras a través de la prueba de crioscopía.<sup>38</sup>

<sup>36</sup> MADR. Resolucion 017 de 2012.

<sup>37</sup> Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del alto Chicamocha (Departamento de Boyacá). Revista de medicina veterinaria. p. 66. 2007.

<sup>38</sup> HAZARD T., SERGIO. 1997. Variación de la composición de la leche. p.33- 44. Serie Carillanca N° 62. In: Curso taller Calidad de Leche e Interpretación de Resultados de Laboratorio. Temuco, 7 de Noviembre de 1997.

#### **4.1.4.1 Adulteración con antibióticos.** Gaviria asegura:

Otros medios de adulterar la leche son los antibióticos. En éste último caso la situación es dramática, ya que si un productor envía a la industria lechera un producto con antibióticos, la leche le será devuelta a su predio y por lo tanto no le será cancelada.

Los métodos de detección de antibióticos son tan sensibles que basta que una vaca del rebaño haya sido tratada, para que sea detectado inmediatamente en el estanque. Las plantas lecheras exigen leche sin antibióticos, ya que al ser transformada en queso o yogurt éstos no permiten una maduración y, por lo tanto, no es posible obtener un producto de calidad.<sup>39</sup>

Dado lo anterior, cuando el productor deba tratar una vaca con antibiótico, lo debe hacer con el producto adecuado y respetando los períodos de resguardo, vale decir, el tiempo en que el producto es traspasado a la leche. En ese caso esa o esas vacas tratadas deberán ser ordeñadas aparte y al final de la ordeña, de modo de no contaminar al resto de las vacas y al producto almacenado en el estanque. La leche de las vacas tratadas puede ser utilizada en la crianza de terneros.

**4.1.4.2 Adulteración con Cloruros.** El contenido normal de cloruros en la leche es de 0.07 a 0.13 %. Esa concentración aumenta en las leches mastíticas. Con frecuencia se encuentra aumentado en leches que han sido adulteradas por adición de agua, con el propósito de enmascarar esa adulteración cuando se usa el método crioscópico.

Como se ha indicado anteriormente el punto crioscópico de la leche aumenta con la adición de agua, pero ese aumento es contrarrestado por adición de solutos como sal o azúcar; en las mismas proporciones en que se presentan en el suero fisiológico (9% NaCl), de modo que se mantenga la presión osmótica igual a la de la sangre. De esa manera el punto de congelación no varía. Por esta razón es siempre recomendable que paralelamente a las determinaciones de crioscopía, se

---

<sup>39</sup> GAVIRIA S. Luís E., CALDERON G. Carlos E., Manual de Métodos Físicoquímicos para el Control de Calidad de la Leche y sus Derivados. GTC parte 1. ICONTEC.

proceda a medir el porcentaje de cloruros y/o azúcar para poder detectar esa posible adulteración<sup>40</sup>

#### **4.2 DESCRIPCION DE LA EMPRESA**

La empresa de Lácteos del corregimiento de Catambuco, inicia sus operaciones con la fabricación y comercialización de queso doble crema en el municipio de Tuluá, procesando 2500 litros de leche por día (50% de la capacidad instalada), en el futuro cercano se espera superar la cantidad de materia prima procesada llegando hasta 5000 litros diarios para abastecer los 2 municipios meta de la empresa. Entre nuestros principales objetivos está en planificar, estandarizar y mantener la producción con excelentes criterios de higiene y limpieza de diferentes líneas de productos lácteos. Distribuir y abastecer zonas en el centro del país que se consideraban de bajo consumo de nuestros productos (Tuluá e Ibagué).

#### **4.3 PRODUCCION DE LECHE**

Según la FAO, el consumo de leche y de productos lácteos ha experimentado un crecimiento rápido pasando de 28 Kg en 1964-65 a 45 Kg per cápita actualmente y podría alcanzar los 66 Kg en el año 2030<sup>41</sup>

En Colombia la agroindustria va desde la producción de leche cruda en finca, hasta los procesos de pasteurización, pulverización, producción de leches líquidas y en polvo y una gran variedad de derivados lácteos como quesos, sueros, bebidas, entre otros. En la cuenca lechera de Nariño encontramos algunas lecherías especializadas, con un alto nivel tecnológico, razas seleccionadas, manejo de praderas, suplementación alimenticia, accesoria técnica, e inseminación artificial.<sup>42</sup>

---

<sup>40</sup> Ibíd.

<sup>41</sup> FAO. La agricultura en el mundo: hacia 2015/2030

<sup>42</sup> Ministerio de Agricultura, Encuesta Nacional Agropecuaria - ENA 2004; Ministerio de Agricultura, Gobernación de Nariño, Consolidado agropecuario 2005, San Juan de Pasto, 2006, pp. 86-87.

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 LOCALIZACIÓN

Lácteos Valle de Atríz se encuentra ubicado en Vereda Botanilla, Sector Divino Niño en el Corregimiento de Catambuco, en la zona centro occidental del municipio de Pasto, aproximadamente a unos 8 km de la ciudad por la carretera panamericana del sur formando parte de las estribaciones del volcán Galeras a una altura promedio de 2700 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 12°C predominando el clima frío, humedad relativa de 38% y precipitación de 700 mm anuales.<sup>43</sup>

### 5.2 DISEÑO METODOLÓGICO

**5.2.1 Muestreo.** La selección de las muestras se realizó teniendo en cuenta las características del muestreo aleatorio estratificado con distribución proporcional al peso o contribución de cada proveedor, teniendo como criterio de selección el número de cantinas de leche provistas por cada uno.

La recolección de las muestras de leche se ajustó a la Norma Técnica Colombiana NTC 666<sup>44</sup>, y cada muestra llevó una réplica según lo estipula el artículo 67 del decreto 616 de 2006.<sup>45</sup> La toma de muestras se desarrolló a través de visitas al momento de la mañana. Se recolectaron y analizaron muestras de leche de los 3 proveedores objeto de estudio, determinando su calidad composicional, higiénica y sanitaria.

Se siguió las normas establecidas en el artículo 67 del decreto 616 de Febrero de 2006 expedido por el Ministerio de la Protección Social, el cual señala el número de muestras para cada análisis.<sup>46</sup>

---

<sup>43</sup> MUNICIPIO DE PASTO – UDENAR – ARD, 2003.

<sup>44</sup> NORMA TECNICA COLOMBIANA, 666. Icontec, 2002.

<sup>45</sup> COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Decreto 616 del 28 de Febrero de 2006.

<sup>46</sup> Ibíd.

Se tomó una muestra representativa de 350- 450 ml de leche por cantina de 40 litros, siguiendo las indicaciones de la AOAC para el análisis microbiológico y composicional.<sup>47</sup>

Las muestras fueron tomadas de las cantinas de cada proveedor. Una vez tomadas se identificaron y ubicaron en cavas provistas de gel congelado para ser transportarlas inmediatamente al laboratorio especializado de la Universidad de Nariño, donde se realizaron los análisis el mismo día de la recolección.

### **5.2.2 Materiales y métodos.**

- Recipientes de vidrio o de acero inoxidable u otro material apropiado, esterilizable de capacidad de 200 a 500 cm<sup>3</sup> con cierre que asegure completa hermeticidad.
- Agitador de acero inoxidable de fácil manipulación que permita la agitación adecuada de la leche, un modelo bastante utilizado consta de un disco perforado, de unos 15cm de diámetro y un vástago de 80 a 100 cm de largo terminado en una empuñadura.
- Toma muestra o cucharón de acero inoxidable.
- Nevera de icopor.
- Hielo.

### **5.2.3 Procedimiento.** Según NTC:

Para tomar las muestras de las cantinas se introduce un agitador limpio y desinfectado con agua caliente o solución bactericida, se agita enérgicamente no menos de 15 veces. Inmediatamente se introdujo el toma muestras hasta el centro de la cantina; se tomó 350 ml y se pasaron a un frasco de vidrio, los cuales fueron rotulados en forma legible e indeleble para su posterior análisis.<sup>48</sup>

---

<sup>47</sup>ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, AOAC 968.12 [Fecha de consulta febrero 6 de 2012]. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/docrep/meeting/005/w9503s/w9503s0q.htm>

**5.2.4 Fase de laboratorio.** Se procesó diez muestras, cada una con su réplica para análisis físico químico y análisis microbiológico, para efectos del presente estudio.<sup>49</sup>

### **5.3 PROTOCOLO PARA ANÁLISIS DE PRUEBAS DE PLATAFORMA**

**5.3.1 Acidez.** Antes de realizar las pruebas de plataforma se homogenizó la leche.

**5.3.1.1 Prueba de la alizarina o alizarol.**<sup>50</sup> Se homogenizaron cada una de las 10 muestras y de cada una mediante una pipeta volumétrica se tomaron 3 ml de leche y se depositaron en una capsula de porcelana, a la cual se adicionaron 3 ml de alizarina y se observó los cambios en coloración y formación de grumos.

**5.3.1.2 Prueba de alcohol.**<sup>51</sup> Se homogenizaron cada una de las 10 muestras y de cada una se tomaron 3 ml de leche con una pipeta volumétrica y se depositó en una capsula de porcelana, a la cual se adicionó 3 ml de alcohol al 68% y se observó la formación de grumos.

**5.3.1.3 Acidez mediante titulación con NaOH.**<sup>52</sup>

#### **5.3.1.3.1 Equipo.**

- Capsula de porcelana.

---

<sup>48</sup> NORMA TECNICA COLOMBIANA, 666. Icontec, 2002.

<sup>49</sup> COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Decreto 616 del 28 de Febrero de 2006.

<sup>50</sup> CORRALES, Op.cit.

<sup>51</sup> Ibíd.

<sup>52</sup> Ibíd.

- Bureta de 10 a 50 ml.
- Pipeta volumétrica de 9 o 17.6 ml.
- Agitador.

#### 5.3.1.3.2 Reactivos.

- Solución de NaOH 0.1 N
- Solución alcohólica de fenolftaleína al 1%.

**5.3.1.3.3 Método.** Se mezcló cuidadosamente la muestra y se transfirió con una pipeta volumétrica de 9 ml a una cápsula de porcelana. Se empleó 3 gotas de solución alcohólica de fenolftaleína como indicador y se valoró con solución NaOH 0.1 N (N/10), hasta la aparición de una coloración rosa fácilmente perceptible por comparación con un testigo tomado de la misma leche. Dicha coloración desaparece gradualmente, pero se considera obtenido el punto final cuando el tinte rosa persiste unos 30 segundos.

Los resultados de acidez se expresan en peso de ácido láctico por 100 ml de leche o se aplicó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ ACIDO LACTICO} = \frac{\text{ml NaOH gastados} * \text{Normalidad NaOH eq. G ac. Láctico}}{\text{ml o gr de muestra de Leche}}$$

$$\text{eq. G} = 0.09 (\text{P. M. Acido Láctico}) = \frac{90}{1000 \text{gr}} = 0.09 \text{gr}$$

**5.3.2 Densidad.**<sup>53</sup> La densidad de la leche se obtuvo usando un termolactodensímetro. Esta densidad se expresó en grados lactodensímetros (°L).

**5.3.2.1 Método.** La densidad de la leche (gramos/ml de leche) se basa en la siguiente fórmula:

---

<sup>53</sup> Ibíd.

$$D = \frac{X \pm 0.2 + {}^{\circ}\text{Lactométricos}}{1000} + 1$$

Debido a la refrigeración de la leche, hubo la necesidad de aplicar la fórmula para corregir la temperatura de lectura.

**5.3.3 Análisis ultrasónico Ekomilk.**<sup>54</sup> Se trabajó con el equipo ekomilk (milk analyzer MILKANA KAM 98 -2 AM). Se realizó 10 muestreos y cada uno con su respectiva replica. Inicialmente se realizó un lavado del equipo automáticamente con agua destilada. De cada muestra suministrada por cada proveedor se tomó 20 ml mediante una pipeta, los cuales se depositaron en una vaso que hace parte del analizador ultrasónico para realizar la respectiva lectura. Posterior a cada muestra se llevó a cabo el lavado del analizador ultrasónico. Los datos obtenidos fueron: grasa, SNG, densidad, agua añadida y proteína. Cada muestra se procesó en un tiempo de 3 minutos.

**5.3.4 pH.**<sup>55</sup> Se enjuagó muy bien el electrodo con agua destilada, se abrió el electrodo, prendió el potenciómetro y colocó en posición para determinar el pH. Se calibro el potenciómetro con solución buffer pH = 7, enjuagó electrodo con agua destilada. Se calibro la solución buffer pH = 4, enjuagó electrodo con agua destilada. En un beaker de 10 ml, se tomó aproximadamente 7 ml de leche, se introdujo en ésta el electrodo y espero que la aguja del potenciómetro se estabilice. Se hizo la lectura y leyó directamente el pH de la muestra en la escala del aparato.

## **5.4 PROTOCOLO PARA DETECCIÓN DE ADULTERANTES EN LECHE CRUDA**

**5.4.1 Neutralizantes alcalinos.**<sup>56</sup> Sustancias como el hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>), carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), cal (CaO), jabones alcalinos y orina, neutralizan el ácido láctico a medida que se forma.

---

<sup>54</sup> Ekomilk analyzer milkana KAM 98 2-AM.

<sup>55</sup> *Ibíd.*

<sup>56</sup> *Ibíd.*

#### 5.4.1.1 Identificación de neutralizantes alcalinos.

##### 5.4.1.1.1 Reactivos.

- Solución acuosa de oxalato de potasio al 30% m/v.
- Solución de fenolftaleína al 2% en alcohol etílico de 95 G.L. (m/v).

**5.4.1.1.2 Procedimiento.** En un tubo de ensayo se colocó 5 ml de leche. Se calentó hasta ebullición durante tres minutos con agitación. Se enfrió y agregó 3-5 gotas de solución de oxalato de potasio con constante agitación. Posteriormente se agregó 3 gotas de la solución de fenolftaleína.

**5.4.1.1.3 Interpretación.** Una coloración rosada indica la presencia de alcalinizantes en la leche.

#### 5.4.1.2 Formol o solución de formaldehído (prueba de Hehner).<sup>57</sup>

##### 5.4.1.2.1 Reactivos.

- Solución acuosa de cloruro férrico al 1% recién preparada.
- Ácido sulfúrico diluido (1 + 1) en volumen.

**5.4.1.2.2 Procedimiento.** Se colocó 5 ml de muestra en un tubo de ensayo, luego se agregó 1 ml de ácido sulfúrico diluido y una gota de cloruro férrico. Posteriormente se mezcló y calentó a ebullición.

**5.4.1.2.3 Interpretación.** En presencia de formaldehído aparecerá una coloración violeta.

**Observación:** Cuando la concentración de formaldehído es alta, la prueba es menos sensible (se recomienda diluir la muestra).

---

<sup>57</sup> Ibíd.

### 5.4.1.3. Agua oxigenada o solución de peróxido de hidrógeno (Método de Arnold y Mentzer)<sup>58</sup>

#### 5.4.1.3.1 Reactivos.

- Solución de pentóxido de vanadio al 1% m/v ( $V_2O_5$ ) en ácido sulfúrico diluido.

**5.4.1.3.2 Procedimiento.** En un tubo de ensayo se adicionó 10 ml de muestra y se agregó 5 gotas de reactivo. Observar el color.

**5.4.1.3.3 Interpretación.** La aparición de un color curuba (salmón) indica la presencia de agua oxigenada.

**5.4.1.4 Método de yoduro de potasio.<sup>59</sup>** Para detectar si todo el  $H_2O_2$  ha sido destruido por la catalasa se realizó siguiente prueba: Se añadió unas gotas de KI (solución al 35%) recién preparada a 5 ml de leche.

**5.4.1.4.1 Interpretación.** La ausencia o presencia de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en la leche se interpretó así:

**Color amarillo canario:** Presencia de  $H_2O_2$ .

**Color natural de la leche:** Ausencia de  $H_2O_2$ .

Si el color amarillo persiste, repetir el análisis después de esperar un tiempo prudencial o añadir otra porción de catalasa y reposar la leche nuevamente. Repetir el análisis.

---

<sup>58</sup>Ibíd.

<sup>59</sup>Ibíd.

#### 5.4.1.5 Harinas y almidones (Prueba del Lugol).<sup>60</sup>

##### 5.4.1.5.1 Reactivos

Yoduro de potasio:

- Yodo: 1g
- Yoduro de potasio: 2g
- Agua destilada: 300 ml

**5.4.1.5.2 Procedimiento.** Se colocó en un tubo de ensayo 5 ml de muestra, luego se hirvió, enfrió y agregó 5 gotas de reactivo.

**5.4.1.5.3 Interpretación.** La aparición de un color azul indica la presencia de almidón o harina. Una coloración amarillenta indica la ausencia de estos adulterantes. El color azul debe desaparecer por calentamiento.

**5.4.1.6 Agua adicionada mediante el método refractométrico (lactómetro de Bertuzzi).<sup>61</sup>** Se levantó el prisma superior del lactómetro y limpió los dos prismas. Luego se colocó varias gotas de agua destilada de tal manera que cubran la superficie de éstos. Se efectuó una primera lectura (1) que sirvió como calibración del cero (0) del lactómetro. Luego de secar los prismas con un papel suave, se colocó varias gotas de una leche normal patrón de la región y se efectúa la lectura (2) en la escala graduada del instrumento.

Se limpiaron y secaron nuevamente los prismas, y se adicionó varias gotas de la muestra que se quiere analizar y se efectuó la lectura (3) correspondiente a la escala de 0 a 14%.

Con las lecturas realizadas se efectuaron los cálculos para obtener el porcentaje de agua adicionada a la leche.

**Cálculos:**

---

<sup>60</sup> Ibíd.

<sup>61</sup> Ibíd.

- Leche 2 +/- Agua destilada (1)= SNG (A%)
- Leche 3 +/- Agua destilada (1)= SNG (B%)

(8) – (B) = (C) x 11 Factor de conversión para dar el porcentaje de agua adicionada.

#### 5.4.1.7 Hipocloritos y dióxido de cloro (Bacoxin) Prueba de selección.<sup>62</sup>

##### 5.4.1.7.1 Reactivos.

Ácido clorhídrico diluido, preparado de la siguiente manera:

- ✓ HCl concentrado para análisis de 36.5-38% de pureza 114 ml.
  - \* Agua destilada 100 ml.
  - \* Solución acuosa de yoduro de potasio al 4.2% m/v.

Esta solución se empleó recién preparada.

- ✓ Solución indicadora de almidón preparada de la siguiente manera:
- ✓ Se hirvió durante un minuto 0.8 g de almidón soluble en 100 ml de agua destilada y se dejó enfriar.

Esta solución se empleó recién preparada.

**5.4.1.7.2 Procedimiento.** En un tubo de ensayo se colocó 2 ml de leche, 1 ml de ácido clorhídrico diluido, 1 ml de solución de yoduro de potasio y 0.5 ml de la solución de almidón y se agitó.

**5.4.1.7.3 Interpretación.** Una coloración azul indica la presencia de cloro disponible debido a hipocloritos, cloraminas, dióxido de cloro o agua oxigenada.

#### 5.4.1.8 Suero.<sup>63</sup>

---

<sup>62</sup> Ibíd.

<sup>63</sup> Ibíd.

#### 5.4.1.8.1 Reactivos

- Peróxido de hidrógeno al 35%.

**5.4.1.8.2 Procedimiento.** Se tomó 20 ml de leche cruda y se incubaron a 37°C por 30 minutos. De esta muestra incubada se tomó 5 ml, adicionó una gota de peróxido y se colocó la muestra en ebullición.

**5.4.1.8.3 Interpretación.** Si hay coagulación es positiva. Si no hay coagulación, es negativa.

**Nota:** Si la acidez de la leche inicial es mayor de 0.18% no se puede hacer, pues da resultados falsos positivos.

### 5.5 PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS EN LECHE

#### 5.5.1 Recuento de coliformes totales, fecales y mesófilos.<sup>64</sup>

##### 5.5.1.1 Materiales

- micropipetas de 100 µL cada una, de volumen variable y esterilizadas.
- puntas esterilizadas para micropipeta.
- cajas de Petri esterilizadas.
- tubos de ensayo con 9 ml de agua peptonada al 0.1%.
- erlenmeyers con 200 ml cada uno de plate count agar fundido.
- erlenmeyers con 120 ml cada uno de agar saboraud fundido con antibiótico.
- tubos con caldo lauril sulfato más MUG con tubos Durham.
- Reactivo de Kovacs.
- cajas de agar EMB.
- Solución de azul de metileno.

---

<sup>64</sup> Laboratorio microbiológico de alimentos. Laboratorios especializados Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. 2012

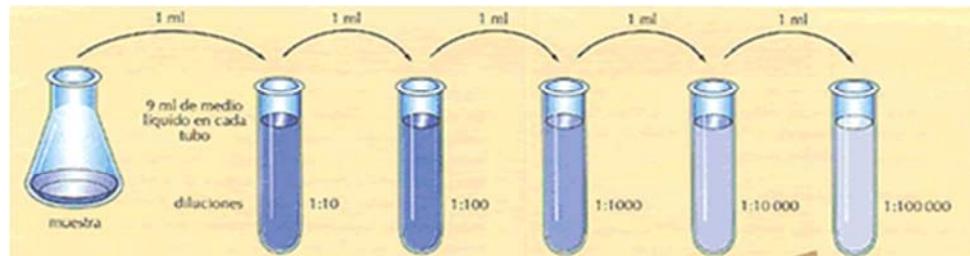
- tubos de ensayo de 20 ml cada uno esterilizados.
- Baño de agua a 37.5°C con un nivel de agua superior a 13 ml.
- Baño de agua a 60-70°C.
- 0.6 gramos de azul de metileno.
- 54 ml de alcohol etílico.
- 40 ml (1,1,1-tricloratano) de tetraclorato.
- ml de ácido acético glacial.

### **5.5.1.2 Procedimiento.**

#### **5.5.1.2.1 Dilución de la muestra de alimento:**

- Mantuvo en refrigeración la leche cruda hasta el momento del análisis
- Antes de abrir los envases que contienen se desinfecto con alcohol al 70% y agitó vigorosamente para homogenizar.
- Se preparan las diluciones del alimento de  $10^{-1}$  a  $10^{-5}$
- La dilución  $10^{-1}$  se preparó midiendo 1 ml de la muestra en un frasco que contenga 9 ml de diluyente agua peptonada.
- Transfirió 1 ml de la dilución  $10^{-1}$  a un tubo que contenga 9 ml de diluyente para obtener la dilución  $10^{-2}$  y así sucesivamente se prepararon las siguientes diluciones. (Ver figura 1).
- Cada dilución sucesiva disminuyó 10 veces la concentración. No olvidar marcar convenientemente los tubos.

**Figura 1. Método de diluciones sucesivas**



### **5.5.1.2.2 Inoculación del alimento.**

#### **5.5.1.2.2.1 Prueba presuntiva para coliformes totales.**

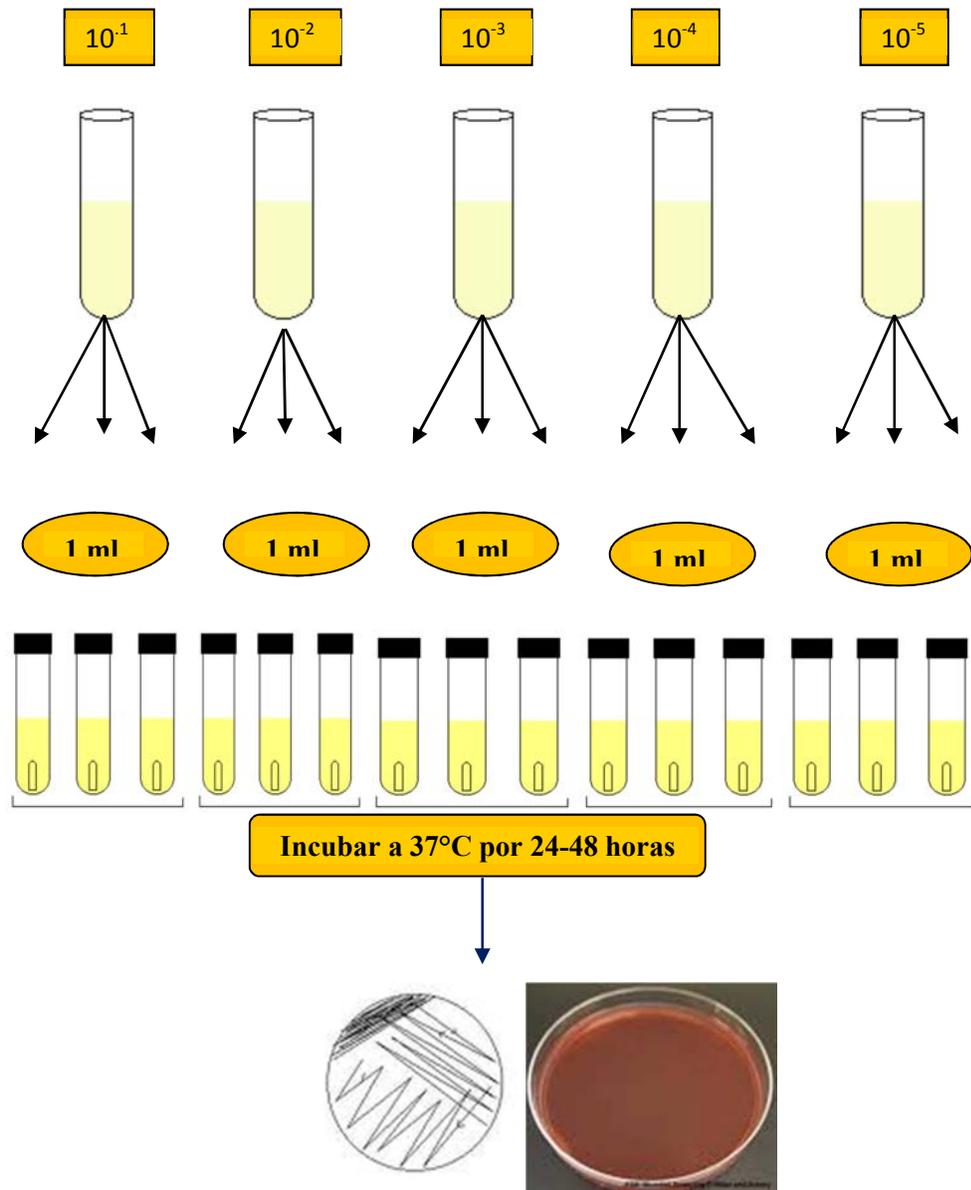
- Se pipeteo 1 ml de cada una de las diluciones ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$  en tubos con caldo lauryl sulfato, utilizando tres tubos por dilución).
- Incubó los tubos a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24-48 horas.
- Pasadas las 24-48 horas se anotó los tubos que mostraron producción de gas, que se puede observar por el desplazamiento del tubo Durham, (ver figura 2).

#### **5.5.1.2.2.2 Prueba confirmativa para coliformes totales y fecales.**

- Se confirmó los tubos con producción de gas en la prueba presuntiva son positivos inoculando 3 a 5 gotas en otros tubos con caldo brila y triptona.
- Inoculó los tubos a  $44.5^{\circ}\text{C}$  por 24 horas en baño de María.
- Pasadas las 24 horas se anotó los tubos que mostraron producción de gas.
- Se anotaron los tubos que mostraron producción de gas y se reveló el caldo triptona con el reactivo de Kovacs, se agitó suavemente y observó la presencia de un anillo rojo en la superficie cuando el tubo es positivo; cuando el tubo es negativo no se observa cambio.

- e. Otro procedimiento más rápido es con el medio Lauryl, sulfato más MUG que permite la identificación de coliformes totales y fecales (estos últimos se los confirma con el reactivo de Kovacs).

**Figura 2. Procedimiento para la determinación del Número Más Probable (NMP).**



Sembrar por estría los tubos positivos para coliformes fecales en agar EMB. Dejar incubar a 37°C/ 24 horas

### 5.5.1.2.3 Interpretación de los resultados.

- a. Leer la tabla del NMP (Numero Más probable) para saber el resultado de acuerdo con el número de tubos positivos, tanto para los coliformes totales, según el resultado de la prueba confirmativa y para los coliformes fecales, según el caldo brila y el caldo triptona incubados a 44.5°C (ver Tabla).
- b. Los tubos positivos de la prueba confirmativa, se sembraron por estría, tomando una asada de cada uno de los tubos en la superficie de la placa de agar EMB (Eosina azul de metileno).
- c. Incubó las cajas invertidas a 37°C por 24-48 ho ras.
- d. Pasado este tiempo se realizó las lecturas de las colonias típicas de coliformes, aquellas que presentan un brillo verde metálico.

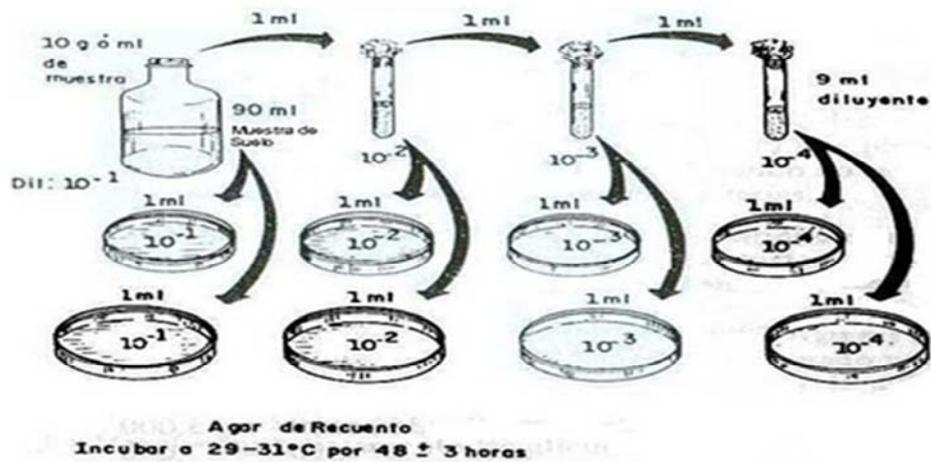
### 5.5.1.2.4 Recuento de mesófilos. Su presencia puede reflejar deficiencias en el proceso de elaboración, su contaminación en la manipulación durante el empaque.

- a. Transfirió por duplicado alícuotas de 1 ml de cada una de las diluciones 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-5</sup> en cajas de petri vacías estériles y previamente marcadas.
- b. Inmediatamente se vertió en las cajas agar cuenta gérmenes fundidos manteniendo a una temperatura de 45°C.
- c. Inmediatamente se mezcló el inóculo con el medio fundido; la manera más indicada para hacer esta operación es moviendo suavemente la caja en forma circular.
- d. Se dejó solidificar el agar.
- e. Invirtió e incubó las cajas de petri a 37°C durante 24 horas.
- f. Lectura de los resultados.

Los resultados deben ser expresados con dos dígitos y el resto en potencia de 10 Ej.: Si el recuento se realiza en una dilución de 10<sup>-2</sup> y fue de 148 colonias, el tercer dígito por ser mayor a 5 permite adicionar una unidad al segundo, o sea el recuento será de 15000= 1.5 x 10<sup>3</sup>.

Si el recuento fue 234 por ser el tercer dígito menor que 5 se anula y se expresa  $23000 = 2.3 \times 10^5$ .

**Figura 3. Recuento de mesófilos aerobios.**



**Tabla1. NMP**

Número de tubos con turbidez inoculados a partir de tres diluciones sucesivas (NMP)							
0	1	0	0,18	5	0	0	2,3
1	0	0	0,20	5	0	1	3,1
1	1	0	0.40	5	1	0	3,3
2	0	0	0,45	5	1	1	4,6
2	0	1	0.68	5	2	0	4,9
2	1	0	0.68	5	2	1	7.0
2	2	0	0.93	5	2	2	9,5
3	0	0	0,78	5	3	0	7,9
3	0	1	1,1	5	3	1	11,
3	1	0	1.1	5	3	2	14.
3	2	0	1.4	5	4	0	13,
4	0	0	1.3	5	4	1	17.
4	0	1	1,7	5	4	2	22,
4	1	0	1.7	5	4	3	28,
4	1	1	2.1	5	5	0	24,
4	2	0	2.2	5	5	1	35,
4	2	1	2.6	5	5	2	54.
4	3	0	2.7	5	5	3	92.
				5	5	4	160

## **5.5.2 Técnica de reducción de azul de metileno.<sup>65</sup>**

### **5.5.2.1. Equipo**

- Pipetas estériles de 1 y 10 ml.
- Tubos de ensayo con tapa rosca estériles.
- Gradillas.
- Baño maría a 36+- 1°C.

### **5.5.2.2. Reactivos**

- Solución acuosa de azul de metileno (tiosulfato) al 0.5%.
- Muestra de leche.

### **5.5.2.3. Procedimiento**

- En un tubo de ensayo se colocó 1 ml. De azul de metileno.
- Se agregó 10 ml. De muestra, se tapó los tubos y mezcló muy bien el contenido.
- Se conservó el tubo con la muestra refrigerada hasta que todas las muestras fueron quedando preparadas de esta manera.
- Posteriormente se llevaron las muestras al baño maría a 36 +- 1° C durante 5 minutos.
- Mezclándolas e invirtiéndolas tres veces con el fin de distribuir la crema.
- Luego se volvió a incubar a igual temperatura.
- Se observó los cambios a intermedios de media hora.
- Se determinó la reducción completa cuando las cuatro quintas partes perdieron su color.

La leche se clasificará según la siguiente tabla:

---

<sup>65</sup> CORRALES, Op.cit.

- 1.- Muy mala: se decolora antes de los 20 min.
- 2.- Mala: se decolora entre 20 min y 2 h.
- 3.- Mediocre: se decolora entre las 2 y 5 h.
- 4.- Buena: conserva el color por 5 h.
- 5.- Sospechoso: conserva el color por más de 7 h|

### 5.5.3 Prueba de la resazurina.<sup>66</sup>

#### 5.5.3.1. Procedimiento.

- a. Se añadió 1 ml de la solución de resazurina en un tubo estéril.
- b. Se mezcló cuidadosamente la muestra de la leche a ensayar. Luego se vertió 10 ml en el tubo que contiene la resazurina.
- c. Se tapó el tubo de ensayo y se mezcló suavemente.
- d. En la llamada “Prueba de 1 hora”, se incubaron las muestras en un baño maría a 37°C y al cabo de una hora se observó su color, haciéndose la clasificación de la siguiente manera:

#### Cuadro 6. Interpretación de resultados de la prueba de resazurina

Muy buena o excelente	Azul celeste
Buena	Violeta azulado
Mediana, regular (aceptable):	Violeta rojizo
Mala	Rojo – rosa
Muy mala	Incoloro

### 5.6 PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS

Se manejó el protocolo de Charm Sciences Inc. Para la detección de residuos de antibióticos la cual utilizó la tecnología R.O.S.A (Rapid One Step Assay), para detectar diferentes familias de betalactámicos y tetraciclinas a los límites

---

<sup>66</sup> Ibíd.

establecidos por el Codex de la Unión Europea y los niveles de tolerancia de las normas US.<sup>67</sup>

Se practicó el Test Betalactam/ Tetracycline Combo a cada una de las 10 muestras de los proveedores A, B y C; todas ellas con su respectiva replica.

## **5.7 PROTOCOLO PARA ANÁLISIS COMPOSICIONAL DE LA LECHE CRUDA**

**5.7.1 Sólidos totales.** Para averiguar el contenido aproximado de sólidos a través de fórmulas empíricas se partió de la densidad y del contenido de grasa.

Los Sólidos Totales (ST) se calcularon de la siguiente manera:

$$ST = SNG + \% GRASA$$

**5.7.2 Sólidos no grasos.** Se efectuará por diferencia entre los sólidos totales y el contenido de grasa, de acuerdo con la siguiente fórmula de Richmond:

$$S.N.G. = 250(DENSIDAD - 1) + (0.2 * \% GRASA) + 0.14$$

### **5.7.3 Grasa.**

**5.7.3.1 Análisis del porcentaje de grasa en las leches enteras según método Gerber.**

#### **5.7.3.1.1 Equipo**

- Butirómetro de GERBER.
- Pipeta automática (con reservorio de 10 ml).
- Termómetro graduado de GERBER: baño maría.
- Pipeta automática (con reservorio de 1 ml).

---

<sup>67</sup> <http://www.tecnolacteos.com/tecnolacteos/home/dateien/rizzo.pdf>

### 5.7.3.1.2 Reactivos

- Ácido sulfúrico 89.5-91% D =  $1.815 \pm 0.002$  g/ml (20°C).
- Alcohol amílico, D =  $0.811 \pm 0.003$  g/ml (20°C).

**5.7.3.1.3 Técnica.** Se transfirió con una pipeta automática 10 ml de ácido sulfúrico a un butirómetro Gerber previamente marcado (evitando mojar el cuello del butirómetro con ácido); se añadió lentamente 11 ml de la muestra de leche con cuidado y lentamente, para evitar mezclar (evitando mojar el cuello del butirómetro con leche), y 1 ml de alcohol amílico. Se tapó el butirómetro firmemente. Se agitó enérgicamente protegiendo con un paño, hasta completar la disolución total de la fase proteica y centrifugar a 1200 r.p.m. durante 3 a 5 minutos. Se llevó el butirómetro con la tapa invertida y ajustada a baño maría a una temperatura de  $65 \pm 2^\circ\text{C}$ , por un tiempo entre 3 y 10 minutos. Se ajustó la posición de la columna de grasa con el tapón de caucho y leyó directamente en la escala el % de grasa.

**5.7.3.1.4 Lectura.** Manejado del tapón, colocar la copa clara transparente (grasa), dentro del bulbo graduado del butirómetro. El número de ml ocupados por la capa oleosa da directamente el porcentaje de grasa en g por ciento. La lectura debe hacerse incluyendo los meniscos superior e inferior.

### 5.7.4 Proteína

**5.7.4.1 Análisis del porcentaje de Proteína en leche entera según método Kjeldahl.**<sup>68</sup> Es la transformación de las distintas formas de Nitrógeno presente en la muestra a forma amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ), mediante una digestión ácida y en caliente en presencia de un catalizador. El  $\text{NH}_4^+$  es posteriormente neutralizado a  $\text{NH}_3$ , mediante una base fuerte en exceso, y destilado por la acción del vapor. El amoniaco liberado es recogido en forma de  $\text{NH}_4^+$  mediante burbujeo del destilado en una disolución de

---

<sup>68</sup> Laboratorio de bromatología. Laboratorios especializados Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. 2012

ácido bórico que se valora posteriormente con una solución de ácido clorhídrico diluida de concentración conocida.

#### **5.7.4.1.1 Material y aparatos:**

- Pipeta para muestras de leche de 5 y 10 ml.
- Bloque digestor con termostato.
- Campana de extracción de gases y trompa de agua.
- Tubos de digestión de 250 ml.
- Destilador automático o semi-automático.
- Pipeta automática o dosificador para ácido de 15 ml
- Probeta de 100 ml

#### **5.7.4.1.2 Reactivos:**

- Ácido Sulfúrico concentrado al 96% ( $H_2SO_4$ ).
- Catalizador en pastillas de Cu-Se para Kjeldahl.
- Hidróxido sódico (NaOH) al 35%.
- Ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) al 1%.
- Ácido clorhídrico (HCl) de factor y normalidad (0.05 ó 0.1 N) conocida.
- Indicador (verde de bromocresol y rojo de metilo).
- Agua destilada

#### **5.7.4.1.3 Digestión:**

- Pipeteó 5 ml (leche) introducirlos en los tubos de digestión.
- Añadió 2 pastillas de catalizador.

- Añadió 15 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado.
- Para el ensayo en blanco, operar de la misma manera sin añadir muestra.
- Colocó los tubos de digestión en el bloque digestor bajo campana de extracción de humos, conectó la trompa de vacío y el extractor. Ajustó la temperatura del bloque digestor a 420°C y digirió durante 90 min. Pasado este tiempo, se sacó los tubos del digestor y dejó enfriar en una gradilla bajo la campana de extracción de gases.
- Añadió suavemente 70 ml de agua destilada a cada tubo antes de su destilación.

#### **5.7.4.1.4 Destilación - Valoración:**

- Comprobar que el equipo está listo para realizar la destilación y asegurarse de que ha sido anotado el valor obtenido previamente.
- Abrir la trampa frontal del destilador, introducir el tubo de inyección de vapor en el tubo de digestión y ajustarlo a la boca de destilación. Cerrar la trampa frontal y comprobar que se realiza la descarga de la cantidad de NaOH en exceso previamente fijada (75 ml).
- Esperar hasta que se complete el volumen del vaso de valoración, para asegurar que se ha destilado todo el amonio contenido en la muestra, comprobando que se produce el viraje de color verde a rojo-grisáceo. El equipo debe detener automáticamente la destilación cuando se haya completado el volumen fijado de destilación.
- Anotar el volumen de HCl de la valoración y proceder a continuación a retirar la muestra analizada (utilizar un guante de protección para calor), levantando la trampa frontal del destilador. El equipo realizará la descarga automática del vaso de valoración.
- Vaciar suavemente el contenido del tubo de digestión en el contenedor de residuos, a fin de proceder a su tratamiento y evitar la contaminación de las aguas residuales con el catalizador Cu-Se.

**Cálculos:**

$$\% N = \frac{14.01 \times (V - b) \times N \times f \times 100}{m \times 1000}$$

$$\% PB = \% N\text{-Total} \times 6.38$$

**Dónde:**

14.01 = Peso atómico del Nitrógeno.

V = Volumen de HCl para la muestra en ml.

b = Volumen de HCl para el blanco en ml.

N = Normalidad del HCl.

f = factor de corrección de la normalidad del HCl.

6.38 = factor Kjeldahl (15.67% de N en la proteína láctea).

m = volumen de muestra (ml)

**5.8 DISEÑO EXPERIMENTAL**

Las variables fueron evaluadas a través de métodos de estadística descriptiva. Se aplicaron fórmulas estadísticas correspondientes a media aritmética, desviación estándar y el coeficiente de variación para las pruebas microbiológicas, pruebas de ultrasonido, pruebas de composición y pruebas de plataforma.

Las pruebas como alcohol, alizarina, suero, formol, agua oxigenada, harinas y almidones, yoduro de potasio, hipocloritos refractómetro, neutralizantes alcalinos y antibióticos se trabajaron como variables categóricas.

Se usó el programa estadístico SAS (System Analyses Software), versión 9.1 U.S.A.

### 5.8.1 Media aritmética

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^n x$$

Dónde:

$\bar{x}$  = *Media aritmética*

$\sum_{i=1}^n x$  = *Sumatoria de todos los datos*

$n$  = *Número de datos*

### 5.8.2 Desviación estándar

$$S = \sqrt{S^2}$$

Dónde:

$S$  = *Desviación estándar*

$S^2$  = *Varianza*

### 5.8.3 Coeficiente de variación:

$$CV\% = \frac{S}{\bar{x}} * 100$$

$CV\%$  = *Coeficiente de variación*

$S$  = *Desviación estándar*

$\bar{x}$  = *Media aritmética*

## 6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1 PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo a los análisis fisicoquímicos y microbiológicos realizados se pudo determinar las condiciones en que ingresa la leche a la empresa Lácteos Valle de Atríz. Para un mejor interpretación de los resultados se utilizó como soporte tablas figuras y cuadros estipulados en el Decreto 616 del 28 de Febrero del año 2006, el decreto 017 de Enero de 2012 del MADR, además el protocolo de la NTC 399 expedidos por el Gobierno Nacional. Se complementó con estudios y revisión de literatura, acordes a esta investigación.

En la tabla 2 se reportan los valores obtenidos de recuento de mesófilos, coliformes totales y fecales para cada uno de los proveedores de la empresa Lácteos Valle de Atríz.

En la tabla 3 se muestra la estadística descriptiva de variables físico-químicas como densidad a 15°C y de ultrasonido, agua añadida por refractómetro y ultrasonido, pH y acidez (% ácido láctico), en la empresa en mención.

La tabla 4 muestra estadística descriptiva de variables composicionales en leche cruda como son porcentaje de proteína por método Kjeldahl y análisis ultrasónico, de grasa por el método Gerber y análisis ultrasónico, SNG por formula y análisis ultrasónico por medio del ekomilk y el porcentaje de solidos totales obtenido por fórmula para cada uno de los proveedores.

En la tabla 5 podemos encontrar variables categóricas como antibióticos, hipocloritos, formol, neutralizantes, alizarina, alcohol, agua oxigenada, yoduro de potasio, harinas y almidones, suero. La gran mayoría de estas variables arrojaron lecturas negativas a diferencia del suero, alcohol y alizarina las cuales tuvieron lecturas positivas para ciertas muestras.

**Tabla 2. Estadística descriptiva de variables físico-químicas en leche cruda**

<b>Variable</b>	<b>Prov.</b>	<b>N</b>	<b>X</b>	<b>SD</b>	<b>V min</b>	<b>V máx.</b>
Densidad lactodécimetro g/ml	A	10	1.029	0.0008		
	B	4	1.029	0	1.030*	1.033*
	C	6	1.029	0.002		
Densidad Ekomilk g/ml	A	10	1.028	0.0725		
	B	4	1.028	0.0336	1.030*	1.033*
	C	6	1.028	0.0023		
Agua Adicionada Ekomilk	A	10	0.66	1.287		
	B	4	0.067	0.074	*	*
	C	6	2.8	4.486		
Agua adicionada Refractómetro %	A	10	0.44	*		
	B	4	0.2	*	*	*
	C	6	4.4	*		
pH	A	10	6.21	0.098		
	B	4	5.85	0.447	6.5	6.8
	C	6	6.37	0.091		
% ácido láctico	A	10	0.173	1.159		
	B	4	0.235	6.350	0.13*	0.17*
	C	6	0.163	1.032		

Fuente: Esta investigación. \*Min. Protección Social. Dec. 616 de 2006.

Dónde:

N: Número de muestras.

X: Promedio o media muestral.

SD: Desviación estándar.

V min: Valores mínimos.

V máx: Valores máximos.

**Tabla 3. Variables categóricas para análisis fisicoquímicos.**

Variable	Método	Prov.	No. muestras	Replica	Lectura	%
<b>Antibióticos</b>	Test Betalactam-Tetraciclina	A	5	5	Negativa	100
		B	2	2	Negativa	100
		C	3	3	Negativa	100
<b>Hipocloritos</b>	Bacoxin	A	5	5	Negativa	100
		B	2	2	Negativa	100
		C	3	3	Negativa	100
<b>Formol</b>	Hehner	A	5	5	Negativa	100
		B	2	2	Negativa	100
		C	3	3	Negativa	100
<b>Neutralizantes alcalinos</b>		A	5	5	Negativa	100
		B	2	2	Negativa	100
		C	3	3	Negativa	100
<b>Agua Oxigenada</b>	Arnold y Mentzer	A	5	5	Negativa	100
		B	2	2	Negativa	100
		C	3	3	Negativa	100
<b>Yoduro de potasio</b>	*	A	5	5	Negativa	100
		B	2	2	Negativa	100
		C	3	3	Negativa	100
<b>Harinas y almidones</b>	Lugol	A	5	5	Negativa	100
		B	2	2	Negativa	100
		C	3	3	Negativa	100
<b>Alcohol</b>	Etanol al 68%	A	5	5	Positiva	100
		B	2	2	Positiva	100
		C	3	3	Positiva Negativa	66.67 33.33
<b>Alizarina</b>	Alizarina	A	5	5	Positiva	100
		B	2	2	Positiva	100
		C	3	3	Positiva	100
<b>Suero</b>	Peróxido De Hidrogeno	A	5	5	Positiva Negativa	80 20
		B	2	2	Positiva *	50 50
		C	3	3	Negativa	100

\*Puede tratarse de un falso positivo debido al alto grado de acidez.

**Tabla 4. Estadística descriptiva para microbiología de leches crudas**

<b>Variable</b>	<b>Prov.</b>	<b>N</b>	<b>X</b>	<b>SD</b>	<b>V</b> <b>min.</b>	<b>V máx.<sup>69</sup></b>
Mesófilos UFC/ml	A	10	19'300.000	13'559.416		700.000*
	B	4	185'562.500	167'582.116		
	C	6	37'279.166	36'206.112		
Coliformes Totales UFC/ml	A	10	2400	0	1000*	
	B	4	2400	0		
	C	6	2400	0		
Coliformes Fecales UFC/ml	A	10	174.3	159.79	100*	
	B	4	2075	650		
	C	6	1320	884.17		

Fuente: Esta investigación.

<sup>69</sup> NTC, 399 (Icontec 2002).

**Tabla 5. Estadística descriptiva de variables composicionales en leche cruda**

<b>Variable</b>	<b>Prov.</b>	<b>N</b>	<b>X</b>	<b>SD</b>	<b>V min</b>	<b>V máx.</b>
% proteína Kjeldahl	A	5	2.71	0.096		
	B	2	2.55	0.134	- 2.6	+ 3.2
	C	3	2.66	0.316		
% Proteína Ekomilk	A	10	2.66	0.041		
	B	4	2.68	0.008	-2.6	+ 3.2
	C	6	2.68	0.208		
% Grasa Gerber	A	5	2.14	0.336		
	B	2	2.95	0.494	3.0*	
	C	3	2.53	0.709		
% Grasa Ekomilk	A	10	2.27			
	B	4	3.02		3.0*	
	C	6	2.81			
% SNG	A	5	7.71	0.201		
	B	2	7.98	0.098	8.3*	
	C	3	7.89	0.760		
% SNG Ekomilk	A	10	7.84	0.122		
	B	4	7.83	0.009	8.3*	
	C	6	7.85	0.575		
% ST	A	5	9.85	0.348		
	B	2	10.93	0.593	11.3*	
	C	3	10.43	1.371		
Refractómetro	A	10	9.00	0.0		
	B	4	9.00	0.0	*	*
	C	6	8.66	0.516		

Fuente: Esta investigación. \*Min. Protección Social. Dec. 616 de 2006.

## 6.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

**Tabla 6. Clasificación de las leches de acuerdo con algunos parámetros de calidad**

<b>Factor</b>	<b>Excelente</b>	<b>Buena</b>	<b>Regular</b>	<b>Mala</b>
Densidad (g/ml)	> 1.029	> 1.029	1.028 – 1.029	< 1028
Crioscopia (OC)	-0.545 <sup>a</sup> – 0.531	-0.530 a – 0.521	-0.520 a – 0.501	<-0.500
Lactosa %	> 5.3	5.3 – 4.9	4.9 – 4.6	< 4.6
Proteína %	> 3.2	3.2 – 2.8	2.8 – 2.6	< 2.6
Grasa %	> 3.5	3.5 – 3.3	3.3 – 3.0	< 3.0
Sólidos no grasos %	> 8.7	8.7 – 8.4	8.4 – 8.0	< 8.0
Sólidos totales %	> 12.2	11.8 – 12.0	11.3 – 11.8	< 11.3
Mesófilos ufc/m 10 <sup>3</sup>	< 50	50 – 100	100 – 300	> 300
Células somáticas 10 <sup>4</sup>	< 100	100 – 200	200 – 400	> 400

Fuente: Alpina; 1992.<sup>70</sup> Rhône Mérieux Colombia S.A.1999<sup>71</sup>

<sup>70</sup> Alpina S.A. Como se determina la calidad en leches Alpina. Boletín técnico. No 1.Sopo. Dirección de Mercadeo de Leche Alpina; 1992.

<sup>71</sup> Rhône Mérieux Colombia S.A. Producción de leche de calidad. Manual Técnico. Bogotá; 1999.

**Cuadro 7. Estándares de calidad composicional para región 1.**

<b>REGION</b>	<b>PROTEINA</b>	<b>GRASA</b>	<b>SOLIDOS</b>
Región 1	3.00	3.45	11.95

Fuente: MADR. Resolución 0007 de 2007.

**Calidad higiénica.** El agente económico comprador deberá liquidar y pagar la calidad higiénica con base en los resultados de análisis de la leche entregados por el productor según rango establecido para el pago de recuento total de bacterias y La escala por pago por cadena de frío. (Cuadro 8).

**Cuadro 8. Calidad higiénica.**

<b>REGION 1</b>		
<b>Rango</b>	<b>Escala de pago. Recuento total de bacterias</b>	<b>Escala pago por frío</b>
<b>UFC/ml</b>	<b>\$ Litro</b>	<b>\$ Litro</b>
0-25000	74	15
25001-50000	63	15
50001-100000	50	15
100001-150000	38	10
150001-175000	24	10
175001-200000	0	0
200001-300000	-13	0
300001-400000	-24	0
400001-500000	-38	0
500001-800000	-50	0
800001 ó más	-63	0

Fuente: MADR. Resolución 017 de 2012.

## 6.2.1 Variables microbiológicas

**6.2.1.1 Coliformes totales y fecales.** En cuanto al conteo de coliformes totales se obtuvo lecturas superiores a 2400 UFC/ml en el 100% de las muestras para los proveedores A, B y C (Tabla 16), conforme a los resultados obtenidos por Los laboratorios de microbiología de la Universidad de Nariño. Esta prueba ratifica la mala calidad higiénica de la leche que ingresa a la empresa Lácteos Valle de Atríz.

Se obtuvo una media de coliformes fecales para el proveedor A de 174.3 UFC/ml, y mediante tabla de frecuencia se constató que el 70% de la leche tiene recuentos superiores a 120 UFC/ml, la cual se encuentra entre el rango mínimo permisible. Para el proveedor B se encontró con una media de 2075 UFC/ml y con un 100% de conteo de colonias superior a 1100 UFC/ml, lo que demuestra la mala calidad de la leche. El proveedor C presentó un 33.33% coliformes fecales y una media de UFC/ml de 460/ml. El otro 66.67 % presentó más de 1100 UFC/ml. (Tabla 14).

De acuerdo con la legislación colombiana la leche se la considera como un alimento de mayor riesgo en salud pública; alimento que, en razón a sus características de composición especialmente en sus contenidos de nutrientes, Aw actividad acuosa y pH, favorece el crecimiento microbiano y por consiguiente, cualquier deficiencia en su proceso, manipulación, conservación, transporte, distribución y comercialización, puede ocasionar trastornos a la salud del consumidor.<sup>72</sup>

Asimismo, el decreto 017 de 2012 emanado por el MADR, San Juan de Pasto se encuentra clasificada dentro de la Región 1 para el pago de leche cruda junto con departamentos de la zona suroccidental, Cundinamarca y el eje cafetero. En este decreto se tiene un estándar de calidad higiénica para el pago por concepto de recuento total de bacterias así: 175.000 – 200.000 UFC/ml<sup>73</sup>

Según Cotrino, la presencia de coliformes es un indicador del grado de contaminación fecal, en el caso de la leche cruda, se convierte en un evaluador del grado de limpieza de las manos de los operarios, de la limpieza y desinfección de la piel de los pezones y de las pezoneras, entre otras. Se afirma que en las leches crudas no se pueden encontrar más de 1000 coliformes/ml, la legislación americana reconoce como norma 750 UFC/ml y se establece que la leche considerada como ideal debe contener menos de 50 UFC/ml.<sup>74</sup>

---

<sup>72</sup> Decreto 3075 de 1997.

<sup>73</sup> MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Resolución 017 de 2012.

<sup>74</sup> Cotrino V, Gaviria C. La calidad de la leche cruda y el tratado de libre comercio. En <http://imvlda.com/programas/ar05.html#top>

Taverna (2002) considera que una leche con menos de 1000 UFC/ml es de excelente calidad.

Teniendo en cuenta estos conceptos y los resultados encontrados en la investigación podemos concluir que más del 66.67 % de la leche cruda que ingresa a la planta de procesamiento no cumple con los estándares de calidad y que por ende presenta un peligro para la salud pública.

**6.2.1.2 Mesófilos.** Según resultados obtenidos por este estudio el 100% de la leche suministrada por el productor A posee un recuento total de mesófilos superior a  $6 \times 10^6$  UFC/ml. En cuanto al proveedor B el 50% de lecturas reporta un recuento de bacterias superior a  $4 \times 10^7$  UFC/ml. El otro 50% arroja resultados por encima de  $3.1 \times 10^7$  UFC/ml. El productor C tuvo un 33.33% de UFC/ml mayor a  $2 \times 10^5$ . El otro 66.67% un recuento de  $2.8 \times 10^6$  UFC/ml. (Tabla 15).

Al analizar los resultados obtenidos del conteo de mesófilos para la empresa Lácteos Valle de Atríz, con los parámetros reportados en la tabla 2; la leche suministrada por los 3 proveedores se consideró de mala calidad microbiológica, por presentar altos recuentos de UFC/ml. Así mismo la NTC 399<sup>75</sup> sostiene que el máximo permisible para UFC/ml es de 700.000 para leche cruda, parámetro que se desfasa por mucho en esta empresa.

El crecimiento desmesurado de la población microbiana puede deberse al tiempo y temperatura del transporte de la leche durante un tiempo prolongado.

Para Calderón, et al; la causa de un recuento alto de mesófilos aerobios se debe a la contaminación bacteriana de residuos de leche que han quedado en la superficie de los implementos usados en la obtención y almacenamiento de la leche, a ubres sucias o no higienizadas previos al ordeño y la no refrigeración rápida de la leche.<sup>76</sup>

Para leches conservadas dentro de cantinas en pozos de agua fría, estas pueden alcanzar temperaturas de hasta 15°C, la cual puede permitir el crecimiento bacteriano, hasta 15 veces en 12 horas según lo reporta Calderón.

Los altos recuento de mesófilos aerobios se deben a malas condiciones higiénicas de los establos, de los sitios de ordeño, falta de higiene en las manos

---

<sup>75</sup> NTC, 399.

<sup>76</sup> INDICADORES DE CALIDAD DE LECHE CRUDAS EN DIFERENTES REGIONES DE COLOMBIA. Revista MVZ Córdoba. Volumen 11. Enero – Junio 2006. p.729.

de los operarios, falta de implementación de prácticas de higiene previo al ordeño como la realización de prácticas de higienización de los pezones, calidad bacteriológica del agua, secado de los pezones y manejo del ternero en sistemas doble propósito, una inadecuada rutina de limpieza y desinfección de los recipientes usados en el ordeño, falta de implementación de redes de frío para la conservación de la leche.

Acorde a la resolución 3075 de 1997, toda la leche que ingresa a la planta presenta un grave problema sanitario y por ende para la salud del consumidor. Por otra parte, el cuadro 8 señala los límites, bonificaciones y/o castigos que debe acatar el productor o crudero por esta leche; la cual para nuestro caso debe ser castigada y en su defecto rechazada por parte del comprador debido a su alta carga microbiana que afecta la salud del consumidor y los procesos biotecnológicos.<sup>77</sup>

**6.2.1.3 Azul de metileno.** La tabla de frecuencia para la prueba de azul de metileno arrojó un 40% de regular calidad para la leche del proveedor A, la cual comparando con conteo en placa para UFC/ml se encuentra por encima de las 200.000 UFC/ml. Entre tanto el 60% del proveedor A se encuentra entre leches de mala calidad debido a una decoloración del azul de metileno en menos de 2 horas<sup>78</sup>.

El proveedor B presenta en un 100% de sus muestras una calidad insuficiente de leche, debido a la decoloración del azul de metileno en menos de 30 minutos, presentando más de 2'000.000 de bacterias por ml.<sup>79</sup>

La tabla de frecuencia para el proveedor C arrojó en un 100% una leche regular, esto debido a un mayor tiempo en la decoloración en la muestra llegando a presentar conteo de bacterias superiores a 200.000 por ml.<sup>80</sup>

Piñeros reporta que el tiempo de reducción del azul de metileno, es inversamente proporcional al número de bacterias. Tiempos de reducción del azul de metileno

---

<sup>77</sup> Ministerio de salud. Decreto 3075 de 1997.

<sup>78</sup> Valoración de la calidad higiénica de la leche cruda en la asociación de productores de leche de Sotará – Asproleso, mediante las pruebas indirectas de resazurina y azul de metileno. ZAMBRANO, J, GRASS J. p 58. 2008.

<sup>79</sup> Manual de métodos fisicoquímicos para el control de calidad de la leche y sus derivados. ICONTEC 2004.

<sup>80</sup> *Ibíd.*

menores de dos horas significan que la calidad higiénica de la leche es muy pobre, pudiendo llegar a contener dos a cinco millones de bacterias por ml.<sup>81</sup>

**6.2.1.4 Resazurina.** Aplicando estadística descriptiva se concluyó que para la prueba de resazurina, el proveedor A, el 60% de las muestras analizadas fueron de valores intermedios, mientras que el 40% fueron de mala calidad.

El proveedor B, presenta un 100% de mala calidad de las muestras, para la prueba de resazurina.

El proveedor C mediante las tablas de frecuencia mostró un comportamiento del 100% positivo para la prueba de resazurina clasificando como de mala calidad.

La rapidez de la reducción está en proporción directa con la densidad bacteriana.

## **6.2.2 Pruebas físico-químicas**

**6.2.2.1 Prueba de alcohol.** Para la prueba de alcohol del proveedor A indica que el 100% de las muestras analizadas fueron positivas, esto hace suponer que la calidad de la leche que llega a la planta de procesamiento por parte del proveedor, no está en las mejores condiciones, ya que ha existido actividad de bacterias ácido lácticas que han transformado el producto.

La prueba de alcohol para el proveedor B fue positiva para el 100% de las muestras, esto hace suponer que la calidad de la leche de este, no cumple con los estándares exigidos para una leche de calidad en referencia al parámetro evaluado.

El proveedor C presentó un 66.67% de muestras positivas para la prueba de alcohol y 33.33% negativa a la prueba, esto datos nos indican que la calidad de acidez de la leche, para este proveedor tiene un manejo más adecuado, sin embargo, dado que es menor al 50%, se necesita seguir trabajando en esta variable.

Esta prueba es aplicada en las plantas procesadoras, durante la recepción de la leche, para detectar problemas de termoestabilidad en la leche cruda (Guo et al., 1998; Raynal-Ljutovac et al., 2007). En ella, se puede observar la

---

<sup>81</sup> PIÑEROS, Op.,cit. p.27.

desestabilización coloidal de la micela de caseína, por el efecto desnaturalizador del alcohol (O'Connell et al., 2001).<sup>82</sup>

Como se ha indicado anteriormente, la leche fresca tiene una acidez de 13 - 20 ml de NaOH 0,1 N/100 ml y un pH de 6,5 - 6,7. Valores superiores de la acidez, con la consiguiente disminución del pH, se debe generalmente a descomposición bacteriana propia de leches de baja calidad.<sup>83</sup>

La legislación colombiana es clara y precisa en el decreto 616 de 2006 en el cual menciona que debe presentar estabilidad proteica en presencia de alcohol 68% m/m ó 75% v/v.<sup>84</sup>

La leche cruda debido a medida que se incrementa la acidez por la acción de las bacterias se modifica las estructuras proteicas y la leche se coagula. La concentración de alcohol varía entre 68 – 75% dependiendo del destino final que se le dará a la leche. Normalmente la leche positiva a la prueba de alcohol tiene mal olor y sabor.

El 90% de las muestras reportó presencia de grumos por lo que junto con una elevada acidez obtenida en este estudio reflejan el muy mal estado sanitario de la leche que llega para ser procesada.

**6.2.2.2 Prueba de alizarina.** Esta prueba se en observó las modificaciones de color de la alizarina. La leche fresca con 0.16 o 0.17% de acidez no coagula y presenta un color lila-rosa.<sup>85</sup>

---

<sup>82</sup> GUO, M.; WANG, S.; LI, Z.; QU, J.; JIN, L.; KINDSTEDT, P. Ethanol stability of goat's milk: review 1968–1979. *International Dairy Journal*, v.8, p.57-60, 1998

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; PARK, Y.W.; GAUCHERON, F. BOUHALLAB, S. Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v.68, p.207-220, 2007.

O'CONNELL, J.E.; KELLY, A.L.; FOX, P.F.; KRUIF, K.G. Mechanism for the ethanol-dependent heat-induced dissociation of casein micelles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, p.4424-4428, 2001

<sup>83</sup> INTRODUCCIÓN AL CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE CRUDA. GUÍA PRÁCTICA 2003. Disponible en <http://www.ensode.net/pdf-crack.jsf>

<sup>84</sup> Decreto 616 de 2006

### Cuadro 9. Medición de la acidez o alcalinidad de la alizarina para leche cruda.

Grado	Acidez	Color	Aspecto
1	0.16	Lila - Rojo	Coagulación nula
2	0.18	Rosa o rojo pálido	Coagulación nula o muy ligera
3	0.20	Rojizo/castaño	Coagulación en partículas muy finas
4	0.22	Castaño/rojo	Coagulación en partículas finas /flóculos
5	0.25	Castaño	Coagulación en flóculos grandes y pequeños
6	0.27	Castaño amarillento	Coagulación: flóculos grandes
7	0.31	Amarillo /castaño	Coagulación: flóculos grandes (olor y sabor)
8	0.36	Amarillo	Coagulación espontánea
9	*	Alcalina Violeta	Flóculos finos, ubre enferma (mastitis)

Fuente: Pruebas de plataforma para la determinación de la calidad higiénica y de conservación de la leche.

### Figura 4. Reacción de la alizarina



En cuanto a la prueba de alizarina mediante la estadística descriptiva se concluyó que el 100% de los datos obtenidos para los proveedores A, B y C presentan inestabilidad proteica para esta prueba, además se clasifican en un grado 4 de acidez presentado un color castaño /rojo y coagulación en partículas muy finas.

Esta prueba presentó mayor sensibilidad que la prueba de alcohol y se reportó un estado de acidez para cada una de las muestras de los 3 proveedores, causando

<sup>85</sup> Pruebas de plataforma para la determinación de la calidad higiénica y de conservación de la leche. Disponible: <http://es.scribd.com/doc/48772402/10/PARTE-II>

un deterioro en la calidad sanitaria y un impedimento para su pasteurización debido a su bajo pH y considerable grado de acidez.

**6.2.2.3 Neutralizantes alcalinos.** La prueba de neutralizantes alcalinos indica que el 100% de las muestra tomadas del proveedor A, B y C fueron negativas, lo cual demuestra que esta leche no presenta alteraciones en su composición, para la variable evaluada.

Según Corrales, sustancias como el hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>), carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), cal (CaO), jabones alcalinos y orina, neutralizan el ácido láctico a medida que se forma. Se tiene certeza que la leche de los tres proveedores no presenta adición de alguno de estos compuestos.<sup>86</sup>

**6.2.2.4 Prueba de formol o formaldehido.** La prueba del formol, presento un 100% de valores negativos, para el proveedor A, B y C lo cual indica una leche libre de estos compuestos.

Para la identificación de adulterantes, se debe realizar técnicas cualitativas de orientación más usuales para detectar o sospechar la presencia de sustancias tales como neutralizantes, almidones, formol, peróxido de Hidrógeno, hipocloritos, dióxido de Cloro y agua adicionados a la leche.

**6.2.2.5 Harinas y almidones.** En cuanto a la presencia de harinas y almidones, la prueba respectiva indicó que el 100% de la muestras fueron negativas para esta variable, por consiguiente la leche proveniente del proveedor A, B y C no presenta adición de sustancias que intenten enmascarar la calidad composicional de la leche.

El uso de estos compuestos pretenden corregir problemas de solidos totales cuando ha habido aguado de la leche. Para nuestro estudio se reportó una incidencia nula en los 3 proveedores.

**6.2.2.6 Suero.** Según estadística descriptiva y utilizando tablas de frecuencia se pudo concluir que el 80% de las muestras del proveedor A, fueron positivas a la prueba. El 20% se asume como un falso positivo debido a la acidez presentada.

---

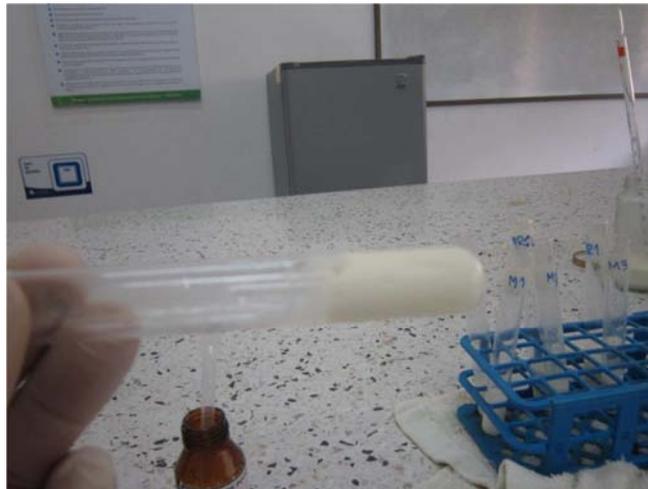
<sup>86</sup> Corrales. Op.,cit

La muestra del proveedor B fue 50% positiva, mientras que el otro 50% se reportó como falso positivo debido a un grado muy alto de acidez.

El 100% de las muestras del proveedor C demostraron una adición nula de este compuesto.

Según Faría, se nota que los sólidos totales, grasa y los cloruros aun después de la máxima adulteración (15%), se mantienen dentro de las normas respectivas, incluso la acidez y el punto de congelación se mantienen en valores que podrían tener justificación para su aceptación. Únicamente las proteínas totales se ven ligeramente disminuidas por debajo del 3.0 % y solo cuando el % de adulteración está por encima del 10%<sup>87</sup>

### Figura 5. Coagulación de la leche mediante ebullición.



Este fraude al consumidor no implica necesariamente un daño a la salud, pues como lo ha señalado Brody, las proteínas lácteas y sus derivados poseen una gran variedad de funciones biológicas. De tal forma que su consumo parece no poner en riesgo la salud del consumidor; sin embargo, la adquisición y consumo de un producto alimenticio debe ser una decisión soberana del consumidor y no un engaño del fabricante o comerciante que no ostenta en el contenido real del producto.<sup>88</sup>

---

<sup>87</sup> Detección de adulteración de leche con suero mediante la relación proteína sérica/ caseinato. FARIA, José F. Facultad de ciencias veterinarias. Universidad de Zulia.

<sup>88</sup> Brody, E.P. 2000. Biological activities of bovine glycomacropeptide. British Journal of Nutrition. 84 Suppl.1 :S39-S46.

**6.2.2.7 Yoduro de Potasio.** El 100% de las muestras de los 3 proveedores, objeto de estudio reportó resultados negativos. Este método se utilizó para detectar si todo el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fué destruido por la catalasa.

**6.2.2.8 Hipocloritos y dióxido de Cloro.** En cuanto a incorporación de hipocloritos y dióxido de cloro, se reportó que el 100% de las muestras analizadas fueron negativas, demostrando que la leche del proveedor, A, B y C no tiene concentraciones para la variable evaluada.

En general, los hipocloritos son agentes oxidantes fuertes, con mayor fuerza que el peróxido de hidrógeno o el dióxido de cloro. Su carácter de oxidante fuerte le permite actuar como agente de blanqueo y desinfección; estas propiedades se aprovechan para el tratamiento de fibras y la eliminación de microorganismos en el agua.<sup>89</sup>

**6.2.2.9 Peróxido de hidrogeno.** La prueba para peróxidos resultó negativa en el 100% de los casos, demostrando que no existió adición de este tipo de sustancias que alteren la composición normal de la leche.

La prueba también se utiliza para determinar una adición de peróxido de hidrógeno en leche cruda, antes de emprender la pasteurización, para aumentar su duración. Este compuesto es un agente oxidante blanqueador y antiséptico, que se descompone rápida y completamente en agua y oxígeno en presencia de la catalasa sin dejar restos tóxicos, se adiciona con el fin de enmascarar la acidez que se encuentre presente en la leche.

Para nuestro caso no se reportó residuos de este compuesto en ningún proveedor.

**6.2.2.10 Densidad.** En cuanto al estudio la estadística descriptiva realizada para la leche que ingresa a Lácteos Valle de Atríz se encontró que la densidad obtenida mediante lactodensímetro a 15°C fue de 1.029 peso específico para los 3 proveedores.

Para el caso del medidor ultrasónico ekomilk los valores son de cuidado ya que para cada proveedor arrojó una lectura de 1.028 g/ml.

---

<sup>89</sup> Estrela C et al. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite [en línea]. Enero de 2002 [citado febrero 10 de 2012]. Disponible en [http://www.forp.usp.br/bdj/bdj13\(2\)/v13n2a07/v13n2a07.html](http://www.forp.usp.br/bdj/bdj13(2)/v13n2a07/v13n2a07.html)

Según el decreto 616 de 2006 emanado por el ministerio de la protección social plantea los parámetros físico-químicos que debe presentar la leche cruda para este parámetro, el cual tiene un rango de 1.030 g/ml a 1.033 g/ml, que para este estudio no cumple con la norma.<sup>90</sup>

**Figura 6. Medición de la densidad.**



Salgado, reporta que la densidad normal de la leche varía entre 1,029 a 1,033 d/ml a temperatura de 15°C, la densidad de las leches desnatadas se eleva por encima de 1,0350 d/ml y la adición de agua a la leche disminuye su densidad, una leche a la vez desnatada y agregada de agua puede tener una densidad normal, por esta razón la densidad no puede revelar el fraude por sí sola, la densidad de la leche puede disminuir por la adición de agua, grasa y por aumento de la temperatura, también influye la genética de las vacas, puede aumentar, por el contrario, con el descremado, adición de fécula y al disminuir la temperatura.<sup>91</sup>

**6.2.2.11 pH.** La media aritmética para este estudio reportó datos de pH para el proveedor A de 6.21 los cuales están por debajo del rango para leche fresca. El proveedor B presentó el pH más bajo de todos con una lectura de 5.85. El mejor reporte lo obtuvo el proveedor C, con una lectura de 6.37 aunque está por debajo del rango.

<sup>90</sup> MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Decreto 616 de 2006.

<sup>91</sup> SALGADO, María Teresa. Texto Guía Análisis Físico – Químico Leches – Microbiológico de alimentos. 7a ed. Manizales: Universidad Católica de Manizales, 1996. p. 45

Para Novoa, el valor en la leche fresca está entre 6.5 y 6.8. Aunque a medida que aumenta la acidez, el pH desciende y viceversa, esta relación no es perfecta, debido a que la leche tiene capacidad buffer, lo cual hace que con leves cambios en la acidez titulable, no se observen cambios en el pH. Cuando se le coloca agua adicional a la leche, desciende la acidez titulable, pero el pH no cambia. Valores de pH menores de 6.4 indican que se han presentado procesos de acidificación en la leche y en este caso no puede soportar tratamientos térmicos. Valores por encima de 6.9 indican neutralización con sustancias alcalinas o presencia de mastitis.<sup>92</sup>

El pH de la leche debe ser controlado desde el momento de la recolección hasta la entrega del producto, ya que es un indicador válido de sus condiciones higiénicas. La leche usada para la producción de quesos debe ser de óptima calidad y su pH puede variar de 6.1 y 6.5, según el tipo de queso que se deba obtener.<sup>93</sup>

**6.2.2.12 Acidez titulable.** La estadística descriptiva arrojó resultados de media aritmética para acidez (% ácido láctico) para el proveedor A de 0.173 % ácido láctico. El proveedor B reportó un % de ácido láctico de 0.235. Para el proveedor C se obtuvo una lectura de 0.163% de ácido láctico.

Rigiéndonos por la legislación colombiana el 100% de las muestras no cumplen con el decreto 616 de 2006, el cual señala un rango de ácido láctico de 0.13 a 0.17%.<sup>94</sup>

Respecto a la acidez presentada por las muestras Novoa afirma que a medida que las bacterias se desarrollan en la leche, utilizan la lactosa transformándola en ácidos orgánicos principalmente láctico, aumentando así el nivel de acidez. Cuando la acidez alcanza el valor de 0,22%, las proteínas de la leche se precipitan con el calentamiento, lo cual le impediría ser sometida al proceso de pasteurización.

Por esta razón la leche ácida es rechazada por la mayoría de los industriales de la leche. Niveles por debajo de 0.13% p/v, podrían indicar adición de agua, neutralización de la leche con sustancias alcalinas o leches mastíticas.<sup>95</sup>

---

<sup>92</sup> NOVOA, Op.,cit.

<sup>93</sup> [http://www.infoagro.com/instrumentos\\_medida/doc\\_ph.asp?k=53](http://www.infoagro.com/instrumentos_medida/doc_ph.asp?k=53)

<sup>94</sup> Decreto 616 de 2006.

<sup>95</sup> NOVOA. Op.,cit

Esta acidez es la causante de falsos positivos en la prueba de sueros en leche, debido a la precipitación de la caseína.

**6.2.2.13 Agua añadida.** El análisis estadístico para agua añadida mediante el método ultrasónico ekomilk reportó valores medios para el proveedor A de 0.66% de agua añadida. El proveedor B obtuvo una lectura de 0.067% para esta variable. El proveedor C presentó una adición de agua del 2.8%.

El análisis de estadística descriptiva para agua adicionada mediante el método refractométrico obtuvo datos de una adición de agua de 0.44% para el proveedor A y 4.4 % para el proveedor C. El proveedor B tuvo una lectura negativa.

Para Gaviria, una de las prácticas fraudulentas más comunes en la producción e industria de la leche, es la adición de agua con el objeto de aumentar su volumen. Este fraude debe recibir especial atención por parte de las autoridades sanitarias como de las industrias procesadoras en virtud de las repercusiones de índole legal y económica que representa.

Los métodos que pueden aplicarse a la detección de agua adicionada a la leche, están basados en la medición de una propiedad física que varía proporcionalmente a la cantidad de agua adicionada al producto, tal como ocurre con el punto de congelación, el índice de refracción, el peso específico y la conductividad eléctrica, de donde derivan respectivamente los métodos crioscópico, refractométrico, lactométrico y conductimétrico.<sup>96</sup>

Debido a la adición de agua a la leche de los proveedores A y C, esta repercute en la disminución en la densidad de la leche obtenida para dicho estudio de estos dos proveedores. La adición de agua es uno de los problemas más comunes que enfrenta las empresas procesadoras de lácteos y el consumidor de leches al raleo.

## **6.2.3 Determinación de antibióticos**

### **6.2.3.1 Prueba de antibióticos**

---

<sup>96</sup> GAVIRIA S. Luís E., CALDERON G. Carlos E., Manual de Métodos Físicoquímicos para el Control de Calidad de la Leche y sus Derivados. GTC parte 1. ICONTEC.



lactamas y tetraciclinas proporcionarán resultados negativos por lo menos 90% del tiempo con un 95% de confianza.<sup>97</sup>

Este estudio arrojó ausencia de antibióticos betalactámicos y tetraciclinas en cada una de las muestras.

#### **6.2.4. Calidad composicional**

**6.2.4.1 Proteína.** El análisis de estadística descriptiva para proteína mediante el método Kjeldahl reportó lecturas de 2.71 % de proteína para el proveedor A, la cual según tabla 1 de este documento clasifica como una leche de regular calidad. Entre tanto la leche suministrada por el proveedor B obtuvo porcentajes de proteína del 2.55%, por lo cual clasifica como una leche de muy mala calidad. El proveedor C arrojó datos de 2.66 % de proteína por lo que se mantiene en leches de regular calidad.

El equipo ultrasónico ekomilk no presentó mucha variación en los resultados para proteína manejando valores de 2.66 % para el proveedor A, y los proveedores B y C presentaron similitudes estadísticas con un 2.68 % denotando leches de regular calidad.

Según Piñeros, las proteínas son los componentes más importantes de la leche desde el punto de vista nutricional e industrial y constituyen más del 95% de la fracción nitrogenada. En las leches mastíticas y en el calostro, se presenta un descenso en la relación caseína – proteínas totales, por este motivo estas leches no son aptas para los procesos industriales de transformación, ya que coagulan con el calentamiento y no constituyen un buen sustrato para el cuajo.<sup>98</sup>

Teniendo en cuenta el volumen que ingresa a la empresa Lacteos Valle de Atríz se puede concluir que en un 66.66% de esta presenta una componente nutrimental regular y un 33.33 % de mala calidad, según el reporte de la tabla 5 para leches del territorio colombiano; en que se considera leches de mala calidad las que se encuentran en un rango menor de 2.6%.

---

<sup>97</sup> [http://www.agrovet.cl/productos\\_detalle.php?id=159](http://www.agrovet.cl/productos_detalle.php?id=159)

<sup>98</sup> PIÑEROS. Op., cit. p. 17.

Según la resolución 000012 de 1997 del MADR, la cantidad mínima de proteína para leche cruda en la región 4 (ahora región 1) es de 3.00%; valores que está muy por encima de lo reportado por el presente estudio.<sup>99</sup>

Además se puede presentar una relación inversa entre la producción de leche y el porcentaje de sus constituyentes; debido a que un mayor volumen de producción (características fenotípicas del animal), los componentes se dispersan más, siendo mayor el factor de dilución.

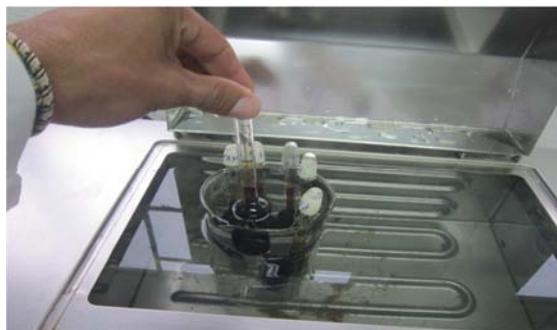
**6.2.4.2 Grasa.** Para el análisis de grasa mediante el método Gerber se obtuvo valores para el proveedor A de 2.14%, valor muy alejado de la legislación colombiana. El proveedor B obtuvo una lectura en el porcentaje de grasa de 2.95% que de igual manera es bajo para la norma nacional. El proveedor C reportó valores de 2.53% de grasa que no cumple con los ítems de la legislación colombiana.

El estudio hecho mediante medición ultrasónica arrojó resultados similares en cuanto a porcentaje de grasa para cada uno de las muestras de los proveedores así: 2.27% para el proveedor A, 3.02 % para B y para el proveedor C un 2.81 % de grasa.

De acuerdo al decreto 616 de 2006 del Ministerio de la Protección Social, estas leches no cumplen con el rango establecido para el nutrimento graso que es de un mínimo del 3.0%.

Para la región 4 (ahora región 1), donde se encuentra nuestro municipio la resolución 000012 de 2007, del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural reporta valores medios de porcentajes de grasa del 3.45%

**Figura 8. Incubación mediante método Gerber.**



<sup>99</sup> MADR. Resolución 000012 de 1997.

Estos valores inferiores pueden deberse a factores de tipo genético, ambiental y fisiológico. Dentro del factor ambiental podríamos hablar sobre malos manejos nutricionales como bajos niveles de materia seca y fibra en la dieta, además pueden inferir problemas fisiológicos como época de lactancia, enfermedades de tipo sanitario entre los que se pueden presentar procesos inflamatorios e infecciosos en la ubre, de tipo genético como razas y características raciales entre razas además de mejoramiento genético.

**6.2.4.3 Sólidos totales.** La media para los datos obtenidos mediante fórmula aritmética para sólidos totales fueron de 9.85% para el proveedor A, 10.93% para la leche entregada por el productor B y 10.43% de sólidos totales que se obtiene de la leche entregada por el proveedor C.

Teniendo en cuenta los topes mínimos para sólidos totales según la tabla 2 expuesta por Alpina S.A y Rhône Merieux Colombia S.A de 11.3% para sólidos totales se concluyó que son leches de mala calidad debido a que el valor económico de esta materia prima es su composición, pues dará mayores rendimientos industriales y será más nutritiva.

Para la región 4 (región 1) se reportó porcentajes de sólidos totales de 11.95 % según cuadro 7 del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Teniendo en cuenta este reporte podemos afirmar que la baja cantidad de sólidos totales está repercutiendo negativamente en la producción de queso por parte de la empresa y por ende pérdidas a su capital.<sup>100</sup>

Otro factor importante a tener en cuenta es el tipo de animales que se manejen en la producción primaria, debido a sus características fenotípicas y raciales.

Esa ganadería criolla adaptada al clima y a la topografía andina recibió mejoramiento genético con el cruce con otras razas. En la segunda década del siglo XX ya se tienen referencias de la existencia de ganado de origen europeo en el altiplano nariñense como holstein, durham, hereford, normando y red pol, incrementando de 2 a 10 litros por animal.<sup>101</sup>

**6.2.4.4 Sólidos no grasos.** Los resultados encontrados por el método algebraico para sólidos no grasos entregó un valor de 7.71% para el proveedor A; el cual es

---

<sup>100</sup> MADR. Op.,cit.

<sup>101</sup> ECONOMÍA DEL DEPARTAMENTO DE NARIÑO: RURALIDAD Y AISLAMIENTO GEOGRÁFICO. JOAQUÍN VILORIA DE LA HOZ. N°87 Marzo, 2007.

inferior al establecido por la norma técnica colombiana en el artículo 399<sup>102</sup>. Del mismo modo los SNG para el proveedor B no alcanzó el mínimo exigido por la norma entregando valores de 7.98% de SNG. El comportamiento de estos nutrimentos en la leche del productor C reportó valores de 7.89% que la clasifican como leches muy pobres para el proceso industrial.

Siguiendo la norma técnica colombiana en la que establece un porcentaje mínimo de 8.3 para SNG<sup>103</sup>, podemos diferir que toda la leche que ingresa a la empresa Lácteos Valle de Atríz tiene problemas en su composición nutrimental debido al bajo porcentaje en estos contenidos; pudiendo evidenciar leches muy pobres y con adiciones de agua las cuales se pudieron corroborar con la prueba de agua añadida por medio del análisis de ekomilk y refractómetro

---

<sup>102</sup> NTC 399.

<sup>103</sup> *Ibíd.*

## 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 7.1 CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos en la determinación de proteína demuestran un bajo porcentaje debido a una relación inversa entre la producción de leche y el porcentaje de sus constituyentes teniendo en cuenta factores ambientales, genéticos y fisiológicos, afectando tanto nutricional como industrialmente la empresa láctea
- La variable grasa obtuvo bajos porcentajes en su composición, los cuales se pueden ver afectados por factores ambientales, genéticos y fisiológicos.
- La empresa Lácteos Valle de Atríz se ven afectada por el bajo contenido de sólidos totales de la leche entregada por sus proveedores ya que no cumple con las normas fijadas por el gobierno nacional, según resolución 0012 de 2007, además de disminuir el rendimiento en la producción.
- Todo el volumen de leche que ingresa a la planta de procesamiento lácteo presenta serios problemas higiénicos debido al alto índice de UFC/ml, lo cual se debe a un mal manejo de las buenas prácticas ganaderas, mal manejo de la cadena de frío y el tiempo de recepción en planta. (Decreto 616 de 2006 y 017 de 2012 de MADR, 3075 de 1997 de MS.)
- Debido al manejo de leches supremamente ácidas, debido a un mal manejo de las BPG, cadena de frío y horario de recepción, por la carga microbiana, esta representa un riesgo de salud pública, por lo que se hace difícil el manejo en los procesos de temperatura de pasteurización.(616 de 2006)
- Se encontró la adulteración de la leche por parte de los proveedores mediante la adición de agua y suero, lo cual representa pérdidas en el volumen de producción, además de la relación beneficio/costo perjudicando al empresario.(616 de 2006)

- El manejo sanitario por parte del productor arrojó resultados negativos, lo que demuestra un nivel nulo en cuanto a la presencia de antibióticos.
- En cuanto a la adulteración por sustancias físico-químicas no se reportó casos positivos.

## 7.2 RECOMENDACIONES

- Implementar en la empresa un laboratorio para el procesamiento de pruebas físico-químicas y microbiológicas que garanticen la inocuidad y calidad de la materia prima recibida.
- Realizar por parte de entidades gubernamentales capacitaciones, seminarios y procesos de extensión rural para mejorar las buenas practicas ganaderas (BPG), destinado a pequeños y medianos productores.
- Dar capacitaciones por parte de la entidad competente a intermediarios y proveedores en el adecuado uso y transporte de la leche desde finca hasta la recepción en la empresa.
- Capacitar al personal de la finca en BPG.
- Manejar un adecuado control en la cadena de frio por parte de los productores e intermediarios.
- Mejorar el horario de recepción de leche por parte de los proveedores para disminuir la acidez presentada.
- Iniciar un programa HACCP en la empresa para el manejo de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control, es un enfoque sistemático para identificar peligros y estimar los riesgos que pueden afectar la inocuidad del producto, a fin de establecer las medidas para controlarlo.
- Mejorar el uso del recurso hídrico y vertimientos de acuerdo al decreto 3930 de 2010 emanado por el Ministerio de Medio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.
- Actuar con ética profesional en la obtención, transporte y manipulación de esta materia prima.

## BIBLIOGRAFÍA

- Analizador de leche automático Ekomilk. [http://clasipar.paraguay.com/ekomilk\\_analizador\\_automatgico\\_de\\_leche\\_1097632.html](http://clasipar.paraguay.com/ekomilk_analizador_automatgico_de_leche_1097632.html)
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis[online]. Estados Unidos: AOAC International. Disponible en internet: <<http://www.eoma.aoac.org/>>
- BRODY, E.P. 2000. Biological activities of bovine glycomacropeptide. British Journal of Nutrition. 84 Suppl.1 :S39-S46.
- CALDERON, A. (2002). Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. En A. G. CALDERON, Cuantificación de factores de riesgo de mastitis en sistemas élite de producción de leche el altiplano cundiboyacence (pág. 13).
- COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACA; [Citado 18 de Diciembre de 2011]. Disponible en [http:// 195.77.47.34 / veterinaria / vacuno / resulta.htm](http://195.77.47.34/veterinaria/vacuno/resulta.htm)1.999.
- CORRALES, Luz. SEPULVEDA, José. HIGUERA, José, "La Leche su procesamiento y Su Control" En: Colombia 2005. ed: Centro De Publicaciones Universidad Nacional De Colombia ISBN: 958-8526-1 v. 1 p. 324.
- FAO. 1988. Aspects of FAO's policies, programmes, budget and activities aimed at contributing to sustainable development. Documento del 94o período de sesiones del Consejo de la FAO, Roma, 15-25 de noviembre de 1988. Roma, FAO. CL 94/6.

- FIGUEROA C. 2004. Manual de buenas Prácticas en producción de leche caprina. Secretaria de agricultura ganadería desarrollo rural pesca y alimentación. Valenzuela.
- GAVIRIA S. Luís E., CALDERON G. Carlos E., Manual de Métodos Fisicoquímicos para el Control de Calidad de la Leche y sus Derivados. GTC parte 1. ICONTEC.
- GUO, M.; WANG, S.; LI, Z.; QU, J.; JIN, L.; KINDSTEDT, P. Ethanol stability of goat's milk: review 1968–1979. International Dairy Journal, v.8, p.57-60, 1998
- HAZARD T., SERGIO. 1997. Variación de la composición de la leche. p.33-44. Serie Carillanca N° 62. In: Curso taller Calidad de Leche e Interpretación de Resultados de Laboratorio. Temuco, 7 de Noviembre de 1997.
- ICONTEC. Leche y productos lácteos. Guía para muestreo. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC), 2001. 41 p: (NTC666)
- ICONTEC. Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). 2002.10 p.
- INTRODUCCIÓN AL CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE CRUDA. GUÍA PRÁCTICA. 2003. Disponible en <http://www.ensode.net/pdf-crack.jsf>.
- Laboratorios especializados Universidad de Nariño.
- LERCHE, Martin. Inspección veterinaria de la leche. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 1.69; p.188.

- Manual de métodos fisicoquímicos para el control de calidad de la leche y sus derivados. ICONTEC 2004.
- MARTINEZ., Fernando y CAIDEDO., Luis. Comparación de cinco métodos para determinar sólidos totales de leche cruda fresca. Facultad de ciencias pecuarias. Universidad de Nariño. Pasto 1996. p. 57.
- MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Decreto número 616 de 20 de febrero de 2006. Bogotá.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Resolución 000012 de 2007.
- MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Decreto número 616 de 20 de febrero de 2006. Bogotá. (NTC 399).
- MINISTERIO DE SALUD. (1997). DECRETO 3075 DE 1997. Por el cual se reglamenta parcialmente la Ley 09 de 1979 y se dictan otras disposiciones. Bogotá.
- MUNICIPIO DE PASTO – UDENAR – ARD. (2003). PROYECTO CODIGO PERIFERIA URBANA. REVISTA ESCALA, 105 p.
- NORMA TÉCNICA COLOMBIANA 399.  
<http://es.scribd.com/doc/50087396/NTC399>
- NOVOA, C. (2005). Consideraciones sobre calidad de la leche. Seminario sobre farmacoterapia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- NOVOA CASTRO, Carlos. Zootecnista. Esp. M.Sc.(c) en Ciencias - Química. Profesor Asistente Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA. Universidad Nacional de Colombia.

- O'CONNELL, J.E.; KELLY, A.L.; FOX, P.F.; KRUIF, K.G. Mechanism for the ethanol-dependent heat-induced dissociation of casein micelles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, p.4424-4428, 2001
- PASEIRO, L Perfecto. Control de la calidad de la leche. Universidad de Santiago. Facultad de Farmacia. Departamento de bromatología y tecnología y análisis químico aplicado. Santiago de Chile, 1980. p. 21-42 citado por AGUDELO GÓMEZ, Divier Antonio y BEDOYA MEJÍA, Oswaldo. Composición nutricional de la leche del ganado vacuno. *Revista Lasallista de investigación*. Vol.2. No.1. corporación universitaria Lasallista. Antioquia, Colombia. 2005. p.39.
- PIÑEROS, G. T. (2005). Estudio de calidad de la leche producida en la región del Alto Chicamocha (Departamento de Boyacá). Bogotá.
- RAYNAL-LJUTOVAC, K.; PARK, Y.W.; GAUCHERON, F. BOUHALLAB, S. Heat stability and enzymatic modifications of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, v.68, p.207-220, 2007.
- Rosa Charm (Charm Sciences, Lawrence, Massachusetts), Snap (IDEXX Laboratories).
- Schonherr, 1959.
- Wastra, Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos, Ed. Acibia, Zaragoza, 2001. Disponible en internet.
- [http://clasipar.paraguay.com/ekomilk\\_analizador\\_automatico\\_de\\_leche\\_1097632.html](http://clasipar.paraguay.com/ekomilk_analizador_automatico_de_leche_1097632.html). Disponible en internet.
- <http://www.extension.org/pages/9858/uso-de-antibioticos-en-la-ganadera-lechera>. Disponible en internet.

- <http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/14011/tesisUPV3627.pdf?sequence=1>. Disponible en internet.
- <http://www.tecnolacteos.com/tecnolacteos/home/dateien/rizzo.pdf>. Disponible en internet.
- [http://www.agrovet.cl/productos\\_detalle.php?id=159](http://www.agrovet.cl/productos_detalle.php?id=159). Disponible en internet.

## ANEXOS

**Tabla 7. Solidos no grasos, método formula algebraica.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A	7.57	1	10.00	1	10.00
A	7.60	1	10.00	2	20.00
A	7.83	1	10.00	3	30.00
A	7.85	1	10.00	4	40.00
A	7.86	1	10.00	5	50.00
A	7.87	1	10.00	6	60.00
A	7.88	1	10.00	7	70.00
A	7.89	2	20.00	9	90.00
A	7.90	1	10.00	10	100.00
B	7.83	2	50.00	2	50.00
B	7.84	1	25.00	3	75.00
B	7.85	1	25.00	4	100.00
C	7.09	1	16.67	1	16.67
C	7.14	1	16.67	2	33.33
C	8.17	1	16.67	3	50.00
C	8.24	1	16.67	4	66.67
C	8.25	2	33.33	6	100.00

**Tabla 8. Solidos no grasos método ultrasónico.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A	7.55	2	40.00	2	40.00
A	7.68	1	20.00	3	60.00
A	7.75	1	20.00	4	80.00
A	8.04	1	20.00	5	100.00
B	7.91	1	50.00	1	50.00
B	8.05	1	50.00	2	100.00
C	7.02	1	33.33	1	33.33
C	8.3	1	33.33	2	66.67
C	8.37	1	33.33	3	100.00

**Tabla 9. Solidos totales método algebraico.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A1	9.55	1	20.00	1	20.00
A2	9.65	2	40.00	3	60.00
A4	10.04	1	20.00	4	80.00
A5	10.38	1	20.00	5	100.00
B1	10.51	1	50.00	1	50.00
B2	11.35	1	50.00	2	100.00
C1	8.92	1	33.33	1	33.33
C2	10.77	1	33.33	2	66.67
C3	11.6	1	33.33	3	100.00

**Tabla 10. Proteína cruda por método ultrasónico.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A1	2.58	1	10.0	1	10.00
A2	2.59	1	10.0	2	20.00
A3	2.67	1	10.0	3	30.00
A4	2.68	4	40.0	7	70.00
A5	2.69	3	30.0	10	100.00
B1	2.67	1	25.00	1	25.00
B1	2.68	2	50.00	3	75.00
B2	2.69	1	25.00	4	100.00
C1	2.41	1	16.67	1	16.67
C1	2.42	1	16.67	2	33.33
C2	2.79	1	16.67	3	50.00
C2	2.82	1	16.67	4	66.67
C3	2.83	2	33.33	6	100.00

**Tabla 11. Proteína Cruda por método Kjeldahl.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A1	2.63	1	20.0	1	20.0
A2	2.65	1	20.0	2	40.0
A3	2.66	1	20.0	3	60.0
A4	2.76	1	20.0	4	80.0
A5	2.86	1	20.0	5	100.00
B1	2.46	1	50.0	1	50.0
B1	2.65	1	50.0	2	100.00
B2	2.31	1	33.33	1	33.33
C1	2.76	1	33.33	2	66.67
C1	2.92	1	33.33	3	100.00

**Tabla 12. Grasa por método Gerber.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A	1.8	1	20.0	1	20.0
A	2.0	1	20.0	2	40.0
A	2.1	2	40.0	4	80.0
A	2.7	1	20.0	5	100.0
B	2.6	1	50.0	1	50.00
B	3.3	1	50.0	2	100.0
C	1.9	1	33.33	1	33.33
C	2.4	1	33.33	2	66.67
C	3.3	1	33.33	3	100.00

**Tabla 13. Densidad por ultrasónico.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A	1.0274	1	10.0	1	10.00
A	1.0276	1	10.0	2	20.00
A	1.0290	2	20.0	4	40.00
A	1.0291	1	10.0	5	50.00
A	1.0292	1	10.0	6	60.00
A	1.0293	2	20.00	8	80.00
A	1.0294	1	10.00	9	90.00
A	1.0295	1	10.00	10	100.00
B	1.0280	2	50.00	2	16.67
B	1.0226	2	50.00	4	33.33
C	1.0254	1	16.67	1	16.67
C	1.0257	1	16.67	2	33.33
C	1.0298	1	16.67	3	50.00
C	1.0299	1	16.67	4	66.67
C	1.0302	1	16.67	5	83.33
C	1.0304	1	16.67	6	100.00

**Tabla 14. Lactodensímetro.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A	1.028	1	20.0	1	20.00
A	1.029	1	20.0	2	40.00
A	1.030	3	60.0	4	100.00
B	1.029	2	100.0	5	100.00
C	1.026	1	33.33	6	33.33
C	1.030	1	33.33	8	66.67
C	1.0294	1	33.33	9	100.00

**Tabla 15. Coliformes fecales**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A	14	2	20.00	2	20.00
A	75	1	10.00	3	30.00
A	120	1	10.00	4	40.00
A	150	4	40.00	8	80.00
A	460	2	20.00	10	100.00
B	1100	1	25.00	1	25.00
B	2400	3	75.00	4	100.00
C	460	2	33.33	2	33.33
C	1100	2	33.33	4	66.67
C	2400	2	33.33	6	100.00

**Tabla 16. Mesófilos**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
A	6000000	1	10.00	1	10.00
A	6300000	1	10.00	2	20.00
A	10900000	1	10.00	3	30.00
A	11700000	1	10.00	4	40.00
A	12700000	1	10.00	5	50.00
A	13000000	1	10.00	6	60.00
A	23400000	1	10.00	7	70.00
A	24500000	1	10.00	8	80.00
A	42200000	1	10.00	9	90.00
A	42300000	1	10.00	10	100.00
B	40000000	1	25.00	7	25.00
B	42200000	1	25.00	8	50.00
B	310000000	1	25.00	9	75.00
B	350000000	1	25.00	10	100.00
C	1950000	1	16.67	1	16.67
C	2275000	1	16.67	2	66.67
C	27800000	1	16.67	3	50.00
C	28750000	1	16.67	4	66.67
C	78600000	1	16.67	5	83.33
C	84300000	1	16.67	6	100.00

**Tabla 17. Coliformes totales.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
<b>A</b>	2400	10	100.0	10	100.0
<b>B</b>	2400	4	100.0	4	100.0
<b>C</b>	2400	6	100.0	6	100.0

**Tabla 18. Agua añadida.**

Variable	Lectura	Frecuencia	%	Frecuencia acumulada	% Acumulado
<b>A</b>	0.0	6	60.00	6	60.00
<b>A</b>	0.07	1	10.00	7	70.00
<b>A</b>	0.35	1	10.00	8	80.00
<b>A</b>	2.93	1	10.00	9	90.00
<b>A</b>	3.25	1	10.00	10	100.00
<b>B</b>	0.0	1	10.00	1	25.00
<b>B</b>	0.03	1	10.00	2	50.00
<b>B</b>	0.07	1	10.00	3	75.00
<b>B</b>	0.17	1	10.00	4	100.00
<b>C</b>	0.0	4	40.00	4	66.67
<b>C</b>	8.39	1	10.00	5	83.33
<b>C</b>	8.97	1	10.00	6	100.00

**Tabla 19. Análisis estadístico de variables cualitativas.**

Variable	Pr	n	M	SD	V	SC	e
<b>Densidad</b>	A	10	1.028	0.0007	0.072	5.06	0.0002
	B	4	1.028	0.0003	0.033	3.60	0.0001
	C	6	1.028	0.0023	0.228	0.00	0.0009
<b>Lactodensímetro</b>	A	5	1.029	0.0008	8E-7	3.2E	0.0004
	B	2	1.029	0.0	0.0	0.0	0.0
	C	3	1.029	0.002	7E-6	0.00001	0.0015
<b>Proteína ek.</b>	A	10	2.66	0.041	0.001	0.015	0.013
	B	4	2.68	0.008	0.00006	0.0002	0.004
	C	6	2.68	0.208	0.043	0.217	0.085
<b>Proteína Kjeldahl</b>	A	5	2.71	0.09	0.009	0.037	0.043
	B	2	2.55	0.13	0.018	0.018	0.095
	C	3	2.66	0.31	0.100	0.200	0.182
<b>SNG Formula</b>	A	5	7.71	0.201	0.040	0.162	0.09
	B	2	7.98	0.098	0.009	0.009	0.07
	C	3	7.89	0.76	0.577	1.155	0.438
<b>SNG ekomilk</b>	A	10	7.84	0.122	0.015	0.135	0.038
	B	4	7.83	0.009	0.00009	0.0002	0.004
	C	6	7.85	0.575	0.331	1.655	0.234
<b>Solidos totales</b>	A	5	9.85	0.348	0.121	0.48	0.156
	B	2	10.93	0.593	0.352	0.352	0.42
	C	3	10.43	1.371	1.882	3.764	0.792
<b>Grasa</b>	A	5	2.14	0.33	0.11	0.45	0.15
	B	2	2.95	0.49	0.24	0.24	0.35
	C	3	2.53	0.70	0.50	1.006	0.409
<b>pH</b>	A	10	6.218	0.098	0.009	0.086	0.031
	B	4	5.857	0.447	0.200	0.600	0.223
	C	6	6.378	0.091	0.008	0.042	0.037
<b>Acidez titulable</b>	A	10	17.3	1.159	1.344	12.1	0.366
	B	4	23.5	6.350	40.33	121	3.175
	C	6	16.3	1.032	1.066	5.3	0.421
<b>Agua añadida</b>	A	10	0.66	1.287	1.65	14.91	0.407
	B	4	0.067	0.074	0.005	0.016	0.037
	C	6	2.89	4.486	20.12	100.62	1.831
<b>Mesófilos</b>	A	10	19.300000	13559416	70.25	1.65	4.3 *10 <sup>5</sup>
	B	4	185562500	167582116	90.31	2.80	8.4 *10 <sup>6</sup>
	C	6	37279166	36206112	97.12	1.31	1.5*10 <sup>6</sup>
<b>Coli. totales</b>	A	10	2400	0	0	0	0
	B	4	2400	0	0	0	0
	C	6	2400	0	0	0	0
<b>Coli. fecales</b>	A	10	174.3	159.79	25534	*	50.53
	B	4	2075	650	422500	*	325
	C	6	1320	884.17	78176	*	360
	A	10	9.0	0.0	0.0	0.0	0.0

<b>Refractómetro</b>	B	4	9.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	C	6	8.66	0.516	0.266	1.33	0.210