EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LECHE RECEPCIONADA EN LA EMPRESA LACTEOS ANDINOS DE NARIÑO LTDA Y PROPONER PLANES DE ACCIÓN QUE CONTRIBUYAN A SU MEJORAMIENTO EN LA PARTE MICROBIOLOGICA Y COMPOSICIONAL PERIODO AGOSTO – OCTUBRE DE 2004

ERNESTO ABSALON PAREDES PANTOJA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
PASTO-COLOMBIA
2005

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LECHE RECEPCIONADA EN LA EMPRESA LACTEOS ANDINOS DE NARIÑO LTDA Y PROPONER PLANES DE ACCIÓN QUE CONTRIBUYAN A SU MEJORAMIENTO EN LA PARTE MICROBIOLOGICA Y COMPOSICIONAL PERIODO AGOSTO – OCTUBRE DE 2004

ERNESTO ABSALON PAREDES PANTOJA

Informe para el desarrollo del semestre rural para optar por el titulo de médico veterinario

ASESOR: HENRY JURADO GAMEZ Zootecnista MSc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
PASTO-COLOMBIA
2005

"Las ideas y conclusiones aportadas en el informe de semestre rural, son de responsabilidad exclusiva de su autor"

Art. 1 del Acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de La Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:	
	-
	- - -
	- -
HENRY JURADO GAMEZ	-
Asesor	
HECTOR FABIO VALENCIA RIOS	-
Jurado Delegado	
ALVARO HIDALGO Jurado	

San Juan de Pasto, Marzo de 2005

AGRADECIMIENTOS

El estudiante responsable de este trabajo expresa sus agradecimientos a:

Henry Jurado Gamez, Zootecnista. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

Héctor Fabio Valencia Ríos, Médico Veterinario. Decano Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

Alvaro Hidalgo. Médico Veterinario. Asistente técnico. Colácteos Pasto.

Byron Mohana Insuasty. Médico Veterinario Zootecnista.

Luis Alfonso Portilla Solarte. Zootecnista. Secretario Académico Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

A la Empresa Lácteos Andinos de Nariño, Pasto.

A todas aquellas personas e Instituciones que colaboraron para culminar este trabajo.

DEDICO:	
A Dios mi acción de Gracias.	
A mi madre y a mi padre por su apoyo incondicional para	hacer realidad mi sueño.
A toda mi familia y aquellas personas que colaboraron pacarrera.	ara la culminación de mi
	Ernesto Paredes Pantoja.

CONTENIDO

	pag.
INTRODUCCIÓN	18
1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA	19
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	20
3. OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GENERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4. MARCO TEORICO	22
4.1 CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE	25
4.1.1 Características de la leche normal	25
4.1.2 Características físicas de la leche	26
4.1.3 Características de la leche mastítica	27
4.1.4 Cambios Patológicos y electrolíticos en la leche y en la glándula mama de vacas con mastitis	ria 27
4.2 REQUISITOS GENERALES PARA LA MATERIA PRIMA EN LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS	28
4.2.1 Densidad	29
4.2.2 Grasa	30
4.2.3 Determinación de acidez	33
4.3 Sustancias extrañas en la leche	35

4.3.1 Neutralizantes	35
4.3.2 Prueba de alisarol	36
4.2.1 Peroxido	37
4.4 ADULTERANTES	39
4.4.1 Identificación de harinas y almidones	39
4.4.2 Identificación de peróxido o agua oxigenada	39
4.4.3 Identificación de formol o formaldehidos	40
4.4.4 Identificación de sacarosa	41
4.4.5 Identificación de cloruros	41
4.4.6 Identificación de hipocloritos (en suero)	42
4.4.7 Identificación de hipocloritos, cloramidas y dióxido de cloro	43
4.4.8 Peroxidasa	43
4.4.9 Cloraminas	45
4.4.10 Cloruro	46
4.4.11 Fosfatasa	46
4.5 REDUCTASA	48
4.6 ANTIBIÓTICOS	49
4.6.1 Delvotest	49
4.6.2 Snap betalactámicos	50
4.7 DEFINICIÓN DE MASTITIS	51
4.7.1 Agentes causales	52
4.7.2 Prueba de conductividad eléctrica	52
4.7.3 Técnicas de laboratorio	55

4.7.4 Esquema de identificación de cocos grampositivos	55
4.7.5 Identificación de microorganismos del genero streeptococcus	56
5. DISEÑO METODOLOGICO	62
5.1 LOCALIZACION	62
5.2 METODO	62
5.3 PRUEBAS EMPLEADAS	62
5.3.1 Determinación de densidad	62
5.3.2 Determinación de grasa	62
5.3.3 Determinación de acidez	63
5.3.4 Prueba de alisarol	63
5.3.5 Determinación de reductasa	63
5.4 DISEÑO EXPERIMENTAL	64
5.4.1 Media aritmética	64
5.4.2 Desviación estándar	64
5.4.3 Coeficiente de Variación	64
5.5 VARIABLES EVALUADAS	65
5.5.1 Media aritmética	65
5.5.2 Desviación estándar	65
5.5.3 Coeficiente de Variación	65
6. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	66
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	69
7.1 CONCLUSIONES	69
7.2 RECOMENDACIONES	69

BIBLIOGRAFIA	70
ANEXOS	72

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Composición típica de la leche	25
Tabla 2. Resultados obtenidos de los análisis de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño, correspondientes al mes de Agosto de 2004	66
Tabla 3. Resultados obtenidos de los análisis de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño, correspondientes al mes de Septiembre de 2004	67
Tabla 4. Resultados obtenidos de los análisis de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño, correspondientes al mes de Octubre de 2004	68

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. análisis microbiológico de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño Agosto de 2004	73
Anexo B. análisis microbiológico de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño Septiembre de 2004	74
Anexo C. análisis microbiológico de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño Octubre de 2004	75

RESUMEN

El desarrollo del semestre rural se realizó en la Empresa Lácteos andinos de Nariño LTDA. Donde se evaluó la calidad composicional y microbiológica de la leche que comercializan los proveedores e intermediarios y de los datos obtenidos dar soluciones para el mejoramiento de la calidad tanto a proveedores (ganaderos y mayordomo) como intermediarios.

Las pruebas de control de calidad que se realizaron en el laboratorio para el estudio son: densidad, acidez titulable, grasa, índice de crioscopía y reductasa, durante un periodo de tres meses, a los datos obtenidos les fue calculado la media aritmética, desviación estándar y el coeficiente de variación.

Para las variables en estudio: densidad, grasa, índice de crioscopía, una vez realizado el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas, ya que los datos obtenidos mostraron un comportamiento similar en el tiempo de estudio.

La variable reductasa una vez realizado el análisis estadístico se encontró diferencias altamente significativas debido a las malas prácticas de ordeño.

ABSTRACT

The rural semestre was mode at Lacteos Andinos of Nariño LTDA, where it got evaluate the composicion and microbiology quality of the milk, it is comercialized by the suppliyers and intermediaries and give solutions from the gotten results in order to improve the quality to the land lord and cowboys and supliyers.

The control proofs of quality realiced at the laboratory for the study are: density, tituleble acid, fat, indice of crioscopía and metiliem blue reduction, during a period of three months, the aritmetic media, standard desviation ans coefficient of variation_were calculated from the obtain data.

For the varibles that we are studing: density, fat, indice of crioscopía there weren't enogh differences at the time of the stadistie analysis, because the data showed a similar behaviors during the study.

After the stadistie studys of the reductasa variable there were big differences, because of the bad ways of milking.

GLOSARIO

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

ÁCIDO LÁCTICO: ácido que se forma a partir de los azúcares que contiene la leche.

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

ALBUMINAS: proteína blanquecina y viscosa, algo salada muy común en la naturaleza, que forma la casi totalidad de la clara del huevo y se halla en disolución en el suero de la sangre.

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

ANTIBIOTICO: medicamento que impide la multiplicación o desarrollo de los microbios.

ANTISEPTICO: medida que utiliza para la destrucción de los microbios.

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

BRUCELOSIS: enfermedad de gran incidencia en los animales causada por diversas especies de Brucella. Tiene predilección por útero grávido, ubre, testículos, glándulas sexuales masculinas accesorias, ganglios linfáticos, cápsulas y bolsas articulares.

CALOSTRO: primera leche de la hembra mamífera, la cual contiene gran cantidad de inmunoglobulinas.

CAROTENO: vitamina sacada de la zanahoria y leche.

CASEÍNA: compuesto albuminoideo de la leche que forma el queso.

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

ENZIMA: mediadores de origen orgánico que actúan como catalizadores en los procesos del metabolismo.

ESTEROL: cuerpo derivado de la acción de un ácido sobre el alcohol.

FOSFATO: sal formada por el ácido fosfórico.

GLÁNDULA: órgano de origen epitelial cuya función es la de segregar ciertas sustancias fuera del organismo.

GLOBULINAS: proteína de la sangre, de un tamaño de dos a cuatro micras que interviene en la coagulación.

GLÚCIDO: componente de la materia viva que contiene carbono, hidrógeno y oxígeno

HATO: porción de ganado.

INMUNOGLOBULINAS: proteínas que se encuentran presentes en el calostro de los mamíferos con el fin de transmitir los mecanismos de defensa a las crías.

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

LACTOSA: azúcar de la leche, compuesta de glucosa y galactosa.

LECITINA: sustancia que contiene ácido glicerofosfórico y se encuentra en la yema del huevo y en el sistema nervioso.

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.

LÍPIDO: lubricante orgánico llamado comúnmente grasa, insoluble en agua, soluble en benceno y en éter, y formada de ácidos grasos unidos a otros cuerpos.

MASTITIS: inflamación de la glándula mamaria sea cual fuere su causa, generalmente ocurre durante la lactancia. Se caracteriza por alteraciones físicas, químicas y, casi siempre, bacteriológicas de la leche y por modificaciones patológicas del tejido glandular.

PARATUBERCULOSIS: enteritis contagiosa, crónica, que se carateriza por diarrea persistente y progresiva, pérdida de peso, debilitamiento y finalmente muerte.

REACTIVO: elemento empleado para determinar la naturaleza de los cuerpos por las reacciones que produce en ellos.

REDUCTASA: técnica utilizada para determinar la cantidad de bacterias presentes en la leche por ml, utiliza el azul de metileno.

SACAROSA: azúcar de la leche.

TUBERCULOSIS: enfermedad infecciosa causada por bacilos patógenos, resistentes al ácido, del género Mycobacterium.

UBRE: tejido mamario de los bovinos y ovinos.

UFC: unidad formadora de colonia.

INTRODUCCION

Colombia como país agropecuario, posee un subsector pecuario localizado en la región fría andina, sobre esta zona, se encuentran departamentos considerados como centros de la industria lechera. Nariño junto con la sabana cundiboyacense y la montaña antioqueña se constituyen en regiones de alta producción de leche.

Las zonas lecheras de la subregión andina nariñense; están representadas por, la sabana de Túquerres e Ipiales y el municipio de Pasto.

Rivera reporta que: "la zona fría y media andina del departamento de Nariño, dispone de una población aproximada de unos 400.000 bovinos, dedicados predominantemente a la producción lechera y correspondiendo a esta parte sur del departamento a un volumen del 70% del total de leche producida"¹.

Su desarrollo empresarial hace presencia para aportar tecnología al sector, comercializar procesar y mercadear productos y subproductos lácteos.

El presente proyecto se encargará de inspeccionar desde la visión integral un área específica tendiente al control de calidad, con cobertura desde la extracción, hasta la distribución, a través de las pruebas diagnósticas de laboratorio clínico. Se consideran herramientas: los indicadores de calidad de la leche instituidos por salud pública y el acuerdo de competitividad de la cadena láctea, el control de pruebas de laboratorio en las rutas, las visitas a los ganaderos, los hatos y los análisis de laboratorio de calidad de leche dentro de la planta.

¹ RIVERA, Julio Cesar. Calidad de la leche. 1°ed. P asto: Graficolor, 1977. p. 3

1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA

Rivera² manifiesta que la situación de la economía campesina y la producción lechera en la zona fría andina del departamento de Nariño indican que el predominio de los predios son menores a 5 hectáreas, la capacidad de carga está entre dos a cuatro bovinos por finca, la producción promedio de leche es de 10 a 12 litros por día y la raza predominante es la Holstein mejorado. Entre los principales problemas de orden sanitario que presentan estos hatos se consideran: el parasitismo, la mastitis, la retención de placenta, cojeras, enfermedades respiratorias y el mal manejo de la leche.

Lo anterior señala que la actividad lechera en Nariño es ejercida por pequeños productores quienes no acceden eficientemente a la tecnología para garantizar niveles de calidad del producto acordes a las disposiciones legales vigentes.

A partir de las referencias anteriores se considera conveniente, realizar una inspección y evaluación de la línea productiva que va desde el manejo al momento del ordeño, hasta la salida al mercado de los productos y subproductos derivados de la leche, que produce, transporta, acopia, procesa en el área de influencia la empresa Lácteos Andinos de Nariño LTDA, esta zona esta comprendida por veredas aledañas a los municipios de Pasto, Tangua e Iles. La leche se acopia mediante dos procedimientos fincas directas e intermediarios, el producto tiene como mercado el departamento de Nariño. En este contexto se considera conveniente valorar y evaluar las actividades y procedimientos que realizan todos actores involucrados como: productores, mayordomos, transportadores, operarios, en temas considerados críticos como la rutina de ordeño, el tiempo de retiro en leche de fármacos, detección de mastitis, manejo de productos y sanidad animal, mediante ayudas como son las pruebas de laboratorio clínico de calidad de leche.

Lo anterior justifica el presente proyecto que permite evaluar a través de indicadores el cumplimiento estipulado en las normas en control de calidad para el producto leche y sus derivados requeridos para el proceso.

_

² Ibid., p. 23

2. FORMULACION DEL PROBLEMA

Dada la diversidad de manejos en los hatos lecheros y la aplicación de diferentes tecnologías desde incipientes hasta tecnificadas, con predominio de las no tecnificadas, se observa que una de las limitantes para el procesamiento rentable de la leche en Nariño es la baja calidad del producto ofrecido por los ganaderos desde el punto de vista composicional.

El obtener leche bajo condiciones sanitarias adecuadas en términos de calidad y eficiencia desde la extracción, manejo en el almacenamiento, transporte y comercialización es un problema serio para las grandes comercializadoras y en especial para la empresa Lácteos Andinos de Nariño LTDA.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad de la leche recepcionada en la empresa Lácteos Andinos de Nariño Ltda y proponer planes de acción que contribuyan a un mejoramiento de su parte composicional y microbiológica.

3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la calidad de la leche a través de las pruebas de laboratorio que se realizan en la empresa Lácteos Andinos de Nariño LTDA.
- Dar a conocer a proveedores los procedimientos e interpretaciones de laboratorio en el área de control de calidad de leche, socializando los resultados y concientizando a toda la cadena productiva.
- Obtener leche de mejor calidad que cumpla con las normas establecidas por salud pública y que se encuentran presentes en el acuerdo de competitividad de la cadena láctea.

4. MARCO TEORICO

Rivera define:

A la leche como un alimento fundamental e insustituible en la dieta humana, de allí que su producción sea prioritaria dentro de las políticas agroalimentarias de cualquier país que pretenda mantener su independencia y autonomía tecnológica, económica y productiva y considera la producción nacional en términos generales como ineficiente por sus bajos parámetros productivos y dependientes de la estacionalidad climática, que obliga a hacer importaciones de leche y derivados³.

Según Colácteos manifiesta que:

El acuerdo de competitividad de la cadena láctea como un pacto a través del cual los ganaderos, industriales, comercializadores y gobierno, con una visión compartida sobre el presente y futuro de la actividad, se comprometen a cumplir con los compromisos adquiridos y a poner en marcha los planes de acción definidos, buscando superar los problemas que afectan a la cadena láctea; contribuyendo en esta forma a que la leche colombiana y sus productos, estén en capacidad de competir con los demás del mercado internacional, tanto en nuestro mercado interno, como en el de los demás países, a partir de Octubre de 1999, la leche se paga al ganadero de acuerdo con la calidad y la estacionalidad de la producción, igualmente manifiesta que una leche con calidad debe cumplir con las exigencias de calidad nacional e internacional, presentando excelentes características físico-químicas, bacteriológicas y nutricionales, que dependen en gran medida de la raza, la alimentación, la salud animal, las condiciones en que se ordeña, el transporte de la leche y el manejo que se le dé, hasta llegar al consumidor⁴.

Por otra parte Giraldo⁵. En su informe calidad de leche manifiesta que la leche de alta calidad es aquella que cumple con varias condiciones:

-

³ RIVERA BARRERO, Julio Cesar. Tecnología de Leche y derivados. 1° ed. Pasto: Graficolor, 1997. p. 19

⁴ COLACTEOS – SENA. Modulo Calidad de Leche # 2. <u>En:</u> Cartillas Didácticas Calidad de Leche. Pasto. Vol I. N°2. (Febrero 2001). p. 3

⁵ GIRALDO, José. Informe de Calidad de Leche. 2000. [en línea] ed: (s.n.) [México 1997] disponible en Internet: < http://www.ilc.com.co/docs/informe_social2001.pdf/giraldo/>

Calidad composicional; es decir adecuada composición relación grasa-proteína, tiene que ver con la genética, sanidad de la ubre, alimentación además de no estar aguada, la leche debe estar libre de sustancias extrañas como calostro, sedimentos, inhibidores (antibióticos y otros) al igual que microorganismos patógenos, los hatos deben estar libres de enfermedades como brucelosis, tuberculosis, paratuberculosis y con medidas permanentes de manejo que minimicen la posibilidad de bacterias patógenas como la salmonela, debe tener un bajo recuento de gérmenes; expresados en U.F.C (unidades formadoras de colonia) no debiendo pasar los 50.000 UFC/ml, bajo recuento de células somáticas (R.C.S) indicador de afecciones en la ubre (mastitis) y que no debe pasar de 250.000 CS/ml.

Inicialmente los esquemas por precio de litro de leche se basaban en aspectos como la calidad microbiológica (reductasa y frío), volúmenes y grasa, actualmente a este esquema se le ha adicionado la proteína debido a que este factor determina en gran medida para la eficiencia en la producción de quesos, (gramo de queso / litro de leche.)

De acuerdo con lo expuesto por Colacteos-Sena⁶. determina que la leche debe cumplir con los siguientes requisitos:

Debe provenir de vacas sanas, obteniéndose en óptimas condiciones higiénicas, debe poseer excelentes características organolépticas (color, olor, sabor)

Color: varía de blanco ópalo a blanco amarillento, el color normal de la leche no es debido a un pigmento alguno, sino a refracción de la luz por los glóbulos grasos emulsionados y por otros componentes de la leche en estado coloidal, examinada la leche un tiempo después del ordeño, la parte superior "crema" es de color amarillento; debajo de la crema, la leche es más o menos desnatada, aparece un color blanco azulado (igualmente cuando se ha desnatado o aguado.)

Sabor: su sabor normal es dulzaina, a veces bastante pronunciado, pero no es raro encontrar sabores distintos, como por ejemplo:

- Salado: Pueden indicar enfermedad o la vaca en producción de calostro.
- El sabor es pútrido debido al Bacillus Faetidus.
- El sabor también puede variar de acuerdo con la alimentación: cuando la leche es procedente de ganaderías ubicadas en cercanías al mar, puede tener un sabor ligeramente salado, al igual que vacas alimentadas con silos.

⁶COLACTEOS – SENA. Modulo Calidad de Leche # 4. <u>En:</u> Cartillas Didácticas Calidad de Leche. Pasto. Vol I. N°2. (Febrero 2001). p. 3

23

Olor: Cuando el olor es apenas perceptible que recuerda corrientemente el alimento predominante que se da a las vacas, la leche es normal. El olor normal se sustituye por el pútrido repugnante o por el medicamentoso, no es raro que las leches se impregnen de olor del medio ambiente y de las vasijas donde se depositan.

Opacidad: La leche tiene un color opaco, inclusive cuando se observa un débil espesor, esta opacidad no es debida a su contenido en grasa sino a la presencia de caseína en suspensión y a la semisolución de los glóbulos grasos.

Debe ser atractiva al paladar del consumidor, igualmente debe ser rica en nutrientes, guardando un equilibrio en su composición, debe encontrarse libre de drogas, desinfectantes, detergentes, pesticidas y en general de cualquier sustancia que altere la fabricación de productos lácteos y que afecte la salud del consumidor, igualmente manifiesta, que los componentes de la leche se encuentran en tres estados físicos:

- Solución o fase hídrica.
- Suspensión (caseína y sales minerales)
- Emulsión (grasa)

Lo anterior permite la división de los componentes en tres grupos:

- Agua.
- Sólidos no grasos.
- Grasa.

La suma de los sólidos no grasos más la grasa forma los sólidos totales como se describe en la tabla 1.

Tabla 1. Composición Típica de la Leche

COMPOSICION	ESTADO FISICO DE
g/L	LOS COMPONENTES
873	Agua libre mas agua
	ligada (3.7%)
	Solución
35	
34	Emulsión de Glóbulos
0.5	grasos
0.5	
34	Suspensión miscelar de Fosfocaseinato de Calcio
27	
5.5	Solución (coloidal)
1.5	Solución (verdadera)
9	
2.0	Solución o estado
2.6	coloidal P y Ca
1.7	Sales de K, Ca, Na, Mg.
2.7	
	g/L 873 49 35 34 0.5 0.5 5.5 1.5 9 2.0 2.6 1.7

Fuente: COLACTEOS-SENA, 2001.

4.1 CARACTERISTICAS DE LA LECHE

Dentro de las características que presenta la leche tenemos:

4.1.1 Características de la leche normal. Alaís define:

La leche como un líquido segregado por las glándulas mamarias de las hembras mamíferas tras el nacimiento de una cría. Es un líquido de una composición compleja, blanco y opaco, de sabor dulce y reacción iónica

cercana a la neutralidad. Además, manifiesta que la leche es una emulsión de materia grasa en forma globular, que presenta analogías con el plasma sanguíneo. Este líquido es así mismo, una sustancia que tiene materias proteicas en suspensión en un suero constituido por una solución verdadera, que tiene principalmente lactosa y sales minerales. Por lo tanto, existen en la leche cuatro tipos de componentes: grasas, proteínas, lactosa y sales. A ellos, se añaden otros en cantidades mínimas, tales como: lecitinas, vitaminas, enzimas, nucleótidos y gases disueltos.

4.1.2 Características físicas de la leche.

Densidad de la leche completa	1,032 d/ml
Densidad de la leche descremada	1,036 d/ml
Densidad de la materia grasa	0,94 d/ml
 Poder calórico(por litro), calorías 	700 Kcal
• Ph	6,6 - 6,8
Conductividad eléctrica (mhos)	45 x 10 ⁻⁴ mhos
 Tensión superficial (Dinas/cm. A 15º) 	43 Dinas/cm
Viscosidad absoluta	0,0212 - 0,0354%
 Viscosidad relativa (especifica) 	1,6 – 2,15 %
Índice de refracción	1,35
 Punto de congelación (°C) 	-0,55 ℃
Calor específico	0,93 ⁷ .

Alais⁸, resalta que es corriente reducir la leche a sus cuatro componentes más importantes: lactosa, grasa, proteínas y sales. Esta simplificación no puede aceptarse más que para el cálculo del valor energético de la leche. Desde

⁷ ALAIS, CH. Ciencia de la Leche. Principios de la Técnica Lechera. 1° ed. México: Continental, 1.986. p. 47

_

⁸ Ibid., p.57

cualquier punto de vista no pueden desperdiciarse los pequeños componentes que en buen número se encuentran en la leche.

- 4.1.3 Características de la leche mastítica. Oliver reporta las siguientes características de la leche mastítica:
 - Aumento en el contenido de albúmina sérica.
 - Presencia de plasma sanguíneo.
 - Aparición de fibrina.
 - Incremento en la cantidad de células somáticas, leucocitos, bacterias y deshechos.
 - Presencia de inmunoglobulinas, aumento de cloruro de sodio y bicarbonato de sodio.
 - Disminución de sólidos no grasos.
 - Ligera alcalinización de la leche (aumenta su pH)
 - Incremento en la conductividad eléctrica9.
- 4.1.4 Cambios patológicos y electrolíticos en la leche y en la glándula mamaria de vacas con mastitis. Andrade¹⁰ sostiene que el primer cambio patológico en vacas con mastitis es el paso de seroalbúmina de la sangre a la leche como consecuencia directa del incremento de la permeabilidad capilar. Posteriormente el cloruro de sodio y el bicarbonato de sodio provocan un cambio en el pH hacia la neutralidad. La síntesis de lactosa se suspende en proporción a la concentración del cloruro de sodio dentro de la leche, este es un mecanismo mediante el cual se mantiene la isotonicidad del fluido en la ubre alterada con sangre. La síntesis de caseína se reduce, dando como resultado un descenso en total de sólidos grasos.

El aumento en el porcentaje de cloruros da como resultado un incremento en la conductividad eléctrica de la leche de los animales afectados por mastitis. Existen

⁹ OLIVER, E. Fisiopatología de la mastitis. En: Colombiana de Ciencias Pecuarias. Bogotá. Vol II. N°2. (Diciembre 1993). p. 63

¹⁰ ANDRADE, C. Detección de la Mastitis Subclínica a Nivel de Campo por Medio de Conductividad Eléctrica. En: Nacional de Zootecnia. Bogotá. Vol II. N°2. (Jun io 1.987). p. 15

varios factores que modifican esta característica y para obtener el máximo beneficio de la misma, es necesario examinar todos los cuartos de la glándula y comparar las diferencias entre estos para precisar cuales son los realmente afectados.

4.2 REQUISITOS GENERALES PARA LA MATERIA PRIMA EN LA ELABORACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS

Según el Programa de Salud Ocupacional de la empresa Lácteos Andinos de Nariño Ltda¹¹. menciona que para elaborar productos lácteos de buena calidad, es condición fundamental que la materia prima principal, leche cruda, sea de buena calidad.

El concepto de calidad de la leche involucra los siguientes requisitos generales:

- La cantidad de microorganismos patógenos debe ser baja, reductasa mínimo 3 horas.
- Debe ser sana (exenta de gérmenes patógenos y proveniente de vacas sanas)
- Debe tener una composición normal.
- Densidad: 1029 d/ml.
- Grasa: 3,4%
- Neutralizantes negativos.
- Debe ser fresca (acidez normal) 0.120% 0.170%
- Debe ser pura, libre de materias extrañas (antibióticos, pesticidas, detergentes, desinfectantes, etc. Todos negativos.
- Debe tener una apariencia agradable, olor, sabor frescos y puros, propios de la leche.
- Debe ser enfriada o procesada tan rápidamente como sea posible después del ordeño, a 3℃.

Lacteos Andinos de Nariño. Programa de Salud Ocupacional. 1° ed. Pasto: Graficolor, 2001. p. 93

Para asegurarse que la leche tenga todas las características que significan buena calidad, hay que analizar la leche que llega a la planta y que se va a procesar. Para aplicar este control y evaluar así la calidad de la leche, es necesario establecer un criterio técnico basado en métodos seguros, precisos, rápidos y fáciles.

Los primeros análisis son pruebas rápidas de plataforma que sirven para decidir la aceptación o rechazo de la leche, también puede indicar si es necesario hacer análisis de laboratorio más exactos.

4.2.2 Densidad (Gravedad específica) Salgado¹², reporta que la densidad normal de la leche varía entre 1,029 a 1,033 d/ml a temperatura de 15⁰C, 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.

La densidad puede determinarse por medio de lactodensímetros. Existen diferentes tipos de lactodensímetros para determinar el peso especifico, vienen a las siguientes relaciones de temperatura así:

- 20%4℃.
- 20920℃.
- 15%4℃.
- 15%15℃.

Según el lactodensímetro utilizado, se puede expresar el peso especifico equivalente para diferentes condiciones de temperatura.

Materiales.

- Termolactodensímetro.
- Probeta de 250 ml.

¹² SALGADO, María Teresa. Texto Guía Análisis Físico – Químico Leches – Microbiológico de alimentos. 7ª ed. Manizales: Universidad Católica de Manizales, 1996. p. 45

Procedimiento.

- Transferir a una probeta con capacidad de 250 ml una cantidad de muestra (previamente homogenizada), que permita sumergir el lactodensímetro, evitando que se apoye por las paredes de la probeta y permitiendo que frote libremente. Se espera que la columna de mercurio se estabilice y se efectúe la lectura de la temperatura y de los grados lactométricos teniendo en cuenta de hacer la lectura por la parte superior del menisco que se forma.
- Efectuar la lectura después de 1 minuto de haber sumergido el lactodensímetro.

Interpretación

- La lectura debe efectuarse a 15℃, aceptándose una variación de más o menos 5℃ en la muestra.
- La corrección de la lectura se hace sumando 0.2 grados lactométricos por cada \mathbb{C} , que la leche esté por encima de 15 \mathbb{C} , y po r cada \mathbb{C} por debajo de 15 \mathbb{C} se restan 0.2 grados lactométricos a la lectura realizada en el lactodensímetro.
- 4.2.3 Grasa (método de Gerber) La grasa es uno de los componentes más importantes de la leche, debido a las características que imparte en esta y sus productos derivados, la grasa interviene directamente en la economía, nutrición, sabor y propiedades físicas de la leche y subproductos.

La grasa de la leche está en forma de góticas o glóbulos grasos, cada uno de estos posee un núcleo rodeado de triglicéridos y una membrana compleja formada por fosfolípidos y una proteína de membrana llamada heuglobulina, esta prueba se realiza para determinar el porcentaje de grasa que tiene la leche, se hace a todas las muestras que llegan a la planta todos los días, valores bajos de grasa se pueden atribuir a una alimentación baja en fibra del hato lechero y a factores genéticos.

Determinación del extracto seco desengrasado (E.S.D.) o sólidos no grasos (S.N.G.)

El E.S.D. está representado por todos los constituyentes sólidos de la leche, exceptuando la materia grasa.

Su determinación se puede hacer por métodos directos como es el someter la muestra a evaporación, método muy largo para llevar a cabo; y por métodos indirectos como es el calculo por medio de fórmulas conociendo la materia grasa y

densidad, o mediante el uso de lactómetro de Bertuzzi, el cual es un refractómetro previsto de 2 prismas; uno fijo y uno móvil, posee además un ocular y puede estar montado sobre un soporte con dispositivo de alumbrado por batería o por corriente, aunque es un instrumento óptico de precisión y de construcción sólida, se deben tener algunos cuidados en su manejo.

Procedimiento

- Limpiar bien el prisma del refractómetro con agua destilada.
- Colocar el refractómetro en el soporte, cubrir el prisma inferior con agua destilada a temperatura ambiente.
- Dejar caer suavemente la parte superior del prisma sin hacer presión, esperar un minuto.
- Encender la lámpara y hacer la lectura.
- Si la línea de separación de la zona clara y oscura se encuentra por debajo de cero, debe adicionarse esta lectura a cada resultado obtenido con la leche.
- Cuando la línea se encuentra por encima de cero, debe deducirse esta lectura del resultado obtenido con la leche.
- Secar bien el prisma con un trapo suave, teniendo cuidado de que no quede agua en la unión de las dos partes del prisma.
- Efectuar la misma operación con la leche bien homogeneizada y a temperatura ambiente.
- Hacer la corrección indicada anteriormente.

El resultado corregido corresponde aproximadamente al Extracto Seco Desengrasado, % m/v a 1 5°C.

Para obtener el E.S.D. % mlm, es necesario dividirlo por la densidad de la leche, en condiciones optimas el error es de +/- 0.2 %.

Calibración del refractómetro:

Colocar en el prisma solución salina a temperatura ambiente, debe obtenerse una lectura corregida de 9.0+1-0.2%.

Observaciones

- El agua destilada, la leche y el refractómetro deben estar a la misma temperatura ambiente.
- La muestra debe estar bien mezclada y deben haber transcurrido por lo menos 4 horas después del ordeño.

El valor del E.S.D. esta determinado en el decreto 617, en 8.8% m/m para la leche cruda entera, para consumo humano directo o bien para proceso o elaboración de derivados, como mínimo.

El lactómetro es un instrumento idóneo para saber si la leche analizada está adulterada con adición de agua, la cual es considerada como tal cuando su contenido de E.S.D. es inferior al mínimo de la zona (1 valor de E.S.D. es una valorada par alcanzar el punto de viraje de un indicador, la fenolftaleina que vira de incoloro a rosa tenue.

Fundamento. La leche se trata con ácido sulfúrico para digerir proteínas y por centrifugación se reúne la materia grasa en una capa clara que se evalúa cuantitativamente mediante una escala convencional.

Materiales

- Dosificador de 10 ml para ácido sulfúrico.
- Dosificador de 1 ml para alcohol amílico.
- Baño maría a 65 ℃.
- Pipeta volumétrica de 11 ml.
- Centrífuga Gerber.
- Butirómetros con tapones adecuados.

Reactivos

- Ácido sulfúrico libre de grasa. Densidad = 1820-1825 d/ml y 90-91% en peso.
- Alcohol isoamílico.

Procedimiento

- Muestra: Se coloca a temperar la muestra aproximadamente a 20℃, vertiéndola varias veces de un recipiente a otro.
- Dosificar 10 ml de ácido sulfúrico a un butirómetro Gerber previamente marcado, añadir lentamente 11 ml de la muestra y 1 ml de alcohol amílico, tapar y agitar hasta completar la disolución de la muestra, luego invertirlo totalmente 3 veces, mezclando el ácido contenido en el bulbo terminal.
- Centrifugar durante 5 minutos a 1200 rpm, llevar a baño maría a 65°C durante 3 minutos, mantener el nivel de agua sobre nivel de la columna de grasa del butirómetro.

Interpretación

- El número de ml, ocupados por la capa de grasa, da directamente el porcentaje de grasa en gramos.
- La lectura debe hacerse incluyendo los meniscos superior e inferior.
- 4.2.4 Determinación de acidez. Acidez es el poder de combinación de un ácido con una base, lo que habitualmente se conoce como acidez en la leche es el resultado de una valoración. Para ello se agrega a la leche el volumen necesario de solución alcalina.

El mismo autor manifiesta que la acidez normal de la leche está en un rango de 0.13% a 0.15 %, la acidez titulable de la leche es el resultado de la suma de su acidez natural debido a la riqueza de sólidos no grasos y a la acidez desarrollada, debido al ácido láctico como resultado de la acción microbiana, se realiza con el fin de determinar si la leche se encuentra ácida en el momento de la recepción en plataforma o en la ruta, con el fin de rechazarla si presenta mayor acidez de lo normal a causa de una mala rutina de ordeño, mal enfriamiento, o mal transporte.

La acidez de la leche puede expresarse en diferentes grados, tales como:

- Grados de acidez: Se expresa en gramos de ácido láctico por 100 ml/gr de leche o muestra.
- Grados Thorner (⁰1h): Son los mililitros de NaOH 0.1 N necesarios para neutralizar leche, utilizando fenolftaleina como indicador.
- Grados Dornic (⁰D): Son los ml de NaOH 1/9 N necesarios para neutralizar 100 ml de muestra o los ml de NaOH 0.1 N necesarios para neutralizar 9 ml de leche o

muestra, multiplicados por 10.

Para convertir en porcentaje (%) de acidez como ácido láctico se utiliza la siguiente fórmula:

⁰Tli = Se multiplica por 0.009.

⁰D = Se dividen por 100.

Análisis prueba de alcohol

Materiales

- Dosificador Néurex.
- Agitador para cantinas.

Reactivos

Alcohol industrial a 80°GL.

(Debe controlarse frecuentemente la concentración del reactivo para establecer una posible evaporación)

Procedimiento

- Agitar bien la muestra (cantinas), introducir la punta del tubo del dosificador Neurex a la leche, sacarla verticalmente, dar un giro de 180° al aparato y dejar caer 2 ml de leche en la capa situada en la parte inferior, hacer girar la placa dosificadora ¼ de vuelta y dejar caer 2 ml de alcohol.
- Mezclar la leche con el alcohol cuidando de no agitar demasiado, observar el aspecto de la mezcla.

Interpretación

- Con la leche normal, la leche se desliza a lo largo de las paredes sin dejar rastros de grumos.
- Con la leche ácida, se forman grumos más o menos espesos de caseína y albúmina precipitada.

En el laboratorio para la determinación de acidez se utiliza el siguiente procedimiento:

- Acidómetro, con divisiones de 0.05-0.1 ml
- Pipeta 9 ml
- Vaso plástico blanco de capacidad aproximada de 200 ml

Reactivos

Solución valorada de hidróxido de Sodio 0.1N libre de carbonatos.

Procedimiento

- Mezclar vertiendo toda la muestra de un recipiente a otro tres veces como mínimo.
- Colocar en el vaso plástico 9 ml de la muestra, agregar 5 gotas de la solución indicadora de fenolftaleína, titular con la solución de hidróxido de Sodio, agitando permanentemente la muestra hasta observar la aparición de un color rosado tenue.

Interpretación

- Dividir por 10 el número de ml de hidróxido de Sodio (NaOH) gastados y reportar el resultado como porcentaje de acidez.
- Porcentaje (%) ácido láctico aceptado: 0.14 0.16%.
- Porcentaje (%) ácido láctico para rechazo leche: > 0.19%.

4.3 SUSTANCIAS EXTRAÑAS EN LA LECHE

Salgado¹³ afirma que son sustancias no nutritivas que al ser agregadas a la leche en forma voluntaria o involuntaria, tienen como propósito atenuar o impedir la aparición de alteraciones físicas o químicas de origen microbiano, con afines fraudulentos, para ello se realizan las siguientes pruebas en laboratorio:

4.3.1 Neutralizantes. Estos pueden ser neutralizantes alcalinos, como el hidróxido de Sodio (NaOH), hidróxido de Potasio (KOH), bicarbonato de Sodio (NaHCO₃),

¹³ Ibid., p.45

carbonato de Sodio (Na₂CQ₃), Cal (CaO), jabones alcalinos y orina, que neutralizan el ácido láctico a medida que se forma.

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

4.3.2 Prueba de alisarol.

Materiales

- Tubos de ensayo.
- Pipetas de 5 ml
- Gradilla.

Reactivos

Solución alcohólica de alizarina al 1% (en alcohol al 70%)

Procedimiento

• En un tubo de ensayo colocar 2 ml de la muestra bien mezclada, agregar 3 ml de la solución de alizarina y agitar suavemente.

Interpretación

- Amarillo bruma ácido.
- Lila o violeta básico.

Técnica

Técnica de ácido resólico.

Materiales

- Tubos de ensayo.
- Pipetas de 1 y 2 ml

• Gradilla.

Reactivos

Ácido resólico al 0.1% en alcohol de 70 GL.

Procedimiento

- Tomar 2 ml de muestra.
- Agregar 0.2 ml de ácido resólico al 0.1%.
- Agitar contra la palma de la mano.

Interpretación

- Amarillo fuerte ácido.
- Fucsia básico.

Técnica

Prueba confirmatoria

Materiales

- Tubos de ensayo.
- Mechero

Reactivos

- Solución de oxalato de Potasio al 30%.
- Solución de fenolftaleína al 2% en alcohol etílico de 95°GL.

Procedimiento

- Tomar 5 ml de muestra.
- Calentar hasta lograr su ebullición durante tres minutos con agitación.

- Enfriar, agregar 5 gotas de la solución de oxalato de Potasio, agitar bien y agregar 5 gotas de la solución de fenolftaleína sin agitar. Interpretación
- Blanco normal.
- Rosado fuerte básico.
- 4.3.3 Peróxido. El peróxido de Hidrógeno 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.

Materiales.

- Tubos de ensayo de 16 x 150 mm
- Pipetas de 10 ml

Reactivos.

• Solución de pentóxido de Vanadio al 1% en ácido sulfúrico diluido.

Procedimiento.

• En un tubo de ensayo colocar 10 ml de muestra y 10 a 20 gotas de reactivo, observar el color.

Interpretación.

- Color curuba indica presencia de agua oxigenada.
- La aparición de un color rojo es positivo, si es de color amarillento la prueba es negativa a peróxidos.

4.4 ADULTERANTES

4.4.1 Identificación de harinas y almidones.

Materiales

- Tubos de ensayo de vidrio refractario.
- Mechero.
- Recipiente con agua hielo.

Reactivos

Solución de yoduro de Potasio.

Procedimiento

- Colocar en un tubo de ensayo 5 ml de muestra, hervir y enfriar en el agua con hielo.
- Agregar 5 gotas de reactivo.

Interpretación

- Color azul positivo a harinas y almidones.
- Color amarillento negativo a harinas y almidones.
- 4.4.2 Identificación de peróxido o agua oxigenada.

Materiales

- Tubos de ensayo.
- Gradilla.

Reactivos

• Solución de pentóxido de Vanadio al 1% en ácido sulfúrico diluido (6 ml de ácido sulfúrico a 94 ml de agua)

Procedimiento

- Colocar en un tubo de ensayo 10 ml de muestra, agregar 10 − 20 gotas de reactivo.
- Observar el color.

Interpretación

- Color curaba (salmón) positivo a peróxido.
- Color amarillento negativo a peróxido.
- 4.4.3 Identificación de formol o formaldehído.

Materiales

- Tubos de ensayo de vidrio refractario.
- Mechero.

Reactivos

- Solución de cloruro férrico al 1% recién preparado.
- Solución diluida de formaldehído (diluir 1 gota de solución de formaldehído del 38 al 40% en 100 ml de agua.

Procedimiento

• Colocar 3 ml de la muestra en un tubo de ensayo, agregar tres gotas de cloruro férrico al 1%; agitar, por las paredes del tubo, agregar con cuidado sin que se mezcle con la leche, 2 ml de ácido sulfúrico.

Interpretación

- Color Amarillo violeta positivo a formol o formaldehidos.
- Color blanco negativo a formol o formaldehídos

4.4.4 Identificación de sacarosa.

Materiales

- Tubos de ensayo.
- Probeta de 10 ml
- Baño maría a 50 ℃.
- Termómetro.

Reactivos

- Solución de bilis de buey al 2%.
- Ácido clorhídrico de 37%.

Procedimiento

- En un tubo de ensayo colocar 4 gotas de leche, 4 gotas de solución de bilis de buey y 3 ml de ácido clorhídrico (medida con una probeta)
- Mezclar, colocar en baño maría a 50℃ en 5 minutos.

Interpretación

- Color violeta positivo a sacarosa.
- Color rojizo tenue negativo a sacarosa.

4.4.5 Identificación de cloruros.

Materiales

- Tubos de ensayo.
- Pipetas de 1 y 5 ml
- Frasco gotero.

Reactivos

- Solución de nitrato de Plata (concentración 1.3415 gr / litro)
- Solución de cromato de Potasio al 10%.

Procedimiento

- Colocar en un tubo de ensayo 5 ml de nitrato de Plata, agregar 2 gotas de solución de cromato de Potasio.
- Agitar y adicionar 1 ml de muestra y mezclar.

Interpretación

- Amarillo canario. NaCl > 2.3 g/l
- Rojo ladrillo. NaCl < 2.3 g/l
- 4.4.6 Identificación de hipocloritos (en suero)

Materiales

Tubos de ensayo.

Reactivos

- Ácido acético glacial.
- Solución yoduro de Potasio al 30%.
- Almidón solubilizado al 1%.

Procedimiento

• En un tubo de ensayo colocar 2 ml de suero de leche para análisis; Adicionar con cuidado y por las paredes del tubo (evitando mezclar las capas), 1 ml de ácido acético glacial, 0.5 ml de solución de yoduro de potasio al 30% y 0.5 ml de almidón solubilizado al 1%; Sin mezclar, dejar reposar el tubo durante 5 minutos.

Interpretación

- Anillo azul violeta positivo a hipocloritos.
- Negativo a hipocloritos
- 4.4.7 Identificación de hipocloritos cloraminas y dióxido de Cloro.

Materiales

- Solución de yoduro de potasio. Disolver 7gr de yoduro de Potasio en 100 ml de agua destilada, preparar cuando se vaya a usar.
- Ácido clorhídrico diluido: (A 100 ml de ácido clorhídrico), agregar 200 ml de agua destilada.
- Solución de almidón, hervir 1 gr de almidón soluble en 100 ml de agua destilada.
- Enfriar antes de usar.

Procedimiento

- Prueba A: colocar 5 ml de leche en un tubo de ensayo y agregar 1.5 ml de solución de yoduro de Potasio, mezclar por agitación.
- Anotar el color de la leche.
- Prueba B: si no cambia el color de la leche, agregar 4 ml de ácido clorhídrico diluido, mezclar bien con una varilla de vidrio de extremo romo y observar el color de la cuajada.
- Prueba C: colocar los tubos en baño maría a 85℃ y dejar en reposo 10 minutos (durante este tiempo la cuajada sube a la superficie), enfriar rápidamente, anotar el color de la cuajada.
- Prueba D: agregar de 0.5 10 ml de solución de almidón al líquido que está debajo de la cuajada y observar el color.
- 4.4.8 Peróxidasa. Esta enzima debe estar presente en leche pasteurizada, por lo tanto la prueba es específica de esta leche ya que es una enzima que se inactiva a 80 °C, por lo tanto la pasterización a altas temperaturas la destruye totalmente, la lactoperóxidasa catalizada la conversión del peróxido de Hidrógeno liberando

Oxígeno activo, que puede combinarse con diferentes sustancias como guayacol, parafenilendiamina, hidroquinona, etc.

Materiales

- Tubos de ensayo.
- Pipetas de 5 ml
- Gradilla.

Reactivos

- Solución de guayacol (la solución debe ser incolora, conservar en frasco ámbar en nevera)
- Solución de agua oxigenada al 0.3% recientemente preparada.
- (Conservar el reactivo en frasco ámbar en nevera)

Procedimiento

- En un tubo de ensayo colocar 3 ml de leche preparada.
- Agregar 10 gotas de la solución de guayacol.
- Agitar.
- Esperar un minuto.
- Observar el color.
- Agregar 5 gotas de la solución de agua oxigenada.
- Observar el color.

Controles:

- Negativo: leche hervida durante 2 minutos.
- Positivo: leche cruda fresca.

Muestra:

- La leche debe mezclarse bien, estar a una temperatura entre 20 y 30 ℃ y no estar acidificada.
- 1. Si en el lapso comprendido entre la adición del primero y segundo reactivo aparece una coloración curuba, indica la presencia de agua oxigenada y de peroxidasa.
- 2. Si después de la adición del segundo reactivo aparece por debajo de la superficie de la leche un anillo de color curuba, indica la presencia de peroxidasa.
- 4.4.9 Cloraminas. Se hace con el fin de identificar hipocloritos, cloraminas y dióxido de Cloro.

Materiales.

• Tubos de ensayo de 16 x 150 mm

Reactivos.

- Solución de yoduro de Potasio al 7%.
- Ácido clorhídrico.
- Solución de almidón.

Procedimiento.

- Etapa I. A 5 ml de leche agregar 1,5 ml de solución de yoduro de Potasio en un tubo de ensayo, agitar bien y tomar nota del color amarillo de la leche.
- Etapa II. Si el color no cambia agregar 4 ml de ácido clorhídrico diluido, mezclar bien y observar el color de la cuajada.
- Etapa III. Colocar el tubo a baño maría calentado previamente a 85^oC y dejar en reposo durante 10 minutos (la cuajada sube a la superficie durante este lapso), enfriar rápidamente en agua, anotar el color de la cuajada y el líquido.
- Etapa IV. Agregar al líquido por debajo de la cuajada 0.5 al 1 ml de solución de almidón y observar el color.

Interpretación.

- Color azul violáceo positivo a cloraminas o agua oxigenada (descartar por la prueba de peróxidos)
- Color blanco: Negativo a cloraminas.
- 4.4.10 Cloruro. El mismo autor manifiesta que la leche tiene normalmente cierta cantidad de cloruros (principalmente en la última etapa de lactancia), esta prueba sirve para reconocer la adición de sal a la leche lo que se hace con el fin de "aguarla" sin disminuir su densidad pero si alterando los sólidos no grasos, la sal también se agrega a la leche como antiséptico.

Reactivos

- Solución de nitrato de Plata de concentración 1.3415 g/litro.
- Solución de cromado de Potasio al 1 % m/v.

Procedimiento

• En un tubo de ensayo colocar 1 ml de leche, 5 gotas de indicador de cromato de Potasio y añadir 6 ml de solución de nitrato de Plata y mezclar.

Interpretación.

- Color marrón. Indica que no hay adición de cloruros.
- Color rojo ladrillo. Indica que la cantidad de cloruros en leche es inferior a 2.3 g/litro.
- Color amarillo canario. Indica que la cantidad de cloruros en leche es igual o mayor a 2.3 g/litro, la muestra es sospechosa de haber sido adicionada con cloruros.

4.4.11 Fosfatasa

Materiales

- Tubos de ensayo de tapa rosca.
- Pipetas de 1 y 5 ml

- Baño maría a 37 ℃.
- Gradilla.

Nota:

Toda la vidriera debe estar completamente limpia y libre de fenol (cauchos, humo de cigarrillo, detergentes que contengan fenoles)
Se deja enjuagar con agua destilada.
Después de secar se debe proteger del polvo.

Reactivos

Solución tampón:

- Carbohidrato de Sodio, 3.5 gr
- Bicarbonato de Sodio, 1.5 gr
- Agua destilada, 1000 ml

Substrato tampón

• Colocar 0.15 gr de p-nitrofenil fosfato disódico, en un balón volumétrico de 100 ml y completar a la marca con solución tampón, este reactivo puede conservarse hasta una semana en nevera y protegido de la luz; desechar la solución si está ligeramente coloreada.

Procedimiento:

- Colocar 5 ml de la solución de substrato tampón en un tubo de ensayo, tapar y llevar a 37℃ en baño maría (aproximadamente dura nte 3 minutos)
- Agregar 1 ml de leche, tapar y mezclar bien, incubar por 2 horas a 37℃, luego retirar los tubos del baño maría y observar inmediatamente el color.

Controles:

• Negativo: Colocar en un tubo de ensayo 5 ml de leche, calentar a 90℃ durante un minuto, agitando cuidadosamente para asegurar una completa inactivación de la fosfatasa.

• Positivo: Tomar 100 ml de leche previamente calentada a 90℃ durante un minuto y enfriarla rápidamente, adicionar 0.1 ml de leche cruda fresca.

Interpretación:

- Color blanco negativo a fosfatos.
- Color amarillo intenso positivo a fosfatos.

4.5 REDUCTASA

La reducción (decoloración) del azul de metileno en leche es una de las técnicas mas usadas para calcular el contenido de bacteria de la leche, estableciendo una relación entre la población bacteriana presente en la muestra y el tiempo necesario para que el colorante azul de metileno sea reducido en la leche en una forma incolora este es directamente proporcional al contenido de microorganismos y células (leucocitos) de la misma, se recurre al azul de metileno, por tener esta tintura la ventaja de no combinarse con la caseína de la leche y de ser fácilmente absorbible por las células, los ácidos retardan la reducción y los álcalis la facilitan (leche mastítica), esta prueba se la realiza para determinar la calidad higiénica de la leche, antes, durante y después del ordeño.

Materiales.

- Frasco de vidrio de 50 ml esterilizado y con tapa.
- Baño maría a 37⁰C.
- Pipeta de 1ml
- Pipetas de 10 ml estériles.
- Tubos taparosca.
- Gradillas de lámina metálica.

La muestra debe ser tomada asépticamente de las cantinas, previamente agitadas.

Procedimiento

- Con una pipeta transferir a cada tubo 10 ml de muestra y agregar 1 ml de la solución de azul de metileno.
- Cada tubo se tapa y se mezcla por inversión 2 veces, se lleva a baño maría 37°C y a partir de este momento se anota la hora como la del comienzo de la incubación. La primera observación se hace a los 20 minutos.

Resultados.

• Durante la incubación observar los cambios de color, por ejemplo si una muestra se decoloriza a los 30 minutos; ya sea para leche fría (de ordeño de la tarde) o tibia (del ordeño de la mañana), indica un alto contenido de bacterias presentes en la leche.

4.6 ANTIBIOTICOS

Se realiza con el fin de detectar la presencia de productos farmacológicos en la leche.

4.6.1 Delvotest. Esta prueba se utiliza para identificar inhibidores que existen en leche, ya que estos interfieren con el procesamiento de todos los derivados lácteos y el consumo prolongado de dichas sustancias provocaría resistencia a los antibióticos por bacterias que afectan al organismo humano.

La prueba es muy sensible a los antibióticos o a cualquier otra sustancias inhibidoras, debe evitarse toda contaminación con tales sustancias.

Procedimientos

- Colocar para cada muestra de leche una ampolla en una bandeja (gradilla) que se pueda meter en el baño maría.
- Abrir una ampolla e introducir una tableta nutritiva en el medio sólido.
- Aplicar la pipeta de un solo uso a la jeringa dosificadora.
- Oprimir el émbolo e introducir el extremo de la pipeta mas o menos 1 cm en la muestra de leche a examinar.

- Depositar la muestra de leche de la pipeta (0.1 ml) en ampolla sobre el medio de cultivo y la tableta.
- Utilizar para cada muestra de leche una pipeta nueva.
- Incubar la ampolla a baño maría a 50℃ (+- 0.5 °C)

Los resultados se puede leer después de 3 horas de incubación. Interpretación

- Color amarillo del medio sólido. Indica que los resultados de antibióticos y/o sulfonamidas no sobrepasan el límite de detección (negativo) a la prueba de antibióticos.
- Color púrpura. Indica que los residuos de antibióticos y/o sulfonamidas sobrepasan el límite de detección (positivos)
- Color parcialmente amarillo y purpúreo del medio sólido indica que contiene residuos de antibióticos y/o sulfonamidas en una concentración próxima al límite de detección. Los límites de detección de la prueba se anotan a continuación en ppb partes por billón.

Penicilinas 2.5 ppb.

Cloxacilina 25 ppb.

Tetraciclina 300 ppb.

Sulfadimidina 100 ppb.

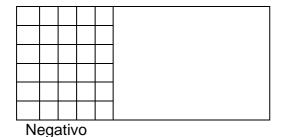
Se debe tener en cuenta que la prueba da falso o negativo para gentamicina.

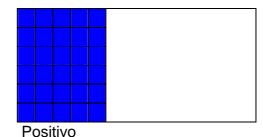
Procedimiento

- Se agrega la muestra en el tubo del kit, se coloca sobre éste y se deja incubar hasta alcanzar una temperatura de 45°C durante 5 minutos, luego se añade la muestra por el orificio posterior y se oprime el activador en la ventana, el resultado se observa 5 minutos después.
- 4.6.2 Snap betalactámicos. Compuesto por una enzima receptora, se utiliza para detectar antibióticos, como la penicilina, amoxicilina, cefalosporinas y otros inhibidores que alteren el normal procesamiento de la leche y que afecten la salud humana.

Interpretación

- Si la ventana superior se tiñe de un azul intenso, el resultado es negativo a betalactámicos.
- Si la ventana inferior se tiñe de un azul más intenso, el resultado es positivo a betalactámicos.





4.7 DEFINICION DE MASTITIS

Hazard afirma que: "la palabra mastitis etimológicamente deriva del griego: "mastos" que significa pechos, e "itis" inflamación de ..., en otras palabras, la mastitis es una inflamación de la ubre" ¹⁴

Blood y otros¹⁵ establecen que: el término mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria independiente de la causa. Se caracteriza por alteraciones físicas, químicas y casi siempre bacteriológicas de la leche y por modificaciones patológicas del tejido glandular. Además, considera que es práctico definir la mastitis como una enfermedad caracterizada por la presencia de cantidad de leucocitos en la leche procedente de las glándulas enfermas, resaltan también que la enfermedad se define según la cantidad de Cloro y Sodio en la leche, la conductividad eléctrica y la cantidad de seroalbúmina en ella.

Para Nickerson¹⁶, la mastitis es una inflamación de la ubre que tiene lugar cuando las bacterias pasan a través de los conductos de pezones y lesionan los tejidos productores de leche, dando lugar a una movilización de glóbulos blancos de la sangre a la leche y una disminución en la producción láctea.

 $^{^{14}}$ HAZARD, T.S. Que es la Mastitis y como prevenirla. Investigación y Progreso Agropecuario. 2° ed. Chile: Carittanca, 1.986.p. 18

¹⁵ BLOOD, D.C, RADOSTITS, OM.M. y HENDERSON, J.A. Medicina Veterinaria. Interamericana. p. 537

¹⁶ NICKERSON, S. Calidad de Leche. 3°ed. México: Interamericana, 1999. p. 45

La incidencia de la enfermedad tiene un comportamiento variable, pero en los casos individuales se define como clínicos o subclínicos.

4.7.1 Agentes Causales. Según Rodríguez¹⁷, se han relacionado muchos agentes infecciosos como causa de la mastitis, siendo los mas comunes: Escherichia coli; llegando a ser una causa significativa en ganado estabulado, principalmente en los países con variaciones climáticas pronunciadas.

Así mismo, este autor encontró hatos de la sabana de Bogotá en donde la mayor causa de mastitis subclínica era Streptococcus agalactiae, seguido en su orden por Staphylococcus aureus

De los Ríos y Portilla¹⁸, encontraron que los agentes causales de mastitis en la sabana de Túquerres, Guachucal y Cumbal fueron, Streptococcus sp Staphylococcus sp. Escherichia coli y Corynebacterium, en una proporción de 52.23%, 38.05%, 5.97% y 3.73% respectivamente.

Según Alais, "los gérmenes causantes de la mastitis en orden decreciente son: Steptococcus agalactiae. Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae. Streptococcus zooepidemicus, Staphylococcus y diversos gérmenes como algunas enterobacterias (E. coli, Klebsiella), Corynebacterium pyogenes, Pseudomonas" 19

4.7.2 Prueba de conductividad eléctrica. Otra prueba utilizada para la detección de mastitis a nivel de campo, es la que se hace por medio de la determinación de conductividad eléctrica de la leche.

Blood y otros²⁰, aseguran que la prueba química que ha recibido mayor atención es la que se basa en el aumento de los iones de Sodio y Cloruro y el incremento consecuente de la conductividad eléctrica que se observa en la leche de los animales mastíticos. Las alteraciones químicas son las primeras en aparecer en la leche afectada, por eso la prueba es atractiva e interesante.

²⁰ BLOOD, D.C, RADOSTITS, O.M. y HENDERSON, J.A. Op. Cit. p.542

¹⁷ RODRIGUEZ MARTINEZ, G. La Mastitis Bovina y el Potencial para el Control en la Sabana de Bogotá. Tesis: Ph.D. Reading. Inglaterra. Departamento de Agricultura y Horticultura. 1.987. p. 82

¹⁸ DE LOS RIOS, J.I. Y PORTILLA, H. Causas de Mastitis. 1°ed. Bogota: Panamericana, 2001. p.

¹⁹ ALAIS, Ch. Op. cit. p. 59

Andrade²¹, afirma que la concentración de los iones de sodio y cloruro se incrementan en la leche como resultado de la destrucción del tejido glandular. Estos daños pueden ser detectados por cambios en la conductividad eléctrica de la leche, revelándose como un indicador muy sensible a la mastitis.

En 1987, Andrade²² detectó la mastitis por medio de la conductividad eléctrica con ayuda del detector de mastitis AHI, consistente en un aparato con aspecto de linterna de 25 cm de largo que posee en la base superior la copa de prueba provista de 2 electrodos (positivo y negativo), donde se deposita la leche, en la parte media presenta dos luces testigo (roja y verde) y un anillo giratorio que sirve para encender, el aparato funciona a base de pilas de 9 vatios.

Al aplicar la prueba el encendido de luz testigo o piloto con base en el color o colores determinará los distintos originados en la conductividad de la leche, el encendido indica el cambio de la siguiente manera:

• Campo I: luz verde (V)

Campoll: luz verde – roja (V – R)

Campo III: luz roja (R)

En la glándula mamaria los cuartos sin infección tendrán un nivel de conductividad que pueden encontrarse en el campo 1 y en el campo 2.

Una luz roja campo III indica un nivel alto de conductividad el cual indica un cierto grado de infección.

Para Cotrino y Gaviria, manifiesta que:

existen tres requisitos básicos que definen la calidad de la leche cruda; el recuento de bacterias Mesofilas Aerobias con un valor de <100.000 ufc por ml que actúan como indicadores de la cadena higiénica, el recuento de células somáticas (cs) con lo menos de 450.000 por ml, que indica la cantidad de cuartos afectados de mastitis clínica o subclínica en el hato y la ausencia de residuos de antibióticos, estos parámetros están íntimamente ligados y las medidas que se tomen para el control de una variable inciden en las otras, siendo así que, cuando se tiene una buena

²¹ ANDRADE, C. Op. cit. p. 25

²² Ibid., p. 36

rutina de ordeño, se controla la mastitis, se obtiene leche de buena calidad bacteriológica y se disminuye la utilización de antibióticos²³.

El mismo autor manifiesta que:

cuando hay mastitis en un hato se tienen los siguientes problemas; un mayor número de bacterias en la leche, porque los microorganismos que están produciendo la infección se eliminan en la leche y después del ordeño tienen la capacidad para multiplicarse en ella y estos se comportan como alteradores de la leche cruda, una menor capacidad productora ya que el tejido mamario afectado pierde capacidad para producir leche y todo cuarto afectado de mastitis reduce su producción en un porcentaje variable, de acuerdo con la gravedad y la extensión de la lesión, pudiendo llegar a la perdida total, lo grave es que esta perdida se da en toda la lactancia, cuando se presenta el caso, y se extiende a las otras lactancias, puesto que el tejido glandular lesionado es reemplazado por tejido no reproductivo, menos leche entregada, ya que se considera que un hato que entregue leche con menos de 200.000 cs por ml tiene menos de 5% de los cuartos afectados de mastitis y que su producción no se ve afectada en forma significativa, a partir de este punto el incremento de cada 100.000 cs por ml significa un 2.5 % menos de leche producida y entregada, en la sabana de Bogotá un estudio en 1.100 fincas mostró un promedio de 700.000 cs por ml, lo que representa una disminución en la producción del orden del 15% sobre los 650.000 litros diarios que entregaban, este 15% les represento dejar de vender 150.000 litros de leche al día por un valor hoy de \$69.000.000 de pesos.

Menor calidad composicional de la leche entregada, la glándula mamaria afectada de mastitis pierde la capacidad para elaborar los componentes normales de la leche, teniendo menor concentración de caseína, la proteína mas importante en la industria, ya que es la responsable en la formación de cuajada, menor cantidad de calcio, lo que aumenta el tiempo de coagulación y los productos elaborados tienen menor tiempo de duración en el mostrador, como producto de incremento de las enzimas proteolíticas.

Otros gastos atribuibles a la mastitis son los costos de antibióticos para los tratamientos, la asistencia profesional, la eliminación de leche por tener residuos de antibióticos y la venta prematura de animales por su baja producción, en todo esto la mastitis es considerada en todo el mundo como la enfermedad más costosa del hato lechero, con un 70% de las

²³ COTRINO, Victor y GAVIRIA, Blanca Cecilia. Mastitis Calidad de Leche. En: Carta Fedegan. Bogotá. Vol V. N°2. (Julio 2003). p. 12

perdidas atribuidas a la disminución en producción de leche y el resto a los costos por medicamentos y servicios profesionales.

La presencia de residuos de antibióticos en leche se presentan cuando se usan estos medicamentos para el tratamiento de cualquier tipo de enfermedad y sin tener en cuenta el tiempo de retiro, el cual se debe interpretar como el número de días durante los cuales no se puede vender la leche para consumo humano, desde el momento en que se termina el tratamiento hasta que se cumpla el tiempo estipulado, el cual es muy variable según el principio activo utilizado.

En la mayoría de países la falta más grave que puede cometer un productor, es entregar la leche con residuos de antibióticos pues, además de perder la leche que entrega, debe responder también por la que se contamina al mezclarla²⁴.

- 4.7.3 Técnicas de laboratorio. Según el manual de procedimientos y diagnósticos de Koneman y otros²⁵ para un óptimo aislamiento se realizan cultivos de las muestras obtenidas en los diferentes medios primarios.

 Medios primarios.
- Agar Sangre => Promueve el desarrollo de la mayoría de las bacterias, además sirve para observar hemólisis.
- Agar Mac Conkey => promueve el desarrollo de las bacterias gramnegativas.
- 4.7.4 Esquema de identificación de cocos grampositivos. En el grupo de los cocos grampositivos son considerados básicamente dos géneros
- Staphylococcus.
- Streptpcoccus.

Estas bacterias desarrollan bien en agar sangre, mediante coloración de Gram se observan como esferulas, violetas que presentan la formación de rácimos en el caso de Staphylococcus y en pares o cadena en el caso de los Streptococcus.

.

²⁴ Ibid., p. 30

²⁵ KONEMAN, ALLEN, DOWELL y SOMMERS. Diagnóstico Microbiológico. 1°ed. Buenos Aires: Panamericana, 1.987. p. 35

Identificación del género Staphylococcus. Las colonias que se desarrollan en el agar sangre son grandes, elevadas, opacas.

Entre las pruebas a realizar para la identificación de los microorganismos del género Staphylococcus están:

- Prueba de Catalasa. Staphylococcus descomponen el peroxido de Hidrógeno.
- Prueba de Coagulasa. Es una de las pruebas mas antiguas, considerada como uno de los mejores criterios para la identificación de Staphylococcus patógeno.
- Fermentación de Agar Manita Salada. Staphylococcus aureus en contraste con Staphylococcus epidermidis fermenta el manitol con producción de ácido.

El Agar manita salada constituye un medio altamente selectivo para el aislamiento de Staphylococcus aureus

4.7.5 Identificación de microorganismos del género Streptococcus. Los microorganismos pertenecientes a éste género pueden crecer en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, son catalasa negativos, forman colonias pluniformes, en el agar sangre, las cuales presentan variada actividad hemolítica.

La presencia o ausencia de hemólisis es una de las características que se utilizan para establecer una clasificación de este género.

La hemólisis producida sobre los glóbulos rojos. Pueden ser:

Beta => Streptococcus pyogenes y Streptococcus agalactiae Algunos Enterococcus, Streptococcus grupo F, 6

Alfa => Enterococcus, Streptococcus grupo viridans

Gamma => Enterococcus

Streptococcus grupo viridans y algunos Streptococcus agalactiae

Las pruebas mas utilizadas para la identificación de microorganismos del género Streptococcus son:

Prueba de susceptibilidad a la bacitracina. Esta prueba es útil para la identificación presuntiva de Streptococcus pyogenes, ya que este es un inhibido por bajas concentraciones de bacitracina de 0.02 a 0.04 unidades.

Prueba de CAMP. La prueba ha sido utilizada a través del tiempo para identificación de Streptococcus agalactiae. El factor CAMP es una sustancia extracelular producida por Streptococcus agalactiae que intensifica la lisis de glóbulos rojos producida por Staphylococcus aureus Beta Lisina positiva.

Prueba de bilis esculina. Es una de las pruebas preliminares para la identificación de los Enterococcus y tienen la capacidad de hidrolizar la esculina en presencia de La bilis.

Prueba de Tolerancia al NaCl 6.5%. Mediante esta prueba se diferencian fácilmente a los Enterococcus de los Streptococcus del grupo vidrians: los primeros resisten y pueden crecer en medios que contengan NaCl 6.5 mientras los segundos no crecen.

Esquema de identificación de microorganismos gramnegativos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. La morfología observada mediante la coloración de Gram no es útil para separar las Enterobacterias de otros bacilos gramnegativos.

En el agar sangre se desarrollan colonias de color gris opaco, pueden ser secas o mucoides.

Identificación bioquímica de especies.

La clasificación de las Enterobacterias está basada principalmente en la determinación de la presencia o ausencia de diferentes enzimas que guían el metabolismo de la bacteria.

Los substratos sobre los cuales estas enzimas pueden actuar son incorporados a un medio de cultivo junto con un sistema indicador que detectará la declinación del substrato o la presencia de productos metabólicos específicos, entre las reacciones bioquímicas mas frecuentes están:

- Citrato Simons Que se basa en la utilización de citrato por una bacteria como la única fuente de carbono mediante la formación de subproductos alcalinos.
- \bullet TSI. A través del medio triple azúcar de hierro se visualiza la utilización de hidratos de carbono; glucosa, lactosa y sacarosa, mediante la fermentación del medio., también se visualiza la producción de gas y H_2O
- Descarboxilasas. Son un grupo de enzimas y substratos específicos capaces de actuar sobre la porción carbóxilo de aminoácidos, con la producción de aminas de reacción alcalina. En la reacción de descarboxilación se produce dióxido de carbono como producto secundario, cada descarboxilasa es específica para cada

aminoácido, lisina, ornitina y arginina, en caso de las enterobacterias produce las siguientes aminas específicas:

- Lisina cadaverina
- Ornitina Putrescina
- Arginina citrulina
- . Urea. La ureasa es una enzima que poseen muchas especies de microorganismos, que pueden hidrolizar la urea para producir amoniaco, agua y Co_2

O
$$| \ |$$
 NH₂ C NH₂ + 2HOH CO₂ H₂O 2NH₃ (NH₄) CO₂ Ureasa

El amoniaco reacciona en solución para formar carbonato de amonio produciéndose una alcalinización que aumenta el pH del medio.

- Movilidad. La movilidad bacteriana es otra característica importante en la identificación final de una especie, las bacterias se mueven por medio de los flagelos.
- Producción del sulfuro de hidrógeno. Mediante esta prueba se determina la capacidad de ciertas bacterias para liberar azufre de aminoácidos y otros compuestos que lo contienen.
- Indol. El Indol es un producto de degradación metabólica del aminoácido triptófano; las bacterias que poseen la enzima triptofanasa son capaces de hidrolizar y de desaminar el triptófano con producción de indol, ácido pirúvico y amoniaco.
- Rojo de Metilo. Es una prueba cuantitativa para la producción de ácidos y requiere la producción de ácidos fuertes (láctico, acético, fórmico), a partir de la glucosa por vía fermentativa.
- Prueba de Voges Proskauer. El ácido pirúvico componente fundamental formado en la degradación fermentada de la glucosa, es metabolizado a través de varias vías de acuerdo con los sistemas enzimáticos que poseen las diferentes bacterias uno de los productos es la acetoina de reacción neutra. En presencia de oxígeno atmosférico y de hidróxido de potasio al 40% la acetoina se convierte en diacetilo y, el alfa Naftol actúa como catalizador para revelar un color rojo.

Sistemas comerciales de identificación microbiana. La introducción de sistemas comerciales de identificación microbiana a partir de la década de 1960 facilita la reacción de las pruebas bioquímicas. La disponibilidad de medios deshidratados permitió a varios laboratorios la oportunidad de preparar una gran variedad de medios de cultivo inmediatamente antes de su uso, con sólo agregar agua a una porción de polvo desecada.

El uso de medios deshidratados, permite que los resultados obtenidos en diferentes laboratorios se pueden comparar en forma significativa; además, de ser estructuras compactadas que requieren poco espacio.

Existen varios sistemas comerciales de identificación rápida entre los cuales tenemos:

- Enterotube. Es un tubo de plástico en forma de lápiz que esta dividido en compartimientos y contiene ocho medios convencionales.
- Api 20 E. Consta de una tira plástica con 20 minitubulos que contienen sustratos deshidratados y una cámara de incubación con tapa no hermética. En la parte superior de cada túbulo, hay un pequeño orificio a través del cual se pueden inocular la suspensión bacteriana con una pipeta.

Sensibilidad bacteriana. Según Ordoñez²⁶ existen diversos métodos para determinar la sensibilidad bacteriana a las drogas antibacterianas, pero el mas conocido y utilizado por mucho tiempo es el antibiograma por difusión en agar, el que fue descrito por primera vez por Anderson en 1.961 y más tarde estandarizado por Bauer y Kirby en 1966.

Esta técnica tiene aplicación en microorganismos comúnmente aislados de crecimiento rápido miembro pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, Staphlococcus y Streptococcus. Para desarrollar este método se ha seleccionado como medio de cultivo el agar Muller Hinton. Este método es cualitativo, no cuantitativo; la interpretación de las zonas de inhibición se hace de acuerdo al diámetro de la misma donde no ha crecido la bacteria, la cual se mide con una reglilla por la parte dorsal de la caja; siempre pasando por la mitad del disco.

Además, se debe tener presente la concentración del disco y el germen aislado, por ello, existen tablas de interpretación. De conformidad a las zonas de inhibición se reporta: sensible o resistente.

_

²⁶ ORDOÑEZ SMITH, Margareth. Generalidades de las Pruebas de Susceptibilidad a Agentes Antimicrobianos y su Control de Calidad. <u>En</u>: Revista del Instituto de Microbiología. Madrid. Vol II. N°3. (Septiembre 1.993). p . 11

Descripción de antibióticos utilizados. Sumano y Ocampo²⁷, describen así a los antibióticos que se utilizaron en la presente investigación.

• Eritromicina. Inhibe la síntesis de proteínas bacterianas por una unión reversible a la sub-unidad 50s. los miembros del grupo incluyen la carbamicina, espiramicina, la tilosina. La Eritromicina pueden ser bactericida o bacteriostática dependiendo de la naturaleza del microorganismo y de la concentración del antibiótico.

Es muy eficaz contra cocos grampositivos como: Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermis, Streptococcus pyogenes, Streptococcus grupo viridans, Enterococcus.

- Ofloxacilina. Interfiere en la replicación del DNA, tiene acción contra bacterias Gramnegativas y Staphylococcus.
- Kanamicina. Este antibiótico pertenece al grupo de los aminoglicósidos, es producido por Stroptomicos Kanamicelus.

Tiene efecto bactericida uniéndose irreversiblemente a la subunidad 30s y bloqueando la síntesis proteica. Ejerce acción sobre bacterias grampositivas y gramnegativas.

Entre los mas susceptibles se encuentran Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, salmones Shigella, Staphylococcus y Streptococcus.

• Penicilina. Se une a la membrana, destruyéndola además de activar el sistema autolítico endógeno bacteriano, el cual inicia la lisis.

Las penicilinas naturales son activas contra gérmenes grampositivos.

• Cloranfenicol. Su mecanismo de acción es el de unirse a la subunidad ribosomal 50s inhibiendo la síntesis de proteínas. El Clorontenicol se obtiene partir del filtrado de cultivos de Stroptomycos venezuelae por extracción con acetato de etilo.

Biberstein²⁸ afirma que para el control de Staphylococcus en procesos inaccesibles y diseminados se requiere un tratamiento sistemático con agentes antimicrobianos eficaces como el cloranfenicol, eritromicina, cefalosporinas, vancomicina, lincomicina y asociaciones trimetropinsulfa. La opfloxacina es eficaz en el tratamiento de mastitis por Staphylococcus especialmente en vacas secas y en menor grado a la penicilina los resistentes a la penicilinasa.

167

SUMANO y OCAMPO. Farmacología Veterinaria. 1°ed. México: Interamericana, 1.989. p. 60
 BIBERSTEIN, Ernest. Tratado de Microbiología Veterinaria. 2°ed. España: Acribia, 1.994. p.

Nicolet²⁹ afirma que en la mastitis por Staphylococcus participan principalmente Staphylococcus aureus. Ciertas cepas de Staphylococcus epidermis y la antibioterapia debidamente aplicada conduce a la curación bacteriológica. El tratamiento se debe realizar en lactación o en periodo seco, los antibióticos de elección son los betalactamicos (penicilina y cloxacilina), los macrolidos (espiramicina y eritromicina) y los aminoglucosidos (neomicina y gentamicina). Dada la difusión que alcanza la resistencia sobre todo la penicilina conviene administrar preferentemente preparados de antibióticos estables a la penicilinasa (cloxacilina) o que lleven asociado otro en su composición (penicilina más aminoglucósidos)

Nicolet³⁰ afirma que Streptococcus son realmente abundantes en las proximidades de la glándula mamaria. La mastitis que producen son ordinariamente subclínicas o crónicas leves. El tratamiento de elección es la penicilina y como alternativas hay que considerar los macrolidos (espiramicina, eritromicina, tilosina), al tratarse de Enterococcus son recomendables dosis mas altas de penicilina por la sensibilidad de dicho germen a éste antibiótico. La asociación de penicilina y aminoglucósidos es sinérgica"

²⁹ NICOLET, Jacques. Compendio de Bacteriología Médica Veterinaria. 1°ed. España: Acribia, 1986 p. 121

³⁰ Ibid., p. 133

5. DISEÑO METODOLOGICO

5.1 LOCALIZACION

La empresa Lácteos Andinos de Nariño LTDA, tiene su centro de acopio y procesamiento de leche al sur de la ciudad de Pasto en el kilómetro 7 vía Panamericana Catambuco, a una altura de 2820 msnm (metros sobre el nivel del mar), con una temperatura promedio de 12,3 °C, precipitación anual de 1058 mm y una humedad relativa del 73%

5.2 METODO

La información es recopilada a partir de análisis de laboratorio en control de calidad de leche en los tanques de almacenamiento de la empresa Lácteos Andinos de Nariño LTDA durante el periodo agosto – octubre de 2004 para determinar el estado de calidad microbiológica y composicional de la misma.

5.3 PRUEBAS EMPLEADAS

5.3.1 Determinación de densidad

- Termolactodensímetro.
- Probeta de 250 ml

5.3.2 Determinación de grasa

- Dosificador de 10 ml para ácido sulfúrico.
- Dosificador de 1 ml para alcohol amílico.
- Baño maría a 65 ℃.
- Pipeta volumétrica de 11 ml.
- Centrífuga Gerber.
- Butirómetros con tapones adecuados.

Reactivos

- Ácido sulfúrico libre de grasa. Densidad = 1820-1825 y 90-91% en peso.
- Alcohol isoamílico.

5.3.3 Determinación de acidez

- Dosificador Néurex.
- Agitador para cantinas.

Reactivos

Alcohol industrial a 80°GL.

(Debe controlarse frecuentemente la concentración del reactivo para establecer una posible evaporación)

5.3.4 Prueba de alisarol.

- Tubos de ensayo.
- Pipetas de 5 ml
- Gradilla.

Reactivos

Solución alcohólica de alizarina al 1% (en alcohol al 70%)

5.3.5 Determinación de reductasa

- Frasco de vidrio de 50 ml esterilizado y con tapa.
- Baño maría a 37ºC.
- Pipeta de 1ml
- Pipetas de 10 ml estériles.
- Tubos taparosca.

• Gradillas de lámina metálica.

5.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se aplicaron fórmulas estadísticas correspondientes a media aritmética, desviación estándar y el coeficiente de variación a cada una de las variables a estudiar durante un periodo de agosto – octubre de 2004.

5.4.1 Media aritmética

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

Donde:

x = Media aritmética

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

n = Número de datos

5.4.2 Desviación estándar

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

Donde:

S = Desviación estándar $<math>S^2 = Varianza$

5.4.3 Coeficiente de variación

$$CV\% = S x 100$$

CV = Coeficiente de Variación

S = Desviación estandar

 \bar{x} = Media aritmética

5.5 VARIABLES EVALUADAS

A cada tratamiento se le determinó la media aritmética, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

- 5.5.1 Media aritmética: se obtuvo mediante la sumatoria de los datos a evaluar sobre el número de datos evaluados. (acidez, densidad, grasa, crioscopía, reductasa)
- 5.5.2 Desviación estándar: se obtuvo mediante la aplicación de la fórmula estadística desviación estándar es igual a raiz cuadrada de la varianza, por cada una de las variables evaluadas (acidez, densidad, grasa, crioscopía, reductasa)
- 5.5.3 Coeficiente de variación: se obtuvo mediante la aplicación de la fórmula estadística coeficiente de variación es igual a la desviación estándar sobre el promedio por 100, para cada una de las variables evaluadas. (acidez, densidad, grasa, crioscopía, reductasa)

6. PRESENTACION Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En las tablas 2, 3 y 4 se presenta el análisis de los resultados para las variables evaluadas para cada uno de los tratamientos experimentales.

Tabla 2. Resultados obtenidos de los análisis de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño, correspondientes al mes de **AGOSTO DE 2004**

FECHA	VOLUMEN RECEPCIONADO	ACIDEZ	DENSIDAD	GRASA %	INDICE CRIOSCOPIA	REDUCTASA HORAS
01/08/200	4 32200	6,00	1031,0	3,38	-0,528	3,16
03/08/200	4 33300	5,80	1030,8	3,39	-0,523	3,50
04/08/200	4 32250	6,10	1031,3	3,4	-0,536	3,32
06/08/200	4 33550	5,80	1030,6	3,28	-0,538	3,00
07/08/200	4 36400	6,30	1030,9	3,27	-0,532	3,16
09/08/200	4 32250	5,70	1030,4	3,48	-0,531	5,00
11/08/200	4 30830	6,00	1030,6	3,55	-0,531	3,00
12/08/200	4 33038	6,10	1030,8	3,49	-0,534	4,00
14/08/200	4 35960	5,50	1031,4	3,5	-0,540	3,33
16/08/200	4 36400	5,70	1031,2	3,26	-0,536	4,00
18/08/200	4 34200	6,40	1030,9	3,65	-0,539	6,00
20/08/200	4 35960	6,20	1031,2	3,56	-0,542	2,50
21/08/200	4 18900	6,10	1031,6	3,54	-0,539	3,00
23/08/200	4 33038	6,30	1030,6	3,61	-0,535	3,16
25/08/200	4 35250	5,60	1031,0	3,54	-0,545	4,00
26/08/200	4 32200	6,30	1030,4	3,58	-0,539	2,16
28/08/200	4 34200	6,30	1030,8	3,56	-0,537	2,16
30/08/200	4 35960	5,60	1030,5	3,51	-0,533	3,15
31/08/200	4 30830	6,40	1030,50	3,57	-0,540	2,42
Promedio	32985,05	6,01	1030,87	3,48	-0,54	3,37
Desviación estandar	3758,2978	0,2882	0,3404	0,1141	0,0051	0,9166
Coeficiente de variación	11,3939	4,7946	0,0330	3,2777	-0,9500	27,2044

Tabla 3. Resultados obtenidos de los análisis de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño, correspondientes al mes de **SEPTIEMBRE DE 2004**

FECHA	VOLUMEN RECEPCIONADO	ACIDEZ %	DENSIDAD	GRASA %	INDICE CRIOSCOPIA	REDUCTASA HORAS
02/09/2004	30750	6,4	1030,5	3,57	-0,535	2,41
04/09/2004	33550	5,8	1030,8	3,47	-0,538	3,06
06/09/2004	₄ 35960	6,3	1031,2	3,51	-0,538	3,00
07/09/2004	33400	6,1	1030,3	3,5	-0,537	4,50
09/09/2004	₄ 35960	5,8	1031,4	3,58	-0,537	5,00
10/09/2004	33400	6,4	1031,2	3,57	-0,538	2,00
11/09/2004	₄ 33038	6,2	1031,2	3,52	-0,531	2,33
13/09/2004	₄ 36400	6,2	1031,0	3,46	-0,536	1,33
14/09/2004	₄ 15610	6,2	1031,2	3,79	-0,536	6,06
15/09/2004	₄ 35250	6,4	1031,2	3,53	-0,536	3,00
16/09/2004	₄ 32200	6,3	1031,1	3,59	-0,543	3,50
18/09/2004	₄ 16500	5,9	1031,0	3,63	-0,546	6,00
20/09/2004	₄ 35250	6,3	1031,0	3,53	-0,537	3,15
22/09/2004	4 34200	5,6	1031,6	3,41	-0,54	3,50
23/09/2004	33038	6	1031,2	3,66	-0,543	4,00
25/09/2004	₄ 35250	6,3	1030,6	3,55	-0,537	7,16
27/09/2004	30830	5,8	1031,4	3,6	-0,540	5,00
28/09/2004	32200	6,2	1030,6	3,55	-0,538	1,33
29/09/2004	36400	5,8	1031,0	3,55	-0,542	1,06
30/09/2004	₄ 35960	6,3	1031,0	3,4	-0,542	3,50
Promedio	32257,30	6,12	1031,0	3,55	-0,539	3,54
Desviación estandar	5662,7693	0,2414	0,3176	0,0849	0,0033	1,6264
Coeficiente de variación	17,5550	3,9477	0,0308	2,3933	-0,6201	45,8854

Tabla 4. Resultados obtenidos de los análisis de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño, correspondientes al mes de **OCTUBRE DE 2004**

	FECHA	VOLUMEN RECEPCIONADO	ACIDEZ %	DENSIDAD	GRASA %	INDICE CRIOSCOPIA	REDUCTASA HORAS
	02/10/2004	35960	6,3	1031,1	3,4	-0,542	3,30
	04/10/2004	16600	6,4	1031,0	3,51	-0,543	3,30
	06/10/2004	33550	6	1031,0	3,29	-0,543	3,30
	07/10/2004	30830	6,3	1030,8	3,58	-0,540	6,00
	09/10/2004	33038	6,2	1031,3	3,59	-0,539	2,15
	11/10/2004	32250	5,9	1031,2	3,43	-0,539	5,00
	13/10/2004	30830	6,1	1030,7	3,26	-0,538	1,20
	15/10/2004 16/10/2004		6,1	1031,4	3,4	-0,534	8,00
			6	1031,0	3,5	-0,535	3,00
19/10/2004		34200	5,9	1031,0	3,56	-0,537	3,00
	21/10/2004		6,4	1031,4	3,45	-0,539	1,35
	22/10/2004	33350	6,5	1030,5	3,41	-0,533	5,00
	25/10/2004		6,3	1030,5	3,5	-0,536	5,10
	27/10/2004	30830	5,1	1031,0	3,39	-0,538	1,00
	29/10/2004	33000	5,8	1031,0	3,47	-0,540	3,00
Promedio		30617,6	6,1	1031,0	3,45	-0,538	3,58
Desviación estandar		5668,3636	0,3324	0,2695	0,0931	0,0029	1,8676
Coeficiente de variación		18,5134	5,4611	0,0261	2,6978	-0,5459	52,1676

Las variables evaluadas como son la acidez titulable, densidad y el índice de crioscopía de la leche no presentan diferencias estadísticas significativas, permanecen dentro de los rangos normales.

La prueba de reductasa de la leche presenta diferencia estadística significativa, lo cual demuestra que se esta dando un mal manejo al producto durante el desarrollo del proceso de recepción, la toma de muestras es inadecuada, hay deficiencia en el vaciado de leche a la tolva, manipulación exagerada durante el tiempo que se encuentra el producto en plataforma. También causa gran influencia las malas condiciones de higiene del personal por parte de los transportadores y vehículos de transporte

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- Los resultados de la evaluación de la calidad composicional de grasa demuestra un porcentaje bajo a causa de las deficiencias en la toma de muestras de la leche en el tanque de almacenamiento.
- La variable reductasa reporta unos promedios bajos, debido a la falta de control de calidad, las malas prácticas en el manejo de la leche en plataforma, al igual que la falta de una actitud seria y responsable por parte del personal en el desarrollo de su trabajo.
- La calidad microbiológica de la leche, se ve afectada por fallas en el sistema de frío en los tanques de almacenamiento.

7.2 RECOMENDACIONES

- Mejorar las prácticas de recepción de leche en plataforma, por parte del personal a cargo del desempeño de esta función.
- Se requiere implementar un sistema de control para el mejoramiento de la calidad microbiológica de la leche que se acopia en la planta.
- El lavado de cantinas y tapas, debe realizarse en un sitio diferente al área de acopio de la leche y deben encontrarse en buen estado.
- En los vehículos de transporte de leche, solo debe ingresar a plataforma el conductor y oficial en buenas condiciones de aseo personal, al igual que el vehículo transportador.
- Analizar si el lavado químico que se realiza a los equipos de la planta es el adecuado, de igual manera verificar si los productos que se utilizan para esta función son los mas óptimos en cuanto a calidad.
- Evaluar en trabajos posteriores, el manejo de la leche en hato, recepción y transporte hacia la planta, ya que estas variables afectan los resultados obtenidos en el estudio.

BIBLIOGRAFIA.

ALAIS, CH. Ciencia de la Leche. Principios de la Técnica Lechera. 1° ed. México: Continental, 1.986. 254 p

ANDRADE, C. Detección de la Mastitis Subclínica a Nivel de Campo por Medio de Conductividad Eléctrica. En: Nacional de Zootecnia. Bogotá. Vol II. N° 2. (Junio 1.987). 30 p

ARANGO, Jaime. El suero. <u>En:</u> Despertar Lechero. Medellín. Vol II. N° 11 y 12, (Septiembre 1999). 45 p

ASOCIACION HOLSTEIN DE COLOMBIA. <u>En:</u> Resumen mensual y hato nacional de Nariño. Bogotá. Vol I. N°2. (Agosto 1993). 35 p

BIBERSTEIN, Ernest. Tratado de Microbiología Veterinaria. 2° ed. España: Acribia, 1.994. 270 p

BLOOD, D.C, RADOSTITS, OM.M. y HENDERSON, J.A. Medicina Veterinaria. 7º ed. México: Interamericana, 1567 p

COLACTEOS – SENA. Modulo Calidad de Leche # 1,2,3,4,5,6,7. <u>En</u> Cartillas Didácticas Calidad de Leche. Pasto. Vol I. N°2. (F ebrero 2001). 30 p

COTRINO, Victor y GAVIRIA, Blanca Cecilia. Mastitis Calidad de Leche. <u>En</u> Carta Fedegan. Bogotá. Vol V. N°2. (Julio 2003). 20 p

DE LOS RIOS, J.I. Y PORTILLA, H. Causas de Mastitis. 1° ed. Bogota: Panamericana, 2001. 84 p

GIRALDO, José. Informe de Calidad de Leche. 2000. [en línea] ed: (s.n.) [México 1997] disponible en Internet: < http://www.ilc.com.co/docs/informe_social2001.pdf/giraldo/>

HAZARD, T.S. Que es la Mastitis y como prevenirla. Investigación y Progreso Agropecuario. 2° ed. Chile: Carittanca, 1.986.112 p

JURADO, Gamez Henry y VALENCIA, Héctor Fabio. Recuento Bacteriológico de la Leche Mastítica. Pasto: 1999, 163 p. Tesis: Ph. D. (Medicina Veterinaria) Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias

KONEMAN, ALLEN, DOWELL y SOMMERS. Diagnóstico Microbiológico. 1° ed. Buenos Aires: Panamericana, 1.987. 330 p

LACTEOS ANDINOS DE NARIÑO. Programa de Salud Ocupacional. 1° ed. Pasto: Graficolor, 2001. 150 p

NICKERSON, S. Calidad de Leche. 3° ed. México: Inte ramericana, 1999. 45 p

NICOLET, Jacques. Compendio de Bacteriología Médica Veterinaria. 1° ed. España: Acribia, 1986. 150 p

OLIVER, E. Fisiopatología de la mastitis. <u>En:</u> Colombiana de Ciencias Pecuarias. Bogotá. Vol II. N°2. (Diciembre 1993). 84 p

ORDOÑEZ SMITH, Margareth. Generalidades de las Pruebas de Susceptibilidad a Agentes Antimicrobianos y su Control de Calidad. <u>En</u>: Revista del Instituto de Microbiología. Madrid. Vol II. N°3. (Septiembre 1. 993). 142 p

RIVERA BARRERO, Julio Cesar. Tecnología de Leche y derivados. 1° ed. Pasto: Graficolor, 1977. 153 p

RODRIGUEZ MARTINEZ, G. La Mastitis Bovina y el Potencial para el Control en la Sabana de Bogotá. Bogotá: 1987, 150 p. Tesis: Ph. D. Universidad de la Salle. Departamento de Agricultura y Horticultura.

SALGADO, María Teresa. Texto Guía Análisis Físico – Químico Leches – Microbiológico de alimentos. 7ª ed. Manizales: Universidad Católica de Manizales, 1996. 227 p

SUMANO y OCAMPO. Farmacología Veterinaria. 1° ed. M éxico: Interamericana, 1.989. 453 p

ANEXOS

ANEXO A Análisis microbiológico de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño. AGOSTO 2004

VOLUMEN	ACIDEZ	DENSIDAD	% GRASA	INDICE	P. ALCOHOL	REDUCTASA
RECEPCIONADO				CRIOSCOPICO	(78%)	Horas / minutos
32200	6.00	1031.0	3.38	-0.528	Negativo	3.16
33300	5.80	1030.8	3.39	-0.523	Positivo	3.50
32250	6.10	1031.3	3.40	-0.536	Negativo	3.32
33550	5.80	1030.6	3.28	-0.538	Negativo	3.00
36400	6.30	1030.9	3.37	-0.532	Negativo	3.16
32250	5.70	1030.4	3.48	-0.531	Positivo	5.00
30830	6.00	1030.6	3.55	-0.531	Negativo	3.00
33038	6.10	1030.8	3.49	-0.534	Negativo	4.00
35960	5.50	1031.4	3.50	-0.540	Negativo	3.33
36400	5.70	1031.2	3.26	-0.536	Negativo	4.00
34200	6.40	1030.9	3.65	-0.539	Negativo	6.00
35960	6.20	1031.2	3.56	-0.542	Negativo	2.50
18900	6.10	1031.6	3.54	-0.539	Negativo	3.00
33038	6.30	1030.6	3.61	-0.535	Negativo	3.16
35250	5.60	1031.0	3.54	-0.545	Negativo	4.00
32200	6.30	1030.4	3.58	-0.539	Negativo	2.16
34200	6.30	1030.8	3.56	-0.537	Negativo	2.16
35960	5.60	1030.5	3.51	-0.533	Positivo	3.15
30830	6.40	1030.50	3.57	-0.54	Negativo	2.42

ANEXO B Análisis microbiológico de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño. SEPTIEMBRE 2004

VOLUMEN	ACIDEZ	DENSIDAD	% GRASA	INDICE	P. ALCOHOL	REDUCTASA
RECEPCIONADO				CRIOSCOPICO	(78%)	Horas/minutos
30750	6.4	1.0305	3.57	-0.535	Negativo	2.41
33550	5.8	1.0308	3.47	-0.538	Negativo	3.06
35960	6.30	1.0312	3.51	-0.538	Negativo	3.00
33400	6.10	1.0303	3.50	-0.537	Negativo	4.50
35960	5.80	1.0314	3.58	-0.537	Negativo	5.00
33400	6.40	1.0312	3.57	-0.538	Positivo	2.00
33038	6.20	1.0312	3.52	-0.531	Negativo	2.33
36400	6.20	1.0310	3.46	-0.536	Negativo	1.33
15610	6.20	1.0312	3.79	-0.536	Negativo	6.06
35250	6.40	1.0312	3.53	-0.536	Negativo	3.00
32200	6.30	1.0311	3.59	-0.543	Negativo	3.50
16500	5.90	1.0310	3.63	-0.546	Negativo	6.00
35250	6.30	1.0310	3.53	-0.537	Negativo	3.15
34200	5.60	1.0316	3.41	-0.540	Negativo	3.50
33038	6.00	1.0312	3.66	-0.543	Negativo	4.00
35250	6.30	1.0306	3.55	-0.537	Negativo	7.16
30830	5.80	1.0314	3.60	-0.540	Positivo	5.00
32200	6.20	1.0306	3.55	-0.538	Negativo	1.33
36400	5.80	1.0310	3.55	-0.542	Negativo	1.06
35960	6.30	1.0310	3.40	-0.542	Negativo	3.50

ANEXO C Análisis microbiológico de leche fresca en la empresa Lácteos Andinos de Nariño. OCTUBRE 2004

VOLUMEN RECEPCIONADO	ACIDEZ	DENSIDAD	% GRASA	INDICE CRIOSCOPICO	P. ALCOHOL (78%)	REDUCTASA Horas/minutos
35960	6.30	1031.1	3.40	-0.542	Negativo	3.30
16600	6.40	1031.0	3.51	-0.543	Negativo	3.30
33550	6.00	1031.0	3.29	-0.543	Negativo	3.30
30830	6.30	1030.8	3.58	-0.540	Negativo	6.00
33038	6.20	1031.3	3.59	-0.539	Positivo	2.15
32250	5.90	1031.2	3.43	-0.539	Positivo	5.00
30830	6.10	1030.7	3.26	-0.538	Negativo	1.20
33038	6.10	1031.4	3.40	-0.534	Negativo	8.00
16500	6.00	1031.0	3.50	-0.535	Negativo	3.00
34200	5.90	1031.0	3.56	-0.537	Negativo	3.00
32250	6.40	1031.4	3.45	-0.539	Negativo	1.35
33350	6.50	1030.5	3.41	-0.533	Negativo	5.00
33038	6.30	1030.5	3.50	-0.536	Negativo	5.10
30830	5.10	1031.0	3.39	-0.538	2 Negativo	1.00
					Positivo	
33000	5.80	1031.0	3.47	-0.540	Negativo	3.00