

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICOQUÍMICA, COMPOSICIONAL Y
MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN EL
CORREGIMIENTO DE CATAMBUCO.

EDWAR CAMILO BOTINA RIOBAMBA
DAVID ALEJANDRO ORTIZ MORENO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN Y PROCESAMIENTO ANIMAL
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
SAN JUAN DE PASTO
2013

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICOQUÍMICA, COMPOSICIONAL Y
MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN EL
CORREGIMIENTO DE CATAMBUCO.

EDWAR CAMILO BOTINA RIOBAMBA
DAVID ALEJANDRO ORTIZ MORENO

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

Director
HENRY JURADO GÁMEZ
Zoot., Esp., M.Sc., Ph.D.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN Y PROCESAMIENTO ANIMAL
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
SAN JUAN DE PASTO
2013

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

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

Nota de aceptación:

HENRY JURADO GÁMEZ Zoot. Esp. M.Sc. Ph.D.
Presidente

MELISSA ERASO Zoot. M.Sc.
Jurado delegado

MAURICIO BUCHELLI Ing. Agroindustrial.
Jurado

San Juan de Pasto, Agosto de 2013

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

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

Melisa Erazo, Zoot. M.Sc. Profesora Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias
Pecuárias.

Mauricio Buchelli, Ingeniero Agroindustrial. Profesor Universidad de Nariño.
Facultad de Ingeniera.

Nancy Galindez, Profesional de laboratorio. Universidad de Nariño.

Carlos Bernal, Laboratorista. Universidad de Nariño.

Luís Alfonso Solarte, Secretario academico Facultad de Ciencias Pecuárias

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

Laboratorios especializados Universidad de Nariño.

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

DEDICATORIA

Agradezco a Dios, creador de todo y dador de vida por permitirme salir siempre adelante con su bendición, por brindarme fuerza y mostrarme siempre el camino por cuidarme en todo lugar.

A mis padres Nikandro y Janeth ya que gracias a ellos este sueño se ha logrado culminar con éxito, por estar siempre a mi lado y confiar incondicionalmente en mí. Por los grandes valores que han inculcado en mí, permitiendo que sea una mejor persona para la sociedad

A mis abuelitos quienes han sido parte importante en este ciclo de formación, por acompañarme en todo momento por brindarme su inmenso cariño, por verme cumplir sueños y metas, por estar conmigo todos estos años.

A Javier, además de ser mi hermano ha sido mi amigo con quien he compartido grandes e inolvidables Momentos

A toda mi familia que de una u otra manera han ayudado a salir adelante, a mis amigos por su sincera y grandiosa amistad por ser incondicionales en todo momento y lugar a mis compañeros de Universidad por tantos momentos inolvidables vividos en estos 5 años de mi vida

A Mariana por ser mi gran amiga y acompañarme en momentos importantes en mi vida, por aparecer en el momento indicado y brindarme su cariño de manera incondicional

A todas aquellas personas que de alguna forma contribuyeron con mi preparación y formación profesional y personal

David Alejandro Ortiz Moreno

DEDICATORIA

A mi madre, el entusiasmo que me anima
A mi hermana, la sonrisa que me guía
A mi hermano, la música de mis oídos
A mi Abuela, ejemplo de fortaleza

A mis amigos, por su confianza y por todos los momentos
compartidos en este trayecto; Julieth, Juan Pablo N,
Juan Pablo B, Ginna, Richard, Maurita, Parreño.

Agradecimientos especiales a la familia
Benavides Montenegro y a Yaneth Riobamba

A la memoria de mi padre; viejo, este triunfo también es tuyo.
A Milena, su alegría permanecerá siempre en nuestros recuerdos.

A todas las personas,
cuyas palabras y buenos deseos
me animaron a culminar esta meta.

Edwar Camilo Botina Riobamba

RESUMEN

Con el propósito de evaluar la calidad e inocuidad de la leche cruda que se comercializa en el corregimiento de Catambuco, se evaluaron 3 puntos de distribución siguiendo un protocolo modificado de la Norma Técnica Colombiana 666. Se aplicaron pruebas físico químicas para analizar acidez, pH, grasa, proteína, densidad, sólidos totales y sólidos no grasos, pruebas microbiológicas; mesófilos, coliformes fecales, coliformes totales, listeria y células somáticas, pruebas de adulterantes; agua, harinas, almidones, neutralizantes alcalinos, hipocloritos, dióxido de cloro, sustancias formaldehidas, agua oxigenada y suero, además se realizó una prueba para determinar trazas de antibióticos.

Se tomaron 30 muestras durante el mes de mayo, dos veces por día en cada punto. La leche evaluada no presentó ningún tipo de adulteración, la grasa reportó un porcentaje de 3.74 el cual según la Red de Información y Comunicación Estratégica del Sector Agropecuario¹ está por encima del promedio de la región 1 para el mismo periodo (3.6%) y muy por encima del mínimo establecido en el decreto 616 del 2006² (3%), en contraste la proteína obtuvo un valor de 2.88% levemente por debajo de lo establecido en el decreto antes mencionado(3%) y por debajo del promedio de la región 1 (3%). La densidad, sólidos totales y pH presentaron niveles normales; dentro de los estándares legales.

El 60% de las muestras presentó condiciones higiénicas inadecuadas para recuento de mesófilos con valores que van desde 175001 a más de 800000 UFC, la NTC 399³ sostiene que el máximo permisible para UFC/ml es de 700.000 sin embargo este valor es superior en el 33.33% de las muestras. Las pruebas de azul de metileno y resazurina fueron poco sensibles a los valores encontrados anteriormente por el método de NMP (Número más probable). El 93.32% de las muestras presentan recuentos de células somáticas por encima de los parámetros considerados normales para una leche proveniente de un animal sano.

La prueba de Listeria y de antibióticos resultaron negativas.

¹ Red de Información y Comunicación Estratégica del Sector Agropecuario – AGRONET Colombia Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural disponible en: <http://www.agronet.gov.co/agronetweb1/Inicio.aspx>

² COLOMBIA. MINISTERIO DE PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto 616 del 28 de Febrero de 2006.

³ NORMA TÉCNICA COLOMBIANA, 399.

Para Coral y Villacrez⁴ la comercialización de leche cruda es una práctica persistente en el escenario de la economía rural, y aunque los resultados muestran una calidad composicional alta en el corregimiento de Catambuco, los parámetros higiénicos de la misma son preocupantes. Los altos porcentajes de grasa, la ausencia de antibióticos y adulterantes, pueden permitir el ingreso de la familias productoras a un mercado formal, sin embargo el alto contenido de bacterias (sobretudo mesófilas) y el alto recuento de células somáticas derivarían en un castigo económico y en una desventaja competitiva que elimina las ventajas adquiridas por composición. Se infiere entonces que las condiciones higiénicas en las cuales se obtiene el producto y la cadena de frío no se están desarrollando de manera correcta.

Palabras clave: pH, acidez, proteína, grasa, sólidos totales, antibióticos, adulterantes.

⁴CORAL, Patricia y VILLACREZ, Yudy. Estudio sobre el impacto del proceso de reconversión en la comercialización de leche cruda en el municipio de Pasto al horizonte del año 2020. San Juan de Pasto. 2010.

ABSTRACT

The main objective of this work was to evaluate the quality and safety of raw milk marketed in the village of Catambuco, we evaluated three distribution points following a modified protocol of the Colombian Technical Standard 666. Physicochemical tests were applied to analyze acidity, pH, fat, protein, density, total solids and solids-not-fat, microbiological testing, mesophiles, fecal coliforms, total coliforms, listeria and somatic cells, evidence of adulterants, water, flours, starches, neutralizing alkaline hypochlorite, chlorine dioxide, formaldehydes substances, hydrogen peroxide and serum, was also a test for traces of antibiotics.

30 samples were taken during the month of May, two times per day at each point. Evaluated milk did not present any kind of adulteration, fat reported a 3.74 percent which according to the Information and Communication Network Strategic Agricultural Sector is above average for the region 1 for the same period (3.6%) and above the minimum established in Decree 616 of 2006 (3%), in contrast to the protein obtained a value of 2.88% slightly below the provisions of this decree (3%) and below the average for the region 1 (3%) . The density, total solids and pH had normal levels within legal standards

The 60% of the samples presented inadequate hygienic conditions for mesophilic count values ranging from 175001 to over 800000 UFC 399 NTC maintains that the maximum allowable CFU / ml is 700,000 but this value is about 33.33 % samples. Tests methylene blue and resazurin were very sensitive to the values found previously by the MPN method (most probable number). The 93.32% of samples contain somatic cell counts above the normal ranges for milk from a healthy animal.

Listeria testing and antibiotics were negative.

The sale of raw milk is a persistent practice in rural economic scenario, and although the results show a high compositional quality in the village of Catambuco, hygienic parameters of it are alarming. The high percentages of fat, the absence of antibiotics and adulterants, may allow entry of farming families a formal market, but the high content of bacteria (especially mesophilic) and high somatic cell count could lead to economic punishment and a competitive disadvantage that eliminates the advantages gained by composition. It follows then that the hygienic conditions in which the product is obtained and the cold chain is not developing properly.

Keywords: pH, acidity, protein, fat, total solids, antibiotics, adulterants.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	20
1 DEFINICIÓN Y LIMITACIÓN DEL PROBLEMA	22
2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	24
3 OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GENERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4 MARCO TEÓRICO	26
4.1 LA LECHE	26
4.1.1 Calidad composicional	28
4.1.1.1 Acidez	28
4.1.1.2 Prueba de ebullición	29
4.1.1.3 Prueba de alcohol	29
4.1.1.4 Prueba de alizarina o alizarol	29
4.1.1.5 Acidez titulable	29
4.1.2 Densidad	30
4.1.3 pH	30
4.1.4 Grasa	31
4.1.4.1 Método Gerber	31
4.1.5 Proteína	31
4.1.6 Sólidos no grasos	32
4.1.7 Sólidos totales	32

4.1.8 EkoMILK	33
4.2 ADULTERANTES EN LECHE	33
4.2.1 Adición de neutralizantes alcalinos	34
4.2.2 Adulteración con cloruros	34
4.2.3 Adición de Agua oxigenada	34
4.2.4 Adulteración con formol	35
4.2.5 Adición de harinas y almidones	35
4.2.6 Adición de agua	35
4.2.7 Adición de suero	35
4.3 CALIDAD MICROBIOLÓGICA	36
4.3.1 Recuento de mesófilos	36
4.3.2 Coliformes Fecales y Totales	37
4.3.3 Prueba de Azul de metileno	38
4.3.4 Prueba de Reducción de resazurina	38
4.3.5 Recuento de células somáticas	39
4.3.6 Determinación de Listeria	40
4.4 ADULTERACIÓN CON ANTIBIÓTICOS	40
4.5 PROHIBICIONES PARA LECHE CRUDA	41
5 DISEÑO METODOLÓGICO	45
5.1 LOCALIZACIÓN	45
5.2 METODOLOGÍA	45
5.2.1 Toma de muestras	45

5.2.2	Protocolo para el análisis fisicoquímico de la leche	46
5.2.2.1	Acidez	46
5.2.2.2	Densidad	47
5.2.2.3	Determinación de pH	48
5.2.2.4	Determinación de grasa por métodos volumétricos	48
5.2.2.5	Determinación de proteína, sólidos grasos	49
5.2.2.6	Determinación de sólidos totales	49
5.2.3	Protocolo para análisis de adulterantes en leche cruda	49
5.2.3.1	Neutralizantes alcalinos	49
5.2.3.2	Solución de formol o formaldehído	50
5.2.3.3	Agua Oxigenada	51
5.2.3.4	Harinas y almidones	52
5.2.3.5	Agua adicionada	52
5.2.3.6	Hipocloritos y dióxido de cloro	53
5.2.3.7	Suero	54
5.2.4	Protocolo de análisis microbiológico	54
5.2.4.1	Azul de metileno	54
5.2.4.2	Prueba de resazurina	55
5.2.4.3	Recuento de mesófilos	56
5.2.4.4	Recuento de coliformes totales y fecales	57
5.2.4.5	Células somáticas	59
5.2.4.6	Determinación de <i>Listeria</i> spp	59

5.2.5	Protocolo para determinar antibióticos en leche cruda	60
5.2.5.1	Determinación de antibióticos	60
5.3	DISEÑO ESTADÍSTICO	62
5.3.1	Media aritmética	62
5.3.2	Desviación estándar	62
6	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	63
6.1	ANÁLISIS DE LA CALIDAD FISICOQUÍMICA Y COMPOSICIONAL	63
6.1.1	Acidez	63
6.1.1.1	Prueba de ebullición	63
6.1.1.2	Prueba de alcohol	63
6.1.1.3	Prueba de alizarina o alizarol	63
6.1.1.4	Acidez titulable	65
6.1.2	Densidad	67
6.1.3	pH	71
6.1.4	Grasa	72
6.1.5	Proteína	76
6.1.6	Sólidos totales	78
6.1.7	Sólidos no grasos	79
6.2	ANÁLISIS DE ADULTERANTES EN LECHE	81
6.2.1	Neutralizantes alcalinos	81
6.2.2	Prueba de formol o formaldehído	81
6.2.3	Peróxido de Hidrogeno (Arnold y Mentzer)	81

6.2.4	Peróxido de Hidrogeno (Yoduro de Potasio)	81
6.2.5	Harinas y almidones	82
6.2.6	Agua adicionada	82
6.2.7	Hipocloritos y dióxido de cloro	83
6.2.8	Suero	83
6.3	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	84
6.3.1	Azul de metileno	84
6.3.2	Prueba de resazurina	85
6.3.3	Recuento de mesófilos	86
6.3.4	Recuento de coliformes totales	87
6.3.5	Recuento de coliformes fecales	90
6.3.6	Células somáticas	90
6.3.7	Determinación de <i>Listeria spp</i>	93
6.4	ANÁLISIS DE ANTIBIÓTICOS	95
6.4.1	Determinación de antibióticos	95
7.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	98
7.1	CONCLUSIONES	98
7.2	RECOMENDACIONES	100
	BIBLIOGRAFÍA	101
	ANEXOS	107

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Interpretación test de azul de metileno	55
Cuadro 2.	Interpretación prueba de resazurina	55
Cuadro 3.	Medición de la acidez o alcalinidad de la Alizarina para leche cruda	64
Cuadro 4.	Estándares de calidad composicional región 1	78
Cuadro 5	Recuento mesofilos UFC/ml por proveedor	87
Cuadro 6	Coliformes totales por proveedor	88
Cuadro 7	Comparación de parámetros de bonificación o Castigo de la leche mediante calidad microbiológica	89
Cuadro 8	Coliformes fecales por proveedor	90
Cuadro 9.	RCS por proveedor	91

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.	Componentes principales de la leche	28
Tabla 2.	Requisitos para leche cruda	33
Tabla 3.	Calidad microbiológica de la leche cruda	37
Tabla 4.	Número más probable (NMP)	58
Tabla 5.	Análisis de acidez mediante pruebas cualitativas	64
Tabla 6.	Resultados de acidez mediante prueba de titulación	65
Tabla 7.	Resultados para acidez titulable por proveedor	67
Tabla 8.	Resultados de densidad por proveedor	68
Tabla 9.	Resultados de variables fisicoquímicas y composicionales en leche cruda	70
Tabla 10.	Resultados de pH por proveedor	72
Tabla 11.	Resultados de grasa por método Gerber por proveedor	74
Tabla 12.	Resultados de grasa EkoMILK por proveedor	75
Tabla 13.	Resultados de proteína por proveedor	77
Tabla 14.	Resultados ST por proveedor	79
Tabla 15.	Resultados de SNG por proveedor	81
Tabla 16.	Resultados para análisis de adulterantes	82
Tabla 17.	Resultados refractómetro	83
Tabla 18.	Comparación entre el RCS obtenidas y RCS por organización lineal	92
Tabla 19.	Resultado para antibióticos y <i>Listeria</i> spp	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Determinación de acidez por titulación	65
Figura 2.	Valores por proveedor para acidez titulable	66
Figura 3.	Resultados de densidad por proveedor	67
Figura 4.	Lectura termolactodensímetro	69
Figura 5.	Resultado pH por proveedor	71
Figura 6.	Resultado grasa método Gerber por proveedor	73
Figura 7.	Resultado grasa EkoMILK por proveedor	74
Figura 8.	Determinación de grasa por método Gerber	76
Figura 9.	Resultados para proteína por proveedor	76
Figura 10.	Lectura EkoMILK	78
Figura 11.	Resultados SNG por proveedor	80
Figura 12.	Prueba de azul de metileno	85
Figura 13.	Prueba de resazurina	86
Figura 14.	Lectura de células somáticas	93
Figura 15.	Determinación de <i>Listeria</i> spp	95
Figura 16.	Determinación de antibióticos	96

GLOSARIO

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

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

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

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

ANTIBIÓTICO: medicina que impide la multiplicación de los microbios.

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

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

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

COLIFORMES TOTALES: microorganismos indicadores de contaminación.

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

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

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

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

NMP: número más probable.

UFC: unidad formadora de colonia.

INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los productos de la canasta básica familiar que presenta un mayor consumo en la población en general y es también materia prima con la que se elaboran numerosos productos. Según Alarcón⁵ Colombia es el cuarto productor de leche en América Latina con un volumen aproximado de 6.500 millones de litros anuales. El área industrial procesa apenas el 46% del total de la leche, es decir cerca de 3000 millones de litros, el 10% se destina al autoconsumo (650 millones de litros), y el resto (2850 millones de litros) hace parte de la informalidad y se utiliza para derivados artesanales, o se distribuye cruda en todo el país⁶. En el sector rural de San Juan de Pasto la comercialización de leche cruda es muy frecuente lo cual supone un riesgo para la salud humana, debido a malas prácticas de almacenamiento, refrigeración o por la presencia de residuos farmacológicos debido al uso inadecuado de medicamentos.

Según Osorio⁷ Si bien son incuestionables las cualidades nutritivas de la leche y los productos lácteos, también es cierto que, desde su síntesis en la glándula mamaria hasta su llegada al consumidor, están sometidos a un gran número de riesgos que hacen peligrar la calidad original. Estos riesgos son: la contaminación y multiplicación de microorganismos, contaminación con gérmenes patógenos, alteración físico-química de los componentes, absorción de olores extraños, generación de malos sabores y contaminación con sustancias químicas tales como pesticidas, antibióticos, metales, detergentes, desinfectantes, partículas de suciedad, etc. Todos éstos, ya sea en forma aislada o en conjunto, actúan en forma negativa sobre la calidad higiénica y nutricional del producto y, consecuentemente en contra de la salud pública y economía de cualquier país.

A pesar de que Colombia es el cuarto productor de leche en Latinoamérica la informalidad en el comercio del mismo es un problema constante cuyos impacto económico aún no se ha podido establecer con claridad.

⁵ ALARCON CAÑON, Pedro. Futuro de la actividad lechera en Colombia, de cara a los nuevos retos que impone el T.L.C. 2013.

⁶ FEDEGAN. (2010) Lo que usted necesita saber de la leche. [En línea]. 5-7. Disponible: http://portal.fedegan.org.co/pls/portal/docs/PAGE/PORTAL/PG_SERVICIOS/COYUNTURA_LECHERA1/LO_QUE_USTED_NECESITA_SABER_CARTILLA.PDF

⁷ OSORIO, Alberto (2010), La ganadería lechera de la zona alta de Veracruz. Veracruz. México

Insuasty y Benavides⁸ en un estudio realizado en leche cruda expendida en San Juan de Pasto encontraron un 29% con residuos de antibióticos además, ninguna de las muestras evaluadas cumplió con los parámetros mínimos de calidad establecidos en el decreto 616 del 2006 del ministerio de agricultura protección social.

Coral y Villacrez⁹, Mencionan que si bien los esfuerzos de reconversión del comercio de leche cruda en la ciudad de San Juan de Pasto provocara un impacto positivo en los comerciante y productores entre el 2013 y el 2017, también advierte que solo se reducirá el 15% de la comercialización de leche cruda en este lapso lo cual advierte un comercio persistente en este escenario.

A pesar de la prohibición de la venta de leche cruda para consumo directo queda claro que esta normatividad no se acata en su totalidad y que los controles para sancionar dicha práctica son flexibles o de difícil aplicación en el sector rural, por lo cual el presente estudio plantea la evaluación de la leche que se comercializa cruda en el corregimiento de Catambuco con el fin de identificar la calidad e inocuidad de uno de los elementos más usados en la canasta familiar de la economía campesina.

⁸INSUASTY, Marcela y BENAVIDES, Sofía. Determinación de la presencia de residuos de antibióticos betalactamicos en leche cruda expendida en la ciudad de San Juan de Pasto mediante prueba Delvotest en el periodo comprendido entre el 15 de octubre y el 15 de noviembre del 2007. San Juan de Pasto: 2007.

⁹ CORAL y VILLACREZ. Op.cit, p.62

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

La inocuidad de los alimentos es una característica esencial y una constante preocupación para los países, los sectores productivos y el consumidor; por lo cual existen normas en el ámbito nacional e internacional que trabajan continuamente por mejorar el estatus sanitario, preservar la vida del consumidor y poder competir en los mercados internacionales¹⁰. En Colombia el decreto 616 de febrero del 2006 establece el reglamento técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche que se obtenga, procese, envase, transporte comercializa, expendia, importe o exporte en el país.

La leche cruda es aquella que proviene de las vacas, ovejas o cabras y que no ha pasado por el proceso de pasteurización para matar las bacterias dañinas. Puede contener bacterias peligrosas como *Salmonella*, *E. coli* y *Listeria*, que son las responsables de causar numerosas enfermedades transmitidas por los alimentos.

La leche y los productos lácteos proporcionan abundantes beneficios nutricionales. Pero la leche cruda también puede albergar microorganismos peligrosos que representan riesgos graves para la salud humana. De acuerdo con el análisis realizado por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), Centers for Disease Control and Prevention)¹¹, la leche sin pasteurizar tiene 150 veces más de probabilidades de causar enfermedades transmitidas por alimentos y genera 13 veces más hospitalizaciones que las enfermedades que involucran productos lácteos pasteurizados.

Se calcula que el 47% de la leche producida en Colombia (2850 millones de litros) hace parte de la informalidad y se utiliza para derivados artesanales, o se distribuye cruda en todo el territorio nacional y un 10% (650 millones de litros) se destina para autoconsumo¹², estas han sido prácticas frecuentes en el sector rural donde el desconocimiento de la normatividad y la facilidad de comercialización fomentan este tipo de prácticas.

Aplicar esta normatividad es difícil en el sector rural, ya que los controles sanitarios son escasos o nulos este es el caso del corregimiento de Catambuco,

¹⁰ Ibid., p. 63

¹¹ “Los peligros de la leche cruda: La leche sin pasteurizar puede representar un riesgo grave para la salud” (Centers for Disease Control and Prevention) [CDCP], 2013, p. 1).

¹² ALARCON. Op. cit., p32

lugar donde el desconocimiento de la normatividad ha impedido que los planes de reconversión del comercio de leche cruda surtan el efecto deseado. Al ser un Corregimiento ubicado en el municipio de Pasto hace parte de un importante centro lechero de la región, en la cual la raza predominante es la Holstein, animal altamente productor adaptado a las condiciones de trópico alto, desafortunadamente el sistema minifundista de la zona, y el mal estado de las vías han dificultado la entrada de los productores a sistemas formales de comercialización, paralelamente las empresas informales principalmente queserías han prosperado, en gran medida por que no exigen parámetros de calidad de la leche y el bajo precio pagado es suficiente para apaciguar las pérdidas industriales que una leche de mala calidad pudiese conllevar.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Según el Codex alimentarius¹³ se deben evitar el consumo de leches “no idóneas”, es decir si contienen un agente biológico o químico u otra materia o sustancia, que sean extraños a la naturaleza del alimento y hagan que la leche o los productos lácteos dejen de ser aptos para el uso racional previsto, además no debe presentar residuos de antibióticos, no obstante existen numerosas estrategias encaminadas a disimular y ocultar las deficiencias en la inocuidad y calidad de la leche adicionando sustancias no autorizadas para preservarla o sustituyendo elementos sustraídos, dichas prácticas constituyen un amenaza a la salud pública, siendo los consumidores de leche cruda los más propensos.

Una parte de la leche cruda que se produce en el sector rural de Catambuco se dirige al casco urbano de este corregimiento y también al municipio de Pasto debido a que la actividad económica de estos sectores difiere a la orientación agropecuaria de sus veredas, facilitando de esta manera la venta de leche, lo cual la hace propensa a adulteración y contaminación, este estudio se basó en la normatividad Colombiana y se enfoca en la calidad higiénica y composicional de la leche cruda comercializada en dicho sector, Partiendo de lo anterior se plantea la siguiente pregunta.

¿La leche cruda comercializada en el corregimiento de Catambuco cumple con los requisitos de calidad e inocuidad estipulados en la normatividad Colombiana?

¹³ “Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos” (Codex Alimentarius, International Food Standards), 2010, p. 19

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad fisicoquímico, composicional y microbiológica de la leche cruda bovina que se comercializa en el corregimiento de Catambuco.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la calidad composicional de la leche cruda comercializada en Catambuco mediante análisis de grasa, proteína, sólidos totales y sólidos no grasos.
- Analizar la calidad microbiológica de la leche cruda comercializada en Catambuco mediante recuento de mesófilos, coliformes totales y fecales, células somáticas y listeria.
- Evaluar la inocuidad de la leche cruda comercializada en Catambuco mediante la prueba de difusión estándar, mediante beta – lactámicos y pruebas de adulterantes.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 LA LECHE

La legislación colombiana señala a la leche como un producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos, sin ningún tipo de adición o extracción.¹⁴

Según la norma técnica colombiana.¹⁵ La leche cruda debe presentar un aspecto normal, estar limpia y libre de calostro, preservativos, colorantes, materias extrañas y olores objetables o extraños; obtenida a partir de animales sanos libre de enfermedades. La leche cruda y los productos elaborados a partir de la leche cruda pueden causar infecciones graves, generadas por bacterias como *Salmonella*, *Listeria* y *Escherichia coli*.

El impacto de microorganismos patógenos y contaminantes químicos de origen diverso, aunque limitado, continúa despertando preocupación en la industria alimentaria, antes de la segunda Guerra Mundial, el consumo de leche o nata no pasteurizada causaba con frecuencia brotes de enfermedades como la difteria, la poliomielitis, el tifus o la tuberculosis. En la actualidad, las mejoras introducidas en la higienización a nivel de las producciones lecheras y plantas de procesado, junto con la aplicación rutinaria de la pasteurización, prácticamente han eliminado el riesgo de transmisión de estas enfermedades.

La contaminación de la leche puede deberse a:

- Heces de vaca en contacto directo con la leche
- Mastitis
- Enfermedades de la vaca (por ejemplo: tuberculosis bovina)
- Bacterias que viven en la piel de las vacas
- Ambiente (por ejemplo: heces, suciedad, equipo de procesamiento)
- Seres humanos, (contaminación cruzada).

¹⁴ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL, Decreto 616 de 2006, 2006

¹⁵ “Productos lácteos, leche cruda” (Norma Técnica Colombiana), [CDCP], 2002, p. 1).

Entre los diversos peligros químicos a considerar, los más frecuentes suelen ser los residuos de sustancias farmacológicas, principalmente antibióticos, que se administran a los animales sin guardar el necesario período de espera. Estos pueden administrarse por vía intramuscular, intravenosa, subcutánea u oral, muchos antibióticos se administran directamente en la glándula mamaria para el tratamiento de mastitis. Esta última vía parece la más implicada en la presencia de residuos de antibióticos en la leche. La mayoría de preparados contiene β -lactámicos, siendo este el tipo de antibióticos detectado con mayor frecuencia en diversos países.

La presencia de los antibióticos es un riesgo no solo para el consumidor, sino también para la propia industria láctea, ya que interfieren en los procesos de fermentación. En ocasiones y para preservar la leche cruda de la acidificación se adicionan conservantes que pueden ser nocivos para la salud y que no se eliminan con los procesos de pasteurización, generando un riesgo potencial para el consumidor, que aunque hierva la leche cruda para su consumo en casa, no está eliminando estas sustancias¹⁶.

García y Calderón¹⁷, en trabajos desarrollados en la sabana de Bogotá observaron valores muy extremos en la misma región al evaluar densidad, crioscopia, acidez expresada como: ácido láctico, lactosa, proteína, grasa, sólidos no grasos (SNG), sólidos totales (ST), recuento de mesófilos aerobios y recuento de coliformes, lo que se relaciona por el diferente manejo a lo largo de la cadena que afectan la calidad general del producto recolectado.

Feoli y Col¹⁸, en estudios similares desarrollados en Umbita, Boyacá encontraron un gran contenido de agua en la leche de la misma manera descubrieron que el formol fue el adulterante más utilizado de la zona.

¹⁶ CONTEXTO GANADERO. Los riesgos de consumir leche cruda En: <http://contextoganadero.com/blog/los-riesgos-de-consumir-leche-cruda>, 26 noviembre 2012.

¹⁷ GARCIA y CALDERON. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. En: http://www.scielo.unal.edu.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682006000100006&lng=pt&nrm=

¹⁸ FEOLI y Col. Control de la calidad físico-química y microbiológica suministrada al I.C.T.A proveniente de la región de Umbita Boyacá. En: <http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/farmacia/revista/V15P87-93.pdf>

4.1.1 Calidad composicional. Es la condición que hace referencia a las características fisicoquímicas de la leche. Como indicadores de la calidad composicional de la leche se toman los contenidos de sólidos totales, proteína y grasa, sin embargo, los componentes menores o las propiedades fisicoquímicas pueden ser determinantes en el comportamiento de la leche al momento de ser procesada.¹⁹

Químicamente, la leche es uno de los fluidos más completos que existen. El término “sólidos totales” se utiliza ampliamente para indicar los componentes con exclusión del agua y el de “sólidos no grasos” cuando se excluye el agua y la grasa. El agua representa aproximadamente entre un 82% y un 82.5% de la leche, los sólidos totales alcanzan habitualmente la cifra de 12% hasta un 13% y los sólidos no grasos se encuentran muy cerca del 9%.(Paseiro 1980, citado por Agudelo y Bedoya 2005).²⁰ En la Tabla 1 se muestran los componentes de un litro de leche.

Tabla 1. Componentes principales de la leche.

Componente	g/1000g
Agua (g)	880
Lactosa (g)	46
Sustancias nitrogenadas (g)	32
Caseína	26
Proteínas séricas	4.5
Sustancias nitrogenadas no proteicas	1.5
Sustancias minerales (g)	7
Ácidos orgánicos	1.5

Fuente: Wastra, Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos, Ed. Acribia, Zaragoza, 2010.

4.1.1.1 Acidez. Para Corrales, et al. La acidez es el poder de combinación de un ácido con una base. La acidez total se expresa en porcentaje de ácido en 100 ml o

¹⁹ NOVOA CASTRO, Carlos. Consideraciones sobre la calidad de la leche, Bogotá 1998.

²⁰ PASEIRO, Perfecto. Control de la calidad de la leche. Universidad de Santiago. Facultad de Farmacia. Departamento de bromatología y tecnología y análisis químico aplicado. Santiago de Chile, 1980. p. 21-42 citado por AGUDELO, Antonio y BEDOYA, Oswaldo. Composición nutricional de la leche del ganado vacuno. Revista Lasallista de investigación. Vol.2. No.1. corporación universitaria Lasallista. Antioquia, Colombia. 2005. p.39.

en 100 g de muestra y se puede determinar utilizando métodos cualitativos y/o cuantitativos.²¹

4.1.1.2 Prueba de ebullición. Consiste en llevar una pequeña muestra de leche a punto de ebullición para observar si hay formación de precipitado o de grumos, o si por el contrario la leche es estable al calor. Las leches ácidas o con desequilibrios salinos, forman precipitados indicando que la leche no es estable al calor y no puede ser sometida al proceso de pasteurización.²²

4.1.1.3 Prueba del alcohol. Tiene la ventaja sobre la prueba de ebullición que es más fácil de realizar a nivel de campo o de plataforma y además se puede volver más o menos exigente dependiendo del grado de alcohol que se utilice. Las leches con alto grado de acidez o con desbalance salino dan positivo a esta prueba. Aunque la mayoría de resultados positivos se deben a un elevado nivel de acidez, algunas muestras que presentan acidez y pH normales dan positivo a la prueba, principalmente por altos contenidos de cloruros, calcio y sodio.²³

4.1.1.4 Prueba de la alizarina o alizarol. Además de indicar el grado de acidez de una leche, también revela neutralización de las mismas (leches alcalinas).²⁴

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

A medida que las bacterias se desarrollan en la leche, utilizan la lactosa transformándola en ácidos orgánicos principalmente láctico, aumentando así el

²¹ CORRALES, Luz; SEPULVEDA, José e HIGUERA, José, "La Leche su procesamiento y Su Control" En: Colombia 2005. ed: Centro De Publicaciones Universidad Nacional De Colombia ISBN: 958-8526-1 v. 1 p. 324.

²² PIÑEROS, Gregorio y TELLEZ, Gonzalo. La calidad como factor de competitividad en la cadena láctea. universidad nacional de Colombia facultad de medicina veterinaria y de zootecnia. Bogotá 2005.

²³ NOVOA, Op. cit, p.22

²⁴ CORRALES, Op.cit

nivel de acidez. Cuando la acidez alcanza el valor de 0,22%, las proteínas de la leche se precipitan con el calentamiento, lo cual le impediría ser sometida al proceso de pasteurización. Por esta razón la leche ácida es rechazada por la mayoría de los industriales de la leche. Niveles por debajo de 0.13% p/v, podrían indicar adición de agua, neutralización de la leche con sustancias alcalinas o leches mastíticas. Las leches pobres en caseína también presentan niveles de acidez por debajo de lo normal. Niveles elevados se presentan por almacenamiento prolongado de la leche sin suficiente refrigeración, o por falta de higiene en su manejo.²⁵

4.1.2 Densidad. Novoa menciona que:

Esta prueba se determina con el termo lactodensímetro de Quevenne y se realiza también con el objeto de controlar la adición de agua a la leche. El valor de la densidad de la leche debe estar entre 1.030 a 1.033 g/cm³ según la legislación colombiana, aunque la mayoría de las muestras presentan valores de 1.029 a 1.032 g/cm³. Valores por debajo indican adición de agua y valores por encima indican adición de sólidos extraños a la leche.

La desventaja de tomar la densidad como parámetro para evaluar adición de agua a la leche, es que su lectura depende de todos los componentes incluyendo la grasa, la cual tiene una amplia variabilidad, generando demasiada incertidumbre en los resultados. La prueba es útil para determinar adición de agua, cuando ésta sobrepasa el 10%.²⁶

4.1.3 pH. El mismo autor menciona que:

Un valor en la leche fresca está entre 6.5 y 6.8. Algunas empresas prefieren evaluar el pH en vez de la acidez titulable de la leche. Aunque a medida que aumenta la acidez, el pH desciende y viceversa, esta relación no es perfecta, debido a que la leche tiene capacidad buffer, lo cual hace que con leves cambios en la acidez titulable, no se observen cambios en el pH. Cuando se le coloca agua adicional a la leche, desciende la acidez titulable, pero el pH no cambia. Valores de pH menores de 6.4 indican que se han presentado procesos de acidificación en la leche y en este caso no puede soportar tratamientos térmicos. Valores por encima de 6.9 indican neutralización con sustancias alcalinas o presencia de mastitis.²⁷

²⁵ Ibid., p.24.

²⁶ Ibid., p.24

²⁷ Ibid., p.24.

4.1.4 Grasa. Lerche, sostiene que:

La grasa láctea se sintetiza en su inmensa mayoría en las células secretoras de la glándula mamaria y constituye cerca del 3% de la leche; se encuentra en forma de partículas emulsionadas o suspendidas en pequeños glóbulos microscópicos, cuyos diámetros pueden variar de 0.1 a 0.22 micrones que se encuentran rodeados de una capa de fosfolípidos que evitan que la grasa se aglutine y pueda separarse de la parte acuosa. La grasa de la leche puede sufrir alteraciones causadas por la acción de la luz, del oxígeno y enzimas (lipasas). Los procesos hidrolíticos oxidativos conducen a la formación de peróxidos, aldehídos, cetonas y ácidos grasos libres, originándose así alteraciones del sabor que se hace sebáceo o rancio.²⁸

4.1.4.1 Método de Gerber para determinar grasa en leche: El método de Gerber perfeccionado por el químico Suizo N. Gerber, en 1892, se fundamenta en el empleo del ácido sulfúrico y la fuerza centrífuga para separar la grasa de la leche o sus derivados en unas botellas especiales que permite medir directamente el porcentaje de grasa por volumen. Al mezclarse la grasa con el ácido en determinadas proporciones, el ácido primero se precipita y luego disuelve las proteínas y demás constituyentes de la leche con excepción de la grasa. Al mismo tiempo el ácido digiere la membrana del glóbulo de grasa y eleva la temperatura de la muestra, lo que a su vez disminuye la tensión interfacial (grasa-fase acuosa ácida) y la viscosidad. En estas condiciones la grasa funde, se aglomera y tiende a separarse favorecidos por la diferencia de su densidad (0.93) y la densidad de la mezcla ácida (1.43).

Este método utiliza alcohol isoamílico, el cual ayuda a disminuir la tensión interfacial favoreciendo la ruptura de la emulsión, la separación de la grasa, además de prevenir la sulfonación y carbonización de la misma.²⁹

4.1.5 Proteína. La proteína contenida en la leche es del 3,5% (variando desde el 2.9% al 3.9%). Esta “proteína láctea” es una mezcla de numerosas fracciones proteicas diferentes y de pesos moleculares distintos. Las proteínas se clasifican en dos grandes grupos: caseínas (80%) y proteínas séricas (20%).³⁰

²⁸ LERCHE, Martin. Inspección veterinaria de la leche. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 1.69; p.188.

²⁹ Determinación de grasa y sólidos totales en leche y derivados, guía práctica. Maracaibo.2004. En: http://www.revistavirtualpro.com/files/ti27_200512.pdf

³⁰ COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACA; [Citado 26 de Julio de 2013]. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/695/69520107.pdf>.

La caseína es la proteína más abundante, además de ser la más característica de la leche por no encontrarse en otros alimentos, existen tres tipos de caseínas (Alfa, Beta y Kappa caseína), en la leche también se encuentra la albúmina y la globulina. El valor biológico de la caseína en la alimentación obedece a su contenido en aminoácidos esenciales que se separan de la parte acuosa por acción de enzimas como la renina o la quimosina, que son las responsables de la precipitación de la proteína en la elaboración de quesos.³¹

4.1.6 Sólidos no grasos. Piñeros et al sostienen que:

Otro parámetro para evaluar la calidad composicional de la leche es el contenido de sólidos no grasos (SNG), que se obtiene restando la grasa del contenido de sólidos totales. En este grupo están las proteínas, la lactosa y los minerales. El contenido de SNG tiene relación con el índice de refracción, por lo cual se puede obtener indirectamente por el refractómetro o lactómetro de Bertuzzi, que arroja una lectura llamada índice lactométrico. Este valor aproximado también se puede obtener por fórmulas empíricas basadas en la densidad y el contenido de grasa. Los SNG tienen una variabilidad algo menor que los sólidos totales y su valor oscila entre 8.4 y 9.2%. Valores por debajo de este rango pueden evidenciar leches muy pobres o con agua adicional y valores superiores hacen sospechar la adición de sólidos utilizados como correctores de densidad (cloruro de sodio, sacarosa o almidón)³².

4.1.7 Sólidos totales. Para Novoa:

En la medida en que una leche tenga mayor contenido de sólidos totales, tiene más valor económico, pues dará mayor rendimiento en los procesos industriales y será más nutritiva.

También es posible averiguar el contenido aproximado de sólidos a través de fórmulas empíricas a partir de la densidad y del contenido de grasa. Existe una correlación negativa entre el contenido de sólidos de la leche y la producción. Las razas especializadas en producción de leche, la producen con menor contenido de sólidos que las de doble propósito o las razas criollas. El contenido de sólidos también varía con la fase de lactancia, siendo mayor al inicio y final de esta. Normalmente se espera tener valores de 11.5 a 12.0% para las razas de alta producción y de 12.0 a 13.0% para las de baja producción.³³

³¹ LERCHE, op. Cit., p.39

³²PIÑEROS, op. Cit., p.19

³³NOVOA., op.cit

4.1.8 Ekomilk, analizador automático de leche. Son analizadores ultrasónicos automáticos portátiles para verificar la calidad de la leche. Estos equipos son ideales para centros de acopio, tambos e industrias lácteas. Los analizadores ultra ultrasónicos de la leche de Ekomilk se diseñan para el análisis rápido y rentable de los contenidos de agua agregada, grasa, sólidos de leche no grasos, pH, temperatura, conductividad, proteína y densidad de la leche.³⁴

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

Tabla 2. Requisitos para la leche cruda.

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

Fuente: Ministerio de la protección Social. Decreto 616 de 2006³⁵

4.2 ADULTERANTES DE LA LECHE

Los aditivos utilizados para enmascarar la acidez elevada de la leche se realiza mediante la adición de neutralizantes, mientras las altas cargas microbianas se deprimen mediante la adición de conservantes.

³⁴ EKOMILK, Manual de productos, características. Disponible En: http://clasipar.paraguay.com/ekomilk_analizador_automatico_de_leche_1097632.html

³⁵MADR. Op.cit.

Según Hazard:

La leche puede ser adulterada en forma voluntaria o involuntaria. En esencia, la adulteración se puede definir como algo que se agrega a la leche y que produce cambios en el volumen y/o en su composición química. Uno de los contaminantes más frecuentes es el agua, la cual es detectada por las plantas lecheras a través de la prueba de crioscopía.³⁶

4.2.1 Adición de Neutralizantes Alcalinos. estas sustancias son adicionadas a la leche con el fin de neutralizar el ácido láctico, producto de la degradación bacteriana. Entre los más comunes están: carbonatos, bicarbonatos, fosfatos, orina, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, entre otros.

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

Como se ha indicado anteriormente el punto crioscópico de la leche aumenta con la adición de agua, pero ese aumento es contrarrestado por adición de solutos como sal o azúcar; en las mismas proporciones en que se presentan en el suero fisiológico (9% NaCl), de modo que se mantenga la presión osmótica igual a la de la sangre. De esa manera el punto de congelación no varía. Por esta razón es siempre recomendable que paralelamente a las determinaciones de crioscopía, se proceda a medir el porcentaje de cloruros y/o azúcar para poder detectar esa posible adulteración³⁷

4.2.3 Adición de Agua Oxigenada. la adición de peróxido de hidrogeno, a la leche se usa para la conservación química de la misma. En la actualidad se usa únicamente de forma clandestina en zonas tropicales en donde los medios de transporte y pasteurización están poco desarrollados, con la finalidad de evitar el crecimiento microbiano en la leche fresca. El peróxido de hidrogeno puede

³⁶ HAZARD T., SERGIO. 1997. Variación de la composición de la leche. p.33- 44. Serie Carillanca N° 62. In: Curso taller Calidad de Leche e Interpretación de Resultados de Laboratorio. Temuco, 7 de Noviembre de 1997.

³⁷ Ibíd.

eliminarse fácilmente de la leche después de haber producido su acción germicida y se destruye por calor.

4.2.4 Adulteración con Formol. Cuando una solución de formaldehído en la leche es puesta con ácido sulfúrico concentrado, y una pequeña de sal férrica u otro agente oxidante un color violeta aparece en la mezcla esto se conoce como el test de Hehner introducida en 1895 y todavía en uso. La reacción con formaldehído depende del triptófano de las proteínas.

4.2.5 Adición de harinas y almidones. La prueba de lugól es un método que se usa para identificar polisacáridos (almidones). El almidón en contacto con unas gotas de reactivo de lugól (disolución de yodo y yoduro potásico) toma un color azul-violeta característico. La coloración producida por el lugól se debe a que el yodo se introduce entre las espiras de la molécula de almidón.

4.2.6 Adición de agua. Lerche asevera:

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

El peso específico de la leche oscila entre 1.027 y 1.035 con una media de 1.032. El punto de congelación se encuentra por término medio entre -0.54°C y -0.55°C (valores límites -0.51 y -0.59°C) en virtud de la lactosa y las sales disueltas; la técnica de su determinación se llama crioscopia y ha sido también aceptada en el examen de la leche para determinar posibles adulteraciones por la adición de agua. Igualmente puede influir sobre el punto de congelación de la leche la acidificación, en cuyo caso el punto crioscópico disminuye.³⁸

4.2.7 Adición de suero. las posibilidades para el uso del suero en la industria alimentaria son amplias, una de ellas puede ser su incorporación a leche líquida o en polvo, con la finalidad de aumentar la cantidad de sólidos en esos alimentos, lo cual debe considerarse como fraude. Esta situación, en la cual una porción de la caseína de la leche es reemplazada por proteínas del suero, péptidos solubles y lactosa.

³⁸ LERCHE. Op.cit p. 40

4.3 CALIDAD MICROBIOLÓGICA

Para Figueroa³⁹, el contenido microbiano de la leche cruda dice mucho de su calidad. Está en función por una parte, de la higiene mantenida en el proceso de obtención de la leche, es decir la limpieza de las instalaciones de ordeño, de las condiciones de almacenamiento y del transporte y, por otra, del estado sanitario de la vaca, especialmente de la ubre.

Se refiere a la cantidad y tipo de bacterias presentes en la leche como consecuencia del manejo durante el ordeño, el almacenamiento y el transporte de la misma. La leche además de ser un medio nutritivo, es también un medio favorable desde el punto de vista físico para la multiplicación de los microorganismos y por ser un producto de origen animal sujeto a una gran diversidad de métodos de producción, se puede contaminar con un amplio espectro de microorganismos presentes en pezones, canal del pezón, superficies de la ubre, ubres mastíticas, agua contaminada utilizada en los sistemas de lavado, equipos de ordeño, etc.⁴⁰

Existen muchos indicadores de calidad higiénica, entre los que se pueden mencionar los siguientes:

4.3.1 Recuento total de mesófilos. Para Novoa.

El recuento total de bacterias mesófilas es el principal indicador de la calidad higiénica de la leche. En la medida que este recuento aumenta, la leche ha sufrido mayor grado de contaminación bacteriana. El análisis se realiza en agar no selectivo, con incubación a 37°C durante 48 horas, aunque existen métodos electrónicos de conteo de bacterias que son muy rápidos y que tienen buena correlación con el conteo en plato. Sin embargo este recuento no distingue entre bacterias causantes de enfermedades o provenientes del deterioro de la leche y lactococos benéficos que naturalmente están presentes en esta⁴¹.

El mismo autor afirma que cuando el recuento de mesófilos es alto, se sabe que su incremento se debe a fallas en las prácticas de higiene en la obtención y

³⁹ FIGUEROA C. 2004. Manual de buenas Prácticas en producción de leche caprina. Secretaria de agricultura ganadería desarrollo rural pesca y alimentación. Valenzuela.

⁴⁰ NOVOA, p 26. citado por PIÑEROS y col. 2005.

⁴¹ NOVOA, Op. Cit., p 28.

manejo de la leche. Una leche higiénica normalmente contiene menos de 100.000 unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml), mientras que una leche mal manejada puede contener de 2 a 20 millones de UFC/ml. Aunque este recuento es muy importante en la determinación de la calidad de la leche cruda, muchas veces se prefiere utilizar el tiempo de reducción del azul de metileno, por costos y rapidez en la obtención de los resultados⁴².

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

tabla 3. Calidad microbiológica de la leche cruda.

REGION	Recuento total de Bacterias UFC
Región 1	175.000 – 200.000

Fuente: MADR. Res.017 de 2012 ⁴³

4.3.2 Coliformes totales y fecales. Según AVILA

Los coliformes identifica a una serie de bacterias de la familia *enterobacteriaceae* que incluye a los gérmenes *escherichia*, *enterobacter* y *klebsiella*; microorganismos Gram negativos usualmente capsulados, no esporulados que fermentan la lactosa y que causan cuadros de mastitis que van de ligera a severamente agudo⁴⁴.

Para Moreno et.al⁴⁵ La presencia de estas bacterias refleja un pobre manejo higiénico de la rutina de ordeño (limpieza de la piel de los pezones, manos y pezoneras) y la exposición de la leche a materia fecal. Se encuentran en forma abundante y constante en heces humanas y en menor grado en la de los animales. Su número varía alrededor de 5-500 millones de coliformes por gramo de heces. Con gran facilidad entran en contacto con los alimentos crudos, ya sean

⁴² NOVOA, Op. Cit., p 53

⁴³ COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Resolución 017 de 2012, 2012

⁴⁴ AVILA TELLEZ, Salvador. Comparación del estado de salud de la ubre y la calidad sanitaria de leche de vacas ordeñadas manual o mecánicamente. Universidad Nacional de México, Ciudad de México 2007.

⁴⁵ MORENO, Camilo y col. Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del alto Chicamocha (Departamento de Boyacá). Revista de medicina veterinaria. p. 66. 2007.

de origen animal o vegetal, cuando el saneamiento ambiental es pobre en una comunidad⁴⁶.

La demostración y conteo de coliformes puede realizarse mediante el empleo de cultivos sólidos que favorecen selectivamente su crecimiento y los diferencia de los microorganismos con los que suelen encontrarse asociados a los alimentos, o bien recurriendo a tubos de fermentación conteniendo caldo lactosado o caldo triptosalauril sulfato de sodio y computando su número en tablas de número más probable (NMP).⁴⁷

4.3.3 Prueba de azul de metileno. Según Novoa:

Esta prueba se basa en la actividad reductora de las bacterias, de manera que cuando se incuba a 37°C una muestra de leche a la cual se le ha colocado el colorante azul de metileno, el color azul va desapareciendo a medida que la actividad de las bacterias reduce el potencial redox. El tiempo de reducción del azul de metileno, es inversamente proporcional al número de bacterias. Tiempos de reducción del azul de metileno menores de dos horas significan que la calidad higiénica de la leche es muy pobre, pudiendo llegar a contener dos a cinco millones de bacterias por ml; tiempos de reducción de más de 6 horas indican buena calidad higiénica, con recuentos menores de 100.000 UFC / ml.

Esta prueba no es muy apropiada para la evaluación de la calidad higiénica de las leches refrigeradas, debido a que se relaciona con el recuento de bacterias mesófilas pero no con las psicrótrofas y psicrófilas; tampoco genera información acerca de las bacterias termodúricas. Es importante realizar pruebas para asegurarse que la leche analizada esté libre de antibióticos e inhibidores pues su presencia distorsionaría los resultados de la prueba.⁴⁸

4.3.4 Reducción de la resazurina. En 1929 el indicador resazurina fue introducido en Alemania como un sustituto del azul de metileno para pruebas de reducción en leche, desde entonces esta prueba se ha venido utilizando cada vez más por requerir menos tiempo. La resazurina es más electropositiva y más sensible que el azul de metileno para detectar ligeros cambios en el potencial de

⁴⁶ CCAYAC-M-004 "Estimación de la densidad microbiana por la técnica del número más probable, detección de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* por el número más probable. 2006., p. 56

⁴⁷ CCAYAC-M-004, Op. Cit., p.128.

⁴⁸ Ibid., p. 26

óxido reducción, por lo que permite obtener resultados más rápidos (en 1 o 3 horas) y mayor sensibilidad para reconocer la presencia de calostro y leches anormales.

Según la A.O.A.C.⁴⁹ La prueba se realiza en la leche en forma similar a la del azul de metileno, pero las lecturas y la interpretación de los resultados deben hacerse siguiendo diferentes normas. Así, en la llamada “prueba de 1 hora” se incuban las muestras hasta 36 °C y al cabo de 1 hora se observa su color preferiblemente con luz fluorescente contra un fondo gris neutro.

4.3.5 Recuento de células Somáticas. La importancia del conteo de células somáticas en la leche es que se puede conocer si la leche obtenida de la glándula mamaria es de buena calidad, así mismo, se conoce el estado de salud de la misma al obtener un número elevado de células somáticas. El recuento de células somáticas (CCS) es el número de células por mililitro de leche, por consiguiente un indicador útil para la concentración de leucocitos en leche⁵⁰. Para Hernandez que el CCS, es usado como un indicador de la salud de la glándula mamaria. La determinación del contenido de células somáticas de la leche, del tanque, de la vaca o de los cuartos de la ubre es el medio auxiliar de diagnóstico más importante, para juzgar el estado de salud de la ubre de un hato. Con los resultados de las células somáticas se corrobora la calidad de la leche.

Cuando la leche de todas las vacas en el hato se mezcla, el conteo de células somáticas en una muestra compuesta es un buen indicador de la prevalencia de la mastitis en el hato. Un conteo de células somáticas mayor de 200,000 células/ml indica la presencia de mastitis subclínicas. Los conteos de células somáticas por debajo de 400,000 células/ml son típicos de los hatos que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no hacen un particular énfasis en el control de la mastitis. Los hatos que poseen un programa de control efectivo de la mastitis poseen en forma consistente conteos por debajo de las 100,000 células/ml. Conteos de células somáticas mayores de 500,000 células/ml indican que un tercio de las glándulas se encuentran infectadas y que la pérdida de leche debido a mastitis subclínica es mayor de 10%.⁵¹

⁴⁹A.O.A.C. Methods of Analysis of Association of Analytical Chemists.A.O.A.C., P.O. Box 540, Benjamin Franklin Station, Washington 4, D.C. 1965.

⁵⁰ HERNANDES, Juan. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. Volumen IX Número 9. 2008

⁵¹ WATTIAUX, Michel. Mastitis control y prevención, Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera., Universidad de Wisconsin-Madison. 2009.

4.3.6 Determinación de *Listeria*. El género *Listeria* está compuesto por bacterias Gram positivas con bajo contenido G+C, estrechamente relacionado con los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Son bacilos aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, no capsulados, catalasa positiva, móviles entre 10 y 25°C.

Listeria ha sido aislada de diferentes sitios ambientales, como; suelo, agua, efluentes, de una gran variedad de alimentos y de heces humanas y animales. El hábitat natural de estos microorganismos es probablemente la materia orgánica vegetal en descomposición y los rumiantes domésticos contribuyen al mantenimientos de *Listeria* spp.

Listeria spp, fue considerado un patógeno animal hasta fines de la década del 70. A principios de los años 80 emerge como uno de los patógenos humanos de origen alimentario más importante. A partir de ese momento, la literatura sobre *Listeria* comenzó a incrementarse y a partir de 1983 una serie de brotes epidémicos humanos en Norteamérica y Europa establecieron claramente a la listeriosis como una grave infección alimentaria. Los alimentos más frecuentemente asociados con brotes y con alto nivel de riesgo son quesos y productos lácteos, patés y salchichas, pescados ahumados, ensaladas y en general productos industrializados, refrigerados, listos para el consumo, sin requerimientos de cocción o calentamiento previo. Los alimentos se pueden contaminar en cualquier eslabón de la cadena productiva, así como también en el almacenamiento en frío.

En rumiantes, la infección por *Listeria* es transmitida por consumo de ensilaje en mal estado, en el cual la bacteria se multiplica rápidamente, dando lugar a brotes en ganado.⁵²

4.4. ADULTERACION CON ANTIBIOTICOS Gaviria asegura:

Otros medios de adulterar la leche son los antibióticos. En éste último caso la situación es dramática, ya que si un productor envía a la industria lechera un producto con antibióticos, la leche le será devuelta a su predio y por lo tanto no le será cancelada. Los métodos de detección de antibióticos son tan sensibles que basta que una vaca del rebaño haya sido tratada, para que sea detectado inmediatamente en el tanque. Las plantas lecheras exigen leche sin antibióticos, ya

⁵²CALLEJO R., PRIETO M., MARTINEZ C. Aislamiento, identificación y caracterización de *Listeria monocytogenes*. Centro regional de referencia del WHO Global SalmSurv para América del Sur. 2008

que al ser transformada en queso o yogur éstos no permiten una maduración y, por lo tanto, no es posible obtener un producto de calidad.⁵³

4.5 NORMATIVIDAD COLOMBIANA PARA LECHE CRUDA.

De acuerdo decreto 2838 de 24 de agosto de 2006; por el cual se modifica parcialmente el decreto 616 de 2006 en el capítulo II nombre las excepciones para la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada.⁵⁴

Artículo 2⁵⁵. Después de dos años de entrada en vigencia la mencionada ley no se podrá comercializar leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo

Artículo 3⁵⁶. Plan de reconversión. Para el cumplimiento de lo establecido todo comercializador de leche cruda y de leche cruda enfriada, deberá presentar dentro de los seis (6) meses siguientes a la expedición de este decreto, ante la alcaldía de su jurisdicción un plan de reconversión conforme a la guía técnica que para el efecto expidan los Ministerios de Agricultura y Desarrollo rural y de la Protección Social.

Corresponde a las secretarías de Salud y de Agricultura de las entidades territoriales, o quien haga sus veces, de acuerdo con sus competencias, realizar el seguimiento a la aplicación de la presente disposición.

Parágrafo. Los comercializadores de leche cruda o leche cruda enfriada para consumo humano directo que se ajusten a lo establecido en el artículo 3 del capítulo II del decreto 2838, dentro de los seis (6) meses siguientes a la expedición del decreto no podrán comercializar el producto en el territorio nacional.

Artículo 4⁵⁷. Zonas especiales para la comercialización de leche cruda o leche

⁵³ GAVIRIA S. Luís E., CALDERON G. Carlos E., Manual de Métodos Físicoquímicos para el Control de Calidad de la Leche y sus Derivados. GTC parte 1. ICONTEC.

⁵⁴ COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Decreto 2838 del 2006, 2006

⁵⁵ Ibid., p. 2

⁵⁶ Ibid., p. 2

⁵⁷ Ibid., p. 2

cruda enfriada para consumo humano directo. A partir de la vigencia del decreto 2838 de 24 de Agosto de 2006 se podrá autorizar excepcionalmente la comercialización de leche cruda en aquellas zonas del país que por sus condiciones de accesibilidad geográfica y disponibilidad no pueden comercializar leche higienizada.

Corresponde al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA y al instituto Colombiano Agropecuario, ICA, estudiar y autorizar las zonas especiales de comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo, previa solicitud del alcalde municipal, conforme a la reglamentación que para el efecto expidan los Ministerios de Agricultura y desarrollo rural y de la Protección social. Para la autorización de las zonas especiales de comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo, se tendrán en cuenta los siguientes requisitos tendientes a reducir el riesgo para la salud del consumidor:

- Estar ubicadas en zonas aisladas o de difícil acceso.
- Población a abastecer.
- Disponibilidad alimentaria: Desarrollar los programas sanitarios y de inocuidad que determine el Instituto Colombiano Agropecuario ICA, para la vigilancia de brucelosis y tuberculosis.

Artículo 5⁵⁸. Comercialización de leche cruda para consumo humano directo. La leche cruda para consumo humano directo deberá comercializarse en un tiempo no superior a las ocho (8) horas transcurridas a partir del momento de su ordeño.

Artículo 6°. Comercialización de leche cruda fría da para consumo humano directo. La leche cruda enfriada para consumo humano directo deberá comercializarse en un tiempo no superior a las veinticuatro (24) horas transcurridas a partir del momento de su ordeño.

Artículo 7⁵⁹ *requisitos para la comercialización de leche cruda y leche cruda enfriada. Todo comercializador de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo deberá cumplir con los siguientes requisitos:*

⁵⁸ Ibid., p. 2

⁵⁹ Ibid., p. 2

- a. Estar registrados y autorizados por las autoridades sanitarias de los departamentos, distritos o municipios, según las competencias establecidas en los artículos 43, 44 Y 45 de la Ley 715 de 2001, como comercializador de leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo.
- b. Cumplir en lo pertinente con las condiciones higiénico-sanitarias establecidas en el Decreto 3075 de 1997.

Artículo 8⁶⁰. Equipos y utensilios Los equipos y utensilios que en el proceso de comercialización entran en contacto directo con la leche cruda y la leche cruda enfriada para consumo humano directo, deben cumplir con los siguientes requisitos:

- a. Estar fabricados con materiales resistentes al uso y a la corrosión, así como a la utilización frecuente de los agentes de limpieza y desinfección.
- b. Los utensilios y superficies deben poseer un acabado liso, no poroso, no absorbente, estar libres de defectos, grietas, intersticios u otras irregularidades, y no deben recubrirse con pinturas u otro tipo de material que represente un riesgo para la inocuidad de la leche.
- c. Todas las superficies de contacto con la leche cruda o leche cruda enfriada deben ser inertes, bajo las condiciones de uso previstas, de manera que no exista interacción entre éstas o de éstas con la leche cruda o leche cruda enfriada.
- d. En los espacios interiores de contacto directo con la leche cruda y leche cruda enfriada, los equipos no deben poseer piezas o accesorios que requieran lubricación o roscas de acoplamiento u otras conexiones peligrosas.

Artículo 9⁶¹. Salud del manipulador. Todo manipulador o comercializador de leche cruda y de leche cruda enfriada deberá:

- a. Poseer un certificado médico que reconozca su aptitud para manipular a

⁶⁰ Ibid., p. 3

⁶¹ Ibid., p. 3

leche, el cual tendrá vigencia por un año.

- b. Mantener la higiene personal y los buenos hábitos higiénicos.
- c. Estar libre de lesiones en la piel y síntomas de afecciones respiratorias.

Artículo 10⁶². Procedencia de la leche. La leche cruda y leche cruda enfriada que se comercialice para consumo humano directo, deberá proceder de ganaderías inscritas en programas de saneamiento establecidas por el Instituto Colombiano Agropecuario - ICA, las cuales han cumplido con procesos de vigilancia epidemiológica de brucelosis y tuberculosis bovina. Estos procesos serán reglamentados por el ICA a través de resolución.

Artículo 12⁶³.- características microbiológicas de la leche cruda y de leche cruda enfriada. La leche cruda y leche cruda enfriada para consumo humano directo deberá cumplir con los siguientes requisitos microbiológicos.

⁶² Ibid., p. 3

⁶³ Ibid., p. 3

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 LOCALIZACIÓN

El Corregimiento de Catambuco, se encuentra ubicado en el Departamento de Nariño al sur del País a 5 Km de la ciudad de Pasto, Su temperatura promedio es de 12°C, con una altura de 2800 m.s.n.m.

Los límites de este corregimiento son: Por el norte con los corregimientos de Gualmatán, Jongovito, Jamondino, Mocondino, por el sur con los corregimientos de Santa Barbará, y el Socorro, por el occidente con el corregimiento del Encano y por el occidente con el Municipio de Tangua y el corregimiento de Gualmatán.⁶⁴

5.2 METODOLOGÍA

5.2.1 Toma de muestras

- **Materiales**

- ✓ Recipientes de vidrio u otro material apropiado, esterilizable de capacidad de 1000 cm³ con tapa que asegure completa hermeticidad.
- ✓ Nevera de icopor.
- ✓ Hielo.

- **Procedimiento**

Las muestras se tomaron de tres puntos de venta de leche cruda en el casco urbano de corregimiento de Catambuco, los cuales fueron escogidos por ser los de mayor comercio en el sector, estos puntos no cuentan con sistemas de refrigeración y reciben el producto de varios proveedores del sector rural de Catambuco. Para no distorsionar la veracidad de los datos no se informó a los comerciantes acerca del destino de la leche, las primeras muestras fueron tomadas el día 6 de mayo y las ultimas el día 27 de mayo, durante 3 semanas en

⁶⁴GOBERNACIÓN DE NARIÑO, Oficina de Cultura y Turismo, San Juan de Pasto. 2010 En: http://www.culturapasto.gov.co/index.php?option=com_content&view=article&id=135:catambuco&catid=27:corregimientos&Itemid=23

este mes; los días lunes y martes, todas las muestras fueron recolectadas entre las 7am y 8 am, se depositaron en bolsas estériles de las cuales inmediatamente se sacaron submuestras para el análisis microbiológico.

Los análisis se realizaron en la Universidad de Nariño; las pruebas de adulterantes, fisico-químicos, listeria y antibióticos se realizaron en el laboratorio de fisiología y los análisis microbiológicos en los laboratorios especializados de la misma dependencia.

5.2.2 Protocolos para el análisis de la calidad fisicoquímica de la leche

5.2.2.1 Acidez⁶⁵. Para determinar la acidez de la leche se utilizaron métodos cualitativos de orientación o descarte, tales como: la prueba del alcohol, la prueba de alizarol y la prueba de ebullición. También métodos cuantitativos como el de titulación con hidróxido de sodio 0.1 N, en presencia de fenolftaleína.

- **Prueba de ebullición.** Se realizó tras un tiempo de conservación variable y constituye el mejor medio para medir la calidad de conservación en forma rápida.

- **Materiales**

1. Pipetas
2. Gradillas
3. Tubos de Ensayo
4. Estufa o mechero

- **Método**

4. Se tomó 5ml de leche y depositó en un tubo de ensayo.
5. Se llevó al calor hasta ebullición.
6. Se observó la presencia de coágulos en la muestra y se reporta el resultado como positiva a la ebullición.

⁶⁵ CORRALES, op.cit. p. 324.

- **Prueba de alcohol**⁶⁶. Se homogenizaron cada una de las muestras y de cada una se tomaron 3 ml de leche con una pipeta volumétrica y se depositó en una cápsula de porcelana, a la cual se adicionaron 3 ml de alcohol al 70% y se observó la formación de grumos

- **Prueba de alizarina o alizarol**⁶⁷. Se homogenizó cada una de las muestras, se tomaron 3 ml de leche y se depositaron en una cápsula de porcelana, a la cual se adicionó previamente 3 ml de alizarina al 0,2% y se observó los cambios en coloración y formación de grumos se afirma que es positiva.

- **Determinación de la acidez mediante titulación con NaOH**⁶⁸ Se mezclaron cuidadosamente la muestra y se transfirió con una pipeta volumétrica de 9 ml a una cápsula de porcelana. Se emplearon 3 gotas de solución alcohólica de fenolftaleína al 1% como indicador y se valoró con solución NaOH 0.1 N (N/10), hasta la aparición de una coloración rosa fácilmente perceptible por comparación con un testigo tomado de la misma leche. Dicha coloración desapareció gradualmente, pero se considera obtenido el punto final cuando el tinte rosa persiste unos 30 segundos.

Los resultados de acidez se expresan en peso de ácido láctico por 100 ml de leche, siempre que se tomen 9 ml de muestra; para obtener dicho resultado se divide entre 10 el número de ml de NaOH gastados en la titulación, o utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{\text{ml NaOH gastados} \times \text{Normalidad NaOH} \times \text{eq. G}}{\text{ml o g de muestra de leche}}$$

$$\text{eq. G} = 0.09 \text{ (P.M. ácido láctico} = 90/1000 \text{ g} = 0.09 \text{ g)}$$

5.2.2.2 Densidad⁶⁹ Se transfirió a una probeta con capacidad de 250 ml una cantidad de muestra (previamente mezclada), que permita sumergir el termo lactodensímetro, evitando que se apoye por las paredes de la probeta y permitiendo que flote libremente. Se espera que la columna de mercurio se estabilice y se efectúa la lectura del termómetro y de los grados lactométricos teniendo en cuenta de leer por la parte superior del menisco que se forma.

⁶⁶ Ibid.

⁶⁷ Ibid.

⁶⁸ Ibid.

⁶⁹ Ibid.

La lectura debe efectuarse a 15°C, aceptándose una variación de más o menos 5°C en la muestra. La densidad de la leche se da a 15°C, usando un termo lactodensímetro o un picnómetro. Esta densidad se expresa en grados Quebene (°Q) o grados lactodensímetros (°L).

- **Método**

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

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

Dónde:

X: Temperatura

± 0.2: Se suman o restan dependiendo de si la temperatura de la leche. Si la T° = 15°C, en la fórmula se suma cero (0) y no 0.2.

Se suma 0.2 (+ 0.2) en la fórmula si la T° = 16°C.

Se suma 0.4 (+ 0.4) en la fórmula si la T° = 17°C. Es decir, por c/grado por encima de 15°C se va aumentando 0.2.

Se resta 0.2 (- 0.2) en la fórmula si la T° = 14°C.

Se resta 0.4 (- 0.4) en la fórmula si la T° = 13°C. Es decir, por c/grado por debajo de 15°C se va aumentando 0.2. Así, que se resta 0.6 (- 0.6) en la fórmula si la T° = 12°C y así, sucesivamente.

5.2.2.3 Determinación de pH⁷⁰. En un beaker de 10 ml, tomaron aproximadamente 7 ml de leche, introducir el pH-metro, y se realizó la lectura directamente en la escala del equipo.

5.2.2.4 Grasa por métodos Volumétricos. Se midió el volumen de la fase grasa separada de la fase acuosa de la leche mediante la aplicación de ácidos, álcalis, detergentes fuertes y aplicación de calor y centrifugación, en aparatos graduados especialmente para ello, llamados BUTIRÓMETROS o botellas para grasa.

Son métodos de rutina, sencillos, rápidos y lo suficientemente precisos en la práctica. Se destacan en este grupo, el método GERBER en Europa (oficialmente en Colombia).

⁷⁰Ibid.

- **Análisis en la leche entera según método Gerber⁷¹**. Se transfirió con una pipeta automática, 10 ml de ácido sulfúrico del 89.5-91% a un butirómetro Gerber previamente marcado (evitar mojar el cuello del butirómetro con ácido); se añadió 11 ml de la muestra de leche con cuidado y lentamente, para evitar mezclar (evitar mojar el cuello del butirómetro con leche), y 1 ml de alcohol amílico. Se tapó el butirómetro firmemente. Se agitó enérgicamente protegiendo con un paño, hasta completar la disolución total de la fase proteica y centrifugar a 1200 r.p.m. durante 3 a 5 minutos. Se llevó el butirómetro con la tapa invertida y ajustada a baño maría a una temperatura de $65 \pm 2^\circ\text{C}$, por un tiempo entre 3 y 10 minutos. Se ajustó la posición de la columna de grasa con el tapón de caucho. Leer directamente en la escala el porcentaje de grasa.

El número de ml ocupados por la capa oleosa da directamente el porcentaje de grasa en g por ciento.

5.2.2.5. Proteína, sólidos grasos, sólidos no grasos. Estos parámetros fueron evaluados mediante prueba de ultrasonido, con el sistema EkoMilk.

5.2.2.6 Sólidos totales.⁷² . Estos parámetros fueron evaluados mediante prueba de ultrasonido, con el sistema EkoMilk

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

$$\text{ST} = \text{SNG} + \% \text{ Grasa}$$

5.2.3 Protocolo para análisis de adulterantes.

5.2.3.1 Neutralizantes alcalinos⁷³ Sustancias como el hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), bicarbonato de sodio (NaHCO_3), carbonato de sodio (Na_2CO_3), cal (CaO), jabones alcalinos y orina, neutralizan el ácido láctico a medida que se forma.

⁷¹CORRALES, Op. cit.

⁷² NOVOA CASTRO, Carlos. Zootecnista. Esp. MSc. (c) en Ciencia-química. Profesor asistente de ciencia Tecnología de alimentos ICTA. Universidad Nacional de Colombia.

⁷³ Ibid

- **Reactivos**

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

- **Procedimiento**

En un tubo de ensayo se colocó 5 ml de leche. Se calentó hasta ebullición durante tres minutos con agitación. Enfriar. Agregar 3-5 gotas de solución de oxalato de potasio, agitar bien. Agregar 3 gotas de la solución de fenolftaleína.

- **Interpretación**

Una coloración rosada indica la presencia de alcalinizantes en la leche. Efectuar la prueba con un testigo negativo consistente en leche pura fresca y un testigo positivo consistente en leche pura fresca neutralizada.

5.2.3.2 Formol o solución de formaldehído⁷⁴

- **Reactivos**

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

- **Procedimiento**

Se colocó 5 ml de muestra en un tubo de ensayo, agregando 1 ml de ácido sulfúrico diluido y una gota de cloruro férrico. Mezclar y calentar a ebullición.

⁷⁴ Ibid.

5.2.3.3 Agua oxigenada

- Solución de peróxido de hidrógeno (método de Arnold y Mentzer)⁷⁵

- **Reactivos**

Solución de pentóxido de vanadio al 1% m/v (V_2O_5) en ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico diluido se prepara agregando cuidadosamente 6 ml de H_2SO_4 con 95 a 98% de pureza a 94 ml de agua.

- **Procedimiento**

En un tubo de ensayo se colocó 10 ml de muestra, agregando 10m a 20 gotas del reactivo preparado así: (Reactivo: Solución de pentóxido de vanadio al 1% m/v en ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico diluido se preparó agregando cuidadosamente 6 ml de ácido sulfúrico (95-98% de pureza) a 94 ml de agua). Observar el color.

- **Interpretación de resultados.**

La aparición de un color salmón indica la presencia de agua oxigenada. Una coloración amarillenta determina un resultado negativo.

- Solución de peróxido de hidrógeno H_2O_2 (método de yoduro de potasio)⁷⁶

Para detectar si todo el H_2O_2 ha sido destruido por la catalasa se realizó: Añadir unas gotas de yoduro de potasio (KI) (solución al 35%) recién preparada a 5 ml de leche.

- **Interpretación.**

La ausencia o presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en la leche se interpretó así:

⁷⁵ Ibid.

⁷⁶ Ibid.

- ✓ **Color amarillo canario:** Presencia de H₂O₂.
- ✓ **Color natural de la leche:** Ausencia de H₂O₂.

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

5.2.3.4 Harinas y almidones (Prueba del lugól)⁷⁷

- **Reactivos.**

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

- **Procedimiento.**

Colocar en un tubo de ensayo 5 ml de muestra, hervir, enfriar y agregar 5 gotas de reactivo.

- **Interpretación.**

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

5.2.3.5 Agua adicionada mediante el método refractométrico. Se levantó el prisma superior del refractómetro y limpió los dos prismas. Se colocó varias gotas de agua destilada de tal manera que cubran la superficie de éstos. Se efectuó la primera lectura 1 que servirá como calibración del cero 0 del refractómetro. Luego de secar los prismas con un papel suave, se colocan varias gotas de una leche normal patrón de la región y se efectúa la lectura 2 en la escala graduada del instrumento.

⁷⁷ Ibid.

Se limpió y secó nuevamente los prismas, se colocaron varias gotas de la muestra que se quiere analizar y se efectúa la lectura 3 correspondiente a la escala de 0 a 14%. Con las lecturas realizadas se efectúan los cálculos para obtener el porcentaje de agua adicionada a la leche.

- **Cálculos:**

Leche (2) + ó - Agua destilada (1) = Sólidos no Grasos leche Patrón % (A)

Leche (3) + ó - Agua destilada (1) = Sólidos no Grasos leche Problema % (B)

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

5.2.3.6 Hipocloritos y dióxido de cloro (Bacoxin) Prueba de selección ⁷⁸

- **Reactivos.**

✓ HCL concentrado para análisis de 36.5-38% de pureza 114 ml.

* Agua destilada 100 ml.

* Solución acuosa de yoduro de potasio al 4.2% m/v.

✓ Solución indicadora de almidón preparada de la siguiente manera:

Se llevó a hervor durante un minuto 0.8 g de almidón soluble en 100 ml de agua destilada, dejar enfriar. Esta solución debe emplearse recién preparada.

- **Procedimiento:**

En un tubo de ensayo se colocó 2 ml de leche, 1 ml de HCL diluido, 1 ml de solución de KI y 0.5 ml de la solución de almidón y agitar.

⁷⁸ Ibid.

- **Interpretación:**

Una coloración azul indica la presencia de cloro disponible debido a hipocloritos, cloraminas, dióxido de cloro o agua oxigenada. Efectuar la prueba de identificación de agua oxigenada por el método de pentóxido de vanadio, para descartar su presencia.

5.2.3.7 Suero⁷⁹

- **Reactivos**

➤ Peróxido de hidrógeno al 35%.

- **Procedimiento**

Se tomarán 20 ml de leche cruda, incubarlos a 37°C por 30 minutos. De esta muestra incubada tomar 5 ml, se adicionó una gota de peróxido. Colocar la muestra en ebullición.

- **Interpretación**

Si hay coagulación es positiva. Si no hay coagulación, es negativa. Si la acidez de la leche inicial es mayor de 0.18% no se puede hacer, pues da resultados falsos positivos.

5.2.4 Protocolo para análisis microbiológico

5.2.4.1 Prueba de azul de metileno

- equipos y materiales.
 - ✓ Reactivo azul de metileno
 - ✓ Tubos de ensayo
 - ✓ Pipeta de 1ml
 - ✓ Pipetas de 10ml
 - ✓ Baño maría.

⁷⁹ Ibíd.

- **Procedimiento.**

- Se agregó en los tubos de ensayo 10ml de leche.
- Se agregó 1ml de solución de azul de metileno
- Se selló el tubo de ensayo con tapones
- Se mezcló ambos líquidos con suavidad
- Se introdujo al baño maría y ajustó la temperatura del equipo hasta que el agua este entre 36°C y 37°C.
- Se observó a intervalos regulares las variaciones de color y se anotó el tiempo que tarda en producirse la decoloración.

Cuadro 1. Test azul de metileno

Decoloración	No UFC/ml	calidad
5 horas	100000 a 200000	Buena
2 a 4 horas	200000 a 2 millones	Buena a regular
Menos de 2 horas	Más de 2 millones	insuficiente

Fuente. Manual de métodos físico-químicos para el control de calidad de la leche y sus derivados. ICONTEC. 2004⁸⁰

5.2.4.2 Prueba de resazurina.

- Se depositó 10ml de leche con un tubo de ensayo
- Se agregó 1ml de resazurina al 0.005% p/v
- Homogenizar la muestra
- Se incubó a baño maría a 37°C por una hora
- Se observó coloración e interpretó según la tabla

Cuadro 2. Interpretación de resultados de la prueba de resazurina

Muy buena o excelente	Azul celeste
buena	Violeta azulada
Mediana, regular (aceptable)	Violeta rojizo
Mala	Rojo - rosa
Muy mala	Incoloro

Fuente: shonher, 1959⁸¹

⁸⁰ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Manual de métodos físicoquímicos para el control de calidad de la leche y sus derivados. 2004.

⁸¹ SCHONHERR, Dietmar, Citado por GOMEZ, Margarita. Tecnología de lácteos. Bogota, 2005.

5.2.4.3 Recuento de mesófilos (agar cuenta gérmenes) Su presencia puede reflejar deficiencias en el proceso de elaboración, su contaminación en la manipulación durante el ordeño.

Estas pruebas se llevarón a cabo en los laboratorios de análisis de alimentos de la Universidad de Nariño. Se efectuaron prueba para bacterias mesófilas mediante el método de recuento estándar en placa; debido a que este es el mejor indicador de la calidad higiénica.

- **Equipos y materiales.**

- ✓ Baño de agua o incubadora a 35° – 50° C.
- ✓ Refrigerador 0 - 5°C.
- ✓ Contador de colonias.
- ✓ Cajas de Petri Estériles.
- ✓ Pipetas de 1 ml. Estériles.

- **Procedimiento**

- ✓ Se transfirió por duplicado alícuotas de 1 ml de cada una de las diluciones 10^{-1} a 10^{-3} en cajas de Petri vacías estériles y previamente marcadas.
- ✓ Inmediatamente se adiciono en las cajas agar cuenta gérmenes fundidos manteniendo a una temperatura de 45°C.
- ✓ Inmediatamente se mezcló el inoculó con el medio fundido; la manera más indicada para hacer esta operación es moviendo suavemente la caja en forma circular.
- ✓ Dejar solidificar el agar.
- ✓ Invertir e incubar las cajas de Petri a 37°C durante 24 horas.

- **Interpretación**

Los resultados deben ser expresados con dos dígitos y el resto en potencia de 10 Ej.: Si el recuento se realiza en una dilución de 10^{-2} y fue de 148 colonias, el tercer dígito por ser mayor a 5 permite adicionar una unidad al segundo, o sea el recuento será de 15000= 1.5×10^3 . Si el recuento fue 234 por ser el tercer dígito menor que 5 se anula y se expresa 23000= 2.3×10^3 .

5.2.4.4 Recuento de coliformes totales y fecales.⁸²

- **Dilución de la muestra:**

- ✓ Se mantiene en refrigeración la leche cruda hasta el momento del análisis
- ✓ Antes de abrir los envases que contienen la muestra, se desinfectan con alcohol al 70% y se agita vigorosamente para homogenizar.
- ✓ Se preparan las diluciones del alimento de 10^{-1} a 10^{-5}
- ✓ La dilución 10^{-1} se prepara midiendo 1 ml de la muestra en un frasco que contenga 9 ml de diluyente agua peptonada.
- ✓ Transferir 1 ml de la dilución 10^{-1} a un tubo que contenga 9 ml de diluyente para obtener la dilución 10^{-2} y así sucesivamente se preparan las siguientes diluciones.
- ✓ Cada dilución sucesiva disminuye 10 veces la concentración. No olvidar marcar convenientemente los tubos.

- **Prueba presuntiva para coliformes totales.**

- ✓ Se pipeteo 1 ml de cada una de las diluciones (10^{-1} a 10^{-5} en tubos con caldo lauryl sulfato, utilizando tres tubos por dilución).
- ✓ Se incubó los tubos a 37°C por 24-48 horas.
- ✓ Pasadas las 24-48 horas se anota los tubos que muestran producción de gas, que se puede observar por el desplazamiento del tubo Durham.

- **Prueba confirmativa para coliformes totales y fecales.**

- ✓ Se confirmó los tubos con producción de gas en la prueba presuntiva son positivos inoculando 3 a 5 gotas en otros tubos con caldo brilla y triptona.
- ✓ Inocular los tubos a 44.5 °C por 24 horas en baño de María.
- ✓ Pasadas las 24 horas se toma nota de las muestras que presentan producción de gas.
- ✓ Se identificaron los tubos que muestran producción de gas y se revela el caldo triptona con el reactivo de Kovacs, se agita suavemente y se observa la presencia de un anillo rojo en la superficie cuando el tubo es positivo; cuando el tubo es negativo no se observa cambio.
- ✓ Otro procedimiento más rápido es con el medio Lauryl, sulfato más MUG que permite la identificación de coliformes totales y fecales (estos últimos se los confirma con el reactivo de Kovacs)

⁸²UNIVERSIDAD DE NARIÑO. Laboratorios especializados. Laboratorio microbiológico de alimentos. Pasto. 2012

- **Interpretación de los resultados.**

- ✓ Leer la tabla 4 del NMP (Numero Más probable) para saber el resultado de acuerdo con el número de tubos positivos, tanto para los coliformes totales, según el resultado de la prueba confirmativa y para los coliformes fecales, según el caldo brilla y el caldo triptona incubados a 44.5°C.
- ✓ Los tubos positivos de la prueba confirmativa, se siembran por estría, tomando un asa de cada uno de los tubos en la superficie de la placa de agar EMB (Eosina azul de metileno).
- ✓ Se incubarán las cajas invertidas a 37°C por 24-48 horas.
- ✓ Pasado este tiempo se realiza las lecturas de las colonias típicas de coliformes, aquellas que presentan un brillo verde metálico.

Tabla 4: Resultado de Comparación Número Más Probable.

Número de tubos con turbidez inoculados a partir de tres diluciones sucesivas			NMP	Número de tubos con turbidez inoculados a partir de tres diluciones sucesivas.			NMP
0	1	0	0,18	5	0	0	2,3
1	0	0	0,20	5	0	1	3,1
1	1	0	0,40	5	1	0	3,3
2	0	0	0,45	5	1	1	4,6
2	0	1	0,68	5	2	0	4,9
2	1	0	0,68	5	2	1	7,0
2	2	0	0,93	5	2	2	9,5
3	0	0	0,78	5	3	0	7,9
3	0	1	1,1	5	3	1	11,0
3	1	0	1,1	5	3	2	14,0
3	2	0	1,4	5	4	0	13,0
4	0	0	1,3	5	4	1	17,0
4	0	1	1,7	5	4	2	22,0
4	1	0	1,7	5	4	3	28,0
4	1	1	2,1	5	5	0	24,0
4	2	0	2,2	5	5	1	35,0
4	2	1	2,6	5	5	2	54,0
4	3	0	2,7	5	5	3	92,0
				5	5	4	1600

Fuente: Manual de métodos fisicoquímicos para el control de calidad de leche y sus derivados ICONTEC 2004⁸³

⁸³ GAVIRIA, Blanca. Manual de prácticas microbiológicas de alimentos. Bogota. 2007.

5.2.4.5 Células somáticas

La prueba PortaSCC® Para el recuento de células somáticas, se usará la prueba PortaSCC®, de la siguiente manera:

- ✓ Se Tomó una muestra de leche en un recipiente limpio (no es necesario que el recipiente este estéril)
- ✓ Se mezcló la muestra
- ✓ Se agregó una gota de leche al pocillo de la tira, utilizando la pipeta del kit, dejar que la leche se absorba totalmente en el pocillo
- ✓ Se agregó 3 gotas de solución activadora, al pocillo de la tira
- ✓ si el nivel de células es muy alto, el color puede desarrollarse en pocos minutos, la lectura se hace después de 45 minutos, utilizando una carta de color o un lector digital.
- ✓ Se estimó el número de células somáticas comparando con la carta de color o con la lectura digital

5.2.4.6 Identificación de *Listeria* en alimentos⁸⁴

- Preparación del medio:

- ✓ Se pesó 53g del medio para *Listeria* y 1g del suplemento para *Listeria* y disuélvalos en 1 litro de agua esterilizada por autoclave o filtración, mantenida a 20-30°C
- ✓ Los medios mantenidos a temperatura ambiente pueden usarse hasta 5 horas después. Se refrigeran y pueden durar 24 horas
- ✓ Los medios preparados pueden autoclavarse y así duran 2 semanas a temperatura de refrigeración

- Enriquecimiento de la muestra

- ✓ Se pesó 25g de muestra en una bolsa para stomacher
- ✓ Se adicionó 225ml de medio de enriquecimiento precalentado a 30°C
- ✓ Se agitó en stomacher por 30 segundos
- ✓ Se incubó 40 horas/ 30°C
- ✓ Hacer el montaje en la tirilla

⁸⁴ STRATEGIC DIAGNOSTICS INC. Rapid check listeria species test kit user guide. 2007

- Procedimiento para el montaje de la prueba

- ✓ Se transferirá del medio incubado 400 microlitros a un tubo plástico rack o vial e identificar
- ✓ Se colocó el tubo a un baño maría a 100°C por 5 minutos (min 5 minutos, máx. 15 minutos)
- ✓ Se remuevó los tubos y enfriaron a temperatura ambiente
- ✓ Se colocó a cada tubo una tirilla con la flecha indicando hacia abajo
- ✓ Dejó actuar la tirilla por 10 minutos
- ✓ La aparición de una línea roja (control) indica un resultado negativo
- ✓ La aparición de dos líneas rojas indica un resultado presuntivo positivo

Nota: si la línea roja no aparece después de los 10 minutos la prueba es inválida, tirillas leídas entre 10 y 20 minutos no son válidas.

5.2.5 Protocolo para detección de antibióticos en leche.

5.2.5.1 Determinación de antibióticos (técnica β etas.t.a.r.)⁸⁵

- **Procedimiento:**

- ✓ Se sacó el kit del frigorífico.
- ✓ Se sacó un vial individual con el receptor y golpear suavemente el fondo del vial contra una superficie dura, para que caiga el material del interior hacia la parte inferior.
- ✓ Se quitó el sello y el tapón de goma del vial del receptor.
- ✓ Se puso una punta limpia en la jeringuilla.
- ✓ Se descendió completamente el embolo de la jeringuilla e introducir la punta de ésta 1 cm en la muestra de leche. Tomar 0.2 ml de leche que llenan casi completamente la punta desechable.
- ✓ Se transfirió la leche de la jeringuilla al vial bajando lentamente el émbolo. Asegurarse de la total transferencia de la leche de la jeringuilla al vial. Poner de nuevo el tapón. Agitar suavemente el vial hasta la total disolución del material sólido.

⁸⁵ BARRERA, Miriam y ORTEZ, Mauricio. Determinación de residuos de antibióticos β -lactámicos y Tetraciclinas en leche cruda de cinco ganaderías ubicadas en el Municipio de San Luis Talpa y en leche pasteurizada. El Salvador. Disponible En: <http>

- ✓ Se puso el vial en la incubadora pre-calentado. Incubar durante 3 minutos a 47.5°C.
- ✓ Después de 3 minutos de incubación, con las manos limpias y secas, abrir el envase blanco, coger una tira de lectura y ponerla en el interior del vial todavía en la incubadora. Las flechas de la tira deben dirigirse hacia la parte inferior del vial en incubación. Continuar la incubación a 47.5°C. Cerrar el envase blanco.
- ✓ Después de una incubación adicional durante 2 minutos, sacar la tira del vial y realizar la lectura inmediatamente. La tira puede ser guardada en un archivo.
- ✓ Si la primera banda tiene una intensidad cercana o menor que la banda de referencia, la muestra es interpretada como positiva. Si no aparece la primera banda, la muestra es interpretada como altamente positiva.

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

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

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

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

5.3.1 Media aritmética

Denominada simplemente media o promedio y es la más conocida y la más fácil de calcular. Se define como el cociente al dividir la suma de los valores de la variable por el número total de observaciones.⁸⁶

5.3.2 Desviación estándar

Es una medida de dispersión para variables de razón (variables cuantitativas o cantidades racionales) y de intervalo, informa de la media de distancias que tienen los datos respecto a su media aritmética, expresada en las mismas unidades que la variable⁸⁷

⁸⁶ Fundación Universitaria Inpahu 2012

⁸⁷ Ibid. pag 5

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 ANÁLISIS DE LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE.

6.1.1 Acidez

6.1.1.1 Prueba de ebullición. Al realizar la prueba de ebullición en las muestras analizadas de leche cruda los resultados fueron negativos en su totalidad, no hubo presencia de grumos al someter las muestras a temperatura de ebullición.

6.1.1.2 Prueba de alcohol. En esta prueba se puede observar la desestabilización coloidal de la micela de caseína, por el efecto desnaturalizador del alcohol (O'Connell 2001).⁸⁸

Las pruebas evaluadas fueron negativas por lo cual, debido a que la descomposición bacteriana fue baja presentando parámetros normales de acidez, normalmente la leche positiva a la prueba de alcohol tiene mal olor y sabor.

La legislación colombiana es clara y precisa en el decreto 616 de 2006 en el cual menciona que debe presentar estabilidad proteica en presencia de alcohol 68% m/m o 75% v/v.⁸⁹

6.1.1.3 Prueba de alizarina o alizarol. En esta prueba se observó las modificaciones de color de la alizarina. La leche fresca con 0.16 o 0.17% de acidez no coagula y presenta un color lila-rosa.⁹⁰

El 23.33% de las muestras evaluadas presentaron coloración lila por lo cual se infiere una acidez grado 1, como se observa en el cuadro 3, cabe destacar que de

⁸⁸ O'CONNELL, J. Mechanism for the ethanol-dependent heat-induced dissociation of casein micelles. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.49, p.4424-4428, 2001

⁸⁹ MADR op.cit. pag.18

⁹⁰ HERNANDEZ, Jose, Análisis de alimentos, comisión académica nacional 2004

las pruebas presuntivas para la medición de acidez esta es la más sensible ya que la prueba de ebullición y de alcohol dieron resultados negativos.

Cuadro 3. Medición de la acidez o alcalinidad de la alizarina para leche cruda.

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

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

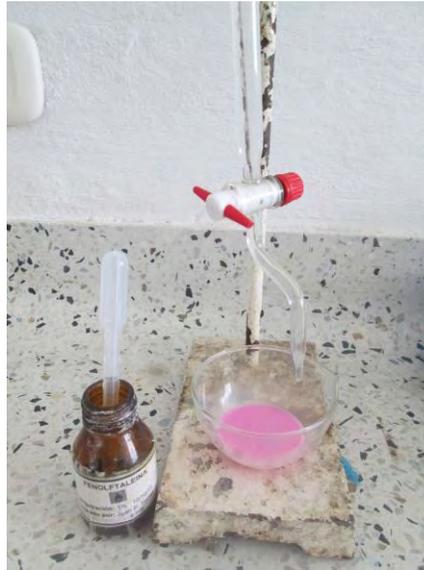
Tabla 5. Análisis de acidez mediante pruebas cualitativas.

Variable	Método	No. muestras	Lectura
Acidez	Alizarol	30	Negativa
Acidez	Ebullición	30	Negativa
Acidez	Alcohol	30	Negativa

Fuente: esta investigación

6.1.1.4 Acidez titulable. Con un promedio de 0.149 y una desviación estándar de 0.015 las muestras cumplen con los parámetros estipuladas en el decreto 616 de 2006, el cual señala un rango de ácido láctico de 0.13 a 0.17%.⁹¹ (Ver tabla 6)

Figura 1. Determinación de acidez titulable



Fuente: Autores

Estos resultados coinciden con las pruebas presuntivas realizadas para el mismo parámetro, ya que ningún resultado dio positivo o de leche considerada de mala calidad.

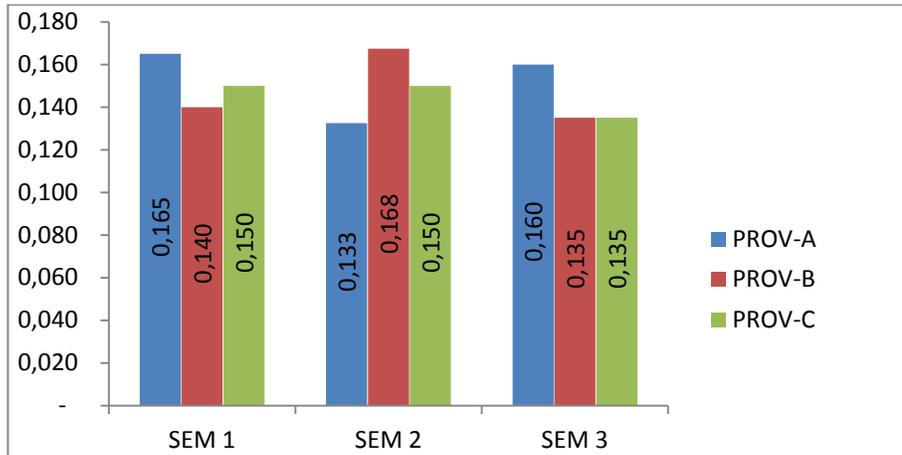
Tabla 6. Resultados de acidez mediante prueba de titulación

Variable	N	X	SD	V min	V máx.
% ácido láctico	30	0,14	0.015	0.13*	0.17*

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

⁹¹ MADR op.cit.

Figura 2. Valores por proveedor para acidez titulable



Fuente: Esta investigación

Como se observa en la figura 2 quien obtuvo un acidez por titulación elevada en la semana 1 y 3 fue el proveedor A con un promedio general de 0.152 % de ácido láctico, lo cual indica leches con un grado mayor en acidez las cuales pudieron ser causadas por mal almacenamiento y manipulación inadecuada de la leche.

Por su parte el proveedor C fue quien obtuvo un menor valor de acidez titulable en las tres semanas evaluadas, con una media de 0.145 y una desviación estándar de 0.007, resultado que está dentro de la normatividad colombiana en el decreto 616 de 2006. (Ver Tabla 7)

Investigaciones realizadas por Piñeros G., Téllez G y Cubillos A (2005)⁹², en la cuenca lechera del alto Chicamocha en el departamento de Boyacá reportan valores de acidez expresadas en porcentaje de ácido láctico de 0.14% a 0,17% argumentando su leve acidez. Boyacá es uno de los departamentos con mayor producción de leche especializada del país al igual que Nariño, los valores que se reportan en el corregimiento de Catambuco tienen similitud a los encontrados en la investigación anteriormente citada.

⁹² Piñeros G. op.cit

Tabla 7. Resultados para acidez titulable por proveedor

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	0,1525	0,013	0.13	0.17
B	10	0,1475	0,013	*	*
C	10	0,145	0,007	*	*

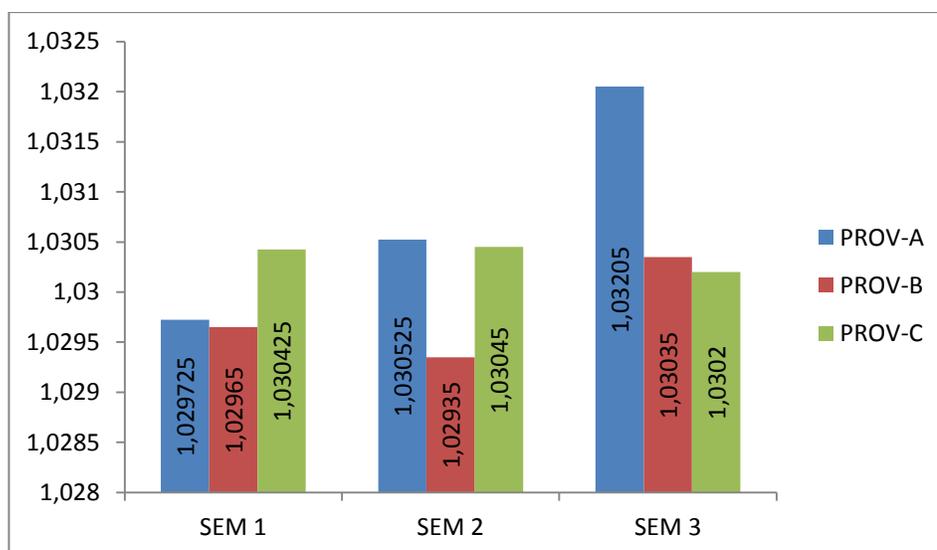
Fuente: Esta investigación. *Min. Protección Social. Dec. 616 de 2006

6.1.2 Densidad. En cuanto al estudio la estadística descriptiva realizada para la leche cruda comercializada en Catambuco se encontró que la densidad obtenida mediante lactodensímetro a temperatura entre 15°C y 19°C fue de 1.031 con una desviación estándar de 0,0010 en el total de muestras recolectadas. (Ver Tabla 9)

Para el caso del medidor ultrasónico EkoMilk los valores son de cuidado ya que para cada proveedor arrojó una lectura de 1.029 g/ml.

La densidad de la leche está directamente relacionada con la cantidad de grasa, sólidos no grasos y agua que contenga la leche. Al realizar un análisis de densidad en la leche, se debe tomar una muestra fresca y mezclarse suavemente sin que haya incorporación de aire.

Figura 3. Resultados de densidad por proveedor



Fuente: Esta investigación

La figura 3 señala que el proveedor C en la semana 3 obtuvo un valor elevado en cuanto a densidad con un valor promedio de 1.032g/ml, este valor tiene correlación con el valor de grasa para el mismo proveedor en la misma semana con un total de 4.95% de contenido graso. Piñeros G 2005 reporta valores encontrados en la cuenca alta del Chicamocha de 1.029g/ml a 1.032g/ml, valores similares a los encontrados en la investigación de 1.2935 y 1.032, los cuales están dentro de los parámetros normales establecidos por la NTC

EL proveedor B fue quien presento el menor valor de densidad con un promedio en las tres semanas de 1.0301g/ml con una desviación estándar de 0.005. Los valores reportados en la investigación están dentro de lo establecido por el decreto 616 de 2006 como se puede ver en la Tabla 8

Tabla 8. Resultados de densidad por proveedor.

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	1,0307	0,0009	1,030	1,033
B	10	1,0301	0,0005	*	*
C	10	1,0308	0,0008	*	*

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

Salgado 1996, reporta que la densidad normal de la leche varía entre 1,029 a 1,033 d/ml a temperatura de 15°C, la densidad de las leches desnatadas se eleva por encima de 1,0350 g/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 la adulteración por sí sola, la densidad de la leche puede disminuir por la adición de agua, descremado o por aumento de la temperatura, por el contrario aumenta con la adición de fécula y al disminuir la temperatura.⁹³

Según el decreto 616 de 2006 emanado por el Ministerio de la Protección Social plantea los parámetros físico-químicos que debe presentar la leche cruda para este parámetro, el cual tiene un rango de 1.030 g/ml a 1.033 g/ml, que para este estudio no cumple con la norma.⁹⁴

⁹³ SALGADO, María. Texto Guía Análisis Físico – Químico de Leches. 7a ed. Manizales. 1996. p. 45

⁹⁴MADR op.cit

Es importante saber si la leche ha sido adulterada de algún modo por eso se realizan diferentes pruebas para descubrir algún tipo de adulteración en ella, como por ejemplo en el aumento de la densidad de la leche por medio de la adición de solutos (harinas, almidones, azúcares), que incrementan de manera significativa los valores de densidad sobre pasando los estándares de la norma nacional. En el caso específico de esta investigación no se encontró relación entre el valor de densidad y algún tipo de adulteración, debido a que en el momento de realizar la prueba para determinar adulteración con harinas o almidones el resultado fue totalmente negativo.

Al igual que la adulteración con agua es una de las practicas más comunes, se efectúa con el fin de obtener mayores ganancias económicas por vender gran volumen de leche sin importar las condiciones sanitarias y nutricionales de la misma, sin embargo este tipo de adulteracion no se evidenció en el transcurso de la investigación ya que se presentaron valores de ST muy altos, al igual que por medio de la prueba de refractometría, se obtuvo datos que reafirman la buena calidad nutricional y composicional de la leche.

Figura 4. Lectura en Termo lactodensímetro



Fuente: Autores

Tabla 9. Resultados de variables fisicoquímicas y composicionales en leche cruda

Variable	N	X	SD	V min	V máx.
Densidad lactodensímetro g/ml	30	1.031	0.0010	1.030*	1.033*
Densidad Ekomilk g/ml	30	1.029	0.014	1.030*	1.033*
pH	30	6.52	0.15	6.5	6.8
% ácido láctico	30	0,14	0.015	0.13*	0.1
% Proteína Ekomilk	30	2.88	0.119	2.45	3.11
% Grasa Gerber	30	3.74	0.55	3.0*	
% Grasa Ekomilk	30	3.91	0.50	3.0*	
% SNG Ekomilk	30	8.38	0.33	8.3*	
% ST	30	12.33	0.35	11.3*	

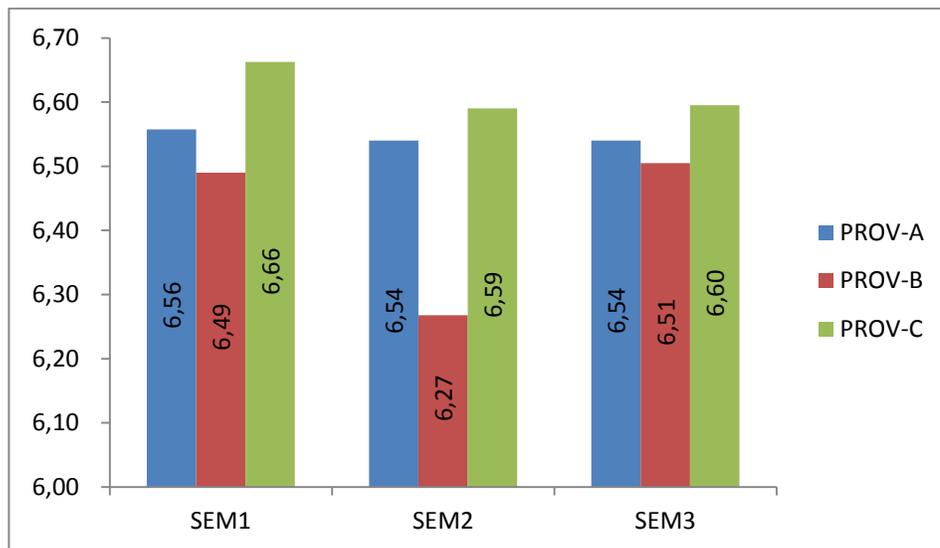
Fuente: Esta investigación. *Min. Protección Social. Dec. 616 de 2006

N: Número de muestras
X: Media aritmética
SD: Desviación estándar
ST: Sólidos totales
SNG: Sólidos No Grasos

6.1.3 pH. La media aritmética para este estudio reportó datos para pH de 6.52 con una desviación estándar de 0,047 estando dentro de los parámetros establecidos para la leche fresca. (Ver Tabla 9)

El pH de la leche debe ser controlado desde el primer momento, ya que es un indicador válido de sus condiciones higiénicas.⁹⁵

Figura 5. Resultados de pH por proveedor.



Fuente: Esta investigación.

El proveedor que mayor valor obtuvo en cuanto a medición de pH fue el proveedor C en las 3 semanas evaluadas como se puede apreciar en la figura 5. El proveedor C obtuvo un promedio de 6.62 en las 3 semanas evaluadas con una desviación estándar de 0.03, Nova 1998⁹⁶ afirma que, el valor en la leche fresca está entre 6.5 y 6.8, aunque a medida que aumenta la acidez, el pH desciende y viceversa, esta relación no es perfecta, debido a que la leche tiene capacidad buffer, lo cual hace que con leves cambios en la acidez titulable, no se observen cambios en el pH.

El proveedor B obtuvo el valor más bajo en la medición con pH-metro con una valor promedio de 6.42 y una desviación estándar de 0.10, mientras que el

⁹⁵ INFOAGRO, Disponible En: http://www.infoagro.com/instrumentos_medida/doc_ph.asp?k=53

⁹⁶ NOVOA. Op.cit. p.32

proveedor A presentó una media de 6.55 con una desviación estándar de 0.007, durante el tiempo evaluado. (Ver Tabla 10)

Tabla 10. Resultados de pH por proveedor.

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	6.55	0,0077	6.5	6.8
B	10	6.42	0,10	*	*
C	10	6.62	0,03	*	*

Fuente: Esta investigación *Novoa 1998

Livia M. 2005⁹⁷ argumenta:

El pH de la leche no es un valor constante, puede variar en el curso de la lactación. El pH del calostro es más bajo que el de la leche, por ej. pH 6,0 es explicado por un elevado contenido en proteínas. El estado de lactancia también modifica el pH observándose valores muy altos (mayores a 7,4) en leche de vacas individuales de fin de lactancia. Por otro lado, valores de pH 6,9 a 7,5 son medidos en leches mastíticas debido a un aumento de la permeabilidad de las membranas de la glándula mamaria originando una mayor concentración de iones Na y Cl y una reducción del contenido de lactosa y de P inorgánico soluble

Cuando se le adiciona agua a la leche, desciende la acidez titulable, pero el pH no cambia. Valores de pH menores de 6.4 indican que se han presentado procesos de acidificación en la leche y en este caso no puede soportar tratamientos térmicos. Valores por encima de 6.9 indican neutralización con sustancias alcalinas o presencia de mastitis.⁹⁸

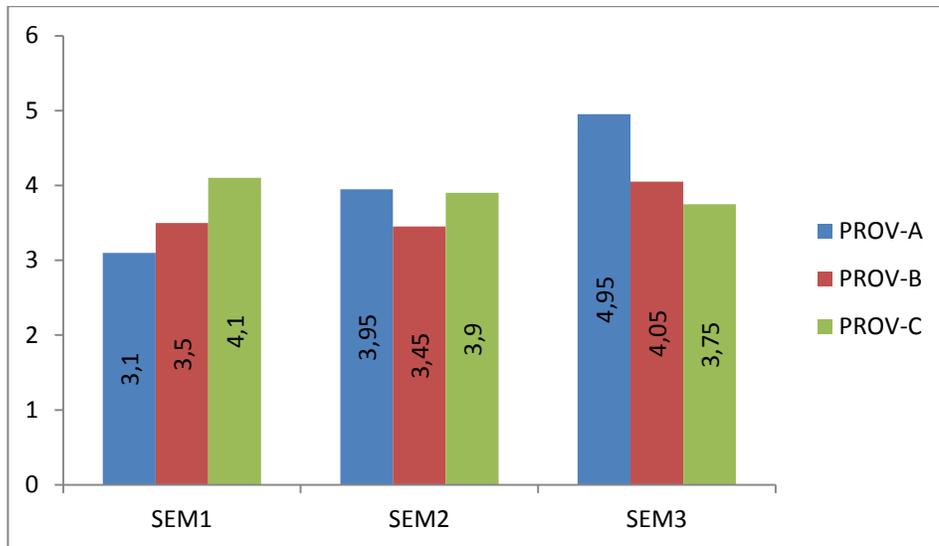
6.1.4 Grasa. Para el análisis de grasa mediante el método de lectura en butirometros tipo Gerber, se obtuvo un valor de 3,74%, con una desviación estándar de 0,55, valor muy por encima de los requerimientos establecidos por la legislación colombiana en el decreto 616 de 2006 del ministerio de protección social. (Ver Tabla 9)

⁹⁷ TAVERNA, Miguel y col. Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. 2o ed. INTA, 2005.

⁹⁸ NOVOA. op.cit.

El estudio hecho mediante medición ultrasónica arrojó un resultado similar en cuanto a porcentaje de grasa de la leche cruda comercializada en el corregimiento de Catambuco, con un valor de 3,91% y con una desviación estándar de 0,50, al igual que en el método de Gerber supera el 3,00% que el decreto 616 de 2006 establece.

Figura 6 Resultados de grasa metodo Gerber por proveedor.



Fuente: Esta investigación

Mediante la determinación de grasa por método Geber el proveedor A tuvo un incremento desde la primera semana hasta la última con un promedio de grasa para la tercer semana de 4.95% como se observa en la figura 6, el proveedor C presentó valores muy constantes con una media de 3.92% y una desviación estándar de 0.63 durante el tiempo evaluado

Calderón A, García F, Martínez G.2006 en investigaciones recientes reportan valores de grasa en leche cruda de la Sabana de Bogotá con un valor de 3.4%, con una desviación estándar de 0.30 valor que está por debajo de los resultados obtenidos mediante EkoMILK y determinación de grasa por método Gerber en la presente investigación.

El proveedor B fue quien presentó el valor más bajo en comparación con los otros dos proveedores, con una media de 3.67% con una desviación estándar de 0.26, valor que se encuentra por encima de lo establecido por la norma en el decreto 616 de 2006 (Ver Tabla 11), y por lo reportado por Calderón 2006 en su estudio realizado sobre la composición grasa en la Sabana de Bogotá.

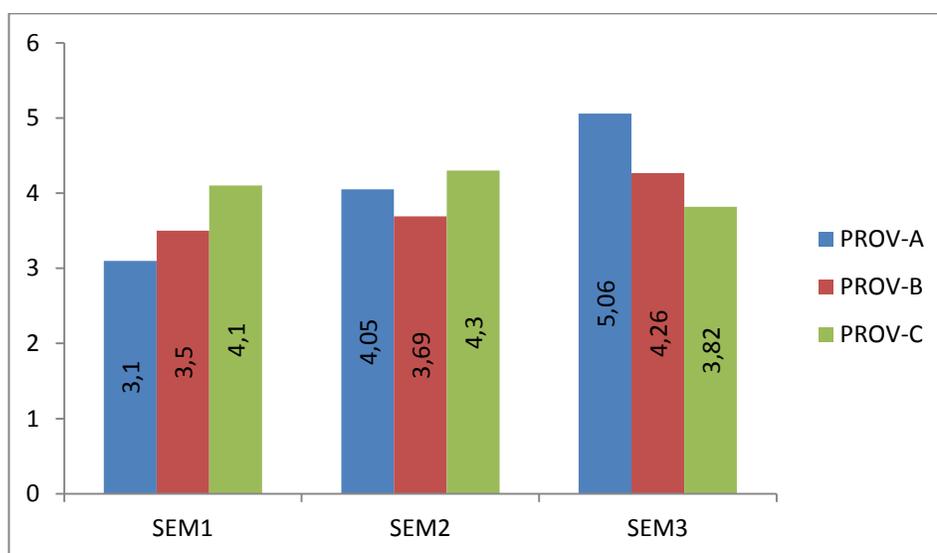
Tabla 11. Resultados de grasa método Gerber por proveedor.

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	4,00	0,63	3,0	
B	10	3,67	0,26	*	
C	10	3,92	0,12	*	

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

Para la región 1, según Agronet 2013 el promedio nacional en el mes de mayo fue de 3,6% por lo cual se considera que los niveles encontrados en los análisis por los diferentes métodos (Gerber y Ekomilk) son coherentes con los reportados por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.⁹⁹

Figura 7 Resultados grasa EkoMLK por proveedor



Fuente: Esta investigación.

Al igual que la grasa determinada por método Gerber el proveedor A en la determinación por EkoMILK obtuvo mejor porcentaje grasa en la semana 3 con un valor promedio de 5.06%, mostrando un crecimiento constante desde la primera semana evaluada con un valor de 3.1. Por su parte el proveedor C presenta una media en la investigación de 4.07% y una desviación estándar de 0.17.

⁹⁹ AGRONET. op.cit

El proveedor B sigue siendo el que menor porcentaje graso obtuvo con una media de 3.82% y una desviación estándar 0.3, (Ver Tabla 12), estos valores tanto en EkoMILK como en los obtenidos por método Gerber están por encima de lo reportado por Proexport 2011¹⁰⁰, afirmando que la leche que se produce en Colombia registra niveles de grasa superiores a los de importantes productores de talla mundial, como Canadá y EE.UU., reportando valores de 3,7% y 3,6% respectivamente.

Tabla 12. Resultados grasa EkoMILK por proveedor

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	4,07	0,66	3,0	
B	10	3,82	0,3	*	
C	10	4,07	0,17	*	

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

Los resultados altos en grasa pueden ser debido a varias causas, entre ellas se encuentra el factor climático ya que en época de verano o sequía la disponibilidad de forraje verde disminuye causando un aumento en el consumo de materia seca y a su vez esta repercute de manera directa en la cantidad de fibra que el animal consume, así aumentando el nivel de ácido acético y ácido butírico los cuales son precursores esenciales del contenido graso en la leche. Otro factor es el genético, este por su parte está relacionado directamente con las razas que presentan mayor contenido graso en la producción, razas como jersey, arshyre, normando, pardo suizo entre otras; en el departamento de Nariño el cruzamiento racial ha ido en aumento encontrando cruces entre holstein y normando o pardo suizo principalmente.

¹⁰⁰ MINISTERIO DE COMERCIO INDUSTRIA Y TURISMO. Promotor de turismo, inversión y exportaciones. Disponible En: www.proexport.com.co

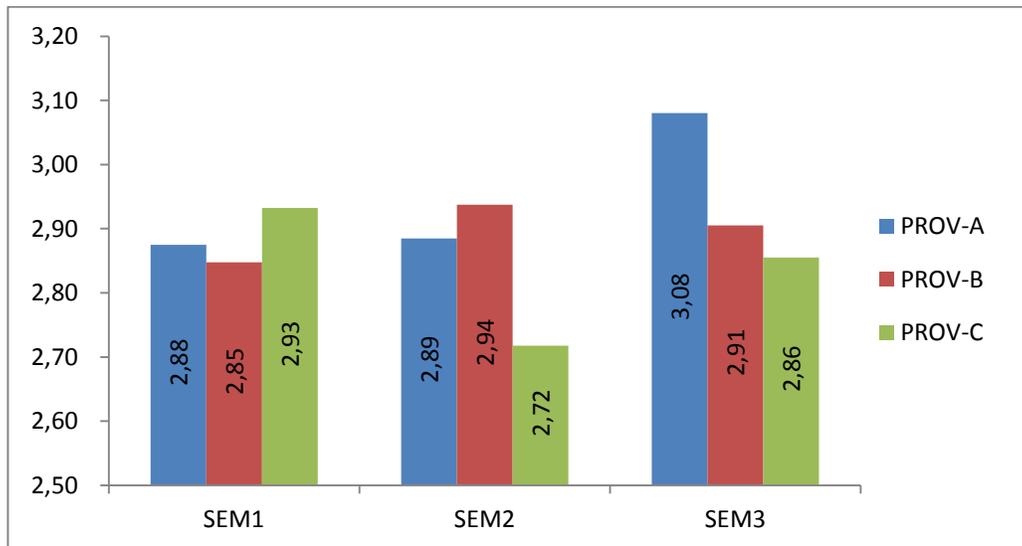
Figura 8. Determinación de grasa por Gerber



Fuente: autores.

6.1.5 Proteína. El equipo ultrasónico EkoMilk arrojó un valor de 2,88% de proteína, presentando una desviación estándar de 0,119, este valor refleja que la leche evaluada no cumple con los parámetros establecidos por la resolución 000017 de 2012 del MADR, la cantidad mínima de proteína para leche cruda en la región 1 es de 2.9%, valor que está ligeramente por encima de lo reportado en este estudio. (Ver Cuadro 4)

Figura 9 Resultados para proteína por proveedor



Fuente: Esta investigación.

En cuanto a los valores de proteína obtenidos por EkoMILK para cada proveedor se resalta que el proveedor A en la semana 3 presentó un valor superior en comparación a los otros dos proveedores de leche cruda en el corregimiento de Camtabuco, con una media de 3.08% presentando un crecimiento desde la primera semana evaluada.

Calderón A, García F, Martínez G.2006 realizaron una investigación en leche cruda reportando valores de proteína en el Bajo Cauca con un valor de 3.14% con una desviación estándar de 0.18. Este valor se encuentra por encima de los valores obtenidos en la investigación

El proveedor C fue el que obtuvo menor porcentaje de proteína, seguido por el proveedor B y el proveedor A (Ver Tabla 13). El promedio reportado por Agronet 2013 para la región 1 es de 3.1% lo cual permite observar que la leche cruda comercializada y posteriormente analizada está por debajo del promedio nacional para esta región. Esto influye de manera significativa en cuanto al pago por bonificación en este ítem.¹⁰¹

Tabla 13. Resultados para proteína por proveedor

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	2,95	0,089	2,90	
B	10	2,9	0,033	*	
C	10	2,84	0,078	*	

Fuente: Esta investigación. *MADR. Resolución 000017 de 2012

Según Piñeros 2002, las proteínas son los componentes más importantes de la leche desde el punto de vista nutricional e industrial y constituyen más del 95% de la fracción nitrogenada. En las leches mastíticas y en el calostro, se presenta un descenso en la relación caseína – proteínas totales, por este motivo estas leches no son aptas para los procesos industriales de transformación, ya que coagulan con el calentamiento y no constituyen un buen sustrato para el cuajo¹⁰².

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

¹⁰¹ AGRONET. op.cit

¹⁰² PIÑEROS. op.cit. p. 17.

Por otra parte los valores de proteína son bajos, probablemente una razón de ello es que en casos de presentar cuadros febriles causados en algunos casos por mastitis clínicas genera que haya una utilización de las proteínas lácticas para generar proteínas plasmáticas como linfocitos o plaquetas.

Es muy difícil incrementar varios grados de proteína solo con mejorar la alimentación del ganado con suplementos proteínicos. Como en el caso de la grasa la genética refleja la calidad proteica de la leche ya que esta viene decodificada genéticamente para cada raza en particular.

Cuadro 4. Estándares de calidad composicional para región 1.

REGIÓN	PROTEÍNA	GRASA	SÓLIDOS TOTALES
Región 1	2.9%	3.00%	11.95%

Fuente: MADR. Resolución 000017 de 2012

Figura 10. Lectura de EkoMILK



Fuente: autores

6.1.6 Sólidos totales. La media para sólidos totales en la leche evaluada fue de 12,33%, con una desviación estándar de 0,35. Para ST se concluyó que son leches de excelente calidad debido a que el valor económico de esta materia prima es su composición, pues dará mayores rendimientos industriales y es nutricionalmente mejor.

Tabla 14. Resultados para ST por proveedor

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	12,41	0,86	11,92%	
B	10	12,23	0,33	*	
C	10	12,25	0,25	*	

*Resolución 000017 de 2012 del MADR

Calderón A, García F, Martínez G.2006 realizaron una investigación en la que reportan valores de Sólidos Totales en la Sabana de Bogotá con un valor de 11.89% con una desviación estándar de 0.49, en el municipio de Pasto obtuvo un valor de 11.99% con una desviación estándar de 0.03 y en Guachucal un promedio de 11.70% con una desviación estándar de 0.07. Estos valores obtenidos de diferentes partes del país están por debajo de los valores obtenidos en el corregimiento Catambuco con un valor para el proveedor A de 12,41% y una desviación estándar de 0.86, siendo este el valor más alto encontrado en la región, seguido por el proveedor C con un porcentaje de 12,25 y una desviación estándar de 0.25. (Ver Tabla 14)

Según Agronet 2013, reporta un valor promedio para ST de 12.0% en la región 1, región en la que se ubica el departamento de Nariño. Esto indica valores por encima de la media encontrada por la Red de información y comunicación estratégica del sector agropecuario¹⁰³, reafirmando la calidad composicional de la leche y la no adulteración de la misma.

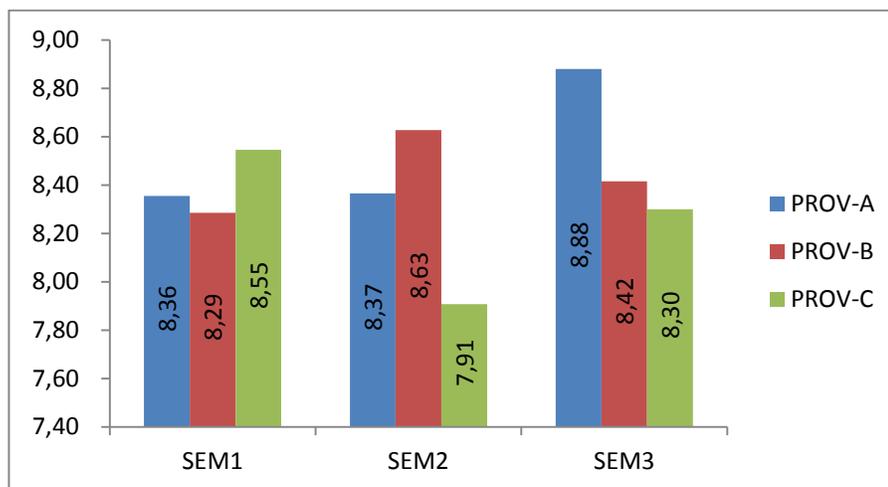
Para la región 1 se reportó porcentajes de ST de 11.95 % según el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (Ver cuadro 4). Teniendo en cuenta este reporte se puede afirmar que por su alta cantidad de sólidos totales esta favorece en la producción de queso, yogur, kumis, etc.

6.1.7 Sólidos no grasos. Los resultados encontrados por la medición ultrasónica para sólidos no grasos arrojaron un valor de 8,42%, con una desviación estándar de 0,25 sobre el total de las muestras analizadas durante el estudio, dicho valor está por encima del valor establecido por la norma técnica colombiana en el artículo 399.

¹⁰³ AGRONET. op.cit

Los valores de SNG para el proveedor C en la semana dos fueron los más bajos en toda la investigación con una media de 7.91%, siendo el proveedor B en la misma semana quien obtuvo mejores resultados con una media de 8.60%. En la semana 3 el proveedor A fue quien obtuvo el valor más alto para SNG de toda la investigación con una media de 8.88%. Siguiendo la norma técnica colombiana en la que establece un porcentaje mínimo de 8.3% para SNG, podemos inferir que la leche cruda que se expende en el corregimiento de Catambuco es nutricionalmente excelente, además de ser una leche con alto valor industrial debido a que se pueden obtener mejores rendimientos en la industria láctea en general, además evidencia que no hubo alteración de la leche por adición de agua en ninguna de las muestras analizadas

Figura 11. Resultados SNG por proveedor



Fuente: Esta investigación.

El proveedor que obtuvo el mejor resultado fue el A ya que la media en las tres semanas evaluada fue de 8,53% con una desviación estándar de 0,23, mientras que el proveedor C fue quien presentó el valor más bajo en el tiempo de investigación, con una media de 8,25% y una desviación estándar de 0,22 (Ver Tabla 15). Los SNG tienen una variabilidad algo menor que los sólidos totales y su valor oscila entre 8.4 y 9.2%. Valores por debajo de este rango pueden evidenciar leches muy pobres o con agua adicional y valores superiores hacen sospechar la adición de sólidos utilizados como correctores de densidad (cloruro de sodio, sacarosa o almidón)¹⁰⁴.

¹⁰⁴ PIÑEROS. Op.cit

Tabla 15. Resultados de SNG por proveedor

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	8,53	0,23	8,4	9.2
B	10	8,44	0,12	*	*
C	10	8,25	0,22	*	*

Fuente: esta investigación. * Piñeros 2005

6.2 ANÁLISIS DE ADULTERANTES EN LECHE

6.2.1 Neutralizantes alcalinos. Según Corrales, sustancias como el hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), carbonato de sodio (Na₂CO₃), cal (CaO), jabones alcalinos y orina, neutralizan el ácido láctico a medida que se forma¹⁰⁵. Las pruebas realizadas fueron negativas para este adulterante, la adición de estas sustancias no solo enmascaran la calidad sanitaria de la leche sino que además altera los parámetros físico-químicos de la leche, da do que este no es el caso, las lecturas de la calidad composicional e higiénica de la leche evaluada es más correcta.

6.2.2 Prueba de formol o formaldehído. Esta prueba se realizó mediante el test de Hehner, este se caracteriza por la formación de un color violeta en las muestras positivas, dicha característica fue negativa en la totalidad de las muestras, por lo cual se concluye la ausencia de formol; el cual se usa para disimular la acidez de la leche. (Ver Tabla 16)

6.2.3 Peróxido de hidrogeno (Arnold y Mentzer). .La prueba también se utiliza para determinar una adición de peróxido de hidrógeno en leche cruda, antes de emprender la pasterización, para aumentar su duración. Este compuesto es un agente oxidante blanqueador y antiséptico, que se descompone rápida y completamente en agua y oxígeno en presencia de la catalasa sin dejar restos tóxicos, se adiciona con el fin de enmascarar la acidez que se encuentre presente en la leche. Todas las pruebas realizadas mostraron valores negativos. (Ver Tabla 16)

6.2.4 Peróxido de hidrogeno (Yoduro de Potasio). Esta prueba es utilizando comúnmente para enmascarar de manera parcial o total la acidez de la leche por malas condiciones de almacenamiento o presencia de microorganismos. Al

¹⁰⁵ CORRALES. op.cit

momento de realizar la prueba no hubo cambio en la coloración manteniendo su tonalidad normal (blanca), por tal motivo se afirma que todas las pruebas realizadas fueron negativas. (Ver Tabla 16)

Tabla 16. Resultados para análisis de Adulterantes.

Variable	Método	No. muestras	Lectura
Neutralizantes alcalinos		30	Negativa
Formol	Hehner	30	Negativa
Agua Oxigenada	Arnold y Mentzer	30	Negativa
Yoduro de potasio		30	Negativa
Harinas y almidones	Lugól	30	Negativa
Hipocloritos	Bacoxin	30	Negativa
Suero		30	Negativa

Fuente: Esta Investigación

6.2.5 Harinas y almidones. El uso de estos compuestos pretenden corregir problemas de sólidos totales cuando ha habido adulteración por agua, para el presente estudio no se reportó adulteración por esta práctica, lo cual se puede verificar con los valores de densidad que mostraron parámetros dentro del margen establecido. (Ver Tabla 16)

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

Tabla 17. Resultados refractómetro

Proveedor	N	X	SD	*V min	*V max
A	10	9,1	0,133	8,4	9.2
B	10	9,1	0,161	*	*
C	10	8,9	0,056	*	*

Fuente: Esta investigación.

Tanto el proveedor A como el proveedor B obtuvieron un valor de 9.1 grados con una desviación estándar de 0.13 y 0.16 respectivamente, estando por encima de los valores reportados por Molina (2006) quien afirma que una muestra no debe dar una muestra ni más ni menos de 9 grados, por debajo de esta escala indica agua agregada y por encima indica la adición de solutos (azúcares, almidones); en leche pura este valor está entre 8.5 y 9¹⁰⁶. El proveedor C obtuvo valores normales y dentro de lo mencionado por el mismo autor. (Ver Tabla 17)

Los métodos que pueden aplicarse a la detección de agua adicionada a la leche, están basados en la medición de una propiedad física que varía proporcionalmente a la cantidad de agua adicionada al producto, tal como ocurre con el punto de congelación, el índice de refracción, el peso específico y la conductividad eléctrica, de donde derivan respectivamente los métodos crioscópico, refractométrico, lactométrico y conductimétrico.¹⁰⁷

6.2.7 Hipocloritos y dióxido de Cloro. En general, los hipocloritos son agentes oxidantes fuertes, con mayor fuerza que el peróxido de hidrógeno o el dióxido de cloro. Su carácter de oxidante fuerte le permite actuar como agente de blanqueo y desinfección; estas propiedades se aprovechan para el tratamiento de fibras y la eliminación de microorganismos en el agua.¹⁰⁸

Todas las pruebas realizadas mostraron valores negativos. (Ver Tabla 16)

¹⁰⁶ MOLINA., J. Calidad composicional, higiénica y sanitaria de la leche. Facultad de ciencias agrarias Universidad de Antioquia. 2006

¹⁰⁷ GAVIRIA S. Luís E., CALDERÓN G. Carlos E., Manual de Métodos Físicoquímicos para el Control de Calidad de la Leche y sus Derivados. GTC parte 1. ICONTEC.

¹⁰⁸ ESTRELA C et al. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite [en línea]. Enero de 2002 [citado 10 Julio del 2013]. Disponible en [http://www.forp.usp.br/bdj/bdj13\(2\)/v13n2a07/v13n2a07.html](http://www.forp.usp.br/bdj/bdj13(2)/v13n2a07/v13n2a07.html)

6.2.8 Suero. El suero de leche, es un líquido obtenido de la coagulación de proteínas durante la fabricación de quesos; las proteínas de este, son aquellas que no coagulan por acción del cuajo y de la acidez y por eso forman parte del lactosuero. Estas proteínas representan el 21% de la proteína total de la leche¹⁰⁹. La técnica usada para la detección de este adulterante es presuntiva por lo cual valores pequeños de adición (menores a 5%) son prácticamente imperceptibles. Ninguna muestra fue positiva, aunque se recomienda implementar sistemas cuantitativos para este parámetro ya que las queserías en la región son numerosas y esta puede convertirse en una práctica común. (Ver Tabla 16)

6.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

En cuanto a la calidad microbiológica de la leche, se encontraron valores muy altos en recuento de mesófilos y coliformes totales, niveles de precaución en coliformes fecales y un alto recuento de células somáticas; Las pruebas presuntivas (azul de metileno y resazurina) son poco sensibles a los valores reportados en la prueba de NMP, se encontraron altos porcentajes de muestras consideradas buenas y muy buenas cuando en realidad el recuento de mesófilos obtuvo valores por encima de 700000 UFC/ ml.

La leche contiene pocas bacterias al extraerla de la ubre de una vaca sana, sin embargo, durante el ordeño, se puede contaminar a partir del animal, especialmente de las zonas externas de la ubre y áreas próximas; del medio ambiente, desde el estiércol y el suelo¹¹⁰. Debido a las condiciones de baja tecnificación de la zona evaluada probablemente las fuentes de contaminación más significativas sean los equipos y utensilios, utilizados para su obtención y recolección, incluido el aseo del personal

6.3.1 Azul de metileno. Con respecto a los análisis de laboratorio esta prueba presento datos donde la leche muestra mejor calidad, si bien el 20% de las muestras presentaron valores superiores a 2000000 UFC/ml mediante el método de NMP esta prueba no arrojó a ninguna dentro del rango de calidad insuficiente. Piñeros reporta que el tiempo de reducción del azul de metileno, es inversamente proporcional al número de bacterias. Tiempos de reducción del azul de metileno

¹⁰⁹ ORTIZ, Alicia, Determinación de los componentes y adulteración de la leche empleando la espectroscopia de FTIR, Tlaxcala, 2009

¹¹⁰ REYES, Rosa y col. Microbiología de la leche cruda de vaca, Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados, A.C. (COFOCALEC)

menores de dos horas significan que la calidad higiénica de la leche es muy pobre, pudiendo llegar a contener 2 a 5 millones de UFC/ ml.¹¹¹

El 46.66% presentaban valores entre regular a bueno y el restante 53.33% una calidad considerada buena, esto ratifica el hecho de que esta es simplemente una técnica presuntiva, que sirve como guía para inferir la calidad de la leche cruda, pero es incorrecto utilizarla para bonificar o castigar el precio.

Figura 12. Prueba de azul de metileno



Fuente: Autores

6.3.2 Resazurina. La calidad higiénica medida por esta técnica reporto valores favorables comparados con la técnica de NMP el 33.33% se situó en el rango de aceptable, el 40% se consideró buena y el 26.67 como excelente ninguna muestra presento coloración rojiza o fue incolora, si bien esta es una técnica más eficaz que la anterior, por cubrir un rango más amplio, ser más económica y veloz, no deja de ser una prueba presuntiva, una posible explicación a la situación presentada es que la lectura mediante estos métodos se realizó inmediatamente la muestra llegaba al laboratorio, mientras que las de NMP se hicieron dos horas después.

¹¹¹ PIÑEROS, Op.cit. p.27.

Figura 13. Prueba de resazurina.



Fuente: Autores

6.3.3 Mesófilos. El 60% de las muestras evaluadas presenta condiciones higiénicas inadecuadas para este parámetro con valores que van desde 175001 a más de 800000 UFC/ml, la NTC 399¹¹² sostiene que el máximo permisible para UFC/ml es de 700.000 sin embargo este valor es superior en el 33.33% de las muestras

En promedio las muestras evaluadas obtuvieron un valor de 1274466,67 UFC/ml, el cual es un recuento muy alto incluso para la zona, ya que según la Red de Información y Comunicación Estratégica del Sector Agropecuario – AGRONET Colombia del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural¹¹³ para el mes de mayo del 2013 el promedio de la región 1 fue de 356.760 UFC/ml, Incluso los resultados fueron más altos que el promedio de la región 2 para el mismo mes 1.153.303,7 UFC/ml, de haber sido comprada por una planta de acopio legal se habría castigado con menos 63 pesos. (Ver cuadro 7)

El recuento de Mesofilos afecta de manera diferente a cada uno de los comercializadores, (ver cuadro 5) ya que esta se correlaciona con las prácticas de ordeño y la refrigeración posterior a la extracción. Se observó recuento muy altos en la primera semana para todas las muestras y valores inferiores en la tercera semana, el comerciante C es quien obtuvo mayores contrastes y adicionalmente

¹¹²NTC, 399. Op.cit

¹¹³ AGRONET. op.cit

quien presento mayores recuentos de ufc/ml en la totalidad del estudio, se infiere que este proveedor realiza prácticas de higienización de utensilios o espacio físico de venta de manera no periódica, razón por la cual se presentan los contrastes mencionados.

Cuadro 5. Recuento de mesofilos por proveedor

	A		B		C	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min
SEM1	3.500.000	84.000	3.100.000	200.000	6.000.000	1.220.000
SEM2	110.000	80.000	180.000	20.000	7.000.000	240.000
SEM3	82.000	41.000	150.000	135.000	170.000	130.000

Fuente: esta investigación

Para Calderón, et al;(2006) la causa de un recuento alto de mesófilos aerobios se debe a la contaminación bacteriana de residuos de leche que han quedado en la superficie de los implementos usados en la obtención y almacenamiento de la leche, a ubres sucias o no higienizadas previos al ordeño y la no refrigeración rápida de la leche.¹¹⁴

6.3.4 Coliformes totales. Los coliformes se relacionan con contaminación derivada del organismo del animal productor (materia fecal y/o descamaciones del tracto gastrointestinal), cuya presencia puede incluir bacterias tales como *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Klebsiella* etc. estas bacterias son Gram-negativas y se encuentran de manera normal en el intestino de los mamíferos.

Según Celis y Juárez (2009) “La leche cruda se contamina corrientemente con bacterias coliformes, derivadas directa o indirectamente del tracto intestinal de las vacas. Esta contaminación puede provenir del estiércol, polvo, suelo, alimentos del ganado, agua, insectos o del contacto con residuos lácteos que quedan en los utensilios de ordeño y tanques de transporte o almacenamiento, mal lavado y saneado; donde esas bacterias suelen desarrollarse con gran facilidad”¹¹⁵.

¹¹⁴CALDERÓN, Alfredo; GARCÍA, Fredy y MARTÍNEZ, Gloria. INDICADORES DE CALIDAD DE LECHE CRUDAS EN DIFERENTES REGIONES DE COLOMBIA. Revista MVZ Córdoba. Volumen 11. p.729. Junio 2006.

¹¹⁵ CELIS op.cit. p.22.

Por lo cual producir leche libre de coliformes es muy difícil, lo anterior coincide con los resultados de la presente investigación, el 50% de las muestras tienen valores mayores a 2400 bacterias/ml el otro 50% tiene valores entre 15 y 450 bacterias/ml. En leches pasteurizadas no se permite la presencia de este tipo de bacterias y los valores encontrados reafirman el pobre estado higiénico en la cadena de producción y comercialización de la misma.

Reyes y col (2009)¹¹⁶, Reportan que el número de mesófilos presenta relación directa con la concentración de coliformes totales, sin embargo lecturas mayores de 2400 bacterias/ml provinieron de muestras con diferente recuento de bacterias mesófilas (6000000 UFC/ml y 130000UFC/ml), aunque sin importar el número de mesófilos todas las muestras fueron positivas a coliformes. Se observó relación con respecto al proveedor C, quien obtuvo recuentos altos de mesofilos (ver cuadro 5) e igualmente alto número de coliformes (cuadro 6).

Cuadro 6. Coliformes totales por proveedor

	A		B		C	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min
SEM1	>2400	150	>2400	240	>2400	>2400
SEM2	43	15	460	43	>2400	240
SEM3	120	75	>2400	>2400	>2400	>2400

Fuente: Esta investigación

Dentro del grupo de coliformes se encuentra un grupo denominados “coliformes fecales” entre ellos se encuentran *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella* (Flia. *Enterobacteriaceae*), siendo las especies más importantes *Escherichia coli* y *Enterobacteraerogenes* El primero en particular es huésped normal del tracto intestinal del hombre y los animales de sangre caliente, por lo cual se encuentra en grandes cantidades en las heces y el estiércol¹¹⁷

¹¹⁶ REYES op.cit

¹¹⁷ Ibid. p.7

Cuadro 7. Comparación de parámetros de bonificación o castigo de leche mediante calidad microbiológica.

Promedios Región 1			Promedios investigación*	
Rango	Escala de pago. Recuento total de bacterias	Escala pago por frío	Muestras /rango	% Muestras/rango
UFC/ml	\$ Litro	\$ Litro		
0-25000	74	15	1*	3,33*
25001-50000	63	15	3*	10*
50001-100000	50	15	3*	10*
100001-150000	38	10	4*	13.33*
150001-175000	24	10	1*	3.33
175001-200000	0	0	2*	6.67*
200001-300000	-13	0	2*	6.67*
300001-400000	-24	0	1*	3.33*
400001-500000	-38	0	1*	3.33*
500001-800000	-50	0	2*	6.67*
800001 o más	-63	0	10*	33.33*

Fuente: MADR. Resolución 000017 de 2012.

* Resultados de la presente investigación.

6.3.5 Coliformes fecales. El 23.33% de las muestras obtuvieron valores mayores a 2400 bacterias por mililitro, el 60 % obtuvo valores entre 4 y 240 bacterias/ml, tan solo el 16.66% tuvo valores considerados como negativos (< 3).

Según Salomón 2006¹¹⁸ La leche es uno de los productos de más fácil contaminación por coliformes fecales dadas sus características nutritivas ideales para la proliferación de dichas bacterias, encontrando valores de 700 bacterias/ml en leche cruda usada en guarderías de la ciudad de Mérida, estos valores son indeseables en cualquier cantidad, puesto que el riesgo de ingerir otro tipo de patógenos aumenta en la medida que su número es mayor.

Un alto recuento de coliformes totales no necesariamente implica la presencia de *Salmonella* o *E. coli*, sin embargo si aumenta la probabilidad de encontrarlas en la muestra evaluada, las bacterias de los resultados del cuadro 8 indica niveles prácticamente inofensivos cuando el recuento es inferior a 3 UFC/ml, niveles de peligro cuando supera los 2400 UFC/ml y niveles de precaución sobre 150 UFC/ml, las muestras B y C, presentaron de manera constate recuento de peligro. A nivel industrial los coliformes se incluyen todos los bacilos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, capaces de fermentar la lactosa con producción de gas y ácido en 48 horas, lo cual repercute negativamente en el rendimiento de sus derivados.

Cuadro 8. Coliformes fecales por proveedor

	A		B		C	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min
SEM1	>2400	<3	>2400	<3	150	42
SEM2	15	4	23	<3	>2400	<3
SEM3	120	20	>2400	>2400	>2400	>2400

Fuente: esta investigación

6.3.6 Células Somáticas Los recuento hallados son altos el 93.32% de las muestras se encuentra por encima de los parámetros considerados normales para una leche proveniente de un animal sano (200000 CCS/ ml), el 46.66% de las pruebas presentaron valores superiores a 1.160.000 CCS/ml lo cual se correlaciona con estados avanzados de mastitis del hato proveniente. Ver Tabla 18

¹¹⁸ SALOMÓN., Jorge. Coliformes fecales y mesófilos aerobios en alimentos, superficies y manos del personal y niños de una guardería. Universidad Autónoma de Yucatán, México.2006.

El cuadro 9 muestra los recuentos máximos y mínimos obtenidos en este estudio, el proveedor A y B presentan los recuentos más altos, se puede inferir que sus hatos presentan niveles de mastitis altos, independientes entre cada punto de venta ya que su relación fue diferente con respecto a la semana.

Cuadro 9. CCS por promovedor

	A		B		C	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min
SEM1	>3000000	960.000	2.300.000	990.000	1.020.000	780.000
SEM2	>3000000	1.620.000	920.000	<50000	1.060.000	310.000
SEM3	2.250.000	1.200.000	2.630.000	2.130.000	2.360.000	1.640.000

Fuente: Esta investigación

Según Reyes y Soltero.

La presencia de células somáticas (CS) en la leche cruda es el principal indicador de la salud de la ubre de la vaca, el valor normal en un animal sano oscila alrededor de 200 000 CS/mL y conteos superiores a 400 000 CS/mL indican problemas de mastitis en las vacas. El impacto de estas cuentas elevadas es significativo tanto en el volumen de producción de leche, como en la calidad de la misma, afectando económicamente tanto al sector productivo como al industrial. Al primero por la reducción de litros de leche / vaca/ día, al segundo, por la disminución de la calidad y cantidad de las proteínas contenidas en la leche, así como la vida en anaquel de los productos elaborados a partir de ella¹¹⁹.

Para el recuento de células somáticas (RCS) se usó como base el sistema de la calificación del Recuento de Células Somáticas denominado Lineal (ver tabla 18), que establece un grado lineal de 0 hasta 9 en la cual entre un grado y otro los valores se duplican, siendo el valor medio mínimo de 12.500 cel/ml (grado lineal 0) y el máximo 6.400.000 cel/ml (grado lineal 9)¹²⁰.

¹¹⁹ REYES, Rosa y SOLTERO, Sergio. Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados, A.C. (COFOCALEC)

¹²⁰ Ibid. p.36

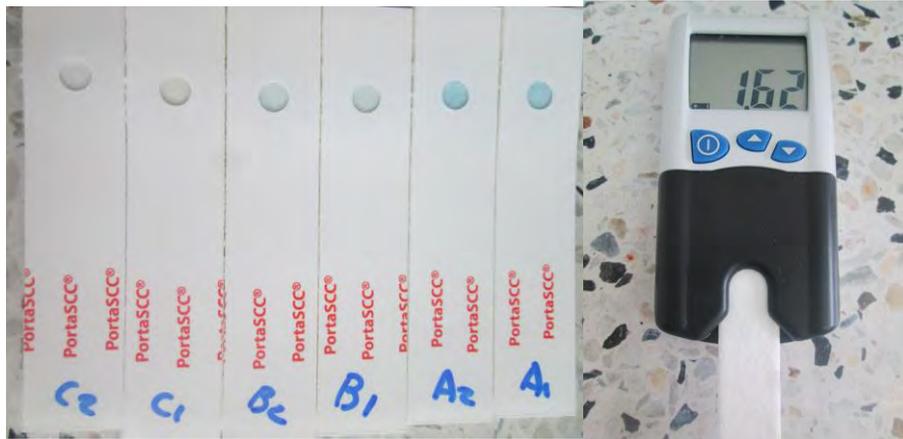
Tabla 18. Comparación entre RCS obtenidos y RCS por organización lineal

ECS	Punto medio RCS (1000´ s/ml)	Rango	Número de pruebas*	Porcentaje*
<2	35	0-70	2*	6.66*
3	100	71-140	0*	0*
4	200	141-282	1*	3.33*
5	400	283-565	1*	3.33*
6	800	566-1130	11*	36.66*
7	1600	1131-2262	7*	23.33*
8	3200	2263-4525	8*	26.66*
9	6400	4526	0*	0*

Fuente: Hurtado, 2010¹²¹ * Datos obtenidos en esta investigación

¹²¹ HURTADO, Zully. Factores que inciden en el recuento de células somáticas y la calidad de la leche. Universidad Nacional de Colombia, Palmira 2010.

Figura 14. Lectura Células Somáticas



Fuente: Autores

Las principales pérdidas económicas ocasionadas por mastitis, se relacionan con disminución y descarte de la leche, tratamientos y medicamentos y en menor medida recambio de animales recurrentes o propensos.

6.3.7 Detección de *Listeria* spp Para el caso de detección de *Listeria* en las muestras de leche cruda recolectadas al momento de realizar la totalidad de las pruebas nos arrojó un resultado negativo en el 100% de las muestras. (Ver Tabla 19)

La prueba que se utilizó fue RapidCheck®*Listeria* de tipo presuntivo en la cual la después de realizar la preparación del medio, adición del cultivo durante 43 horas, se obtuvo resultados negativos.

Hernandorena (2010) argumenta que la listeriosis está reconocida en la sanidad humana como un agente patógeno de origen alimentario. Puede encontrarse en productos lácteos cárnicos y vegetales.

Tabla 19. Resultados para antibióticos y *Listeria* spp.

Variable	Método	No. muestras	Lectura
Antibióticos	Test Betalactam-Tetraciclina	30	Negativa
Listeria	RapidCheck	30	Negativa

Fuente: Esta investigación.

Aunque los alimentos contaminados son el origen de la mayoría de los casos de listeriosis, la mayor parte de las personas tienen poco riesgo de padecerla. La listeriosis afecta en su mayoría a personas con el sistema inmunitario débil.

Para Marín. M Et.al 2011¹²²

La detección de *Listeria spp*, en leche cruda constituye un peligro potencial para el consumidor. Su presencia demuestra la ubicuidad del patógeno y su capacidad para multiplicarse a bajas temperaturas. La contaminación de la leche puede originarse a través de la alimentación de las vacas con ensilaje de mala calidad, en el cual la bacteria se multiplicó durante la maduración. También puede originarse a través de vacas con mastitis subclínica, o por presencia del patógeno en el ambiente del lugar de ordeño o sobre las superficies de los estanques de recepción de leche en la planta lechera, entre otros factores

La *Listeria* es un patógeno que puede resistir bajas temperaturas de mínimo -0,4°C con un óptimo de 37 y un máximo de 45°C por tal motivo la hace resistente y prevalece en leches crudas o refrigeradas, además que su punto óptimo de propagación es el mismo que la temperatura con la cual la leche sale de la glándula mamaria de la vaca. Su resistencia le permite estar en pH por debajo de 4,4 siendo esta una leche ácida, y por pH superiores a 9, según lo reporta Perroni. M. 2008.¹²³

¹²² MARÍN., Marelo y col. Presencia de *listeria monocytogenes* en leche cruda y quesos frescos artesanales, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. 2011

¹²³ PERRONI, María. *Listeria monocytogenes* y su presencia en productos lácteos. Argentina. 2008

Figura 15. Determinación de *Listeria* spp



Fuente: Autores

6.4 ANÁLISIS DE ANTIBIÓTICOS

6.4.1 Determinación de antibióticos Las muestras tomadas en el corregimiento de Catambuco no reportan presencia de antibióticos betalactámicos y/o tetraciclinas, dado que la prueba respectiva fue negativa en el 100% de las muestras, lo cual puede deberse a factores como la debida disposición de leches con tiempo de retiro, o a la ausencia de un tratamiento veterinario con antibióticos en el periodo de recolección de muestras. (Ver Tabla 19)

Estudios similares realizados por Barrera M y Ortiz M 2012, en la Universidad de El Salvador reportan que en las muestras de leche cruda provenientes de cinco ganaderías con las cuales se trabajó, se encontraron residuos de antibióticos β -lactámicos y tetraciclinas que sobrepasan los límites establecidos.¹²⁴

Gaviria¹²⁵, argumenta que las leches con presencia de antibióticos no son aptas para la transformación industrial como en quesos o yogur, debido a que estos no permiten una maduración por lo tanto no es posible obtener productos de excelente calidad.

¹²⁴ BARRERA, M. MÉNDEZ, M. Determinación de residuos de antibióticos β -lactámicos y Tetraciclinas en leche cruda de cinco ganaderías ubicadas en el Municipio de San Luis Talpa y en leche pasteurizada. Universidad de El Salvador. 2012

¹²⁵ GAVIRIA. Op.cit.

Para Bailón M. (2009)

La utilización de antibióticos en animales destinados al consumo humano proporciona innegables ventajas, ya que permite una mejora en la producción. Los beneficios alcanzan al consumidor, que encuentra disponibles con mayor facilidad proteínas de origen animal. Sin embargo, existe la posibilidad de que residuos de dichos compuestos (o sus metabolitos) persistan en el animal y, por tanto, pasen a la cadena de alimentación humana, comportando una serie de riesgos que implican problemas de índole sanitaria (toxicidad y aparición de resistencias), problemas tecnológicos y problemas analíticos¹²⁶.

Figura 16. Determinación de Antibióticos



Fuente: Autores

Encontrar trazas de antibióticos en leche puede ser muy común en nuestro medio, ya que hay un gran vacío de conocimiento en cuanto a las BPG. Lo más común es tratar infecciones respiratorias, cutáneas, gastrointestinales o mastitis. Para tratar la mayoría de estas afecciones se emplean antibióticos de alto espectro los cuales dejan una residualidad en carne o leche. La presencia de antibióticos en leche tiene un efecto negativo directo causando intoxicación por la ingesta continua de pequeñas trazas en el organismo causando daño en hígado, riñón, medula, sangre y efectos teratogénicos y cancerígenos.

Por otra parte los efectos indirectos y puede ser los más comunes es crear resistencia en el organismo a antibióticos además de afectar la flora intestinal benéfica posibilitando el crecimiento de bacterias patógenas en el organismo. En el desarrollo del estudio ninguna muestra resultó positiva a antibióticos, pero se puede relacionar con el alto número de células somáticas el cual es un indicativo

¹²⁶ BAILÓN. María. Uso de técnicas separativas miniaturizadas como alternativa a la determinación de antibióticos beta-lactámicos en fármacos, aguas y alimentos, Universidad de Granada 2009.

de mastitis clínica en los animales, vale aclarar que dentro de los compuestos químicos de estos productos comerciales no se encuentran antibióticos que son sensibles para la prueba que se realizó en la investigación, solamente se encuentran en antimastíticos preventivos para el periodo seco del animal.

La prueba Charm® SL Beta-lactamas está diseñada para detectar trazas de Amoxicilina, Ampicilina, Ceftiofur, Cefapirina y Penicilina G, a los límites establecidos por el Codex de Unión Europea llamados MRLs. Ha sido diseñada para uso en la industria láctea, en el laboratorio, en el campo o por personal regulatorio. Los rangos de sensibilidad y selectividad para una leche libre de Beta-lactamas y tetraciclinas proporcionarán resultados negativos por lo menos 90% del tiempo con un 95% de confianza.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos en cuanto a los porcentajes de grasa reflejan el alto valor nutricional de esta leche, superando el valor estimado por el decreto 616 de 2006 y los valores estimados por el ministerio de Agricultura para la región 1 en el mismo periodo. Además está por encima de países potencias en producción de leche como EE.UU y Canadá.
- La proteína es un valor que está levemente por debajo de lo reglamentado por eso no se puede inferir que es de baja calidad, sin embargo en la industria láctea un bajo porcentaje de proteína influye directamente en los rendimientos al momento de procesar la leche en productos especialmente en quesos.
- La leche cruda que se vende en el corregimiento de Catambuco posee un alto valor comercial por presentar un valor significativo en cuanto a ST, ya que son estos los que dan rendimientos altos al momento de procesar la leche en sus diferentes derivados principalmente quesos madurados
- El estudio de la leche cruda comercializada en el corregimiento de Catambuco da tranquilidad en cuanto a los residuos de trazas de antibióticos los cuales son perjudiciales para la salud del consumidor por posibles intoxicaciones en el organismo, crecimiento de flora bacteriana patógena y resistencia a antibióticos. Además para la industria láctea no es favorable la presencia de antibióticos puesto que impide la elaboración de productos madurados o fermentados.
- La leche cruda Presento condiciones higiénicas muy pobres con altas cargas bacterianas tanto de mesófilos como de coliformes, a nivel sanitario, se aumenta el riesgo de padecer de enfermedades gastrointestinales por el consumo de esta leche y a nivel industrial se disminuiría el rendimiento de los productos debido a la presencia de bacterias homofermentativas y heterofermentativas.
- Los recuentos altos de células somáticas indican estados de mastitis avanzados, sin embargo el análisis de antibióticos en leche fue negativo, esto se puede explicar por qué las trazas analizadas no corresponden a los antibióticos usados o por que no se están tratando estas enfermedades en tempranas apariciones.

- A pesar de la normatividad colombiana acerca de la prohibición de la comercialización de la leche cruda, está aún es una práctica común en las comunidades rurales e incluso en parte del sector urbano, muchas personas atribuyen la calidad de la leche a la cantidad de grasa y erróneamente se cree que consumir leche a pocas horas de su extracción no representa riesgos.
- Los puntos de venta evaluados, no tenían equipos de refrigeración esto repercute en las características organolépticas de la leche, el hecho de que estas condiciones no se presentaron en el desarrollo del proyecto se pudo deber a la rápida venta del producto.
- Las pruebas azul de metileno y resazurina, son presuntivas; de carácter cualitativo, sus resultados fueron contradictorios en casos donde leche catalogada “buena” o “muy buena” obtuvieron elevado número de bacterias mediante la técnica de NMP.
- Las pruebas de adulterantes fueron necesarias para evaluar de manera veraz la calidad de la leche, ya que estas prácticas enmascaran valores de acidez elevada, agua agregada o sales adicionadas, otorgando falsos valores de densidad, acidez o pH, en la leche evaluada no se encontró ningún tipo de adulteración.

7.2 RECOMENDACIONES

- Realizar por parte de entidades gubernamentales capacitaciones, seminarios y procesos de extensión rural para mejorar las buenas practicas ganaderas (BPG), destinado a pequeños y medianos productores.
- Incentivar al productor a vender su producto a empresas legalmente constituidas para que dejen la informalidad y pasen a ser productores reconocidos, así obteniendo ventajas económicas y sociales
- Propender por una mejor calidad higiénica de la leche cruda comercializada para que no represente una fuente de enfermedades en especial para la población infantil la cual es más susceptible
- Realizar estudios con otros métodos de detección de antibióticos, como el Snap Test, la cromatografía o la espectrofotometría, para determinar que antibióticos específicamente se podrían encontrar en las muestras y en que concentraciones.
- Realizar otros estudios para determinar la presencia de otros contaminantes de la leche como lo son los conservantes, pesticidas, hormonas y desparasitantes en la leche que será comercializada en la ciudad.
- Se recomienda a las autoridades correspondientes mejorar las actividades de IVC (Inspección, Vigilancia y Control) y a la par realizar estrategias de IEC (Información, Educación y Comunicación) a la comunidad.
- Las autoridades competentes deben tener una mayor vigilancia sobre cada finca y cada vehículo transportador que provee a cada expendio de leche cruda.
- Manejar un adecuado control en la cadena de frio por parte de los productores e intermediarios.

BIBLIOGRAFÍA

AGRONET. Red de Información y Comunicación Estratégica del Sector Agropecuario – AGRONET Colombia Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural disponible en: <http://www.agronet.gov.co/agronetweb1/Inicio.aspx>

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

ALARCON CAÑÓN, Pedro. Futuro de la actividad lechera en Colombia, de cara a los nuevos retos que impone el T.L.C. 2013.

ALPINA S.A Como se determina la calidad en leches Alpina. Boletín técnico. No 1.Sopo. Dirección de Mercadeo de Leche Alpina; 2012.

AVILA TELLEZ, Salvador. Comparación del estado de salud de la ubre y la calidad sanitaria de leche de vacas ordeñadas manual o mecánicamente. Universidad Nacional de México, Ciudad de México 2007.

BAILÓN, María. Uso de técnicas separativas miniaturizadas como alternativa a la determinación de antibióticos beta-lactámicos en fármacos, aguas y alimentos, Universidad de Granada 2009.

BARRERA, Miriam y ORTIZ, Mauricio. Determinación de residuos de antibióticos β -lactámicos y Tetraciclinas en leche cruda de cinco ganaderías ubicadas en el Municipio de San Luis Talpa y en leche pasteurizada. El Salvador. Disponible En: <http://ri.ues.edu.sv/2198/1/13101313.pdf>

CALDERON, Alfredo; GARCIA, Fredy y MARTINEZ, Gloria. INDICADORES DE CALIDAD DE LECHE CRUDAS EN DIFERENTES REGIONES DE COLOMBIA. Revista MVZ Córdoba. Volumen 11. p.729. Junio 2006.

CALLEJO R., PRIETO M., MARTINEZ C. Aislamiento, identificación y caracterización de *Listeria monocytogenes*. Centro regional de referencia del WHO Global SalmSurv para América del Sur. 2008

CCAYAC-M-004 “Estimación de la densidad microbiana por la técnica del número más probable, detección de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* por el número más probable. 2006., p. 56

CELIS Mauricio y JUAREZ, Daniel., Microbiología de la leche, Seminario de Procesos Fundamentales Físico-Químicos y Microbiológicos Laboratorio de Química F.R. Bahía Blanca – U.T.N. 2009

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION “Los peligros de la leche cruda: La leche sin pasteurizar puede representar un riesgo grave para la salud” [CDCP], 2013, p. 1).

CODEX ALIMENTARIUS “Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos”, 2010, p. 19

COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Resolución 017 de 2012, 2012

COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL, Decreto 616 de 2006, 2006

_____. Decreto 2838 del 2006, 2006

COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACA; [Citado 26 de Julio de 2013]. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/695/69520107.pdf>.

CONTEXTO GANADERO. Los riesgos de consumir leche cruda En: <http://contextoganadero.com/blog/los-riesgos-de-consumir-leche-cruda>, 26 noviembre 2012.

CORAL, Patricia y VILLACREZ, Yudy. Estudio sobre el impacto del proceso de reconversión en la comercialización de leche cruda en el municipio de Pasto al horizonte del año 2020. San Juan de Pasto. 2010.

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

DETERMINACION DE SÓLIDOS TOTALES EN LECHE CRUDA Y PRODUCTOS. guía práctica. Maracaibo.2004. En:

http://www.revistavirtualpro.com/files/ti27_200512.pdf

EKOMILK, Manual de productos, características. Disponible En: http://clasipar.paraguay.com/ekomilk_analizador_automatrico_de_leche_1097632.html

ESTELA et al. Mechanism of Action of Sodium Hypochlorite [en línea]. Enero de 2002 [citado 10 Julio del 2013]. Disponible en [http://www.forp.usp.br/bdj/bdj13\(2\)/v13n2a07/v13n2a07.Html](http://www.forp.usp.br/bdj/bdj13(2)/v13n2a07/v13n2a07.Html)

FEDEGAN. (2010) Lo que usted necesita saber de la leche. [En línea]. 5-7. Disponible:http://portal.fedegan.org.co/pls/portal/docs/PAGE/PORTAL/PG_SERVICIOS/COYUNTURA_LECHERA1/LO_QUE_USTED_NECESITA_SABER_CARTILA.PDF

FEOLI y Col. Control de la calidad físico-química y microbiológica suministrada al I.C.T.A proveniente de la región de Umbita Boyacá. En: <http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/farmacia/revista/V15P87-93.pdf>

FIGUEROA C. 2004. Manual de buenas Prácticas en producción de leche caprina. Secretaria de agricultura ganadería desarrollo rural pesca y alimentación. Valenzuela.

FIKRINEH, Negash; ESTEFANOS, Tadase y TATEK, Woldu. Microbial quality and chemical composition of raw milk in the Mid-Rift Valley of Ethiopia. Consultado el día 24 de Julio del 2012, en http://www.academia.edu/2548554/Microbial_quality_and_chemical_composition_of_raw_milk_in_the_Mid-Rift_Valley_of_Ethiopia

GARCIA y CALDERON. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. En: http://www.scielo.unal.edu.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682006000100006&lng=pt&nrm=

GAVIRIA S. Luís E., CALDERON G. Carlos E., Manual de Métodos Fisicoquímicos para el Control de Calidad de la Leche y sus Derivados. GTC parte 1. ICONTEC.

_____, Manual de Métodos Fisicoquímicos para el Control de Calidad de la Leche y sus Derivados. GTC parte 1. ICONTEC.

GAVIRIA, Blanca. Manual de prácticas microbiológicas de alimentos. Bogotá. 2007.

GOBERNACIÓN DE NARIÑO, Oficina de Cultura y Turismo, San Juan de Pasto. 2010 En: http://www.culturapasto.gov.co/index.php?option=com_content&view=article&id=135:catambuco&catid=27:corregimientos&Itemid=23

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

HERNANDES, Juan. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. Volumen IX Número 9. 2008

HERNANDEZ, José, Análisis de alimentos, comisión académica nacional 2004

HURTADO, Zully. Factores que inciden en el recuento de células somáticas y la calidad de la leche. Universidad Nacional de Colombia, Palmira 2010.

INFOAGRO, Disponible En: http://www.infoagro.com/instrumentos_medida/doc_ph.asp?k=53

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Manual de métodos fisicoquímicos para el control de calidad de la leche y sus derivados. 2004.

INSUASTY, Marcela y BENAVIDES, Sofia. Determinación de la presencia de residuos de antibióticos betalactámicos en leche cruda expendida en la ciudad de San Juan de Pasto mediante prueba Delvotest en el periodo comprendido entre el 15 de octubre y el 15 de noviembre del 2007. San Juan de Pasto: 2007.

LERCHE, Martin. Inspección veterinaria de la leche. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 1.69; p.188.

MARIN., Marelo y col. Presencia de listeria monocytogenes en leche cruda y quesos frescos artesanales, Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. 2011

MINISTERIO DE COMERCIO INDUSTRIA Y TURISMO. Promotor de turismo, inversión y exportaciones. Disponible En: www.proexport.com.co

MOLINA., J. Calidad composicional, higiénica y sanitaria de la leche. Facultad de ciencias agrarias Universidad de Antioquia. 2006

MORENO, Camilo y col. Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del alto Chicamocha (Departamento de Boyacá). Revista de medicina veterinaria. p. 66. 2007.

NOVOA CASTRO, Carlos. Consideraciones sobre la calidad de la leche, Bogotá 1998.

_____. Zootecnista. Esp. MSc. (c) en Ciencia-química. Profesor asistente de ciencia Tecnología de alimentos ICTA. Universidad Nacional de Colombia.

NOVOA, p 26. citado por PIÑEROS y col. 2005.

O'CONNELL, J. Mechanism for the ethanol-dependent heat-induced dissociation of casein micelles. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.49, p.4424-4428, 2001

ORTIZ, Alicia. Determinación de los componentes y adulteración de la leche empleando la espectroscopia de FTIR, Tlaxcala, 2009

OSORIO, Alberto (2010), La ganadería lechera de la zona alta de Veracruz, Veracruz. México

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

PERRONI, María. Listeria monocytogenes y su presencia en productos lácteos. Argentina. 2008

PIÑEROS, Gregorio y TELLEZ, Gonzalo. La calidad como factor de competitividad en la cadena láctea. universidad nacional de Colombia facultad de medicina veterinaria y de zootecnia. Bogotá 2005. Productos lácteos, leche cruda (Norma Técnica Colombiana), [CDCP], 2002, p. 1).

REYES, Rosa y col. Microbiología de la leche cruda de vaca, Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados, A.C. (COFOCALEC) 2009

SALGADO, María. Texto Guía Análisis Físico – Químico de Leches. 7a ed. Manizales. 1996. p. 45

SALOMON., Jorge. Coliformes fecales y mesófilos aerobios en alimentos, superficies y manos del personal y niños de una guardería. Universidad Autónoma de Yucatán, México. 2006.

SCHONHERR, Dietmar, Citado por GOMEZ, Margarita. Tecnología de lácteos. Bogotá, 2005.

STRATEGIC DIAGNOSTICS INC. Rapid check listeria species test kit user guide. 2007

TAVERNA, Miguel y col. Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. 2o ed. INTA, 2005.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO. Laboratorios especializados. Laboratorio microbiológico de alimentos. Pasto. 2012

WATTIAUX, Michel. Mastitis control y prevención, Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera., Universidad de Wisconsin-Madison. 2009.

ANEXOS

Anexo a. Total de datos de proteína analizados

PROTEÍNA	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
2.45	1	3.33	1	3.33
2.72	1	3.33	2	6.67
2.75	2	6.67	4	13.33
2.8	1	3.33	5	16.67
2.81	2	6.67	7	23.33
2.85	1	3.33	8	26.67
2.86	2	6.67	10	33.33
2.87	1	3.33	11	36.67
2.88	1	3.33	12	40.00
2.89	1	3.33	13	43.33
2.9	4	13.33	17	56.67
2.91	2	6.67	19	63.33
2.92	3	10.00	22	73.33
2.93	1	3.33	23	76.67
2.94	1	3.33	24	80.00
2.96	3	10.00	27	90.00
3.05	1	3.33	28	93.33
3.07	1	3.33	29	96.67
3.11	1	3.33	30	100.00

Anexo b. Total de datos de grasa por EkoMILK analizados

GRASA	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
3.11	1	3.33	1	3.33
3.14	1	3.33	2	6.67
3.19	1	3.33	3	10.00
3.29	1	3.33	4	13.33
3.36	1	3.33	5	16.67
3.39	1	3.33	6	20.00
3.46	1	3.33	7	23.33
3.65	3	10.00	10	33.33
3.71	1	3.33	11	36.67
3.76	1	3.33	12	40.00
3.8	1	3.33	13	43.33
3.82	1	3.33	14	46.67
3.83	1	3.33	15	50.00
3.84	1	3.33	16	53.33
3.91	1	3.33	17	56.67
4.02	1	3.33	18	60.00
4.15	2	6.67	20	66.67
4.16	1	3.33	21	70.00
4.2	1	3.33	22	73.33
4.21	1	3.33	23	76.67
4.23	1	3.33	24	80.00
4.26	1	3.33	25	83.33
4.3	1	3.33	26	86.67
4.33	1	3.33	27	90.00
4.7	1	3.33	28	93.33
5.06	2	6.67	30	100.00

Anexo c. Total de datos de SNG por EkoMILK analizados

SNG	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
7.17	1	3.33	1	3.33
7.93	1	3.33	2	6.67
8.01	1	3.33	3	10.00
8.02	1	3.33	4	13.33
8.11	1	3.33	5	16.67
8.17	1	3.33	6	20.00
8.18	1	3.33	7	23.33
8.29	1	3.33	8	26.67
8.31	2	6.67	10	33.33
8.32	1	3.33	11	36.67
8.34	1	3.33	12	40.00
8.39	1	3.33	13	43.33
8.4	1	3.33	14	46.67
8.41	1	3.33	15	50.00
8.43	2	6.67	17	56.67
8.48	1	3.33	18	60.00
8.49	2	6.67	20	66.67
8.52	2	6.67	22	73.33
8.57	1	3.33	23	76.67
8.59	3	10.00	26	86.67
8.8	1	3.33	27	90.00
8.85	1	3.33	28	93.33
8.86	1	3.33	29	96.67
8.96	1	3.33	30	100.00

Anexo d. Total de datos de densidad por EkoMILK analizados

DENSIDAD	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
24.6	1	3.33	1	3.33
26.6	1	3.33	2	6.67
27.9	1	3.33	3	10.00
28.3	2	6.67	5	16.67
28.4	1	3.33	6	20.00
28.5	1	3.33	7	23.33
28.8	1	3.33	8	26.67
29.3	1	3.33	9	30.00
29.4	2	6.67	11	36.67
29.5	2	6.67	13	43.33
29.6	1	3.33	14	46.67
29.7	1	3.33	15	50.00
29.8	1	3.33	16	53.33
30	1	3.33	17	56.67
30.04	1	3.33	18	60.00
30.5	1	3.33	19	63.33
30.6	2	6.67	21	70.00
30.7	1	3.33	22	73.33
30.8	4	13.33	26	86.67
31	1	3.33	27	90.00
31.2	1	3.33	28	93.33
31.3	1	3.33	29	96.67
31.4	1	3.33	30	100.00

Anexo e. Total de parámetros de EkoMILK (Proteína, Grasa, SNG, Densidad)

Variable	Número de observaciones	Media	Máximo	Mínimo	Desviación estándar	Coefficiente de variación
PROTEÍNA	30	2.8820000	3.1100000	2.4500000	0.1194355	4.1441865
GRASA	30	3.9130000	5.0600000	3.1100000	0.5049421	12.9042200
SNG	30	8.3843333	8.9600000	7.1700000	0.3386045	4.0385378
DENSIDAD	30	29.6046667	31.4000000	24.6000000	1.4923130	5.0408033

Variable	Varianza	Error estándar
PROTEÍNA	0.0142648	0.0218058
GRASA	0.2549666	0.0921894
SNG	0.1146530	0.0618204
DENSIDAD	2.2269982	0.2724578

Anexo f. Total de datos de acidez analizados

ACIDEZ	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
0.13	8	26.67	8	26.67
0.14	5	16.67	13	43.33
0.15	5	16.67	18	60.00
0.16	5	16.67	23	76.67
0.17	7	23.33	30	100.00

Anexo g. Total de datos de densidad analizados

DENSIDAD	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
1.0281	2	6.67	2	6.67
1.0285	2	6.67	4	13.33
1.0296	2	6.67	6	20.00
1.0297	1	3.33	7	23.33
1.0299	1	3.33	8	26.67
1.0300	3	10.00	11	36.67
1.0302	8	26.67	19	63.33
1.0304	2	6.67	21	70.00
1.0305	2	6.67	23	76.67
1.0307	1	3.33	24	80.00
1.0310	2	6.67	26	86.67
1.0315	1	3.33	27	90.00
1.0320	2	6.67	29	96.67
1.0321	1	3.33	30	100.00

Anexo h. Total datos de refractometría analizados

REFRACTO	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
8.7	1	3.33	1	3.33
8.8	1	3.33	2	6.67
9	13	43.33	15	50.00
9.1	2	6.67	17	56.67
9.2	4	13.33	21	70.00
9.3	4	13.33	25	83.33
9.4	2	6.67	27	90.00
9.5	3	10.00	30	100.00

Anexo j. Total de datos analizados por Gerber

GERBER	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
2.8	1	3.33	1	3.33
2.9	2	6.67	3	10.00
3.1	2	6.67	5	16.67
3.2	2	6.67	7	23.33
3.3	1	3.33	8	26.67
3.5	3	10.00	11	36.67
3.6	2	6.67	13	43.33
3.7	1	3.33	14	46.67
3.8	3	10.00	17	56.67
3.9	1	3.33	18	60.00
4	4	13.33	22	73.33
4.1	4	13.33	26	86.67
4.4	1	3.33	27	90.00
4.5	1	3.33	28	93.33
4.9	1	3.33	29	96.67
5	1	3.33	30	100.00

Anexo k. Total de datos analizados para mesófilos

MESÓFILOS	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
20000	1	3.33	1	3.33
30000	1	3.33	2	6.67
41000	1	3.33	3	10.00
42000	1	3.33	4	13.33
80000	1	3.33	5	16.67
82000	1	3.33	6	20.00
84000	1	3.33	7	23.33
110000	1	3.33	8	26.67
130000	1	3.33	9	30.00
135000	1	3.33	10	33.33
150000	1	3.33	11	36.67
170000	1	3.33	12	40.00
180000	1	3.33	13	43.33
200000	1	3.33	14	46.67
240000	1	3.33	15	50.00
300000	1	3.33	16	53.33
320000	1	3.33	17	56.67
450000	1	3.33	18	60.00
600000	1	3.33	19	63.33
650000	1	3.33	20	66.67
1200000	1	3.33	21	70.00
1220000	1	3.33	22	73.33
1300000	1	3.33	23	76.67
1400000	1	3.33	24	80.00
3100000	1	3.33	25	83.33
3500000	2	6.67	27	90.00
6000000	2	6.67	29	96.67
7000000	1	3.33	30	100.00

Anexo I. Total de datos analizados para pH

pH	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia acumulada	Porcentaje acumulado
6.20	1	3.33	1	3.33
6.22	1	3.33	3	10.00
6.30	2	6.67	5	16.67
6.35	1	3.33	6	20.00
6.42	1	3.33	7	23.33
6.46	1	3.33	8	26.67
6.48	1	3.33	9	30.00
6.49	1	3.33	10	33.33
5.94	1	3.33	11	36.67
6.5	4	13.33	15	50.00
6.52	1	3.33	17	56.67
6	1	3.33	18	60.00
6.53	1	3.33	19	63.33
6.56	2	6.67	20	66.67
6.58	3	10.00	22	73.33
6.59	1	3.33	23	76.67
6.60	2	6.67	24	80.00
6.62	1	3.33	25	83.33
6.66	1	3.33	27	90.00
6.68	1	3.33	28	93.33
6.69	1	3.33	29	96.67
6.72	2	6.67	30	100.00

Anexo m. Total de datos analizados de parámetros fisicoquímicos

Variable	Número de observaciones	Media	Máximo	Mínimo	Desviación estándar	Coficiente de variación
ACIDEZ	30	0.1493333	0.1700000	0.1300000	0.0155216	10.3939172
DENSIDAD	30	1.031900	1.0321000	1.0281000	0.001005	0.2277599
REFRACTO	30	9.1333333	9.5000000	8.7000000	0.2039833	2.2333940
GERBER	30	3.7466667	5.0000000	2.8000000	0.5531934	14.7649496
MESÓFILOS	30	1274466.67	7000000.00	20000.00	1986084.27	155.836502
pH	30	6.526500	6.7200000	6.2000000	0.0470370	2.5997988

Variable	Varianza	Error estándar
ACIDEZ	0.000240920	0.0028338
DENSIDAD	5.6940345E-6	0.000435662
REFRACTO	0.0416092	0.0372421
GERBER	0.3060230	0.1009988
MESÓFILOS	3.9445307E12	362607.72
pH	0.0243403	0.0284841

