



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES**

ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICO QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA
DE LA LECHE CRUDA QUE SE EXPENDE EN EL CANTÓN BOLÍVAR
PROVINCIA DEL CARCHI”**

**Tesis previa a la obtención del Título de:
Ingeniera Agroindustrial**

**AUTORAS: Villegas Mantuano Zianie Sue
Freire Carrera Jhoanna Paola**

DIRECTORA: Dra. Lucía Yépez

Ibarra - Ecuador

Enero - 2011



APROBACIÓN INSTITUCIONAL:

.....
Ing. Galo Varela

**DECANO FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

.....
Ing. Ángel Satama

DIRECTOR ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Los comentarios, conceptos, cuadros, figuras, resultados y más información que se encuentran en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Freire Carreara Jhoanna Paola

Villegas Mantuano Zianie Sue

DEDICATORIA

Durante estos años de lucha constante, de gratas vivencias, de momentos de éxitos y también de angustias y desesperanza para poder culminar mi carrera; los deseos de superarme y de lograr mi meta eran tan grandes que logré vencer todos los obstáculos y es por ello que debo dedicar este triunfo a quienes en todo momento me llenaron de amor y apoyo:

*A **Dios**, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles en los cuales no me ha desamparado y me ha enseñado a mantener fortaleza.*

*A mi **madre**: Lourdes Carrera pilar fundamental en mi vida, digna de ejemplo de trabajo y constancia, quien me ha brindado todo el apoyo necesario para alcanzar mis metas y sueños, y ha estado allí cada día de mi vida, compartiendo los buenos y los malos ratos desde el día en que nací. Gracias a ti soy lo que soy.*

*A mi **hermana**: Jessica Freire por haberme brindado tu apoyo animo y compañía en las diferentes etapas de mi vida, este triunfo lo comparto contigo.*

*A mis **familiares**, gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación y el anhelo de triunfo en la vida.*

*A mis **amigos**, mil gracias por todos los momentos que compartimos juntos y porque han estado conmigo siempre.*

Creo firmemente que en el esfuerzo continuo por la realización de todo ser viviente radica nuestra única esperanza.

Jhoanna Paola

DEDICATORIA

*A **Dios**. Por ser quien ha estado a mi lado en todo momento, dándome las fuerzas necesarias para continuar luchando día tras día y seguir adelante rompiendo todas las barreras que se me presenten, ha sido tu quien ha iluminado mi sendero cuando más oscuro ha estado; y me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado. Agradezco a Dios por la inteligencia y sabiduría que me dio al nacer.*

*A mi **Padre**: Carlos Napoleón Villegas R, por enseñarme el amor al estudio, ya que gracias a él soy quien soy hoy en día, quien ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos, principios, valores, perseverancia y empeño. Gracias a su apoyo, esfuerzo y ayuda económica hoy puedo ver alcanzada mi meta.*

*A mis **Hermanos**: Omar y Salvador Villegas testigos de mis triunfos y fracasos, de mis tristezas y alegrías, por cada abrazo dado, quienes me enseñaron que con una sonrisa la vida es un regalo. Fuente de inspiración para conquistar y alcanzar mis sueños; y por supuesto a Elaine y Santiago Villegas con quienes prácticamente hemos vivido y compartido tantas cosas. Este triunfo lo comparto con ustedes.*

*A mis **amigos (as)**: Por haber compartido tantos momentos de mi vida y por darme aliento para continuar luchando, me brindaron cariño, comprensión y apoyo, dándome con ello, momentos muy gratos.*

*A las **personas** que de alguna manera estuvieron conmigo dándome consejos y ánimos, para no dejarme vencer ante la adversidad, gracias por su eterno e incondicional apoyo, este trabajo de investigación es para ustedes. Fueron fuente de inspiración para culminar esta etapa. Gracias por creer y confiar siempre en mí.....*

Especialmente a mi persona, fueron momentos de lucha constante, gratas vivencias, de momentos de éxitos, de angustia y desesperanza para poder culminar mi carrera, los deseos de superarme y de lograr mi meta eran tan grandes que logre vencer todos los obstáculos y ello fue lo que me hizo ir hasta el final. Con amor, esfuerzo y paciencia se puede tocar la cima del éxito.

Zianie Sue

AGRADECIMIENTO

A Dios, por habernos permitido llegar a culminar una etapa más de nuestras vidas y lograr con éxito nuestros objetivos.

A la Universidad Técnica del Norte y en particular a la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, por formarnos como profesionales, por su constante apoyo para llevar a cabo la presente investigación.

A la Doctora Lucía Yépez, Directora de Tesis, quien con su intelecto y experiencia, forjó y condujo esta investigación.

A nuestros asesores: Ingenieros Jheny Quiroz, Marcelo Miranda y Doctor José Luis Moreno, por su orientación y apoyo incondicional en cada etapa del presente trabajo.

Al Municipio del Cantón Bolívar, provincia del Carchi, en especial al Ingeniero Julio Tapia, funcionario de esta entidad por su valioso aporte y asesoría.

A compañeros y amigos que de una u otra manera contribuyeron a la finalización de la presente investigación.

Especial agradecimiento a nuestros catedráticos, quienes dieron lo mejor de sus conocimientos, para nuestra formación profesional.

***Jhoanna Paola Freire Carrera
Zianie Sue Villegas Mantuano***

ÍNDICE GENERAL

Contenido **Página**

CAPÍTULO I

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Objetivos.....	4
1.1.1	General.....	4
1.1.2	Específicos.....	4
1.2	Hipótesis.....	5
1.2.1	Nula.....	5
1.2.2	Alternativa.....	5

CAPÍTULO II

2	REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1	La leche.....	6
2.1.1	Definición.....	6
2.1.2	Propiedades organolépticas.....	7
2.1.3	Componentes y composición.....	8
2.1.3.1	Componentes de la leche.....	8
2.1.3.2	Composición de la leche de vaca.....	8
2.1.4	Microorganismos en la leche cruda.....	14
2.1.4.1	Las bacterias en la leche.....	15
2.1.4.2	Mohos y levaduras.....	20
2.1.4.3	Virus.....	21
2.1.5	Alteraciones en la leche.....	21
2.1.5.1	Agriado o formación de ácido.....	21

2.1.5.2	Producción de gas.....	22
2.1.5.3	Proteólisis.....	23
2.1.5.4	Alteración enzimática.....	24
2.1.6	Contaminación de la leche.....	25
2.1.6.1	Vías de contaminación.....	25
2.1.6.2	Fuentes de contaminación de la leche cruda.....	26
2.1.6.3	Principales fuentes.....	26
2.1.6.4	Contaminación microbiana.....	29
2.1.6.5	Adulteraciones.....	30
2.1.7	Calidad de la leche.....	34
2.1.7.1	Calidad y su importancia para la fabricación.....	34
2.1.7.2	Criterios de calidad.....	34
2.1.7.3	Control de calidad de la leche.....	35
2.1.8	Métodos para la conservación de la leche.....	36
2.1.8.1	Pasteurización (Slow High Temperature, SHT).....	36
2.1.8.2	Ultrapasteurización (Ultra High Temperature, UHT).....	37
2.1.8.3	Ebullición.....	37
2.1.8.4	Enfriamiento.....	37
2.1.8.5	Congelación.....	38
2.1.8.6	Refrigeración.....	38
2.1.9	Requisitos de la leche cruda según norma NTE INEN 9.....	39

CAPÍTULO III

3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1	Materiales.....	41
3.1.1	Materia Prima.....	41
3.1.2	Materiales y Equipo.....	41
3.1.3	Reactivos.....	42
3.2	Métodos.....	42

3.2.1	Localización del experimento.....	42
3.2.2	Datos Informativos del lugar.....	43
3.2.2.1	Toma de muestras.....	43
3.3	Factor en estudio.....	43
3.4	Tratamientos.....	43
3.5	Diseño experimental.....	44
3.5.1	Tipo de diseño.....	44
3.5.2	Características del diseño experimental.....	44
3.5.3	Esquema del Análisis Estadístico.....	45
3.5.4	Análisis funcional.....	45
3.6	Variables a evaluarse.....	45
3.7	Manejo específico del experimento.....	46
3.7.1	Muestreo.....	46
3.7.2	Zonas de muestreo.....	47
3.7.3	Recolección y transporte de muestras.....	47
3.8	Descripción de las variables a evaluarse.....	50

CAPÍTULO IV

4	RESULTADOS Y DISCUSIONES	71
4.1	Análisis estadístico.....	71
4.1.1	Análisis de la variable determinación de la densidad.....	72
4.1.2	Análisis de la variable determinación de la acidez titulable.....	75
4.1.3	Análisis de la variable prueba de alcohol.....	79
4.1.4	Análisis de la variable detección de almidón.....	81
4.1.5	Análisis de la variable cuantificación de peróxido de hidrógeno.....	83
4.1.6	Análisis de la variable contenido de grasa.....	84
4.1.7	Análisis de la variable sólidos no grasos.....	87
4.1.8	Análisis de la variable sólidos totales.....	91

4.1.9	Análisis de la variable determinación del punto de congelación.....	94
4.1.10	Análisis de la variable Contenido de Proteína.....	98
4.1.11	Análisis de la variable Contenido de Cenizas.....	101
4.1.12	Análisis de la variable determinación de presencia de antibióticos.....	104
4.1.13	Análisis de la variable Contaje de microorganismos aerobios mesófilos.....	106
4.1.14	Análisis de la variable Contaje de Enterobacterias.....	109
4.1.15	Análisis de la variable Contaje de células Somáticas.....	111
4.2	Socialización.....	114

CAPÍTULO V

5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	115
5.1	Conclusiones.....	115
5.2	Recomendaciones.....	119

CAPÍTULO VI

RESUMEN.....	120
SUMMARY.....	123

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA.....	125
-------------------	-----

CAPÍTULO VIII

ANEXOS.....	128
-------------	-----

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Página
Cuadro 1 Componentes de la leche.....	8
Cuadro 2 Principales Constituyentes de la leche de vaca (g/100 g de leche).....	9
Cuadro 3 Vitaminas de la leche de vaca (por 100 g).....	13
Cuadro 4 Sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto...	30
Cuadro 5 Requisitos Organolépticos de la leche cruda.....	39
Cuadro 6 Requisitos Físico-Químicos de la leche cruda.....	39
Cuadro 7 Requisitos Microbiológicos.....	40
Cuadro 8 Esquema del ADEVA.....	45
Cuadro 9 Muestreo de la leche.....	47
Cuadro 10 Determinación del Contenido de grasa.....	58
Cuadro 11 Determinación de presencia de Antibióticos.....	64
Cuadro 12 Contenido de microorganismos aerobios mesófilos UFC/cm ³ en leche cruda.....	65
Cuadro 13 Contenido de microorganismos aerobios mesófilos.....	67
Cuadro 14 Contaje de Enterobacterias.....	69
Cuadro 15 Valores obtenidos de la variable determinación de la densidad relativa (g/cm ³).....	73
Cuadro 16 ADEVA de la variable determinación de la densidad relativa.....	73

Cuadro 17	Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable determinación de la densidad relativa.....	74
Cuadro 18	Valores obtenidos de la variable determinación de la acidez titulable (%)......	77
Cuadro 19	ADEVA de la variable determinación de la acidez titulable.....	77
Cuadro 20	Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable determinación de la acidez titulable.....	78
Cuadro 21	Resultados del método de la prueba de la leche con alcohol.....	80
Cuadro 22	Resultados de la detección de almidón.....	82
Cuadro 23	Resultados de la cuantificación de peróxido de hidrógeno.....	83
Cuadro 24	Valores obtenidos de la variable contenido de grasa.....	85
Cuadro 25	ADEVA de la variable contenido graso.....	85
Cuadro 26	Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable contenido de grasa.....	86
Cuadro 27	Valores obtenidos de la variable Sólidos No Grasos.....	88
Cuadro 28	ADEVA de la variable Sólidos No Grasos.....	89
Cuadro 29	Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable Sólidos No Grasos.....	89
Cuadro 30	Valores obtenidos de la variable determinación de sólidos totales (%)......	92
Cuadro 31	ADEVA de la variable sólidos totales.....	92
Cuadro 32	Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable sólidos totales.....	93
Cuadro 33	Valores obtenidos de la variable punto de congelación (°C)......	95
Cuadro 34	ADEVA de la variable punto de congelación.....	96

Cuadro 35	Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable punto de congelación.....	96
Cuadro 36	Valores obtenidos de la variable proteína (%).	99
Cuadro 37	ADEVA de la variable proteína.....	99
Cuadro 38	Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable proteína.....	100
Cuadro 39	Valores obtenidos de la variable cenizas.....	102
Cuadro 40	ADEVA de la variable cenizas.....	102
Cuadro 41	Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable cenizas.....	103
Cuadro 42	Resultados de la Determinación de presencia de Antibióticos.....	105
Cuadro 43	Valores obtenidos de la variable contaje de microorganismos aerobios mesófilos (UFC/ml).....	107
Cuadro 44	Valores obtenidos de la variable contaje de enterobacterias (UFC/ml).....	110
Cuadro 45	Valores obtenidos de la variable contaje de células somáticas (CCSx1000/ml) – Patrón 750.....	112

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Contenido	Página
Gráfico 1 La leche.....	6
Gráfico 2 Hidrólisis de la lactosa por acción enzimática y formación de ácido láctico.....	12
Gráfico 3 Las bacterias entran a través del canal del pezón.....	15
Gráfico 4 Bacterias coliformes emiten grandes volúmenes de gas, dando lugar a quesos hinchados y con mal sabor.....	17
Gráfico 5 Estructura del mohó <i>Geotrichum candidum</i>	20

Gráfico 6	Comportamiento de los valores medios para la variable determinación de la densidad relativa.....	75
Gráfico 7	Comportamiento de los valores medios para la variable determinación de la acidez titulable.....	79
Gráfico 8	Comportamiento de los valores medios para la variable contenido de grasa.....	87
Gráfico 9	Comportamiento de los valores medios para la variable sólidos no grasos.....	90
Gráfico 10	Comportamiento de las medias para la variable sólidos totales.....	94
Gráfico 11	Comportamiento de los valores medios para la variable punto de congelación.....	97
Gráfico 12	Comportamiento de los valores medios para la variable proteína.....	101
Gráfico 13	Comportamiento de los valores medios para la variable cenizas.....	104
Gráfico 14	Comportamiento de los valores medios para la variable contenido de microorganismos aerobios mesófilos.....	108
Gráfico 15	Comportamiento de los valores medios para la variable conteo de enterobacterias.....	111
Gráfico 16	Comportamiento de los valores medios para la variable conteo de células somáticas.....	113

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Contenido	Página	
Fotografía 1	Colocación de la leche en funda estéril.....	48
Fotografía 2	Muestras en la caja térmica.....	48
Fotografía 3	Colocación de la leche en frasco de 40 ml.....	49

Fotografía 4	Frascos en la caja térmica.....	49
Fotografía 5	Determinación de la densidad a 15 °C.....	50
Fotografía 6	Determinación de la acidez titulable.....	52
Fotografía 7	Prueba de alcohol.....	53
Fotografía 8	Detección de almidón.....	54
Fotografía 9	Cuantificación de peróxido de hidrógeno.....	55
Fotografía 10	Kit, QUANTOFIX Peróxido 25.....	56
Fotografía 11	Lactoscan. Analizador de leche.....	60
Fotografía 12	Contaje de células somáticas.....	70
Fotografía 13	Fossomatic Minor Analyzer.....	70
Fotografía 14	Asistentes a la conferencia.....	114

ÍNDICE DE ANEXOS

Contenido	Página	
Anexo 1	NTE INEN 9. Leche cruda requisitos.....	128
Anexo 2	NTE INEN 4. Leche y productos lácteos. Muestreo.....	132
Anexo 3	Instructivo para la toma de Muestras. Laboratorio de calidad de Leche.....	139
Anexo 4	NTE INEN 11: Leche. Determinación de la Densidad relativa.....	141
Anexo 5	NTE INEN 13: Leche. Determinación de la Acidez titulable.....	143
Anexo 6	NTE INEN 1500: Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.....	147
Anexo 7	NTE INEN 12: Leche. Determinación del contenido de grasa.....	161
Anexo 8	Porcentaje de acidez de los doce tratamientos de la leche	165
Anexo 9	Porcentaje de grasa de los doce tratamientos de la leche..	166

Anexo 10	Porcentaje de Sólidos no grasos de los doce tratamientos de la leche.....	167
Anexo 11	Porcentaje de Sólidos totales de los doce tratamientos de la leche.....	168
Anexo 12	°C Punto de Congelación de los doce tratamientos de la leche.....	169
Anexo 13	Porcentaje de Proteína de los doce tratamientos de la leche.....	170
Anexo 14	Porcentaje de Cenizas de los doce tratamientos de la leche.....	171
Anexo 15	Informe de resultados de Determinación de presencia de Antibióticos. Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe.....	172
Anexo 16	Informe de resultados del Contaje de Células Somáticas. Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe.....	176
Anexo 17	Informe de resultados de los análisis realizados en el Laboratorio de Uso Múltiple de la Universidad Técnica del Norte.....	179
Anexo 18	Firmas de los asistentes a la conferencia en la Parroquia los Andes cantón Bolívar.....	182

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La leche es un alimento completo, reúne en ella casi todos los componentes de los otros alimentos (proteínas, vitaminas, minerales, grasa, etc.), por lo que es ideal para el consumo humano; pero las características de su propia composición, la hacen un producto perecedero y fácilmente contaminable, es por esto que, la recolección y el mantenimiento de su calidad, constituyen en todas sus fases una verdadera carrera contra el tiempo para evitar su deterioro.

En el volumen de producción nacional es de 4.766.180 l/día, en Carchi representa un 6.91%; de la cual en el Cantón Bolívar se expende 3000 litros diarios de leche cruda. (Fuente: ESPAC Elaboración OFIAGRA – Municipio del Cantón Bolívar 2010).

El departamento de Gestión Ambiental del Municipio del Cantón Bolívar, no ejerce control sanitario a productores ni a expendedores de leche, por lo que es muy fácil que la calidad de ésta se vea afectada. Lo que implica riesgos para la salud del consumidor, debido a que el producto que se expende en estas condiciones puede contener alta carga microbiana y/o adulterantes químicos, es así que no cumple con las condiciones adecuadas de expendio exigidas que garanticen el consumo de un producto seguro a la población.

Por lo general la leche cruda es comercializada en mercados, camiones, tiendas y de forma ambulante, principalmente, se la mantiene en tarros de aluminio o plástico, en lugares donde no existe condiciones de higiene ni refrigeración, expuesta al aire libre y temperatura ambiente, factores que producen alteraciones casi totales o parciales que repercuten en la salud de quienes la consumen, la mayoría de distribuidores descuidan o pasan por alto las medidas necesarias para que la leche no pierda su calidad física, química y organoléptica.

El desconocimiento de las condiciones sanitarias en las que se debe producir, procesar, almacenar y transportar, ya sea por carecer de información o porque se considera todavía como gasto, ocasiona que ciertos proveedores voluntaria e involuntariamente alteren por diversos procedimientos como aguado, descremado, adición de conservantes, antibióticos, estabilizadores, colorantes, etc, que permiten el desarrollo de microorganismos y presencia de agentes químicos, lo que produce diversas modificaciones en la composición y constitución de la leche, afectando los parámetros de calidad, y perjudicando al consumidor final, tanto en el aspecto nutricional, salud y económico.

La leche cruda no sería apta para su comercialización y consumo sin ser sometida a un control físico, químico y microbiológico, que aseguren que la leche cumple con los requisitos establecidos, haciéndola así segura para el consumo humano. Por eso, una leche con garantías de salubridad debe haber sido ordeñada con métodos modernos e higiénicos de succión en los cuales no hay contacto físico. Durante su manipulación, las manos también pueden aportar microorganismos, por lo cual es importante mejorar las prácticas sanitarias en el ordeño y el procesamiento tradicional de la leche. Por esto se hace necesario establecer parámetros de calidad que deben ser socializados mediante desarrollo de talleres de capacitación para demostrar en la práctica el efecto de las buenas técnicas sanitarias en la calidad del producto final.

Una leche de buena calidad, segura para consumo humano, es el resultado de reconocidas prácticas sanitarias observadas a lo largo de todas las etapas del

proceso como son ordeño, enfriamiento y almacenamiento en lugares adecuados y ser transportada en el menor tiempo posible debido al período de caducidad corto. Para asegurar la calidad de la leche y de los productos lácteos, se requiere del establecimiento y aplicación de planes sistemáticos que identifiquen los peligros, valoren los riesgos y se controlen con métodos preventivos.

Con la presente investigación “Evaluación de la calidad físico química y microbiológica de la leche cruda que se expende en el Cantón Bolívar Provincia del Carchi”, se busca capacitar a los productores, transportistas y expendedores y así minimizar las alteraciones en la leche cruda, para ello se contó con el auspicio del departamento de Gestión Ambiental del Cantón Bolívar, cuyos beneficiarios fueron la Asociación de Productores y Comercializadores de Productos Orgánicos del Norte (APRONOR).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 General

- “Evaluar la calidad físico-química y microbiológica de la leche cruda que se expende en el Cantón Bolívar Provincia del Carchi”

1.1.2 Específicos

- Evaluar las características físico-químicas: determinación de la densidad a 15° C, determinación de la acidez titulable, prueba del alcohol, detección de almidón, determinación del punto de congelación, cuantificación de peróxido de hidrógeno, determinación de presencia de antibióticos, determinación del contenido de grasa, determinación de sólidos no grasos, determinación de sólidos totales, contenido en proteínas y contenido de cenizas.
- Evaluar las características microbiológicas: contaje de microorganismos aerobios mesófilos, contaje de enterobacterias y contaje de células somáticas.
- Elaborar un manual técnico del manejo de la leche.
- Socializar los resultados obtenidos a los productores, transportistas y expendedores del Cantón Bolívar Provincia del Carchi.

1.2 HIPÓTESIS

1.2.1 Hi

- ❖ La leche cruda que se expende en el Cantón Bolívar cumple con los requisitos establecidos por la norma NTE INEN 9.

1.2.2. Ho

- ❖ La leche cruda que se expende en el Cantón Bolívar no cumple con los requisitos establecidos por la norma NTE INEN 9.

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 LA LECHE

2.1.1 Definición

Se puede definir la leche desde los siguientes puntos de vista:

- **Legal:** La leche, es el producto íntegro y fresco del ordeño completo, en condiciones de higiene, de vacas lecheras, sanas, bien alimentadas y en reposo, exentas de calostro y que cumpla con las características físicas, microbiológicas e higiénicas establecidas.



Gráfico 1: La leche

Disponible: <http://latinut.net/micro/documentos/leche.pdf> (2009-09-17)

- **Biológico:** Es una sustancia segregada por la hembra de los mamíferos con la finalidad de nutrir a las crías.
- **Técnico o físico-químico:** Sistema en equilibrio, constituido por tres sistemas dispersos: solución, emulsión y suspensión.
 - ✓ **Solución:** Los minerales así como los hidratos de carbono se encuentran disueltos en el agua.

- ✓ **Suspensión:** Las sustancias proteicas se encuentran con el agua en suspensión.
- ✓ **Emulsión:** La grasa en agua se presenta como emulsión.
Disponible: <http://es.wikipedia.org/wiki/Leche> (2009/10/01)

Tesis (Méndez Pérez-Paz de Jesús): La leche es la más completa y equilibrada de los alimentos, exclusivo del hombre en sus primeros meses de vida, y excelente en cualquier edad, la leche de vaca es la que con más frecuencia consumimos. (p 4).

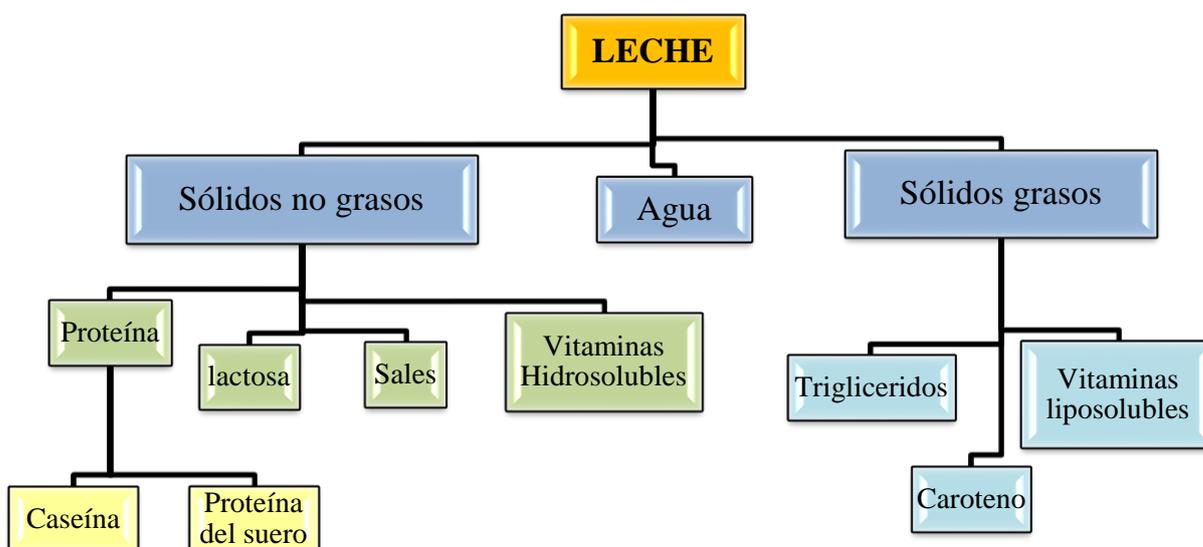
2.1.2 Propiedades organolépticas

- a. **Color:** La leche tiene un color ligeramente blanco amarillento, debido en parte al caroteno contenido en la grasa de la leche. Este es un colorante natural que la vaca absorbe con la alimentación de forrajes verdes. La leche pobre en grasa, aguada o descremada presenta ligeramente un tono azulado.
- b. **Olor:** El olor de la leche es típico y característico, siendo más o menos agradable. Sin embargo, la leche absorbe fácilmente olores del ambiente, o de los recipientes en los que se guarda. La acidificación le da un olor especial a la leche, y el desarrollo de bacterias coliformes un olor a establo, o a heces de vaca. Además ciertas clases de forrajes consumidos por las vacas proporcionan cambios en el olor y sabor.
- c. **Sabor:** La leche producida bajo condiciones adecuadas tiene un sabor ligeramente dulce, por la lactosa que contiene. Los sabores extraños vendrán dados generalmente por el tipo de alimento recibido, ejemplo: harina de pescado, ensilajes, cebolla, etc., o por contacto con desinfectantes u otras sustancias.

Disponible: <http://www.geocities.com/jpardo16/pausteri.html> (2009/09/16)

2.1.3 Componentes y composición

2.1.3.1 Componentes de la leche



Cuadro 1: Componentes de la leche

2.1.3.2 Composición de la leche de vaca

Desde **el punto de vista comercial**, los aspectos más importantes de la composición de la leche son su contenido en grasa, sólidos no grasos (SNG) y el total de sólidos (ST), ya que la cantidad de estos constituyentes afecta a la calidad de productos como la mantequilla, el queso o la leche en polvo. El precio que recibe el ganadero por su leche depende de su contenido en sólidos no grasos y sólidos totales.

Cuadro 2: Principales Constituyentes de la leche de vaca (g/100 g de leche)	
Agua	87.5
Grasa	3.8
Proteínas	3.3
• Caseína	2.6
• Proteínas del suero	0.7
Lactosa	4.7
Calcio	0.12
Sólidos no grasos	8.7
Sólidos totales	12.5

FUENTE: www.unapiquitos.edu.pe

a) Agua

El agua es el principal componente de la leche, representa aproximadamente el 87.5 % del total de la leche, en la que se encuentran disueltas o en suspensión las proteínas, lactosa (el azúcar de la leche), los minerales y las vitaminas hidrosolubles.

Disponible. www.unapiquitos.edu.pe (2009/09/16)

b) Grasa

La materia grasa se halla en la leche en emulsión formando pequeños glóbulos de grasa de forma esférica de diámetro entre 0.1 y 20 μm “micrones” (1 μm = 0.001 mm). El tamaño medio es de 3 - 4 μm , y se tienen unos 15000 millones de glóbulos por mililitro.

Los glóbulos de grasa no solamente son las partículas más grandes de la leche sino también son las partículas más ligeras (con una densidad de 0.93 g/cm^3 a 15.5 $^{\circ}\text{C}$), por lo que tienden a subir hacia la superficie cuando la leche se deja reposar en un envase.

c) Sustancias proteicas

El aspecto “lechoso” característico de la leche se debe principalmente a las proteínas y sales de calcio, disueltas en ella, el color amarillo crema se debe a la presencia de caroteno, un pigmento amarillo anaranjado que se convierte en vitamina A (retinol) en el organismo.

Las sustancias proteicas se clasifican en dos grupos: proteínas (la caseína y las proteínas del suero) y las enzimas.

Tesis (Méndez Pérez-Paz de Jesús): Las proteínas de la leche son la caseína, la albúmina y la globulina. (p7)

- **Caseína:** La caseína es una proteína que contiene fósforo y que se encuentra únicamente en la leche y forma la cuajada cuando se acidifica la leche hasta un pH de 4.6 o se trata con cuajo. Se encuentra en suspensión formando las llamadas micelas.
- **Proteínas del suero:** Permanecen sueltas en el líquido (suero) que escurre la cuajada. Son la α lactoalbumina β lactoglobulina.
- **Enzimas:** Las enzimas son un grupo de proteínas producidas por organismos vivos. Tienen la capacidad de provocar reacciones químicas y de afectar el curso y la velocidad de tales reacciones. Cada tipo de enzima cataliza exclusivamente un tipo de reacción.

Dos factores que influyen de forma importante sobre la acción enzimática son la temperatura y el pH. Las enzimas son más activas a una temperatura cuyo óptimo oscila entre 25 y 50 °C. Su actividad cae si la temperatura supera el óptimo antes citado, cesando completamente en algún punto situado entre los 50 y 120 °C.

Las enzimas presentes en la leche tienen su origen en la ubre de la vaca o en las bacterias. Las primeras se consideran como componentes normales de la leche son denominadas enzimas originales. Las otras, llamadas enzimas bacterianas, varían en tipo y abundancia según la naturaleza y tamaño de la población bacteriana. Algunas de estas enzimas de la leche se utilizan en controles de calidad.

Entre las más importantes están:

- ✓ **Peroxidasa:** La peroxidasa transfiere oxígeno del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) hacia sustancias oxidables. Esta enzima es inactiva si la leche se calienta a 80 °C durante unos pocos segundos, circunstancia que puede ser utilizada para demostrar la presencia o ausencia de peroxidasa en la leche, y, por tanto, para comprobar si la temperatura de pasteurización ha superado o no esos 80 °C. Esta prueba se denomina test de la peroxidasa de Storch.
- ✓ **Catalasa:** La catalasa desdobla el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre. Se incrementa con la mastitis y, si bien no deteriora el alimento, se usa como indicador microbiológico. La leche de ubres enfermas tiene un mayor contenido en catalasa, mientras que la leche fresca de ubres sanas contiene solamente una cantidad muy pequeña. La catalasa se destruye mediante calentamiento a 75 °C durante 60 segundos.
- ✓ **Fosfatasa:** Es un inhibidor a temperaturas de pasteurización e indica que se realizó bien la pasteurización.
- ✓ **Lipasa:** Oxida las grasas y da olor rancio a los productos y se inhibe con pasteurización.

d) Lactosa

La lactosa (azúcar de la leche) es un disacárido, de todos los componentes de la leche es el que se encuentra en mayor porcentaje, del 4.7 al 5.2%, siendo además el más constante. Es el alimento de muchos microbios que hay en la leche.

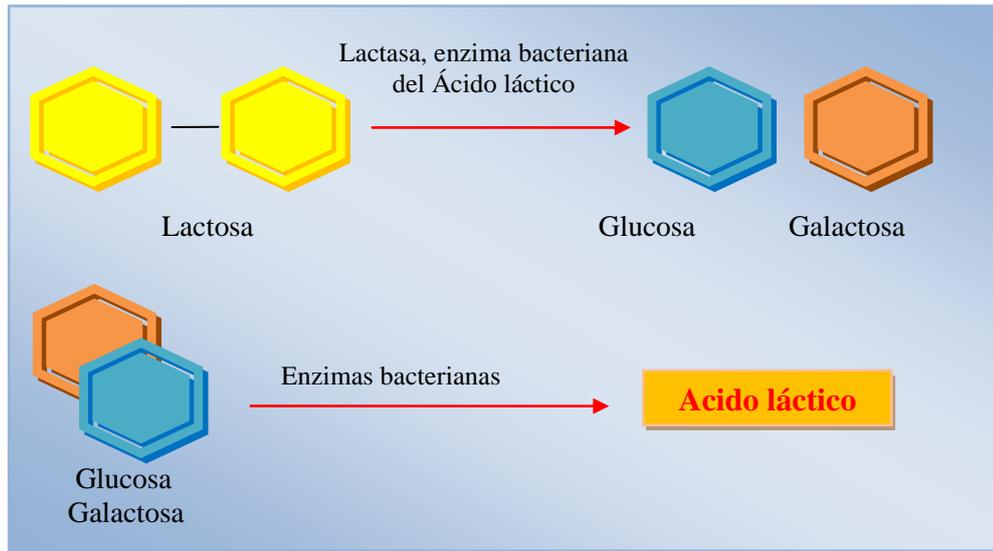


Grafico 2: Hidrólisis de la lactosa por acción enzimática y formación de ácido láctico

Las bacterias lácticas contienen una enzima llamada lactasa que ataca al azúcar de la leche, desdoblado la molécula de lactosa en glucosa y galactosa. Otras enzimas de las bacterias lácticas atacan entonces a la glucosa y a la galactosa convirtiéndolas a través de complicadas reacciones intermedias en ácido láctico principalmente. Esto es lo que sucede cuando la leche se acidifica, es decir, se produce la fermentación de la lactosa con formación de ácido láctico.

Esta acidificación no es deseable en el caso de leche para consumo, pero en la elaboración de productos lácteos como yogurt, mantequilla y queso, la fermentación de la lactosa en ácido láctico ejerce una acción conservadora.

e) Sales minerales

En la leche vacuna la cantidad de minerales varia en alrededor de 0.8%. Las sales minerales se encuentran disueltas en el suero de la leche o formando compuestos con la caseína. Las sales más importantes son las de calcio, sodio, potasio, fosforo y magnesio. Siendo las más abundantes en la leche normal el potasio y calcio.

El calcio y fósforo forman lo que se llama fosfato de calcio el cual es muy importante para la coagulación de la leche cuando se elabora queso.

f) Vitaminas

La leche es el alimento que contiene la variedad más completa de vitaminas, sin embargo, estos se hallan en pequeñas cantidades y algunos no alcanzan para los requerimientos diarios.

Vitamina A (retinol)	µg	26 a 35
Caroteno	µg	12 a 25
Vitamina D	µg	0.02
Tiamina	µg	45
Riboflavina	µg	180
Ácido Nicotínico	µg	80
Ácido pantoténico	µg	320
Vitamina B6	µg	40
Biotina	µg	2.5
Ácido fólico	µg	6
Vitamina B12	µg	0.35
Vitamina C	µg	2

g) Otros constituyentes de la leche

La leche contiene siempre *células somáticas* (glóbulos blancos o leucocitos). Su contenido es bajo cuando se trata de leche procedente de ubres sanas, pero aumenta si se trata de una ubre enferma, normalmente en proporción a la severidad de la enfermedad. El contenido de células somáticas en la leche de animales sanos es como norma menor de 200.000 células/ml, pero se pueden aceptar recuentos de hasta 400.000 células/ml.

La leche también contiene gases disueltos, que significan el 5-6 % en volumen de la leche fresca de la ubre, pero al llegar a la central lechera el contenido de gas puede ser hasta del 10% en volumen. Principalmente se trata de anhídrido carbónico, nitrógeno y oxígeno. Estos gases están en la leche de tres formas:

1. Disueltos en la leche
2. Ligados y por lo tanto, no separables de la leche
3. Dispersos en la leche

Los gases dispersos y disueltos constituyen un serio problema en el procesado de la leche, ya que están relacionados con el quemado de la leche sobre las superficies de calentamiento si tiene un contenido excesivo de gases.

Disponible: Manual de Industrias Lácteas Tetra Pak.

2.1.4 Microorganismos en la leche cruda

En general se puede resumir la importancia del estudio microbiológico de la leche basado en esos tres aspectos:

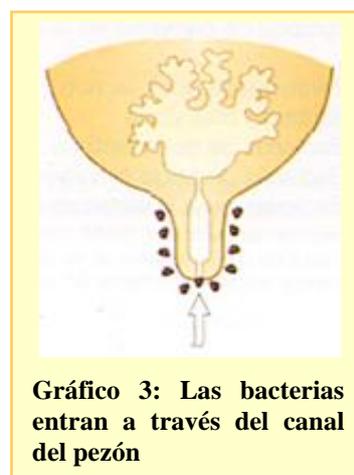
- Los microorganismos producen cambios deseables en las características físico químicas de la leche durante la elaboración de diversos productos lácteos.
- Los productos lácteos y la leche pueden contaminarse con microorganismos patógenos o sus toxinas y provocar enfermedad en el consumidor.

- Los microorganismos pueden causar alteraciones de la leche y productos lácteos haciéndolos inadecuados para el consumo.

En la leche cruda pueden encontrarse microorganismos de los diferentes grupos: bacterias, hongos (mohos y levaduras) y virus, los cuales serán descritos brevemente a continuación, de acuerdo a su importancia en la industria láctea.

2.1.4.1 Las bacterias en la leche

Cuando la leche es segregada en la ubre es virtualmente estéril. Pero incluso antes de abandonarla es infectada por bacterias que entran a través del canal del pezón. Estas bacterias son normalmente inofensivas y reducidas en número: sólo unas pocas decenas o centenares por mililitro (300 – 1500 bacterias/ml).



Sin embargo, en casos de inflamación bacteriana de la ubre (mastitis), la leche es fuertemente contaminada con bacterias y puede incluso no ser apropiada para su consumo, sin hacer mención del propio sufrimiento de la vaca.

Hay siempre una cierta concentración bacteriana en el canal del pezón, pero la mayor parte de las bacterias se eliminan al comienzo del ordeño. Es conveniente separar en otro recipiente los primeros chorros de leche que salen de la ubre, ya que son ricos en bacterias.

Debido a su muy específica composición, la leche es susceptible de contaminación por una amplia variedad de bacterias. La leche de una granja puede contener desde unos pocos miles de bacterias por mililitro, si se trata de una granja higiénica, hasta varios millones, si los niveles de limpieza, desinfección y enfriamiento son bajos. La limpieza y desinfección diaria de todos los equipos de

ordeño y manejo de la leche, es el factor más decisivo que determina la calidad bacteriológica de la leche. En la leche considerada de la más alta calidad el recuento de bacterias, en UFC (Unidades Formadoras de Colonias), debe ser inferior a 100.000 por mililitro.

Disponible: Manual de Industrias Lácteas Tetra Pak.

Las principales bacterias en la leche son:

Los grupos de bacterias presentes en la leche pueden dividirse en lácticas, coliformes, ácido-butíricas, de la putrefacción y termorresistentes.

A. Bacterias Lácticas: Son las más importantes por su actividad bioquímica y número. Son un grupo de bacterias de diferentes géneros, (bacilos, cocos) ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se encuentran en el suelo y en cualquier lugar donde existan altas concentraciones de carbohidratos, proteínas desdobladas, vitaminas y poco oxígeno (lugares donde haya nutrientes). Soportan pH 4 en la leche y son anaeróbicas facultativas, mesófilas, termófilas y de crecimiento exigente.

Las bacterias ácido lácticas prefieren la lactosa como fuente de carbono. La fermentan dando lugar a ácido láctico. La fermentación puede ser pura o impura, es decir: **fermentación homofermentativa** (más del 90% de su metabolismo resulta en ácido láctico) o **fermentación heterofermentativa** (producen además del ácido láctico, otros ácidos y gases).

Los principales géneros de bacterias ácido lácticas son: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragonococcus*, *Alloiococcus* y *Bifidobacterium*.

Su estudio en el ámbito tecnológico es importante por lo siguiente:

- 1) Proporcionan textura (formación de polisacáridos)
- 2) Producen acidez (yogurt, quesos, mantequilla)
- 3) Aportan sabor y aroma (diacetilo = mantequilla; acetoina = yogurt)
- 4) Bacteriocinas (prolongan vida útil de los productos)
- 5) Efecto probiótico (tumoral, gastrointestinal, colesterol)

B. Bacterias Coliformes: Son gram negativas, no esporuladas, aerobias y anaerobias facultativas con una temperatura óptima de 30 – 37 °C. Se encuentran en los intestinos del hombre y de los animales, estiércol, suelo, en el polvo, aguas contaminadas y en plantas. Fermentan la lactosa produciendo ácido láctico y otros ácidos orgánicos, anhídrido carbónico e hidrógeno y descomponen las proteínas de la leche, dando lugar a un olor y sabor desagradable.



Las bacterias coliformes pueden causar serios problemas durante la fabricación de queso. Además de causar malos sabores, la formación relativamente fuerte de gas dará lugar a una textura indeseada en las fases iniciales (cómo hinchamiento). El metabolismo de las bacterias coliformes cesa a un pH justo por debajo de 6. Esto explica su actividad en la primera fase de fermentación, antes de que toda la lactosa se desdoble.

Su importancia en la lechería se debe a que su presencia en la leche y en los productos lácteos indica deficiencia en la higiene de los métodos de producción, transporte, etc. Las coliformes forman parte del grupo de las enterobacterias.

Los géneros que comúnmente aparecen en la leche son: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerógenes*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*.

C. Bacterias formadoras del ácido butírico: Las bacterias ácido-butíricas son muy comunes en la naturaleza. Se las encuentra en suelos, plantas, estiércol, etc, llegan fácilmente a la leche. Son "destructoras de quesos".

Son anaerobios, forman esporas y tienen una temperatura óptima de crecimiento de 37 °C. Se puede distinguir entre el *Clostridium butiricum* móvil, un grupo que contiene fermentadores tanto de lactosa como de lactato y que puede originar fermentaciones ácido butíricas tempranas y tardías en el queso, y el *Clostridium tirobutiricum*, que fermenta los lactatos (sales ácido lácticas), y que puede causar fermentaciones ácido butíricas tardías. Resisten la pasteurización por su capacidad de producir esporas, las cuales solo se destruyen a temperaturas por encima de 100 °C.

Para prevenir la fermentación ácido butírico es la adición de sal común (cloruro sódico), esto explica el por qué los quesos salados en la cuajada (salado en seco) muestran tan baja tendencia a la fermentación ácido-butírica. El salado no debe ser muy fuerte, ya que existe el riesgo de inhibir las bacterias ácido-lácticas que se deben desarrollar en el queso.

D. Bacterias de la putrefacción (Psicrófilas): Se desarrollan a temperaturas entre 2 y 10 °C. Estas bacterias atacan más bioquímicamente a la proteína y a la grasa que el azúcar, por esto producen sabores y olores pútridos desagradables en la leche, pues casi no la acidifican. Comprende un gran número de especies, tanto cocos como bacilos, que crecen tanto aeróbica como anaeróticamente. A este grupo pertenecen:

→ *Brevibacterium linens* (útil): Forma una capa rojo-amarillenta sobre la superficie del queso (Port Salut), descompone las proteínas durante la maduración y contribuye a la formación de aromas.

- *Pseudomonas fluorescens* (dañina): Se encuentra en suelos y aguas contaminadas. Produce lipasa y proteasa muy resistentes al calor, y su presencia es perturbadora en la mantequilla, a este género pertenecen las gram-negativas que contaminan más frecuentemente después de la pasteurización y crecen en la leche a bajas temperaturas.

- *Clostridium sporogenes* (dañina): Bacilo móvil, anaerobio y formador de esporas. Se encuentra en agua, suelos y en los intestinos. Produce queso maloliente.

- *Acromobacteriaceae*: Se han descritos los géneros *Flavobacterium*, *Alcaligenes* y *Achromobacter*, se encuentran con cierta frecuencia en la leche fría cruda, que es mantenida largo tiempo a temperaturas bajas (0 °C a 4.4 °C).

E. Bacterias Termorresistentes: (resistentes al calor), que son aquellas que aguantan temperaturas por encima de 70 °C. No crecen ni se reproducen a altas temperaturas, pero pueden resistirlas sin morir. Algunas resisten a 83 °C durante 10 minutos. La presencia de estos microorganismos puede determinar recuentos altos en la leche pasteurizada y disminuir el tiempo de conservación de la misma. Pueden sobrevivir en la leche esterilizada industrialmente.

Estas bacterias son generalmente mesófilas, algunas tienen su desarrollo óptimo a 45 °C.

2.1.4.2 Mohos y levaduras

No tienen importancia en leche fluida, sino más bien en los productos.

Las **levaduras** son generalmente organismos no deseados desde el punto de vista de la industria láctea, con una excepción (el kéfir), ya que causan serios defectos en los productos fermentados, como el queso y la mantequilla. Crecen mejor en medio ácido pH entre 3 y 7.5, el óptimo es usualmente 4.5 - 5.0. Su temperatura óptima se encuentra normalmente entre 20 - 30 °C, producen gas y poco o nada de alcohol y son fácilmente destruidos a temperaturas de pasteurización.

Los **mohos**: Son de interés particular desde el punto de vista lácteo. Crecen a temperatura entre 20 y 30 °C. Pueden desarrollarse en medios con un pH entre 3 y 8.5. Los de mayor importancia son:

→ El *Geotrichum candidum* (moho de la leche), aparece en la superficie de la leche fermentada como una capa fina blanquecina y aterciopelada. Este moho contribuye a la maduración de quesos blandos y semiblandos. Puede provocar rancidez en la mantequilla.

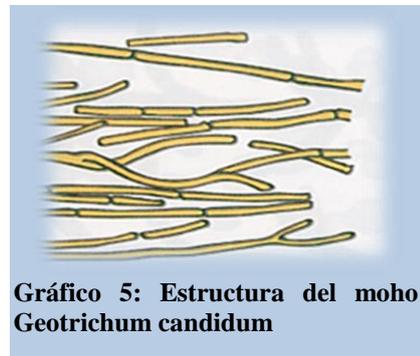


Gráfico 5: Estructura del moho *Geotrichum candidum*

Los mohos en las superficies de los quesos y mantequillas pueden producir decoloración y dar también al producto un aroma desagradable. La higiene más estricta es necesaria en la industria láctea con objeto de prevenir que sus productos se vean afectados por mohos durante su tratamiento.

→ El *Penicillium*, sus poderosas propiedades de descomposición de proteínas y grasas les hacen los principales agentes de la maduración de los quesos Azules (*Penicillium roqueforti*), Camembert (*Penicillium camemberti*), etc.

2.1.4.3 Virus

La leche se puede contaminar con los virus causantes de la Fiebre Aftosa, Estomatitis Vesicular. Los más importantes para la industria láctea son los Bacteriófagos virus que infectan a las bacterias produciendo su muerte, por lo cual pueden afectar la producción de derivados lácteos causando lisis de los cultivos añadidos para la producción de sabor y aroma.

2.1.5 Alteraciones en la leche

Toda clase de microorganismos prolifera en la leche causando alteraciones. Expuesta al aire, en menos de 24 horas se corta. La leche es un excelente medio de cultivo para numerosos microorganismos por su elevado contenido en agua, su pH casi neutro y su riqueza en alimentos microbianos. Posee una gran cantidad de alimentos energéticos en forma de azúcares (lactosa), grasa y citrato, y compuestos nitrogenados. Los alimentos nitrogenados se hallan en numerosas formas: proteínas, aminoácidos, amoníaco, urea, etc.

Por poseer azúcares fermentescibles, en condiciones ordinarias lo que más frecuentemente ocurre es una fermentación ácida a cargo de las bacterias; si no existen gérmenes formadores de ácido o si las condiciones son desfavorables para su actividad, pueden sufrir otros tipos de alteración. Las principales alteraciones son las siguientes:

2.1.5.1 Agriado o formación de ácido

Cuando la leche se acidifica suele considerarse alterada. La formación de ácido se manifiesta inicialmente por el olor agrio y la coagulación de la leche, que produce una cuajada de consistencia gelatinosa o más débil, que libera un suero claro. La fermentación ácido láctica tiene lugar en general cuando se abandona la leche cruda durante algún tiempo a temperatura ambiente. Los gérmenes lácticos

causantes de esta fermentación pueden ser homofermentativos que producen casi exclusivamente ácido láctico y cantidades mínimas de otras sustancias, o heterofermentativos, que producen además de ácido láctico, cantidades apreciables de productos volátiles. El agriado de la leche cruda a temperaturas entre 10 y 37 °C es generalmente causado por el *Streptococcus lactis*, ayudado quizá por coliformes, micrococos, lactobacilos y enterococos.

Las bacterias termófilas crecen a temperaturas superiores a éstas, y se destacan: *Bacillus calidolactis*, y *Lactobacillus thermophilus*. A temperaturas próximas a 0 °C, apenas si hay producción de ácido, pero la leche puede sufrir procesos proteolíticos (escisión de las cadenas proteicas).

Los gérmenes lácticos no son los únicos capaces de provocar la fermentación ácida de la leche; pueden producirla muchos otros, especialmente si las condiciones no son favorables a las bacterias ácido lácticas.

Entre los gérmenes capaces de acidificar la leche, fundamentalmente por producir ácido láctico, se encuentran diversas especies de los géneros *Micrococcus*, *Microbacterium* y *Bacillus*, pero en general ordinariamente son incapaces de competir con los gérmenes lácticos. Diversas especies del género *Clostridium* producen ácido butírico en condiciones que impiden o inhiben la formación normal de ácido láctico. La leche, sometida a un tratamiento térmico capaz de destruir todas las formas bacterianas pero no los esporos de *Clostridium*, puede sufrir la fermentación acidobutírica con formación de hidrógeno y dióxido de carbono.

2.1.5.2 Producción de gas

La producción de gas por las bacterias va siempre acompañada de la formación de ácido. Las especies formadoras de gases más importantes son las del género *Clostridium*, las bacterias coliformes, los aerobacilos (especies del género *Bacillus*

formadoras de gas) que liberan tanto hidrógeno como dióxido de carbono y las levaduras y gérmenes propiónicos y lácticos heterofermentativos que producen sólo dióxido de carbono.

La probabilidad de que se produzca gas o no y el tipo de microorganismos que lo originan depende del tratamiento a que previamente se halla sometido a la leche y de la temperatura a la que se mantenga. En la leche cruda, a temperaturas comprendidas entre la de la sangre y la del hielo, los gérmenes productores de gas con más probabilidad de multiplicarse son los coliformes porque pueden competir bien con otros formadores de ácido. El agriado de la leche o la crema por las bacterias favorece el subsiguiente desarrollo de las levaduras que se multiplican y actúan mejor en un medio ácido.

A la temperatura que se mantienen la leche y la crema en la nevera es difícil que se desarrollen los clostridium y bacillus formadores de gas, que no son capaces de competir ventajosamente con los acidiformes a temperaturas elevadas, pero pueden actuar si éstos no existen o si su actividad no es muy grande.

2.1.5.3 Proteólisis

La hidrólisis de las proteínas lácticas por acción microbiana se acompaña en general de la producción de un sabor amargo producido por algunos polipéptidos.

Las alteraciones producidas por los microorganismos proteolíticos son:

- Proteólisis ácida en la que tienen lugar simultáneamente la proteólisis y la producción de ácido.
- Proteólisis con acidez mínima e incluso con alcalinidad.
- Leche “cortada” producida por enzimas bacterianas del tipo de la renina en una etapa inicial de la proteólisis.

- Proteólisis lenta por endoenzimas liberadas por bacterias después de su autólisis.

La proteólisis ácida puede estar producida por diversas especies del género micrococcus, algunos de los cuales se hallan en la ubre de la vaca.

Uno de los estreptococos intestinales, el *S. fecalis* es un organismo ácido láctico muy proteolítico. Como los demás enterococos es termodúrico y capaz por tanto de producir proteólisis en la leche pasteurizada. Los esporos de las cepas proteolíticas de algunas especies de bacillus fermentadores de la lactosa, como el *B. cereus*, sobreviven a la pasteurización, e incluso a tratamientos térmicos más drásticos, produciendo luego proteólisis ácida.

Entre las especies de los géneros micrococcus, pseudomonas, proteus, achromobacter, flavobacterium y serratia hay gérmenes muy proteolíticos. Obsérvese que estas especies desarrollan a temperaturas bajas por lo que son capaces de producir proteólisis y amargor aún en leche refrigerada.

Disponible: <http://www.mundohelado.com/materiasprimas/leche/lalechemicrobiologia.htm> (2009/09/ 18)

2.1.5.4 Alteración enzimática

Normalmente la única actividad enzimática es la lipolítica, donde los triglicéridos por medio de estas lipasas liberan ácidos grasos libres. El enrancia miento es un fenómeno que afecta especialmente a los ácidos grasos insaturados vinculados a los triglicéridos y fosfolípidos. Agentes como el cobre y el hierro lo favorecen.

Disponible: <http://www.elergonomista.com/alimentos/alteracion.htm> (2009/09/16)

2.1.6 Contaminación de la leche

2.1.6.1 Vías de contaminación

La leche se contamina por dos vías:

1. Mamaria: Los microorganismos alcanzan la ubre, pueden llegar a contaminar la leche antes o después del ordeño, estos pueden alcanzar la leche por vía mamaria por dos vías:

→ **Ascendente:** Las bacterias que se adhieren a la piel de la ubre y posterior al ordeño, entran a través del esfínter del pezón (*Staphilococcus aureus*, *Streptococcus*, *Coliformes*).

→ **Descendente:** O hematógena, son los microorganismos que pueden causar enfermedad sistémica o tienen la propiedad de movilizarse por la sangre y a través de los capilares mamarios llegan a infectar la ubre (*Salmonellas*, *Brucellas*, *Mycobacterium tuberculosos*). Cuando la glándula mamaria se encuentra contaminada, especialmente en los casos de mastitis (*Stafilococo aureus*) de tipo agudo, los recuentos de microorganismos pueden ser muy elevados, alcanzando valores de varios millones, la entero toxina que produce puede llegar a causar enfermedades al consumidor.

2. Medio externo: La contaminación de la leche puede ocurrir una vez que esta ha sido extraída de la glándula mamaria. En la parte externa de la ubre y pezones, es posible detectar estiércol, barro, paja u otros residuos de la cama del animal. Los utensilios, tanques de almacenamiento, transporte e incluso el personal que manipula la leche, son fuentes de contaminación de microorganismos que utilizan esta vía, que en algunos casos es la más abundante, causante de grandes pérdidas en la calidad del producto. En el exterior se suman microorganismos psicrófilos y termófilos, de los cuales los formadores de esporas, tanto aerobios como anaerobios, provocan serios

problemas en la industria y en la salud pública, como son el *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* entre otros.

2.1.6.2 Fuentes de contaminación de la leche cruda

Una leche de calidad es un requisito indispensable para el logro de productos lácteos de calidad. La vaquería es el primer condicionante de este proceso. Los riesgos de modificación de la calidad de la leche se ubican en dos niveles:

- 1. Los anteriores al ordeño y que condicionan la calidad original o natural de la leche.** Estos se asocian a las enfermedades que afectan al rodeo lechero y que de una manera directa o indirecta alteran la calidad de la leche, al estado fisiológico del animal (calostro y leche producida por vacas de lactancias muy avanzadas) y al uso de sustancias químicas (medicamentos, hormonas, etc.) que puedan pasar a la leche.
- 2. Las posteriores al ordeño y que pueden provocar una degradación o alteración de la calidad original.** Estos se relacionan a las condiciones de manipulación de la leche durante el ordeño, al ambiente, a su conservación en el establo y a su transporte hasta la industria.

2.1.6.3 Principales fuentes

Las principales fuentes de contaminación de leche y productos lácteos que se dan en el predio son:

- **Aire:** Representa uno de los medios más hostiles para la supervivencia de los microorganismos debido a la constante exposición al oxígeno, cambios de temperatura y humedad relativa, radiación solar, etc. Es por ello que solo aquellos microorganismos resistentes podrán ser capaces de permanecer en el aire y llegar a contaminar la leche y los alimentos. Los microorganismos

Gram negativos mueren rápidamente mientras que los Gram positivos y aquellos esporulados pueden persistir por largo tiempo. En el aire se pueden encontrar *Micrococcus*, *Streptomyces* y esporas de mohos como *Penicillium* y *Aspergillus*. Las levaduras raramente se encuentran en suspensiones aéreas.

- **Agua:** Utilizada para la limpieza de los equipos y utensilios de ordeño, la higiene del animal (lavado de ubres) y del personal, debe ser lo más limpia posible. El agua contaminada puede ser una fuente importante de microorganismos *psicrófilos* (*Pseudomonas*) y por contaminación de esta, de bacterias *coliformes*, que causan desórdenes estomacales en los seres humanos, también pueden dar como resultado un producto de inferior calidad, como en el caso de los quesos.
- **Suelo:** Es la principal fuente de microorganismos termodúricos y termófilos. La leche nunca entra en contacto con el suelo pero si los animales, utensilios y personal, de manera que es a través de ellos que los microorganismos telúricos (*Clostridium*) pueden alcanzar a contaminar la leche.
- **Estiércol:** Es la fuente principal de microorganismos *coliformes*. Estos pueden alcanzar la leche a través del animal o del ordeñador así como por medio de los utensilios mal higienizados.
- **El ambiente:** Al interior y en los alrededores de las instalaciones donde se lleva a cabo el ordeño afecta los niveles de contaminación que se registren en la leche. Si el ordeño se realiza al interior del establo, como sucede normalmente en las granjas pequeñas, existe un alto riesgo de contaminación a través del aire y de los insectos que habitan en el lugar, particularmente las moscas. Resulta más adecuado realizar el ordeño en un ambiente especial, pero si ello no es factible, es preferible que esta tarea se realice en el pastizal y no en el establo. En la medida de lo posible, los recipientes que contengan la leche deben mantenerse cubiertos.

- **El ordeñador o personal:** Juega un papel importante en la contaminación de la leche, sobre todo cuando el ordeño es manual. En nuestro medio es frecuente observar como el personal encargado del ordeño no se lava las manos y peor aún se las humedece en la misma leche para lograr lubricación que facilite el ordeño. Se ha señalado al ordeñador como responsable de la contaminación de la leche con microorganismos *patógenos* (*S. Aureus*, *Leptospiras*, *E. coli*, *M. tuberculosis*, *Streptococcus*, etc.). Las heridas infectadas en manos y brazos pueden ser fuentes de algunos de estos microorganismos.

Al pasar de un animal a otro, el ordeñador puede transmitir los microorganismos patógenos a todo el rebaño, lo que contaminaría toda la leche. Una persona que padece de alguna infección también puede infectar la leche, volviéndola no apta para el consumo humano. El ordeñador desempeña un rol de vital importancia en el control de los niveles sanitarios. Debe asegurar que se mantenga un estado de pulcritud en las instalaciones y utensilios, que los animales estén limpios y en buen estado de salud, además de observar su propia higiene personal.

- **Utensilios:** El contacto de la leche con el material de ordeño y su permanencia en los tanques y transporte puede multiplicar por un factor de 2 a 50 la flora microbiana presente. De allí que la higiene adecuada de estos, por medio de agentes desinfectantes, afecta significativamente la calidad sanitaria de la leche. La flora microbiana proveniente de esta fuente puede ser diversa, pero la más frecuente es flora termo resistente, razón más que suficiente para exigir al máximo la higiene.
- **Transporte inadecuado:** Los problemas tanto técnicos como económicos que presenta el transporte de la leche, son menores cuando la densidad de los distritos lecheros es mayor. Cuando la cantidad de leche recogida por kilómetro recorrido es baja, los transportes se hacen muy largos con graves

consecuencias sobre la calidad de la leche debido a la agitación prolongada y a la elevación de la temperatura.

Un aspecto importante con respecto a la preservación de la calidad original de la leche, es lograr que la industria se responsabilice por el transporte. El transportista particular no tiene igual interés por la calidad de la leche, importándole solamente la cantidad. Por otra parte, si el transporte corre bajo responsabilidad de la industria, resultará más fácil el control de fraudes y contaminaciones que puedan producirse durante el transporte, beneficiándose tanto la industria como el productor lechero.

Disponible http://www.redhucyt.oas.org/ocyt/oea_gtz/libros/la_leche/le_html/cap2_leche.htm (2009/10/10)

2.1.6.4 Contaminación microbiana

Esta contaminación se debe eliminar desde el principio. Son algunos de los problemas más comunes que suelen presentarse y la forma de interpretarlos para tratar de atenuar su efecto, se reduce en forma significativa mediante un tratamiento de pasteurización.

Efectos que producen los microorganismos contaminantes:

- 1) Riesgos en la salud del consumidor y del operario.
- 2) Defectos de sabor y aroma en el producto.
- 3) Defectos de forma y textura en el producto.

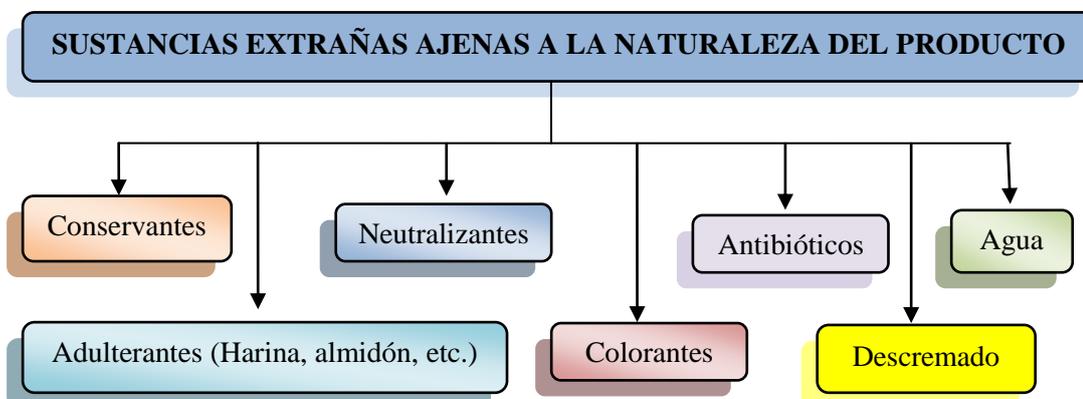
Dentro de las bacterias que **comúnmente** contaminan la leche se encuentran:

☞ **Coliformes:** *Aerobacter aerogenes* y *Escherichiacoli*, siendo estos los principales causantes de fermentaciones anormales durante los procesos de elaboración y maduración.

- ☞ **Formadores de esporas:** Bacterias aerobias (crecen cuando hay oxígeno) y bacterias anaeróbicas (crecen cuando no hay oxígeno).
- ☞ **Bacterias psicotofas:** Liberan productos de desechos y enzimas, con las cuales degradan la materia grasa y las proteínas, como consecuencia inhiben los fermentos, otorga al producto sabores que reducen su calidad. Esto proviene de una mala higiene en tanques de almacenamiento y transportes e incorrectas prácticas de ordeño.
- ☞ **Ácido láctico:** Es producido por bacterias mesófilas, que contaminan la leche y degradan la lactosa produciendo ácido láctico, de manera tal que se constituye en una de las consecuencias de las contaminaciones microbianas. Sus efectos son: disminución del pH, aproximándose a aquel en que coagula la caseína por acidificación (leche se corta), modificación del sabor y aroma.

2.1.6.5 Adulteraciones

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. La leche adulterada es aquella a la que se le ha sustraído algún elemento o que contiene sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto, en cantidades que pueden afectar la salud del consumidor, como:



Cuadro 4: Sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto

- ❖ **Aguado de la leche:** Es una práctica muy común y se ve en los diferentes niveles de comercialización, tanto en los productores, transportistas como en expendedores.

Efectos del aguado:

Puede aumentar la contaminación, a causa de gérmenes presentes en el agua y disminuye el valor nutricional por unidad de producto. La incorporación de agua disminuye la densidad de la leche. En ocasiones, se disimula el aguado incorporando sustancias baratas, como el almidón, para compensar la disminución de la densidad.

- ❖ **Conservantes:** Utilizados para aumentar la capacidad de conservación entre el ordeño y la llegada de la leche al lugar de su distribución. Su uso da al consumo leche en mal estado, práctica que está prohibida, por el alto grado de toxicidad de éstos y de los subproductos resultantes de la combinación de los componentes de la leche con ellos.

Entre los principales figuran:

- ✓ Formaldehído (formol)
- ✓ Peróxido de hidrógeno (agua oxigenada)
- ✓ Hipocloritos
- ✓ Cloraminas
- ✓ Dicromato de potasio.

Efectos de los conservantes:

Los conservantes atacan a los microorganismos que producen la descomposición de la leche. Estas sustancias aseguran la conservación ilícita

debido a sus propiedades antisépticas y al ser consumidos atacan también la flora intestinal, produciendo serios trastornos digestivos.

- ❖ **Adulterantes:** Se usan para enmascarar el descremado de la leche. Y para no alterar la densidad de la leche, con la adición de agua.

Entre los principales figuran:

- ✓ Harinas
- ✓ Almidones
- ✓ Sacarosa
- ✓ Cloruros
- ✓ Suero de leche
- ✓ Grasa vegetal

- ❖ **Neutralizantes:** Se utilizan para impedir el exceso de acidez, que coagula la leche y los productos lácteos.

Entre los principales agentes neutralizantes tenemos:

- ✓ Cal con diferentes contenidos de magnesio.
- ✓ Sales Sódicas: Carbonato de sodio, Hidróxido de sodio,.

- ❖ **Colorantes:** Por lo general se usan para disimular la adulteración de la leche por descremado o aguado. El color amarillento de la leche se concentra por lo general en la capa de crema al dejarla en reposo. El color artificial, por el contrario, se reparte en toda la leche de manera que la capa inferior a la de la crema, también presenta color amarillento, en lugar del azulado corriente de la leche decremada.

- ❖ **Antibióticos:** Inhiben la descomposición o putrefacción orgánica, hacen inocuos a los microorganismos ya sean mutándolos o impidiendo su desarrollo y reproducción.

Entre los principales antibióticos tenemos:

- ✓ Penicilina
- ✓ Macrolidos
- ✓ Aminoglicosidos
- ✓ Tetraciclina

Efectos de los antibióticos:

Se exigen leche sin antibióticos, ya que al ser transformada en queso o yogurt éstos no permiten una maduración y, por lo tanto, no es posible obtener un producto de calidad. Los riesgos de residuos de antibióticos en la leche para la salud pública se centran fundamentalmente en reacciones de hipersensibilidad (alergias), efectos tóxicos específicos, aparición de cepas resistentes y susceptibles de ser transmitidas al hombre y alteraciones de la flora intestinal.

- ❖ **Descremado:** El descremado consiste en la separación de la crema y de la leche a partir de la leche entera. El descremado modifica la relación proporcional entre grasa y proteínas, retrasa los tiempos de elaboración y reduce la calidad de los productos por aparición de olores, sabores y color desagradables.

Disponible: <http://www.inia.cl/quilamapu/inproleche/articuoosd/Calidad%20de%20leche.pdf> (2009/10/10)

2.1.7 Calidad de la leche

2.1.7.1 Calidad y su importancia para la fabricación

Existe leche que es de muy baja calidad, que a la hora de elaborar un producto no hay seguridad de obtener un buen resultado. Las pruebas de laboratorio permitirán al operario ajustar sus procedimientos de trabajo para elaborar el mejor producto posible. Para los productos frescos es indispensable contar con leche de primera calidad, tanto en la composición como microbiológicamente hablando.

Por sus características, los productos frescos conservan y acentúan los defectos que pudiera presentar la leche con que fueron elaboradas. Ciertas alteraciones como la rancidez, tiene un efecto dañino no solo por transmitírsele al producto final, sino porque algunos ácidos que provocan este defecto pueden dificultar el desarrollo de los microorganismos en la fabricación de productos fermentados.

La leche que contiene contaminantes, es también inapropiada para la elaboración de productos frescos, porque dificultan los procesos tecnológicos impidiendo lograr las características de sabor, aroma, textura y apariencia deseada.

2.1.7.2 Criterios de calidad

La leche según criterios puede ser: **Normal** o **Anormal**.

- **Normal:** De buena calidad composicional y microbiana, proviene de animales sanos, de ordeños higiénicos y debe ser mantenida de forma total, que conserve sus propiedades desde la extracción hasta el procesamiento.
- **Anormales:** Aquellas que pueden deteriorarse por: contaminación microbiana, adulteraciones o inhibidores.

Según Tesis Méndez Pérez – Paz de Jesús (2004):

- **Calidad física:** La leche no debe presentar ninguna impureza.
- **Calidad química:** Contenido de materia grasa y de proteínas.
- **Calidad bacteriológica:** Contaje de flora total aeróbica mesófila. Esta debe ser lo más escasa posible.

Otros criterios:

- Contaje de las células (leucocitos: indicadores de mastitis)
- Contaje de esporas butírico nefastas para la transformación quesera.
- Índice de liposis (degradación de la materia grasa).
- Ausencia de inhibidores (antisépticos y antibióticos).
- Ausencia de aguado (añadido de agua)
- Ausencia de gérmenes, particularmente los patógenos (brucella, listeria).

Estos criterios de calidad se tienen en cuenta para determinar el precio de venta de la leche por el productor.

2.1.7.3 Control de calidad de la leche

La composición y la calidad son determinadas mediante un cierto número de pruebas. El resultado de algunas de estas pruebas tiene una influencia directa en el precio que el ganadero recibe por la entrega.

Las pruebas más comunes llevadas a cabo en la leche son:

- ◆ Recuento de células somáticas
- ◆ Recuento bacteriano
- ◆ Contenido en proteínas
- ◆ Contenido en grasa

- ◆ Punto de congelación
- ◆ Prueba de alcohol

2.1.8 Métodos de conservación de la leche

La leche constituye un excelente sustrato para el desarrollo de microorganismos. Estos pueden proliferar rápidamente en ella y provocar transformaciones deseables o indeseables. Inmediatamente después del ordeño, la leche ya contiene una pequeña cantidad de gérmenes, la cual aumenta rápidamente por el contacto con el aire, equipo de ordeño y manos del ordeñador. Los métodos de conservación tienden a eliminar los gérmenes o a detener su desarrollo.

Disponible: <http://www.mundohelado.com/materiasprimas/leche/lalecheconservacion.htm> (2009/09/17)

2.1.8.1 Pasteurización (*Slow High Temperature, SHT*)

La pasteurización lenta consiste en calentar la leche a temperatura entre 63 - 65 °C mantenerla a esta temperatura, por un período de 30 minutos, las propiedades de la leche no se modifican.

Pasteurización rápida; donde se somete a 75 °C durante 15 segundos. La leche se enfría inmediatamente a 10 °C o menos, en ambos casos.

Los fines que se persiguen al pasteurizar la leche son:

- Destruir todos los microorganismos patógenos que pueden encontrarse en la leche, principalmente el *Streptococcus thermophilus*, este es el punto de vista higiénico.

- Reducción de la flora banal al nivel lo más bajo posible, con el fin de mejorar la calidad de conservación, este es el punto de vista económico y comercial.

2.1.8.2 Ultrapasteurización (*Ultra High Temperature, UHT*)

Es una manera de esterilizar la leche. El objetivo de este método es de aumentar el tiempo de conservación de la leche aún sin ser necesario mantenerla en refrigeración, cualidades que permiten que este producto pueda ser llevado a lugares más distantes del lugar de su tratamiento sin riesgo de deterioro. Este tipo de leche podrá ser colocado en los establecimientos de distribución (supermercados) en lugares estratégicos para su fácil adquisición sin ser necesario un acondicionamiento especial.

Se aplica a una temperatura de 150 °C durante 5 segundos y envasar en recipientes de cartón. Elimina todas las bacterias menos las lácticas. No requiere refrigeración posterior. Mediante este procedimiento se obtiene un producto que se puede conservar durante varios meses a temperatura ambiente.

2.1.8.3 Ebullición

La ebullición de la leche o su calentamiento con vapor fluente destruye todos los microorganismos, salvo las esporas, mas origina también cambios en la leche con pérdida de su aspecto general, palatabilidad, digestibilidad y valor nutritivo.

2.1.8.4 Enfriamiento

Para evitar el deterioro de la leche, ya que es un producto muy perecedero. El frío no provoca la muerte de microorganismos, pero detiene su actividad. Se debe enfriar a temperatura entre 4 y 5 °C y almacenarla a esta temperatura.

El desarrollo de los microorganismos responsables de la alteración de la leche, disminuye con la temperatura, deteniéndose cuándo esta próxima a los 2°C. Sin embargo, existen organismos que pueden desarrollarse aun a una temperatura de 0°C.

2.1.8.5 Congelación

Impide la multiplicación de los microorganismos (bacterias y hongos microscópicos). Entre la producción y la venta, y después en la conservación en el hogar, es vital que nunca se interrumpa la “cadena de frío”. En efecto, la congelación no destruye todas las bacterias, y las que sobreviven se reactivan en cuanto se descongelan y empiezan a desarrollarse muy rápidamente. Por tanto, la más ligera elevación de la temperatura durante la elaboración o el transporte pone en peligro toda la técnica.

Disponible: Microsoft ® Encarta ® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation.

2.1.8.6 Refrigeración

Tesis Méndez Pérez – Paz de Jesús (2004): es indispensable para el mantenimiento de la calidad inicial de la leche, pues permite detener o limitar la proliferación de la flora bacteriana y evita las alteraciones de los componentes de este producto.

Constituyéndose para cierto número de especies bacterianas un medio en que se presentan distintos parámetros favorables para su crecimiento, la temperatura interviene como factor de inhibición, o bien como factor de proliferación.

Por consiguiente, la temperatura y el tiempo durante el cual la leche se almacena durante la transportación y producción van a intervenir de manera importante en la proliferación o no de las bacterias presentes.

2.1.9 Requisitos de la leche cruda según norma NTE INEN N° 9

Según la Norma Técnica Ecuatoriana la leche cruda debe cumplir con los siguientes requisitos que a continuación se detallan:

Cuadro 5: Requisitos Organolépticos de la leche cruda	
Color	Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento
Olor	Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños
Aspecto	Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas

FUENTE: Instituto Ecuatoriano de Normalización. NTE INEN 9. Quito - Ecuador.

Cuadro 6: Requisitos Físico-Químicos de la leche cruda			
REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.
Densidad:			
a 15 °C	-	1,029	1,033
a 20 °C	-	1,026	1,032
Materia grasa	% (m/m)	3,2	-
Acidez titulable como ácido láctico	% (m/m)	0,13	0,16
Sólidos totales	% (m/m)	11,4	-
Sólidos no grasos	% (m/m)	8,2	-
Cenizas	% (m/m)	0,65	-
Punto de congelación	°C	-0,536	-0,512
Proteínas	% (m/m)	2,9	-
Ensayo de reductasa	h	2	-
Reacción de alcohol	-	Negativo	
Presencia de conservantes	-	Negativo	
Presencia de neutralizantes	-	Negativo	
Presencia de adulterantes	-	Negativo	
Contaje de células somáticas	-		750000
Antibióticos	ug/l	-	100

FUENTE: Instituto Ecuatoriano de Normalización. NTE INEN 9. Quito - Ecuador.

Cuadro 7: Requisitos Microbiológicos		
Categoría	Contenido de microorganismos aerobios mesófilos UFC/cm ³	Tiempo de Reducción de azul de metileno (TRAM)
A (Buena)	Hasta 5×10^5	Más de 5 horas
B (Regular)	Desde 5×10^5 , hasta $1,5 \times 10^6$	De 2 a 5 horas
C (Mala)	Desde $1,5 \times 10^6$, hasta 5×10^6	De 30 minutos a 2 horas
D (Muy Mala)	Más de 5×10^6	Menos de 30 minutos

FUENTE: Instituto Ecuatoriano de Normalización. NTE INEN 9. Quito - Ecuador.

Más información sobre los requisitos establecidos para leche cruda, ver Norma NTE INEN 9. Leche Cruda Requisitos. Información: (Anexo 1).

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 Materia Prima

- ✓ Leche cruda

3.1.2 Materiales y Equipos

- ✓ Baño maría
- ✓ Butirómetros Gerber con tapones
- ✓ Caja térmica
- ✓ Centrífuga Gerber de 1000 a 1200 rpm
- ✓ Contador de colonias
- ✓ Estufa
- ✓ Etiquetas
- ✓ Frascos plásticos de 40 ml
- ✓ Fundas estériles
- ✓ Goteros
- ✓ Gradilla
- ✓ Hielo
- ✓ Lactoscan
- ✓ Mechero bunsen

- ✓ Papel de aluminio
- ✓ Pinzas para tubos
- ✓ Pipetas graduadas
- ✓ Pipetas volumétricas
- ✓ Placas Petrifilm
- ✓ Termolactodensímetro graduado a 15 °C
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Vasos de precipitación
- ✓ Vástago de ajuste

3.1.3 Reactivos

- ✓ Acido sulfúrico
- ✓ Agua de peptona
- ✓ Agua destilada
- ✓ Alcohol amílico
- ✓ Alcohol etílico 75 %
- ✓ Fenolftaleína 2%
- ✓ Hidróxido de sodio 0,1 N
- ✓ Solución de lugol

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Localización del experimento

La materia prima se obtuvo del Cantón Bolívar provincia del Carchi.

La fase experimental de la presente investigación se realizó en el Laboratorio de Uso Múltiple de la Universidad Técnica del Norte en la ciudad de Ibarra.

En el laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe, se realizaron los análisis de determinación de presencia de antibióticos y conteo de células somáticas.

3.2.2 Datos Informativos del lugar

3.2.2.1 Toma de muestras

Provincia	Carchi
Cantón	Bolívar
Clima	Variado: cálido seco, templado, frío
Altitud	2700 m.s.n.m.
Humedad relativa promedio	56 %
Latitud Norte	NE 00°30'00", NO 00°30'00", SE 00°25'29", SO 00°25'29".
Longitud Oeste	NE 77°54'03", NO 78°00'00", SE 77°54'03", SO 78°00'00"
Pluviosidad	Máx: 750,57 mm.; Min de 20,71 mm/ año
Temperatura media	18 °C

FUENTE: Gobierno Municipal de Bolívar- Departamento de Gestión Ambiental.

3.3 FACTOR EN ESTUDIO

El factor en estudio es leche cruda expendida en el Cantón Bolívar provincia del Carchi. Mediante la aplicación del método no probabilístico al azar.

3.4 TRATAMIENTOS

Los tratamientos fueron las muestras de leche cruda de los diferentes expendedores del Cantón Bolívar.

Número de Tratamientos	Nomenclatura
1	M1
2	M2
3	M3
4	M4
5	M5
6	M6
7	M7
8	M8
9	M9
10	M10
11	M11
12	M12

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.5.1 Tipo de diseño

El diseño aplicado en el presente estudio es un Diseño Completamente al Azar (DCA).

3.5.2 Características del diseño experimental

- Número de **repeticiones** por tratamiento 3
- Número de **tratamientos** 12
- Número de **unidades experimentales** (t x r) 36
- Característica de la **unidad experimental**: cada unidad experimental estuvo constituida por 1 litro de leche cruda, la cual fue adquirida de los recipientes que en forma minorista se vende a los consumidores.

3.5.3 Esquema del Análisis Estadístico

El esquema del análisis estadístico se presenta en el siguiente cuadro:

Cuadro 8: Esquema del ADEVA

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	35
Tratamientos	11
Error experimental	24

3.5.4 Análisis funcional

Se calculó el Coeficiente de Variación (CV) y prueba de Tukey al 5 % para tratamientos.

3.6 VARIABLES A EVALUARSE

Para evaluar la calidad de la leche cruda se seleccionó como variables, parámetros de la Norma NTE INEN 9, como:

➔ Cualitativas

- ➔ Prueba de alcohol
- ➔ Detección de almidón
- ➔ Determinación de presencia de antibióticos
- ➔ Cuantificación de peróxido de hidrógeno

→ Cuantitativas

Físicas:

- Determinación del punto de congelación
- Determinación de la densidad a 15 °C

Químicas:

- Determinación de la acidez titulable
- Contenido de grasa
- Determinación de sólidos no grasos
- Determinación de sólidos totales
- Contenido en proteínas
- Contenido de cenizas

Microbiológicas:

- Contaje de microorganismos aerobios mesófilos
- Contaje de enterobacterias
- Contaje de células somáticas

3.7 MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

3.7.1 Muestreo

En la presente investigación y para poder determinar realmente las condiciones en que se encuentra la leche en el momento de la comercialización al consumidor, se tomaron aleatoriamente 12 muestras de leche cruda, esto en razón de que no es fácil determinar el total de expendedores que existen en el Cantón Bolívar.

Se expende la leche en camionetas, tiendas, o directamente desde sus casas.

El tamaño de la muestra fue establecido de acuerdo a la NTE INEN 4. Leche y productos lácteos. Muestreo. (Anexo2).

Cuadro 9: Muestreo de la leche	
Tamaño del lote	Unidades para muestreo
menos de 100	1
101 - 1000	2
1001 - 10 000	3
más de 10 000	*

FUENTE: Instituto Ecuatoriano de Normalización. NTE INEN 4. Quito - Ecuador.

El cuadro indica el tamaño del lote y las unidades de muestreo; así para este caso la unidad para muestreo estuvo constituida por 1 litro de leche, debido a que el volumen de leche de cada expendedor es menor de 100 litros por día.

3.7.2 Zonas de muestreo

Teniendo en cuenta que el cantón Bolívar consta con cinco parroquias rurales y la cabecera cantonal, se determinó tres zonas definidas Los Andes, García Moreno y la cabecera cantonal (Bolívar), de acuerdo al tamaño de las mismas ya que son parroquias en las cuales existe expendio de leche cruda.

En parroquias como; Monte Olivo, San Vicente de Pusir y San Rafael no existe el expendio de leche cruda, se expende leche pasteurizada enfundada.

3.7.3 Recolección y transporte de muestras

El trabajo de campo se realizó durante el mes de febrero-marzo de 2010. Cada muestra de leche fue adquirida aleatoriamente por semana, teniendo cuidado que los días de muestreo sean distintos cada semana y a lo largo del período de la investigación.

Con el fin de evaluar las características físico-químicas y microbiológicas se tomaron muestras de leche cruda entre las 7 y 9 de la mañana, las cuales fueron compradas directamente de los recipientes que en forma minoritaria se vende a los consumidores.

Una vez obtenida la muestra, se procedió de acuerdo a la NTE INEN 4. Leche y productos lácteos. Muestreo. (Anexo 2).

El procedimiento es el siguiente:

- Colocar la etiqueta de identificación en la funda estéril
- Transferir la muestra de leche en la funda estéril (previa homogenización).
- Cerrar el cierre plástico y no abrir hasta el momento del análisis.



Se colocaron en una caja térmica con hielo para garantizar la refrigeración y detener el desarrollo microbiano, se conservaron así desde la colecta hasta la llegada al laboratorio de Uso Múltiple de la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Técnica del Norte, para realizar los respectivos análisis.



El procedimiento para conteo de células somáticas y detección de antibióticos, de acuerdo al instructivo para la toma de muestra (Anexo 3), se detalla a continuación.

Muestra para conteo de células somáticas (CCS)

- Identificar el frasco con tapa blanca, colocar la etiqueta del código de identificación de la muestra en la parte lateral.
- Colocar la muestra de leche en el frasco de 40 ml (previa homogenización).
- Homogenizar la leche volteándose el frasco delicadamente por varias veces para disolver las pastillas de bronopol.



Muestra para detección de antibióticos

- Identificar el frasco con tapa blanca que no contiene la pastilla de bronopol, colocar la etiqueta del código de identificación de la muestra en la parte lateral.
- Colocar la muestra de leche en el frasco de 40 ml. (previa homogenización)
- Homogenizar la leche volteándose el frasco delicadamente por varias veces.



Las muestras para conteo de células somáticas (CCS) y detección de antibióticos fueron colocadas en caja térmica con hielo en cantidades adecuadas para garantizar la refrigeración, y enviadas hasta el Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe, para que se realicen los análisis correspondientes, tomando precaución durante el transporte para que no haya exposición directa de la leche a la luz.

3.8 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES A EVALUARSE

- ♦ **Determinación de la Densidad:** Se midió por el método del termo lactodensímetro el cual está calibrado a 15 °C, y a esa temperatura; cuyo vástago consta de una escala graduada que corresponde a las milésimas de densidad por encima de la unidad por lo tanto; el número leído representa la densidad de la leche. Es una prueba que permite conocer algún posible fraude como aguada o descremado. No es un valor constante.



La leche es una emulsión grasa en agua, consecuentemente su densidad es una función de la densidad de la grasa y del agua, así como depende de la proporción de sus componentes, los mismos que se encuentran en forma variable dentro de la leche (agua, grasa, sólidos no grasos, etc.); por lo que hacen variar su densidad. Esta prueba se realizó In situ, inmediatamente después de adquirida la muestra. Según la NTE la densidad relativa de la leche estará comprendida entre 1,028 a 1,033 g/ml a 15 °C.

Para este análisis se procedió de acuerdo a la NTE INEN 11: Leche. Determinación de la Densidad Relativa. (Anexo 4).

El procedimiento a seguir es el siguiente:

1. Mezclar la muestra mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.
2. Verter la muestra por las paredes de la probeta, para evitar la formación de espuma.
3. Colocar suavemente el lactodensímetro dándole un ligero giro, para evitar que tope con las paredes de la probeta.

4. Dejar flotar el lactodensímetro durante un corto tiempo, y cuando este en reposo, procederemos a determinar el valor de la temperatura y registrarlo como t.
5. Leer la medida de la graduación correspondiente al menisco superior y registrar su valor como d.
6. Corregir la lectura mediante el siguiente criterio:
 - Por cada grado centígrado sobre 15 °C se debe aumentar 0,0002.
 - Por cada grado centígrado bajo 15 °C, se debe restar 0,0002
7. Cálculos:

$$d_{15} = d + 0,0002 (t - 15)$$

Siendo:

d_{15} = Densidad relativa a 15/15 °C

d = Densidad aparente a t °C

t = Temperatura de la muestra durante la determinación, en °C

Ejemplo:

Tratamiento 1, repetición 3

Temperatura marcada por el termolactodensímetro = 27 °C

Densidad aparente = 1.0280

Entonces:

Temperatura aparente - temperatura normal = 27 °C - 15 °C = 12 °C

12 °C x factor de corrección (0.0002) = 0.00024

Lectura real:

$$d_{15} = 1.0280 + 0.0024$$

$$d_{15} = 1.0304 \text{ g/cm}^3 \text{ o g/ml}$$

- ♦ **Determinación de la Acidez Titulable:** Se determina por medio de un análisis volumétrico, se titula la acidez con una solución estandarizada de hidróxido de sodio 0.1 N, usando fenolftaleína como indicador. Su utilidad es innegable para apreciar el desarrollo microbiano por desdoblamiento de la lactosa en ácido láctico, el cuidado en cuanto a su higiene en el ordeño, transporte y conservación de la leche.



Foto 6: Determinación de la acidez titulable

Las condiciones que favorecen el desarrollo de la acidez son: la falta de limpieza en el manejo de la leche, especialmente el uso de recipientes sucios y el enfriamiento no adecuado de la leche.

Esta prueba se realizó In situ (sitio de muestreo), inmediatamente después de adquirida la muestra. Según la NTE la acidez titulable de la leche estará comprendida entre 0,13 a 0,16 % de ácido láctico.

Para este análisis se procedió de acuerdo a la NTE INEN 13: Leche. Determinación de la Acidez titulable. (Anexo 5).

El procedimiento a seguir se detalla a continuación:

1. Mezclar la muestra mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.
2. Con la pipeta tomar 9 ml de leche.
3. Colocar en el vaso de precipitación de 250 ml.
4. Agregar de 3 a 4 gotas de fenolftaleína.
5. Llenar la bureta con solución de NaOH 0.1 N.
6. Titular: Sobre la muestra de leche con fenolftaleína dejar caer gota a gota el NaOH 0,1 N, hasta conseguir un color rosado persistente que desaparece lentamente.

7. La titulación termina cuando la leche toma un color rosado pálido el cual debe mantenerse así por espacio de 30 seg.
8. Leer en la bureta el volumen de solución empleada.
9. Cálculos:

$$\% \text{ de ácido láctico} = \frac{\text{ml NaOH} \times 0,9}{100}$$

Ejemplo:

Tratamiento 1, repetición 3, los ml de gastados de NaOH en la titulación fue 15.5.

Entonces:

$$\% \text{ de ácido láctico} = \frac{15,5 \times 0,9}{100}$$

$$\% \text{ de ácido láctico} = \frac{13,950}{100}$$

$$\% \text{ de ácido láctico} = 0,140$$

- ♦ **Prueba de Alcohol:** El método se fundamenta en añadir a la leche una cantidad de alcohol etílico neutro y observar las modificaciones que sufrió.

Esta prueba permite determinar si la leche ha sufrido acidificación o es anormal por contener calostro o provenir de vacas afectadas con



Foto 7: Prueba de alcohol

mastitis, a la vez la facilidad con la que la leche se coagula al exponerla al calor, si se la puede someter a altas temperaturas, ya sea para el proceso de evaporación o esterilización, o cualquier leche cuyo contenido de sales no está balanceado, lo que permite aceptar o rechazar la leche. Este análisis se realizó In situ, inmediatamente después de adquirida la muestra.

Según la NTE la leche no se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol etílico de 75 %, por lo tanto deberá ser negativa.

Para este análisis se procedió de acuerdo a la NTE INEN 1500: Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad. (Anexo 6, Pág. 1).

El procedimiento de la prueba de alcohol es el siguiente:

1. Homogenizar la muestra; para ello se agita suave y repetidamente, procurando evitar la formación de espuma, hasta lograr la dispersión total de la grasa.
2. Transferir 5 ml de muestra a un tubo de ensayo.
3. Añadir 5 ml de alcohol etílico al 75 %.
4. Mezclar sin agitación.
5. Dejar la leche en alcohol de 1 a 5 seg.
6. Observar su aspecto e interpretar los resultados.
 - Si se forman coágulos el ensayo se reporta como positivo, leche ácida.
 - Si no existe precipitación o formación de coágulos de la leche, el ensayo se reporta como negativo y se dice que esta presenta estabilidad proteica (propiedad que tiene la leche de no producir precipitación o coagulación de la proteína en presencia de una solución de alcohol etílico o de una solución alcohólica, ó, por acción del calor, debido a la acidificación).

- ◆ **Detección de almidón:** Es una prueba cualitativa que permite establecer la adición de espesantes como harina o almidones, que alteran la densidad, sólidos totales o el punto de ebullición, los cuales son añadidos con el propósito de mantener la densidad en los rangos señalados, cuando se agrega agua y así evitar su rápida detección.



Foto 8: Detección de almidón

La prueba se basa en que el almidón con el lugol forma un compuesto de absorción de coloración azulada.

Según la NTE la leche no debe contener ninguna clase de adulterante, por lo tanto esta prueba debe ser negativa.

Para este análisis se procedió de acuerdo a la NTE INEN 1500: Leche. Métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad. (Anexo 6, Pág. 10).

El procedimiento para la detección de almidón es el siguiente:

1. Homogenizar la muestra.
2. Pipetear en un tubo de ensayo 10 ml de leche.
3. Calentar hasta ebullición en el baño de María hirviendo y mantener el calentamiento por 5 min.
4. Enfriar en agua corriente y adicionar 5 gotas de la solución de lugol.
5. Interpretación de resultados.

- Positivo: Una coloración azul indica la presencia de almidón o harina.
- Negativo: Color amarillento.

◆ **Cuantificación de Peróxido de hidrógeno:**

Permite identificar si se le ha añadido a la leche agua oxigenada, utilizado para aumentar la capacidad de conservación entre el ordeño y la llegada de la leche al lugar de su distribución. El H_2O_2 asegura la conservación ilícita de la leche, su uso está prohibido ya que este conservante ataca a los microorganismos que producen la descomposición de la leche.



La NTE para leche cruda establece que no debe existir presencia de conservantes, por lo tanto esta prueba debe ser negativa.

Para este análisis se procedió a utilizar un kit, de tiras indicadoras QUANTOFIX Peróxido 25, el cual en presencia de peróxido de hidrogeno (agua oxigenada) el papel se colorea de azul.

El procedimiento para la identificación de peróxido de hidrógeno es el siguiente:

1. Homogenizar la muestra.
2. Vaciar la leche a un vaso de precipitación.
3. Sumergir brevemente la tira en la muestra de leche.
4. Sacudir el exceso del líquido y al cabo de 15 segundos se compara la tira con la escala coloreada.
5. En presencia de peróxido de hidrogeno (agua oxigenada) el papel se colorea de azul.



Foto 10: Kit, QUANTOFIX Peróxido 25

- ♦ **Contenido de Grasa:** se realizó mediante el Método Gerber es rápido y práctico, consiste en la disolución ácida de las proteínas y posterior separación de la grasa, que se mide volumétricamente.

La determinación de la materia grasa en la leche es sin duda la prueba más elocuente de la genuidad de esta y por consiguiente establece el valor dietético y económico de la misma. Este análisis ayuda a observar la pureza de la leche,

sino también el cuidado en la alimentación de la vaca y calidad de los pastos. A más permite:

- Asegurar que la cantidad de materia grasa corresponda al mínimo legal.
- Sirve como dato de apoyo para otras determinaciones como sólidos totales, densidad en la sospecha de fraude por adición de agua o leche desnatada.
- Permite el cálculo aproximado del extracto de la leche mediante fórmulas.
- Sirve como parámetro para el pago de las industrias a los proveedores.
- Sirve para realizar la estandarización de la grasa en distintos productos lácteos.

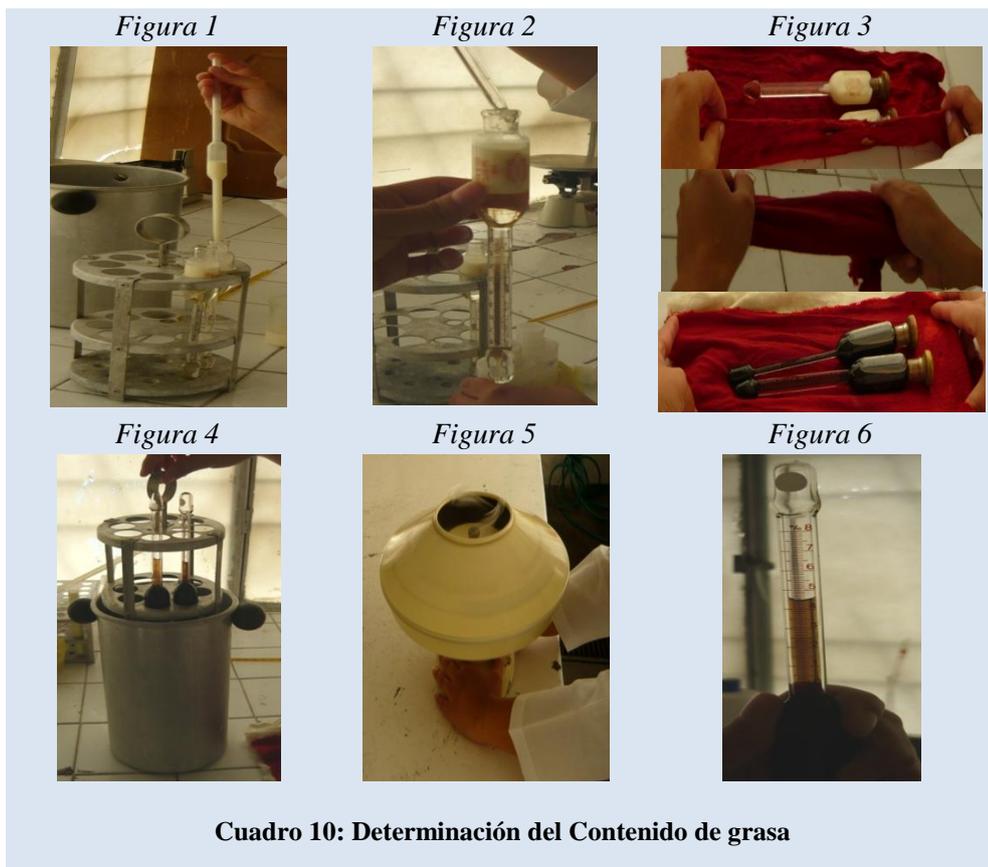
Según la NTE la materia grasa de la leche deberá tener un mínimo de 3,2 %.

Para este análisis se procedió de acuerdo a la NTE INEN 12: Leche. Determinación del contenido graso. (Anexo 7).

El procedimiento se resume de la siguiente manera:

1. Homogenizar la muestra; para ello se agita suave y repetidamente, procurando evitar la formación de espuma, hasta lograr la dispersión total de la grasa.
2. Calentar la muestra a 20 °C.
3. Añadir al butirómetro 10 ml de ácido sulfúrico.
4. Colocar lentamente 11 ml de leche, teniendo la precaución que esta se escurra por las paredes del butirómetro, pues de lo contrario se quemar las primeras porciones de leche. (Cuadro 10 Fig. 1).
5. Añadir 1 ml de alcohol isoamílico. (Cuadro10 Fig. 2).
6. Tapar con un tapón de caucho y agitarlo para que se homogenice la mezcla, teniendo cuidado de envolver el butirómetro con un paño húmedo para contrarrestar la temperatura que puede llegar a los 85 °C. (Cuadro 10 Fig. 3).
7. Colocar en baño de María a 65 °C, por espacio de 5 min. (Cuadro 10 Fig. 4).

8. Introducir el butirómetro dentro de la centrífuga, durante 5 min con el tapón hacia abajo. (Cuadro 10 Fig. 5).
9. Después de este tiempo sacar los butirómetros y colocarlos nuevamente a baño de María a 65 °C por 2 - 3 min.
10. Realizar la lectura directamente y anotar el resultado. (Cuadro 10 Fig. 6).



♦ **Determinación de Sólidos No Grasos:** La determinación de Sólidos no grasos (SNG) es de importancia para:

- Determinar si una muestra cumple con los requisitos legales establecidos.
- Dichos valores combinados con otras pruebas complementarias permite establecer si una leche se encuentra adulterada.
- Establecer el rendimiento de la leche para la elaboración de productos lácteos (queso, yogurt, leche en polvo, etc.)
- Este parámetro influye en el precio a pagar por litro de leche.

La NTE para leche cruda, exige un mínimo de 8,2 % de sólidos no grasos.

Este valor se determina por diferencia, usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ SNG} = \% \text{ ST} - \% \text{ SG}$$

Donde:

% SNG = Sólidos no grasos.

% ST = Sólidos totales.

% SG = Sólidos grasos.

Ejemplo:

Tratamiento 12, repetición 3, % ST = 12,49 y % SG = 3,7

$$\% \text{ SNG} = \text{ST} - \text{SG}$$

$$\% \text{ SNG} = 12,49 - 3,7$$

$$\% \text{ SNG} = 8,79$$

- ◆ **Determinación de Sólidos totales:** Permite establecer el porcentaje de materia seca, ayuda también a indicar su valor nutritivo y las posibilidades de rendimiento industrial, el contenido de sólidos totales es influenciado por la mastitis, razón que obliga a estar vigilantes sobre esta enfermedad. Para el cálculo de la materia seca se efectuó mediante la relación entre la densidad de la leche y su contenido de grasa. Según la NTE los sólidos totales de la leche deberán tener un mínimo de 11,4 %.

Con los valores anteriores, se aplicó para este análisis la Fórmula de Richmond. Cuyo procedimiento se resume de la siguiente manera:

1. Fórmula de RICHMOND a partir del peso específico (g/l) a una °T= 15 °C y el contenido graso de la leche (%).
2. La fórmula es la siguiente:

$$\%ST = (0,25 \times d) + (1,21 \times \%G) + 0,66$$

Dónde:

d = densidad, se utiliza sólo los valores milésimales como enteros: así 1,0294 utilizar sólo 29,4.

G = grasa en %.

Ejemplo:

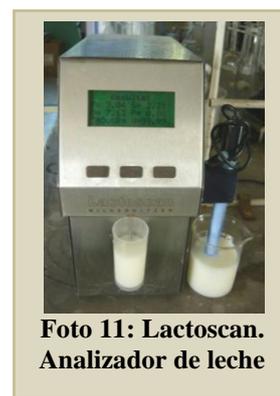
Tratamiento 12, repetición 3, d = 1,0294 y %G = 3,7

$$\% ST = (0,25 \times 29,4) + (1,21 \times 3,7) + 0,66$$

$$\% ST = 7,35 + 4,48 + 0,66$$

$$\% ST = 12,49$$

- ◆ **Determinación del Punto de Congelación:** Una de las prácticas fraudulentas más comunes en la producción e industria de la leche es la adición de agua para aumentar su volumen. La determinación del punto de congelación en la leche se realizó mediante el Lactoscan en el que se identifica como **fp** (freezing point) expresado en °C. Este equipo tiene como función hacer un análisis con exactitud y rapidez de la muestra directamente después del ordeño, recopilación o durante el proceso.



La determinación del punto de congelación se utiliza para detectar la presencia de agua añadida.

Según la NTE la leche debe tener el punto de congelación entre -0,536 a -0,512 °C. Cuanto más se acerca el punto de congelación (PC) de una leche, al punto de congelación del agua (0°C), mayor será la cantidad de agua añadida.

El procedimiento para la determinación del punto de congelación por medio del Lactoscan es el siguiente:

1. Calibrar el equipo para muestras de leche.
2. Homogenizar la muestra.
3. Colocar la muestra en el vaso analizador.
4. Seleccionar la opción cow.
5. Presionar enter, y esperar los resultados. El Lactoscan trabaja automáticamente. Al final dará la lectura en grados centígrados.
6. Una vez finalizado el análisis lavar el equipo.
7. En el vaso analizador colocar agua destilada.
8. Pulse Intro para iniciar el modo de lavado.
9. En este modo, el analizador hace 8 ciclos y se detiene.
10. Ahora, el dispositivo está listo para la siguiente medida. En caso de duda de que el analizador no esté muy bien limpio, este procedimiento puede ser ejecutado en varias ocasiones.

- ◆ **Contenido en Proteínas:** Tiene gran importancia ya que es uno de los componentes mayoritarios de la leche, de gran interés desde el punto de vista nutricional y tecnológico en cuanto a su comportamiento durante el tratamiento industrial de la leche, en especial la proteína coagulable (caseína) que condiciona el rendimiento quesero.

La variable proteína se realizó en el Lactoscan, en el que se identifica como **P**, expresado en porcentaje.

La NTE para leche cruda, exige un mínimo de 2,9 % de proteínas.

El procedimiento para determinar la cantidad de proteína es el siguiente:

1. Calibrar el equipo para muestras de leche.
2. Homogenizar la muestra.
3. Colocar la muestra en el vaso analizador.
4. Seleccionar la opción cow.
5. Presionar enter, y esperar los resultados. El Lactoscan trabaja automáticamente. Al final dará la lectura en porcentaje.

- ◆ **Contenido de Cenizas:** Es el contenido de materia inorgánica que presenta la leche. La determinación de sólidos minerales (cenizas) es una prueba útil para comprobar el contenido de minerales (K, Na, Ca, Mg, Cl y fosfato) que presenta la leche de vaca.

La variable ceniza se realizó en el Lactoscan, en el que se identifica como **sol**, cantidad de sólidos minerales en la leche, expresado en porcentaje.

La NTE para leche cruda, exige un mínimo de 0,65 % de sólidos minerales.

El procedimiento para determinar la cantidad de proteína es el siguiente:

1. Calibrar el equipo para muestras de leche.
2. Homogenizar la muestra.
3. Colocar la muestra en el vaso analizador.
4. Seleccionar la opción cow.
5. Presionar enter, y esperar los resultados. El Lactoscan trabaja automáticamente. Al final dará la lectura en porcentaje.

- ◆ **Determinación de presencia de Antibióticos:** El tratamiento de la mastitis es el medio principal de la contaminación de la leche con residuos de antibióticos, las vacas tratadas deben ser separadas de tres a cinco días después de su aplicación.

Importante su análisis por los problemas tecnológicos que pueden presentarse en la fabricación de productos como queso, yogurt al utilizar materia prima con residuos de antibióticos. A la vez perjudica la salud de los consumidores con alergias o alteración de la flora intestinal. La leche de animales enfermos y que contiene antibióticos no debe ser aceptada por la industria.

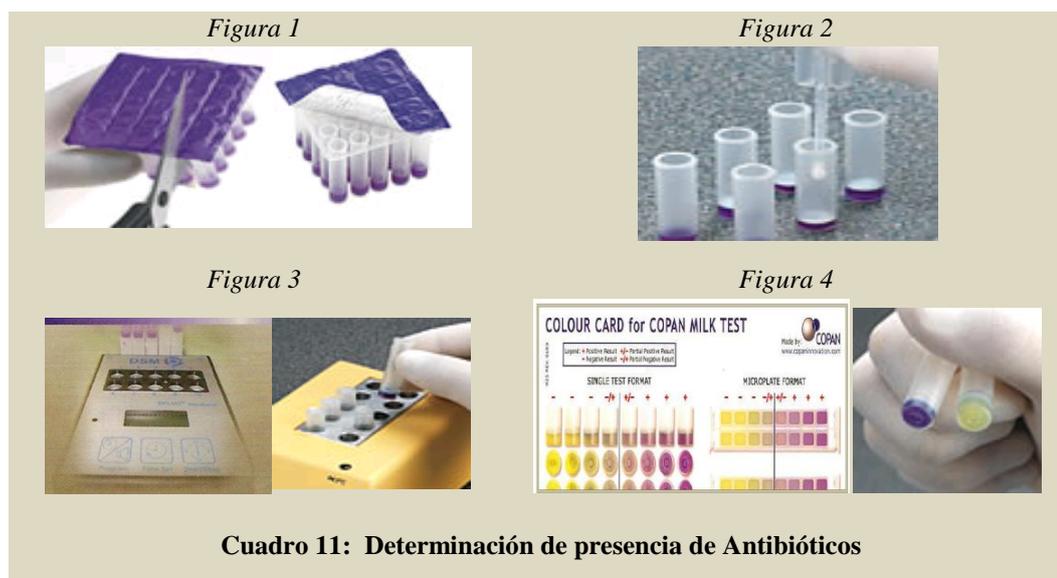
Este análisis fue realizado en el Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe, en el equipo Copan Milk Test (CMT), es un ensayo de inhibición microbiana, que tiene un alto grado de sensibilidad que permite la detección de una amplia gama de agentes antimicrobianos como: ampicillin, oxacillin, trimetoprim, erytromycin y otros antibióticos.

Según la NTE INEN Leche cruda N° 0009:2008 el *VMP = Valor máximo permitido Antibióticos: β lactámicos 5 ppb, tetraciclina 100 ppb y sulfas 100 ppb.

El procedimiento se describe a continuación:

1. Recortar con tijeras cuidadosamente el número requerido de viales de prueba. Retirar la lámina que cubre cada vial de prueba para permitir la entrada de la pipeta de la muestra. (Cuadro 11 Fig. 1).
2. Uso especial de la pipeta que incluye en el kit pipeta, añadir 100 μ l de la muestra de leche en cada vial de la prueba. Asegurarse de que una pipeta limpia se utiliza para cada muestra. (Cuadro 11 Fig. 2).
3. Incubar los viales de prueba en especial en bloque de incubación climatizada o a baño de María a 64 ° C + / - 1 ° C. Para la incubación en un baño de María Copán suministro exclusivo de espuma flotante bastidores para mantener los viales de prueba. Se recomienda que cuando se incuban en un baño de María que los viales de prueba están debidamente cubiertos para evitar problemas de condensación de agua. Incubar las pruebas por 3 horas. (Cuadro 11 Fig. 3).

4. Una carta de colores viene como una guía para la interpretación de las reacciones de color positivo y negativo. Leer el color y la puntuación del resultado de cada prueba mediante el examen de fondo y los lados de los viales. (Cuadro 11 Fig. 4).



- ♦ **Contaje de microorganismos aerobios mesófilos:** Se determinó a través del sistema Petrifilm. La placa Petrifilm para Recuento de Aerobios totales es un sistema de medio de cultivo listo para ser usado, que contiene los nutrientes del Agar Standard Method, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de color rojo a base de tetrazolio (TTC), colorea las colonias para su mejor identificación y enumeración.

Sirve para medir y evaluar la calidad higiénica de la leche, en cuanto a las condiciones higiénicas sanitarias del establecimiento (lugar de ordeño o establo) y las mantenidas durante la producción.

Recuentos bacterianos muy altos en leche cruda son indicativos de fuerte contaminación durante las operaciones de ordeño, manipulación o almacenamiento, o bien de conservación a temperatura de refrigeración insuficientes para retardar al crecimiento microbiano.

Se estima la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos en base al número de colonias que se desarrollen en la placa Petrifilm, el resultado se expresa en U.F.C/ml y se la clasifica de acuerdo a la siguiente tabla.

Cuadro 12: Contenido de microorganismos aerobios mesófilos UFC/cm³ en leche cruda	
Categoría	Número de Microorganismos
A (Buena)	Hasta 5×10^5
B (Regular)	Desde 5×10^5 , hasta $1,5 \times 10^6$
C (Mala)	Desde $1,5 \times 10^6$, hasta 5×10^6
D (Muy Mala)	Más de 5×10^6

FUENTE: Instituto Ecuatoriano de Normalización. NTE INEN 9. Quito - Ecuador.

Para este análisis se procedió de acuerdo a lo que especifica el método AOAC Método 986.33

El procedimiento se resume de la siguiente manera:

1. Esterilizar agua de peptona en la autoclave a 121 °C y 1 atm, por un tiempo de 15min, la cual servirá para las diluciones.
2. Mezclar completamente la muestra, invirtiendo varias veces, hasta que esté homogénea. (Cuadro 13 Fig. 1).
3. Realizar diluciones hasta 1:10000 (10⁻⁴).
 - En condiciones asépticas, transferir 1 ml de la muestra a un tubo de ensayo que contenga 9 ml del agua de peptona, mezclar cuidadosamente.
 - De esta dilución primera, transferir 1ml a un segundo tubo que debe contener 9 ml agua de peptona y mezclar cuidadosamente.
 - Repita las diluciones usando un tercero y cuarto tubo o más, según el número de diluciones que sean requeridas, y mezclar cuidadosamente cada uno de ellos. (Cuadro 13 Fig. 2).

4. Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. (Cuadro 13 Fig. 3).
5. Levante la lámina semitransparente superior y coloque 1 ml de la dilución en el centro de la película cuadrículada inferior. (Cuadro 13 Fig. 4).
6. Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo. (Cuadro 13 Fig. 5).
7. Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la dilución, presione suavemente para distribuir la dilución sobre el área circular. No gire ni deslice el dispersor. (Cuadro 13 Fig. 6).
8. Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación. (Cuadro 13 Fig. 7).
9. Incube las placas cara arriba a 37 °C por 24 - 48 horas. (Cuadro 13 Fig. 8).
10. Contar todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo, con un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. (Cuadro 13 Fig. 9).
11. Reportar como UFC/. ml
12. Cálculo e Interpretación de resultados:
 - Si el número de colonias observado es excesivamente alto y por lo tanto difícil de contar, se puede calcular contando solamente 1 cuadro representativo y multiplicarlo por el factor 21, a continuación aplicar la fórmula.

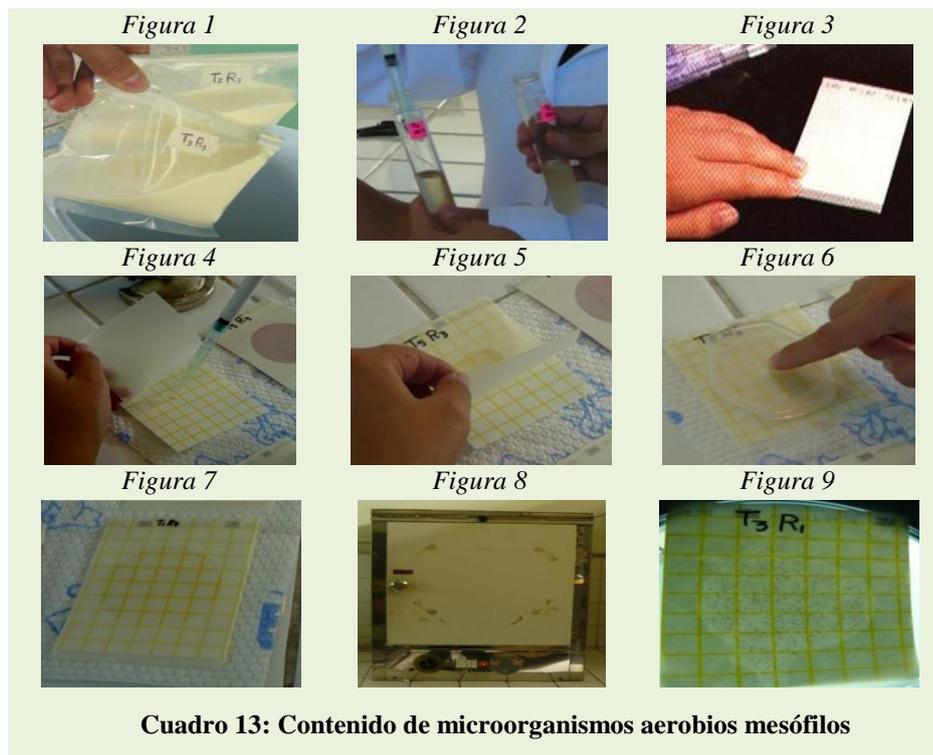
$$c = (n) (f)$$

Dónde:

c = número de bacterias aerobias, por ml de la muestra,

n = número de colonias contadas en cada Petrifilm

f = factor de dilución de la muestra (inverso de la proporción de la dilución).



- ♦ **Contaje de Enterobacterias:** Esta prueba se realiza para detectar la contaminación por bacterias de origen fecal, animal o humano. Se determinó a través del sistema Petrifilm. La placa Petrifilm para Recuento de Enterobacterias es un sistema de medio de cultivo listo para ser usado, que contiene nutrientes del medio VRBG (Violet Red – Brilliant Green) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría, y un indicador que facilita la numeración de las colonias.

La determinación de su presencia refleja la exposición de la leche a materia fecal, indica las condiciones higiénicas sanitarias de la producción y manejo; en el caso de la leche cruda se convierte en el evaluador del grado de limpieza de pezones, manos y pezoneras, normalmente se espera que en la leche cruda no se encuentren enterobacterias. Para mantener su control se deben ordeñar pezones limpios, desinfectados y secos.

Para este análisis se procedió de acuerdo a lo que especifica el método AOAC Método 2003.01.

Cuyo procedimiento se resume de la siguiente manera:

1. Mezclar la muestra en forma completa hasta homogeneizarla bien. (Cuadro 14 Fig. 1).
2. Esterilizar agua de peptona en la autoclave a 121°C y 1 atm por un tiempo de 15min.
3. Preparar una dilución de la muestra 1:10000 (10⁻⁴).
 - En condiciones asépticas, transferir 1 ml de la muestra a un tubo de ensayo que contenga 9 ml del agua de peptona, mezclar cuidadosamente.
 - De esta dilución primera, transferir 1ml a un segundo tubo que debe contener 9 ml agua de peptona y mezclar cuidadosamente.
 - Repita las diluciones usando un tercero y cuarto tubo o más, según el número de diluciones que sean requeridas, y mezclar cuidadosamente cada uno de ellos. (Cuadro 14 Fig. 2).
4. Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. (Cuadro 14 Fig. 3).
5. Levante la lámina semitransparente superior y coloque 1 ml de la dilución en el centro de la película cuadrículada inferior. (Cuadro 14 Fig. 4).
6. Cuidadosamente deslice la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No deje caer la película superior. (Cuadro 14 Fig. 5).
7. Con el lado plano hacia abajo coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, presione suavemente para distribuir la dilución sobre el área circular. No gire, ni deslice el dispersor. (Cuadro 14 Fig. 6).
8. Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación. (Cuadro 14 Fig. 7).
9. Incube las placas cara arriba a 37 °C por 24 horas. (Cuadro 14 Fig. 8).
10. Contar las colonias con un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. (Cuadro 14 Fig. 9, 10).
11. Reportar como UFC/. ml.
12. Cálculos e Interpretación de resultados:

- Si el número de colonias observado es excesivamente alto y por lo tanto difícil de contar, se puede calcular contando solamente 1 cuadro representativo y multiplicarlo por el factor 21, a continuación aplicar la fórmula.

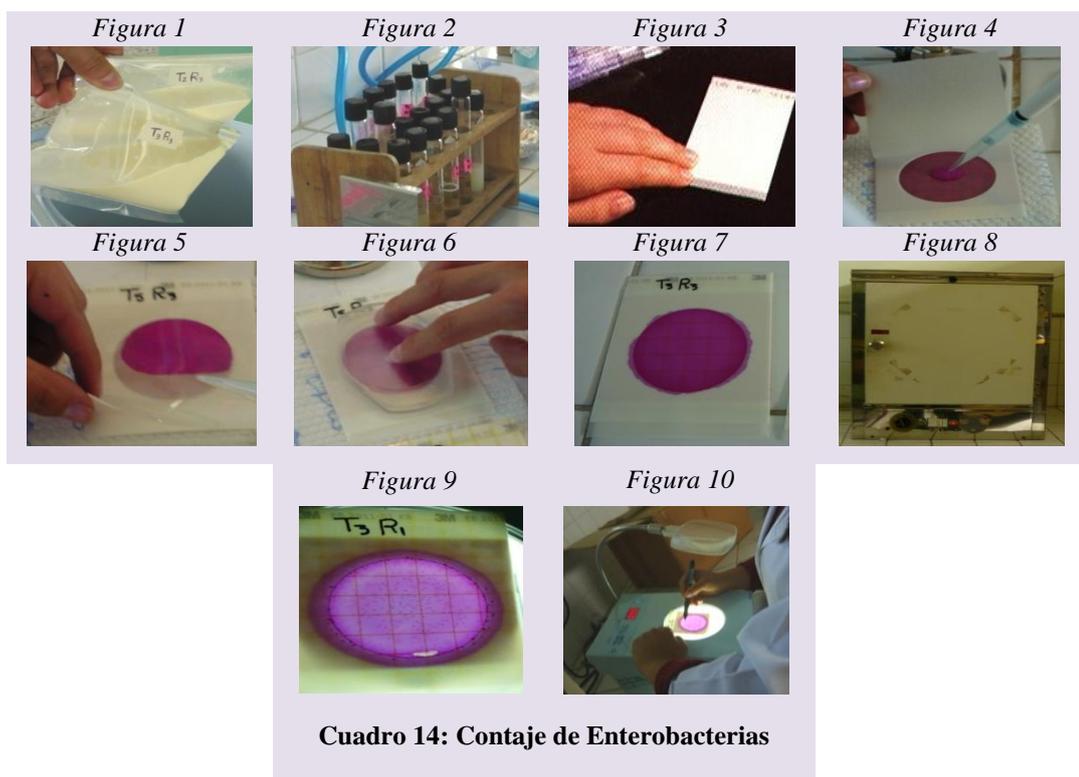
$$c = (n) (f)$$

Dónde:

c = número de bacterias aerobias, por ml de la muestra,

n = número de colonias contadas en cada Petrifilm

f = factor de dilución de la muestra (inverso de la proporción de la dilución).



- ♦ **Contaje de Células Somáticas:** Las células somáticas están constituidas por leucocitos (indicadores de mastitis o infección de las glándulas mamarias), se introducen en la leche debido a una inflamación o lesión. La presencia de mastitis disminuye el rendimiento en la fabricación de quesos, inhibiendo la actividad de los fermentos lácticos. Parámetro importante para confirmar la calidad sanitaria de las muestras de leche.



Foto 12: Contaje de células somáticas

Este análisis se llevo a cabo en el Fossomatic Minor Analyzer en el Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe. Aplicando, la técnica por Citometría de Imagen y Flujo

Según la NTE INEN Leche cruda N° 0009:2008 el *VMP = Valor máximo permitido Contaje de Células Somáticas: 750 x 1000/ml; por encima de este valor se trata de leche proveniente de un rebaño con alta prevalencia de infecciones intramamarias.



Foto 13: Fossomatic Minor Analyzer

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

En el presente trabajo podemos determinar a grandes rasgos las condiciones en que llega a los consumidores la leche cruda que se comercializa en el Cantón Bolívar. A continuación se presentan los resultados de la investigación “Evaluación de la calidad Físico Química y Microbiológica de la leche cruda que se expende en el Cantón Bolívar provincia del Carchi”. Con la finalidad de comprobar las variables, e hipótesis planteadas, se realizó el siguiente análisis estadístico, con la interpretación a través de gráficos con los cuales se reflejan los resultados teniendo en cuenta los requisitos establecidos en la Norma Técnica Ecuatoriana, así como la revisión de literatura.

4.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

“Evaluación de la calidad Físico Química y Microbiológica de la leche cruda que se expende en el Cantón Bolívar provincia del Carchi”.

Para realizar el diseño estadístico, se tiene como factor: la leche y doce tratamientos los cuales son de diferente expendedor. Además se tomó en cuenta las siguientes variables cualitativas, prueba de alcohol, detección almidón, cuantificación de peróxido de hidrógeno, determinación de presencia de antibióticos; variables cuantitativas, determinación del punto de congelación, determinación de la densidad a 15 °C, determinación de la acidez titulable, contenido graso, determinación de sólidos totales, determinación de sólidos no

grasos, contenido en proteínas, contenido de cenizas, contaje de microorganismos aerobios mesófilos, contaje de enterobacterias y contaje de células somáticas.

Los análisis se realizaron luego de 2 horas de haber tomado las muestras, en el Laboratorio de Uso Múltiple de la Universidad Técnica del Norte en la ciudad de Ibarra y en el Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe. Para el transporte de estas muestras se utilizó una caja térmica con hielo para mantener las muestras en una temperatura comprendida entre 0°C y 5°C y así garantizar la refrigeración.

4.1.1 Análisis de la variable determinación de la densidad a 15 °C

La densidad, densidad relativa o gravedad específica de la leche es igual al peso en kilogramos de un litro de leche a una temperatura de 15 °C. La gravedad específica generalmente se expresa en grados de densidad, fluctuando estos valores de 1,028 a 1,033 g/ml a 15 °C. Esta variable fue evaluada con el propósito de conocer cuales muestras están dentro del parámetro establecido por la NTE INEN N° 9. Poniendo al descubierto si hubo o no algún posible fraude como aguado o descremado. La incorporación de agua disminuye la densidad de la leche.

A continuación se presentan los valores de la densidad para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones.

Cuadro 15: Valores obtenidos de la variable determinación de la densidad a 15 °C (g/cm³)

Rep Trat	I	II	III	ΣTRAT	MEDIA
T1	1,0303	1,0302	1,0304	3,0909	1,0303
T2	1,0284	1,0284	1,0280	3,0848	1,0283
T3	1,0282	1,0282	1,0281	3,0845	1,0282
T4	1,0280	1,0280	1,0282	3,0842	1,0281
T5	1,0301	1,0283	1,0295	3,0879	1,0293
T6	1,0292	1,0294	1,0294	3,0880	1,0293
T7	1,0310	1,0312	1,0312	3,0934	1,0311
T8	1,0304	1,0330	1,0272	3,0906	1,0302
T9	1,0308	1,0321	1,0294	3,0923	1,0308
T10	1,0214	1,0208	1,0219	0,0641	1,0214
T11	1,0231	1,0230	1,0232	3,0696	1,0231
T12	1,0295	1,0290	1,0294	3,0879	1,0293
ΣREP.	12,3404	12,3416	12,3359	37,0179	1,0823

Cuadro 16: ADEVA de la variable determinación de la densidad a 15 °C

FDV	GL	SC	CM	FC	0.05	0.01
Total	35	3,231 E-4				
Tratamientos	11	2,999 E-4	2,726 E-5	28,21 **	2,22	3,10
E. Exp	24	2,319 E-5	9,663 E-7			

C.V = 0,10 %

** Altamente significativo

* Significativo

NS No significativo

E-n = Número exponencial

El análisis de varianza (Cuadro No 16) señala alta significación estadística entre tratamientos. Esto demuestra que las densidades estadísticamente son diferentes; por lo tanto se procede a realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos. El coeficiente de variación fue de 0,10 %.

Cuadro 17: Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable determinación de la densidad

Tratamientos	Medias	Rangos
T7	1,0311	a
T9	1,0308	a
T1	1,0303	a
T8	1,0302	a
T5	1,0293	a
T6	1,0293	a
T12	1,0293	a
T2	1,0283	a
T3	1,0282	b
T4	1,0281	b
T11	1,0231	c
T10	1,0214	d

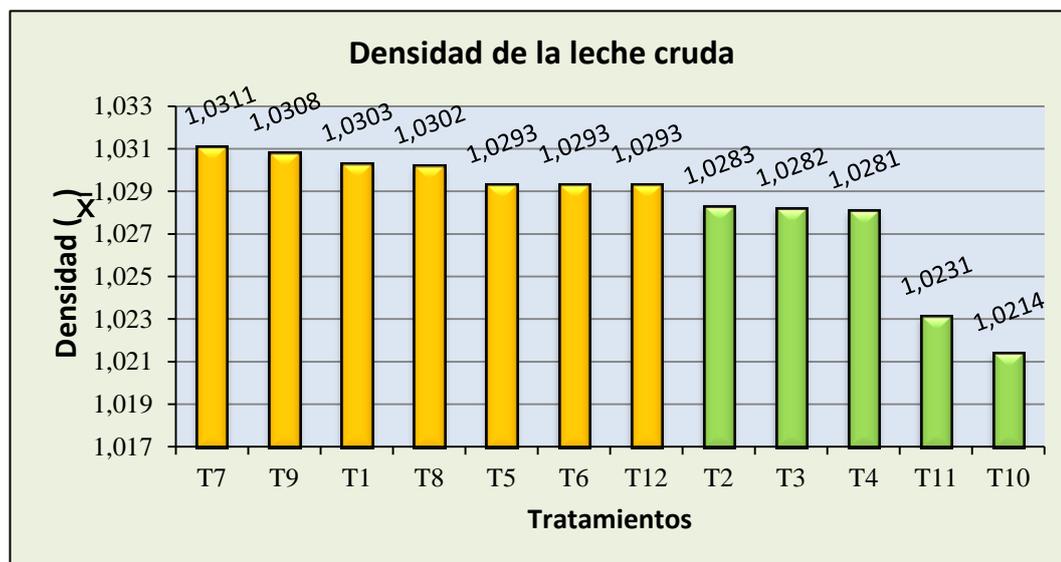
El cuadro muestra que existe cuatro rangos. Al primer rango a pertenecen los tratamientos T7, T9, T1, T8, T5, T6, T12 y T2 al segundo rango b pertenecen los tratamientos T3 y T4, el tercer rango c pertenece al tratamiento T11 y el cuarto rango pertenece al tratamiento T10.

De acuerdo a la NTE INEN N° 9 Leche cruda. Requisitos. Especificaciones físico-químicos establece que la densidad de la leche cruda se encuentra en un rango de 1,029 a 1,033 g/cm³ a 15 °C. Por lo que toda leche que se encuentra por debajo de 1,029 g/cm³ es considerada aguada, en cambio una leche que sobrepase los 1,033 g/cm³ es considerada una leche descremada.

De acuerdo al cuadro N°17, los tratamientos **T7, T9, T1, T8, T5, T6, T12** cumplen este requisito por lo tanto son los únicos que están dentro de la norma; el tratamiento T12, los rangos b, c y d se encuentran fuera de la norma, bajo del mínimo permitido que es 1,029 g/cm³, llegándose a concluir que son leches adulteradas.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 6: Comportamiento de los valores medios para la variable determinación de la densidad



 Cumplen con la NTE INEN N° 9
 No Cumplen con la NTE INEN N° 9

En el gráfico anterior se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T7, T9, T1, T8, T5, T6 y T12 se encuentran dentro del rango establecido por la norma 1,029 mínimo a 1,033 máximo, mientras que los tratamientos T2, T3, T4, T11 y T10 están por debajo de los mismos que la norma establece que es de 1,029.

4.1.2 Análisis de la variable determinación de la acidez titulable

La acidez titulable de la leche es el resultado de una valoración ácido-base en la que un volumen de leche es llevado al punto de viraje de un indicador de PH que

suele ser la fenolftaleína, utilizando para ello una disolución alcalina (Hidróxido de sodio). En la acidez de valoración estamos determinando la suma de la acidez natural de la leche (caseínas, sustancias minerales - ácidos orgánicos y fosfatos) y la acidez desarrollada (ácidos orgánicos generados a partir de la lactosa por crecimiento microbiano), expresada convencionalmente como contenido de ácido láctico, y determinada mediante procedimientos normalizados.

Esta variable fue evaluada con el propósito de determinar el estado de conservación de la leche, su valor es un indicador de la contaminación microbiana, es una medida indirecta de su calidad sanitaria, reviste particular importancia económica en el momento de fijar precio, ya que muchos no valoran solo el volumen sino también la calidad físico química y sanitaria de la misma. Si la acidez es alta puede deberse a que la leche está ácida, por lo tanto coagulara a la prueba de alcohol y la leche no resistirá la pasteurización, a la vez es un indicador de contaminación bacteriana. Una acidez baja es sospechosa de aguado, neutralización o de proceder de vacas con mastitis.

Los valores obtenidos en la investigación se presentan en el anexo N°8. A continuación se presentan los valores de la acidez titulable para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, obtenidos mediante transformación arco seno.

Cuadro 18: Valores obtenidos de la variable determinación de la acidez titulable (%)

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	2,140	2,105	2,140	6,385	2,128
T2	2,105	2,105	2,070	6,280	2,093
T3	1,882	1,882	1,891	5,655	1,885
T4	1,882	1,882	1,864	5,628	1,876
T5	2,172	2,172	2,220	6,564	2,188
T6	2,140	2,140	2,156	6,436	2,145
T7	2,140	2,156	2,156	6,452	2,150
T8	2,241	2,105	2,038	6,384	2,128
T9	2,105	2,070	2,241	6,416	2,138
T10	1,882	1,990	1,810	5,682	1,894
T11	1,882	1,882	1,882	5,646	1,882
T12	2,156	2,156	2,156	6,468	2,156
Σ REP.	24,727	24,645	24,624	73,996	2,055

Cuadro 19: ADEVA de la variable determinación de la acidez titulable

FDV	GL	SC	CM	FC	0.05	0.01
Total	35	0,601				
Tratamientos	11	0,544	0,049	20,63**	2,22	3,10
E. Exp	24	0,057	2,375 E-3			

C.V = 2,37 %

** Altamente significativo

* Significativo

NS No significativo

E-n = Número exponencial

El análisis de varianza (Cuadro Nº19) señala alta significación estadística entre tratamientos. Esto demuestra que los % de ácido láctico estadísticamente son diferentes; por lo tanto se procede a realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos. El coeficiente de variación fue de 2,37 %.

Cuadro 20: Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable determinación de la acidez titulable

Tratamientos	Medias	Rangos
T5	2,188	a
T12	2,156	a
T7	2,150	a
T6	2,145	a
T9	2,138	a
T1	2,128	a
T8	2,128	a
T2	2,093	a
T10	1,894	b
T3	1,885	b
T11	1,882	b
T4	1,876	b

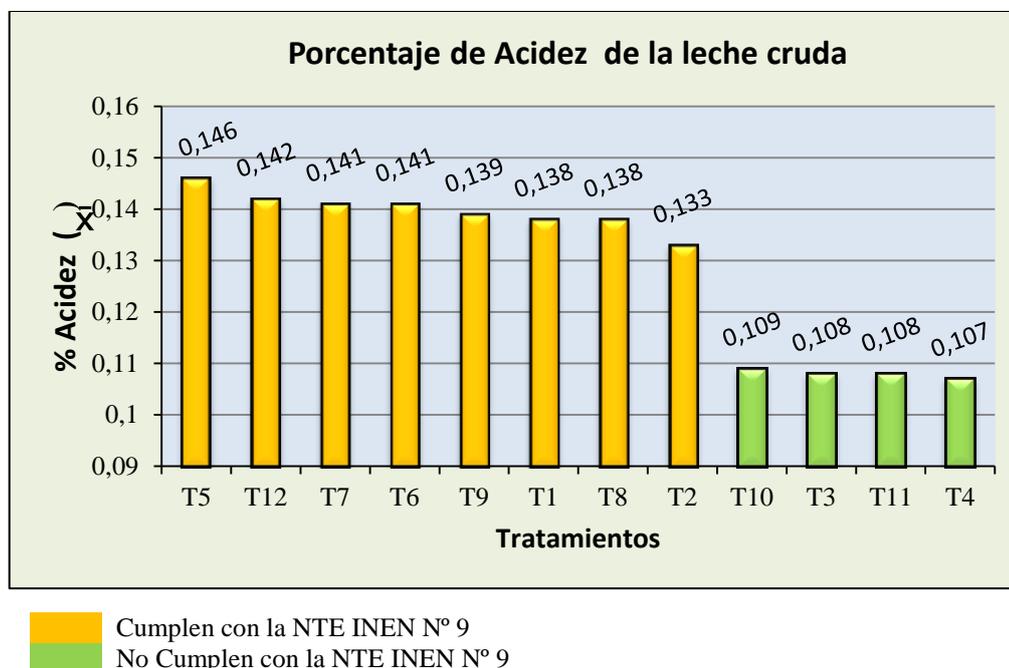
El cuadro muestra que existe dos rangos. Al primer rango a pertenecen los tratamientos T5, T12, T7, T6, T9, T1, T8 y T2; al segundo rango b pertenecen los tratamientos T10, T3, T11 y T4.

La NTE INEN N° 9 establece que la acidez de la leche cruda se encuentra en un rango de 0,13 a 0,16 % de ácido láctico. Por lo que toda leche que se encuentre por debajo de 0,13% es sospechosa de aguado, neutralización o de proceder de vacas con mastitis, y en el caso de que sobrepase de 0,16% indica contaminación microbiana y que es leche ácida.

De acuerdo al cuadro N°20, todos los tratamientos del rango a cumplen este requisito; el rango b se encuentra fuera de la norma, bajo del mínimo permitido que es 0,13%, llegándose a concluir que pueden contener agua, neutralizantes o proceder de vacas con mastitis.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 7: Comportamiento de los valores medios para la variable determinación de la acidez titulable



En el gráfico anterior se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T5, T12, T7, T6, T9, T1, T8 y T2 están dentro del rango promedio de 0,13 y 0,16% por lo tanto cumplen con la NTE, a diferencia de los tratamientos T10, T3, T11 y T4 están debajo del rango mínimo de acidez el cual está establecido en 0,13%.

4.1.3 Análisis de la variable prueba de alcohol

Esta variable se evaluó por la adición en volúmenes iguales de alcohol etílico de 75 % y leche, la misma que permite determinar la estabilidad de la leche en el proceso de la evaporación y de la esterilización, o si la leche ha sufrido acidificación.

El alcohol actúa desnaturalizando y deshidratando la proteína, da una prueba positiva con calostro y mastitis aunque esta leche no tenga una acidez alta.

A continuación se presenta los resultados para cada tratamiento en la reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol) realizada In situ.

Cuadro 21: Resultados del Método de la prueba de la leche con alcohol

Rep Trat	I	II	III
T1	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T2	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T3	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T4	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T5	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T6	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA
T7	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T8	NEGATIVA	NEGATIVA	POSITIVA
T9	NEGATIVA	POSITIVA	NEGATIVA
T10	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA
T11	POSITIVA	POSITIVA	POSITIVA
T12	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA

NEGATIVO La leche no coagula a la prueba de alcohol. Leche buena
POSITIVO La leche coagula a la prueba de alcohol. Leche mala

De acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana, al realizar la prueba de alcohol si la leche se coagula o hay formación de pequeñas partículas de cuajada, la prueba es positiva y la leche no resistirá altas temperaturas, debido a la acidificación.

Si la leche permanece normal, la prueba es negativa y la leche presenta estabilidad proteica (propiedad que tiene la leche de no producir precipitación o coagulación de la proteína en presencia de una solución de alcohol etílico ó, por acción del calor, debido a la acidificación), por lo que se acepta como buena y puede ser utilizada para procesos de pasteurización.

El cuadro Nº 21 muestra que los tratamientos **T1, T2, T3, T4, T5, T7 y T12** dieron resultado negativo por lo tanto son leches buenas; en los tratamientos T6, T10 y T11 la prueba de alcohol dio positiva observándose la formación de coágulos, es decir son leches ácidas, causadas por contaminación bacteriana, mientras que los tratamientos T8 y T9 son leches no muy confiables, puesto que se obtuvieron resultados positivos y negativos.

4.1.4 Análisis de la variable detección de almidón

El almidón es una mezcla de dos polisacáridos, amilasa que es un polímero de cadena recta formado por glucosa unida por enlaces alfa 1-4 y por amilopectina, polímero de glucosa de cadena ramificada de enlace alfa 1-6.

Esta variable fue analizada con el propósito de determinar posibles adulterantes en la leche, ya que en ocasiones se disimula el aguado incorporando espesantes como harina, almidón, para compensar la disminución de la densidad, donde la presencia de almidón se detecta con una solución de yodo, que con su presencia toma un color azul.

A continuación se presenta los resultados para cada tratamiento en la detección de almidón.

Cuadro 22: Resultados de la Detección de almidón

Rep Trat	I	II	III
T1	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T2	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T3	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T4	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T5	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T6	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T7	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T8	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T9	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T10	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T11	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T12	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA

NEGATIVO Ausencia de almidón.
POSITIVO Presencia de almidón.

De acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana, la leche no debe contener ninguna clase de adulterante (harina, almidón). Por lo tanto al realizar la prueba de almidón si al adicionar solución de lugol, la leche adquiere una coloración azul, la prueba es positiva y se concluye que existe adición de espesantes.

Si la leche presenta coloración amarilla la prueba es negativa, lo que indica que no contiene espesantes.

El cuadro N°22 muestra que todos los tratamientos dieron resultado negativo, demostrando que las leches no están adulteradas en cuanto a la agregación de este producto, por lo tanto son leches que cumplen con la NTE INEN N° 9.

4.1.5 Análisis de la variable Cuantificación de Peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno es una molécula compuesta de dos átomos de hidrogeno y dos de oxígeno, es un líquido azul pálido, tiene un peso de 34 g/mol, un punto de congelación de -0.41 °C y hierve A 150 °C. Esta variable fue analizada con el propósito de descubrir adición de agua oxigenada a la leche. Su presencia permite alargar la conservación ilícita de la leche. Para realizar este control se utilizó un kit de tiras indicadoras, dónde si se obtiene una coloración azul nos indica presencia de peróxido de hidrógeno.

A continuación se presenta los resultados para cada tratamiento en la prueba de cuantificación de peróxido de hidrógeno.

Cuadro 23: Resultados de la Cuantificación de peróxido de hidrógeno

Rep Trat	I	II	III
T1	0,00	0,00	0,00
T2	0,00	0,00	0,00
T3	0,00	0,00	0,00
T4	0,00	0,00	0,00
T5	0,00	0,00	0,00
T6	0,00	0,00	0,00
T7	0,00	0,00	0,00
T8	0,00	0,00	0,00
T9	0,00	0,00	0,00
T10	0,00	0,00	0,00
T11	0,00	0,00	0,00
T12	0,00	0,00	0,00

De acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana, en la leche no debe existir presencia de conservantes.

Al realizar esta prueba la leche en presencia de peróxido de hidrógeno, el papel toma una coloración azul. Y en ausencia no cambia de color.

El cuadro N° 23 muestra que todos los tratamientos dieron resultado negativo por lo que se concluye que no existe adición de agua oxigenada y que los expendedores no recurren a la conservación ilícita de la leche; por lo tanto cumplen con la Norma.

4.1.6 Análisis de la variable Contenido de Grasa

Es la cantidad, expresada en porcentaje de masa, de sustancias, principalmente grasas, extraídas de la leche mediante procedimientos normalizados.

Los resultados de análisis de grasa de la leche son casi constantes de una raza lechera. Valores menores junto con resultados de otros análisis de leche nos permiten deducir adulteración de la leche con adición de agua.

Los valores obtenidos en la investigación se presentan en el anexo N° 9. A continuación se presentan los valores del contenido de grasa para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, obtenidos mediante transformación de raíz cuadrada.

Cuadro 24: Valores obtenidos de la variable Contenido de grasa (%)

Rep Trat	I	II	III	ΣTRAT	MEDIA
T1	2,000	1,897	1,732	5,629	1,876
T2	1,612	1,612	1,761	4,985	1,662
T3	1,897	1,897	1,871	5,665	1,888
T4	1,789	1,761	1,732	5,282	1,761
T5	1,871	1,732	1,949	5,552	1,851
T6	2,168	2,145	2,168	6,481	2,160
T7	1,844	1,817	1,844	5,505	1,835
T8	1,975	2,074	1,761	5,810	1,937
T9	1,871	1,844	1,871	5,586	1,862
T10	1,581	1,517	1,612	4,710	1,570
T11	1,643	1,549	1,732	4,924	1,641
T12	1,949	1,871	1,924	5,744	1,915
ΣREP.	22,200	21,716	21,957	65,873	1,830

Cuadro 25: ADEVA de la variable Contenido de grasa

FDV	GL	SC	CM	FC	0.05	0.01
Total	35	0,968				
Tratamientos	11	0,813	0,074	11,46**	2,22	3,10
E. Exp	24	0,155	6,458 E-3			

C.V = 4,39 %

** Altamente significativo

* Significativo

NS No significativo

E-n = Número exponencial

El análisis de varianza (CuadroNº25) señala alta significación estadística entre tratamientos. Esto demuestra que los contenidos de grasa estadísticamente son diferentes; por lo tanto se procede a realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos. El coeficiente de variación fue de 4,39 %.

Cuadro 26: Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable Contenido de grasa

Tratamientos	Medias	Rangos
T6	2,160	a
T8	1,937	a
T12	1,915	b
T3	1,888	b
T1	1,876	b
T9	1,862	b
T5	1,851	b
T7	1,835	b
T4	1,761	b
T2	1,662	c
T11	1,641	c
T10	1,570	c

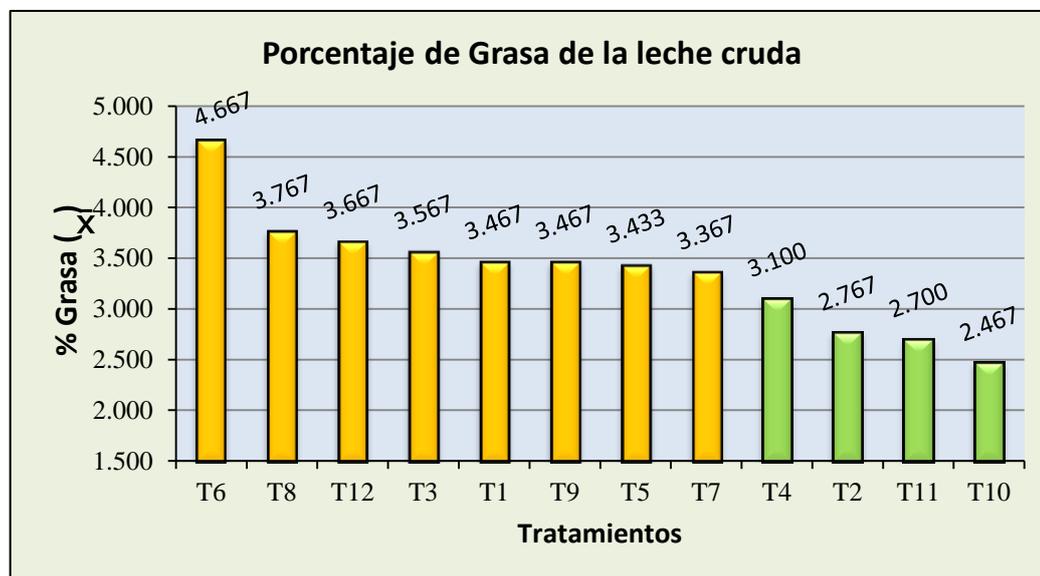
El cuadro muestra que existe tres rangos. Al primer rango a pertenecen los tratamientos T6 y T8, al segundo rango b pertenecen los tratamientos T12, T3, T1, T9, T5, T7 y T4, al tercer rango c pertenecen los tratamientos T2, T11 y T10.

La NTE INEN N° 9 establece que la materia grasa de la leche deberá tener un mínimo de 3,2 %. Por lo tanto cualquier leche que se encuentre por debajo de este valor puede tener agua añadida o haber sido descremada

De acuerdo al cuadro N° 26, el rango **a** y los tratamientos **T12, T3, T1, T9, T5** y **T7** cumplen este requisito por lo tanto están dentro de la norma; el tratamiento T4 y el rango c se encuentran fuera de la norma, bajo del mínimo permitido que es 3,2%, llegándose a concluir que son leches adulteradas con agua o descremadas.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 8: Comportamiento de los valores medios para la variable Contenido de grasa



Cumplen con la NTE INEN N° 9
 No Cumplen con la NTE INEN N° 9

En el gráfico se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T6, T8, T12, T3, T1, T9, T5 y T7 cumplen con el requerimiento mínimo, mientras que los tratamientos T4, T2, T11 y T10 no tienen el porcentaje de grasa mínimo para las leches crudas que es de 3,2 %.

4.1.7 Análisis de la variable Sólidos No Grasos

La determinación de los sólidos no grasos se realiza mediante la resta de sólidos totales de la leche, menos el porcentaje de sólidos grasos. Una disminución de los valores normales implica adulteración de la leche.

Además este parámetro también establece el rendimiento de la leche para la elaboración de productos lácteos (queso, yogurt, leche en polvo, etc.).

Los valores obtenidos en la investigación se presentan en el anexo N^o 10. A continuación se presentan los valores de sólidos no grasos para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, obtenidos mediante aplicación logarítmica.

Cuadro 27: Valores obtenidos de la variable Sólidos No Grasos (%)

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	0,959	0,957	0,926	2,842	0,947
T2	0,914	0,908	0,908	2,730	0,910
T3	0,927	0,927	0,925	2,779	0,926
T4	0,926	0,920	0,921	2,767	0,922
T5	0,950	0,922	0,946	2,818	0,939
T6	0,952	0,953	0,954	2,859	0,953
T7	0,960	0,961	0,962	2,883	0,961
T8	0,958	0,998	0,909	2,865	0,955
T9	0,959	0,973	0,989	2,921	0,974
T10	0,816	0,802	0,825	2,443	0,814
T11	0,845	0,839	0,851	2,535	0,845
T12	0,946	0,952	0,944	2,842	0,947
Σ REP.	11,112	11,112	11,060	33,284	0,925

Cuadro 28: ADEVA de la variable Sólidos No Grasos

FDV	GL	SC	CM	FC	0.05	0.01
Total	35	0,083				
Tratamientos	11	0,076	6,939 E-3	24,98**	2,22	3,10
E. Exp	24	6,667 E-3	2,778 E-4			

C.V = 1,80 %

** Altamente significativo

* Significativo

NS No significativo

E-n = Número exponencial

El análisis de varianza (Cuadro N^o 28) señala alta significación estadística entre tratamientos. Esto demuestra que los contenidos de sólidos no grasos estadísticamente son diferentes; por lo tanto se procede a realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos. El coeficiente de variación fue de 1,80 %.

Cuadro 29: Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable Sólidos No Grasos

Tratamientos	Medias	Rangos
T9	0,974	a
T7	0,961	a
T8	0,955	a
T6	0,953	a
T1	0,947	a
T12	0,947	a
T5	0,939	a
T3	0,926	a
T4	0,922	b
T2	0,910	b
T11	0,845	c
T10	0,814	d

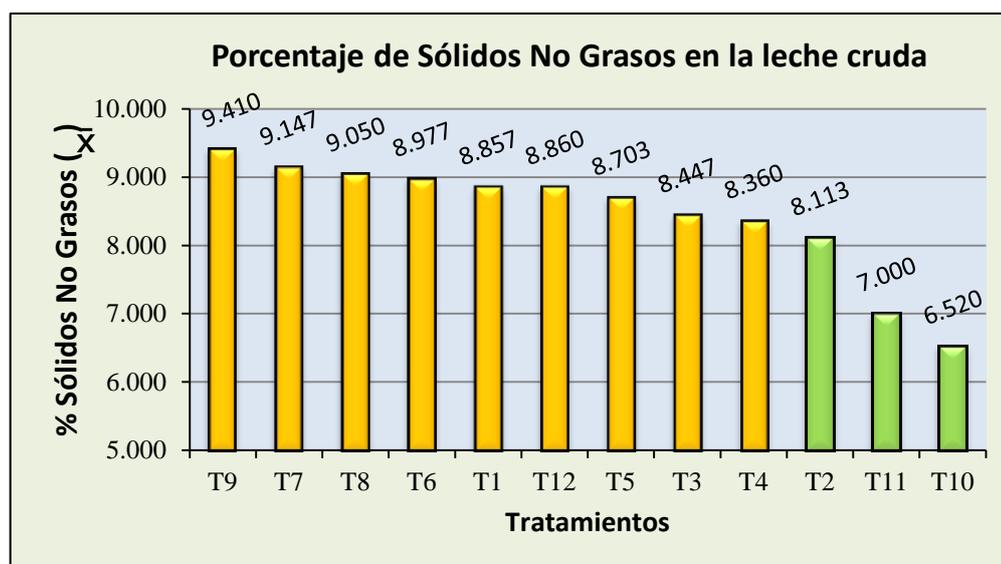
El cuadro muestra que existe cuatro rangos. Al primer rango a pertenecen los tratamientos T9, T7, T8, T6, T1, T12, T5 y T3, al segundo rango b pertenecen los tratamientos T4 y T2, al tercer rango c pertenece el tratamiento T11, y al cuarto rango d pertenece el tratamiento T10.

La NTE INEN N° 9 establece que los sólidos no grasos de la leche deberán tener un mínimo de 8,2 %. Por lo tanto cualquier leche que se encuentre por debajo de este valor nos indica adulteración.

De acuerdo al cuadro N°29, el rango a y tratamiento T4 cumplen este requisito; el tratamiento T2 rango c y d se encuentran fuera de la norma, bajo del mínimo permitido que es 8,2%, llegándose a concluir que están adulteradas y por lo tanto su rendimiento para la elaboración de productos lácteos puede no ser la mejor.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 9: Comportamiento de los valores medios para la variable Sólidos No Grasos



■ Cumplen con la NTE INEN N° 9
■ No Cumplen con la NTE INEN N° 9

En el gráfico se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T9, T7, T8, T6, T1, T12, T5, T3 y T4 cumplen con el requerimiento mínimo, mientras que los tratamientos T2, T11 y T10 no cumplen con el valor mínimo requerido en la norma, que es 8,2%

4.1.8 Análisis de la variable Determinación de Sólidos Totales

Los sólidos totales son aquellos que están representados por la grasa, las proteínas en suspensión coloidal, lactosa, vitaminas, sales y otros componentes orgánicos e inorgánicos en solución.

Con esta variable nos permite establecer el porcentaje de materia seca de la leche, que nos indica su valor nutritivo, pues con una leche rica en sólidos totales se obtiene un rendimiento más alto en la fabricación de subproductos lácteos tales como los quesos y el yogurt.

La baja cantidad de sólidos totales indica presencia de agua adicionada.

Los valores obtenidos en la investigación se presentan en el anexo N°11. A continuación se presentan los valores de los sólidos no grasos para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, obtenidos mediante aplicación logarítmica.

Cuadro 30: Valores obtenidos de la variable Determinación de Sólidos Totales (%)

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	1,120	1,116	1,112	3,348	1,116
T2	1,037	1,038	1,057	3,132	1,044
T3	1,081	1,081	1,076	3,238	1,079
T4	1,062	1,057	1,055	3,174	1,058
T5	1,094	1,055	1,101	3,250	1,083
T6	1,135	1,133	1,137	3,405	1,135
T7	1,098	1,095	1,099	3,292	1,097
T8	1,113	1,154	1,050	3,317	1,106
T9	1,100	1,107	1,088	3,295	1,098
T10	0,956	0,937	0,968	2,861	0,954
T11	0,987	0,969	1,004	2,960	0,987
T12	1,101	1,145	1,097	3,343	1,114
Σ REP.	12,884	12,887	12,844	38,615	1,073

Cuadro 31: ADEVA de la variable Sólidos Totales

FDV	GL	SC	CM	FC	0.05	0.01
Total	35	0,108				
Tratamientos	11	0,098	8,879 E-3	20,62**	2,22	3,10
E. Exp	24	0,010	4,306 E-4			

C.V = 1,93 %

** Altamente significativo

* Significativo

NS No significativo

E-n = Número exponencial

El análisis de varianza (Cuadro №31) señala alta significación estadística entre tratamientos. Esto demuestra que los contenidos de sólidos totales estadísticamente son diferentes; por lo tanto se procede a realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos. El coeficiente de variación fue de 1,93 %.

Cuadro 32: Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable Sólidos Totales

Tratamientos	Medias	Rangos
T6	1,135	a
T1	1,116	a
T12	1,114	a
T8	1,106	a
T9	1,098	a
T7	1,097	a
T5	1,083	a
T3	1,079	a
T4	1,058	b
T2	1,044	b
T11	0,987	c
T10	0,954	c

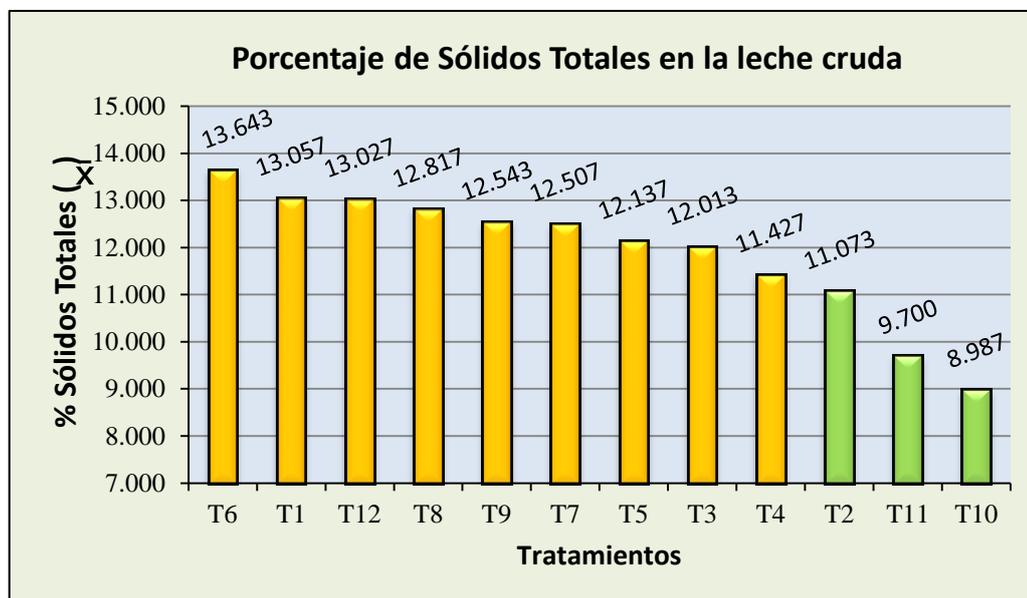
El cuadro muestra que existe tres rangos. Al primer rango a pertenecen los tratamientos T6, T1, T12, T8, T9, T7, T5 y T3, al segundo rango b pertenecen los tratamientos T4 y T2, al tercer rango c pertenecen los tratamientos T11 y T10.

La NTE INEN N° 9 establece que los sólidos totales de la leche deberán tener un mínimo de 11,4 %. Por lo tanto cualquier leche que se encuentre por debajo de este valor su posibilidad de rendimiento industrial y valor nutritivos son bajos.

De acuerdo al cuadro N°32, el rango a y el tratamiento T4 del rango b cumplen este requisito; el tratamiento T2 y el rango c se encuentran fuera de la norma, bajo del mínimo permitido que es 11,4%, llegándose a concluir que pueden estar adulteradas y por lo tanto no tienen el valor nutritivo adecuado y su posibilidad de rendimiento industrial es bajo.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 10: Comportamiento de los valores medios para la variable Sólidos Totales



■ Cumplen con la NTE INEN N° 9
■ No Cumplen con la NTE INEN N° 9

En el gráfico se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T6, T1, T12, T8, T9, T7, T5, T3 y T4 cumplen con el requerimiento mínimo, mientras que los tratamientos T2, T11 y T10 no cumplen con el valor mínimo requerido en la norma, que es 11,4%

4.1.9 Análisis de la variable Determinación del Punto de Congelación

La determinación del Punto de Congelación en leche cruda es un parámetro utilizado para detectar una adulteración con agua. Este valor se encuentra entre -0,536 a -0,512 grados centígrados, inferior al punto de congelación del agua,

debido a la presencia de los sólidos disueltos de la leche, una disminución o aumento de la concentración de la solución influirá en este valor.

Ésta variable se realizo con el propósito de determinar posible fraude con adición de agua, el equipo utilizado para este análisis fue el Lactoscan.

Los valores obtenidos en la investigación se presentan en el anexo N°12. A continuación se presentan los valores del Punto de Congelación para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, obtenidos mediante transformación arco - seno.

Cuadro 33: Valores obtenidos de la variable Punto de Congelación (°C)

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	- 4,1460	- 4,1460	- 4,1220	- 12,4140	- 4,1380
T2	- 3,9380	- 3,9300	- 4,0100	- 11,8780	- 3,9593
T3	- 4,0020	- 4,0020	- 3,9980	- 12,0020	- 4,0007
T4	- 3,9900	- 3,9620	- 3,9580	- 11,9100	- 3,9700
T5	- 4,1300	- 4,0860	- 4,1260	- 12,3420	- 4,1140
T6	- 4,1460	- 4,1500	- 4,1500	- 12,4460	- 4,1487
T7	- 4,1460	- 4,1420	- 4,1460	- 12,4340	- 4,1447
T8	- 4,1380	- 4,1420	- 3,9340	- 12,2140	- 4,0713
T9	- 4,1300	- 4,1300	- 4,0980	- 12,3580	- 4,1193
T10	- 3,3700	- 3,3400	- 3,3750	- 10,0850	- 3,3617
T11	- 3,5500	- 3,4200	- 3,5700	- 10,5400	- 3,5133
T12	- 4,1260	- 4,1460	- 4,1100	- 12,3820	- 4,1273
Σ REP.	- 47,8120	- 47,5960	- 47,5970	- 143,0050	- 3,9724

Cuadro 34: ADEVA de la variable Punto de Congelación

FDV	GL	SC	CM	FC	0.05	0.01
Total	35	2,2946				
Tratamientos	11	2,2449	0,2041	98,56**	2,22	3,10
E. Exp	24	0,0497	2,071 E-3			

C.V = 1,15%

** Altamente significativo

* Significativo

NS No significativo

E-n = Número exponencial

El análisis de varianza (Cuadro No 34) señala alta significación estadística entre tratamientos. Esto demuestra que el punto de congelación de las muestras estadísticamente son diferentes; por lo tanto se procede a realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos. El coeficiente de variación fue de 1,15 %.

Cuadro 35: Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable Punto de Congelación

Tratamientos	Medias	Rangos
T6	- 4,1487	a
T7	- 4,1447	a
T1	- 4,1380	a
T12	- 4,1273	a
T9	- 4,1193	a
T5	- 4,1140	a
T8	- 4,0713	a
T3	- 4,0007	b
T2	- 3,9593	b
T4	- 3,9700	b
T11	- 3,5133	c
T10	- 3,3617	d

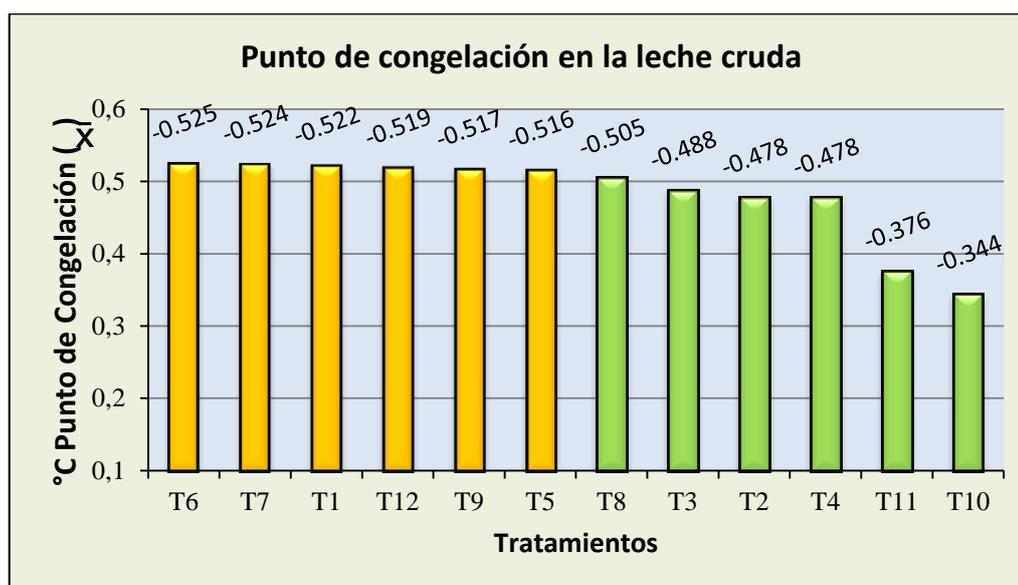
El cuadro muestra que existe cuatro rangos. Al primer rango a pertenecen los tratamientos T6, T7, T1, T12, T9, T5 y T8, al segundo rango b pertenecen los tratamientos T3, T2 y T4, al tercer rango c pertenece el tratamiento T11, al cuarto rango d pertenece el tratamiento T10.

La NTE INEN N° 9 establece que el punto de congelación de la leche cruda se encuentra en un rango de -0,536 a -0,512 °C. Por lo que cuanto más se acerca el punto de congelación (PC) de una leche, al punto de congelación del agua (0°C), mayor será la cantidad de agua añadida.

De acuerdo al cuadro N° 35, todos los tratamientos **T6, T7, T1, T12, T9 y T5** cumplen este requisito, mientras que el tratamiento T8, rango b, c y d están fuera de la norma, teniendo valores que nos indican signos de aguado o agregado de agua.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 11: Comportamiento de los valores medios para la variable Punto de Congelación



Cumplen con la NTE INEN N° 9
 No Cumplen con la NTE INEN N° 9

En el gráfico se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T6, T7, T1, T12, T9, y T5 se encuentran dentro del rango establecido por la norma -0,536 mínimo a -0,512 máximo, mientras que los tratamientos T8, T3, T2, T4, T11 y T10 están fuera de la norma, lo cual indica que hubo adulteración

4.1.10 Análisis de la variable Contenido de Proteína

Las proteínas son moléculas gigantes formadas por unidades más pequeñas llamadas aminoácidos. Una molécula de proteína consta de una o más cadenas entrelazadas de aminoácidos, donde estos están dispuestos según un orden específico. Una molécula de proteína contiene normalmente alrededor de 100 - 200 aminoácidos unidos.

Esta variable fue analizada ya que tiene un gran interés desde el punto de vista nutricional y tecnológico.

Los valores originales obtenidos en la investigación se presentan en el anexo N° 13. A continuación se presentan los valores de la variable proteína para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, obtenidos mediante transformación de raíz cuadrada de x.

Cuadro 36: Valores obtenidos de la variable Contenido de Proteína (%)

Rep Trat	I	II	III	ΣTRAT	MEDIA
T1	1,8170	1,8650	1,8030	5,4850	1,8283
T2	1,6430	1,6580	1,6730	4,9740	1,6580
T3	1,6940	1,6790	1,6820	5,0550	1,6850
T4	1,6700	1,6880	1,6430	5,0010	1,6670
T5	1,8140	1,8190	1,8080	5,4410	1,8137
T6	1,8300	1,9160	1,7380	5,4840	1,8280
T7	1,8760	1,8730	1,8110	5,5600	1,8533
T8	1,8170	1,7970	1,8140	5,4280	1,8093
T9	1,8220	1,8220	1,8220	5,4660	1,8220
T10	1,5070	1,5000	1,5130	4,5200	1,5067
T11	1,5810	1,5680	1,5940	4,7430	1,5810
T12	1,8190	1,8190	1,8220	5,4600	1,8200
ΣREP.	20,8900	21,0040	20,7230	62,6170	1,7394

Cuadro 37: ADEVA de la variable Contenido de Proteína

FDV	GL	SC	CM	FC	0.05	0.01
Total	35	0,4626				
Tratamientos	11	0,4396	0,0400	41,80**	2,22	3,10
E. Exp	24	0,0230	9,569 E-4			

C.V = 1,79 %

** Altamente significativo

* Significativo

NS No significativo

E-n = Número exponencial

El análisis de varianza (Cuadro Nº37) señala alta significación estadística entre tratamientos. Esto demuestra que las cantidades de proteína estadísticamente son diferentes; por lo tanto se procede a realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos. El coeficiente de variación fue de 1,79 %.

Cuadro 38: Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable Contenido de Proteína

Tratamientos	Medias	Rangos
T7	1,8533	a
T6	1,8280	a
T1	1,8283	a
T9	1,8220	a
T12	1,8200	a
T5	1,8137	a
T8	1,8093	a
T3	1,6850	b
T4	1,6670	c
T2	1,6580	c
T11	1,5810	c
T10	1,5067	d

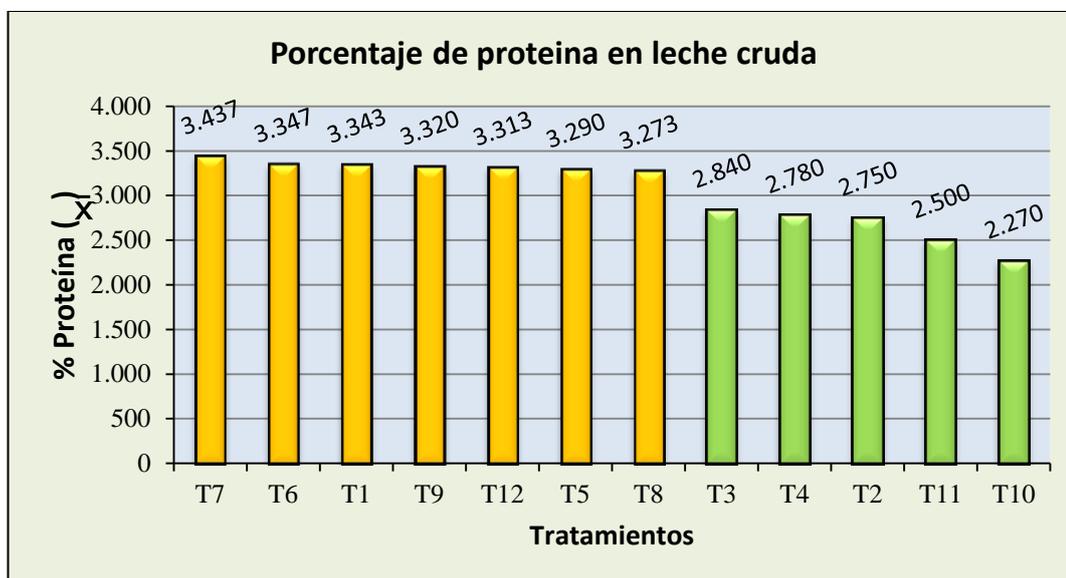
El cuadro muestra que existe cuatro rangos. Al primer rango a pertenecen los tratamientos T7, T6, T1, T9, T12, T5 y T8, al segundo rango b pertenece el tratamiento T3, al tercer rango c pertenecen los tratamiento T4, T2, y T11; al cuarto rango d pertenece al tratamiento T10.

La NTE INEN N° 9 establece que la leche debe tener un mínimo de 2,9 % en proteínas. Por lo tanto cualquier leche que se encuentre por debajo de este valor indica una posible adulteración, perjudicando la calidad nutricional de la misma y el rendimiento de los productos elaborados. Por lo tanto es de importancia saber el contenido de proteínas en leche de vaca.

De acuerdo al cuadro N°38, el rango a es el único que cumple este requisito; los rango b, c y d se encuentran fuera de la norma, bajo del mínimo permitido que es 2,9%, llegándose a concluir que están adulteradas y por lo tanto su rendimiento tanto nutricional como tecnológico será bajo.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 12: Comportamiento de los valores medios para la variable Contenido de Proteína



■ Cumplen con la NTE INEN N° 9
■ No Cumplen con la NTE INEN N° 9

En el gráfico se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T7, T6, T1, T9, T12, T5 y T8 cumplen con el requerimiento mínimo, mientras que los tratamientos T3, T4, T2, T11 y T10 no cumplen con el valor mínimo requerido en la norma, que es 2,9%

4.1.11 Análisis de la variable Contenido de Cenizas

Es una prueba útil para comprobar el contenido de cenizas (K, Na, Ca, Mg, Cl y fosfato) que presenta la leche de vaca.

Los valores originales obtenidos en la investigación se presentan en el anexo No 14. A continuación se presentan los valores de la variable cenizas para cada

tratamiento con sus respectivas repeticiones, obtenidos mediante transformación (arco - seno).

Cuadro 39: Valores obtenidos de la variable Contenido de Cenizas (%)

Rep Trat	I	II	III	ΣTRAT	MEDIA
T1	4,76	4,73	4,62	14,11	4,70
T2	4,55	4,52	4,44	13,51	4,50
T3	4,59	4,59	4,52	13,70	4,57
T4	4,52	4,55	4,48	13,55	4,52
T5	4,73	4,62	4,69	14,04	4,68
T6	4,73	4,69	4,73	14,15	4,72
T7	4,69	4,73	4,73	14,15	4,72
T8	4,73	4,09	4,66	13,48	4,49
T9	4,76	4,73	4,52	14,01	4,67
T10	3,93	3,89	3,93	11,75	3,92
T11	4,09	4,05	4,13	12,27	4,09
T12	4,69	4,69	4,66	14,04	4,68
ΣREP.	54,77	53,88	54,11	162,76	4,52

Cuadro 40: ADEVA de la variable Contenido de Cenizas

FDV	GL	SC	CM	FC	0.05	0.01
Total	35	2,52				
Tratamientos	11	2,21	0,201	15,46 **	2,22	3,10
E. Exp	24	0,31	0,013			

C.V = 2,51 %

** Altamente significativo

* Significativo

NS No significativo

E-n = Número exponencial

El análisis de varianza (Cuadro Nº40) señala alta significación estadística entre tratamientos. Esto demuestra que las cantidades de cenizas estadísticamente son

diferentes; por lo tanto se procede a realizar la prueba de Tukey al 5% para tratamientos. El coeficiente de variación fue de 2,51 %.

Cuadro 41: Resultados de la Prueba de TUKEY al 5% para tratamientos de la variable Contenido de Cenizas

Tratamientos	Medias	Rangos
T6	4,72	a
T7	4,72	a
T1	4,70	a
T5	4,68	a
T12	4,68	a
T9	4,67	a
T3	4,57	a
T4	4,52	a
T2	4,50	a
T8	4,49	a
T11	4,09	b
T10	3,92	c

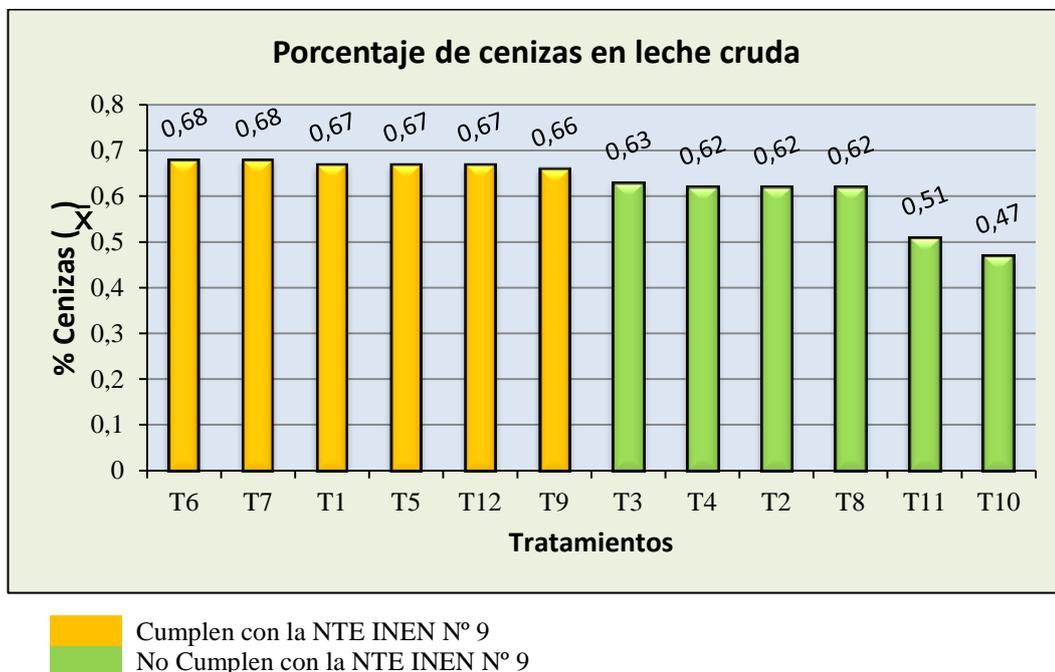
El cuadro muestra que existe tres rangos. Al primer rango a pertenecen los tratamientos T6, T7, T1, T5, T12, T8, T3, T4, T12 y T9, al segundo rango b pertenece el tratamientos T11, al tercer rango c pertenece el tratamiento T10.

La NTE INEN N° 9 establece que la leche debe tener un mínimo de 0,65 % en cenizas.

De acuerdo al cuadro N°41, los tratamientos **T6, T7, T1, T5, T12 y T9** cumplen este requisito; los tratamientos T3, T4, T12, T8 el rango b y c se encuentran fuera de la norma, bajo del mínimo permitido que es 0,65 %, llegándose a concluir que están adulteradas.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 13: Comportamiento de los valores medios para la variable Contenido de Cenizas



En el gráfico se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T6, T7, T1, T5, T12, y T9 cumplen con el requerimiento mínimo, mientras que los tratamientos T3, T4, T2, T8, T11 y T10 no tienen el porcentaje de ceniza mínimo requerido para leches crudas que es de 0,65 %.

4.1.12 Análisis de la variable Determinación de presencia de Antibióticos

Los antibióticos pueden ser hallados en la leche por introducción voluntaria fraudulenta (agregado por el productor interesado en alargar la durabilidad de la leche) o por vía indirecta, proveniente del tratamiento terapéutico de vacas con algún tipo de infección, especialmente la mastitis.

Este análisis fue realizado con el propósito de determinar presencia de antibióticos en la leche, por su acción perjudicial en la fabricación de productos fermentados como el queso, yogurt, etc y las pérdidas económicas que puede ocasionar a la vez que perjudican la salud de los consumidores.

El informe de resultados de determinación de presencia de Antibióticos se presenta en el anexo Nº15.

Cuadro 42: Resultados de la Determinación de presencia de antibióticos

Rep Trat	I	II	III
T1	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T2	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T3	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T4	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T5	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T6	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T7	NEGATIVA	NEGATIVA	POSITIVO
T8	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T9	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T10	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T11	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA
T12	NEGATIVA	NEGATIVA	NEGATIVA

NEGATIVO Ausencia de antibióticos. Leche buena.

POSITIVO Presencia de antibióticos. Leche mala.

De acuerdo a la Norma Técnica Ecuatoriana, el *VMP = Valor máximo permitido
Antibióticos: β lactámicos 5 ppb, tetraciclina 100 ppb y sulfas 100 ppb.

Por lo general la leche de animales enfermos y que contiene antibióticos no debe ser aceptada por la industria.

El cuadro muestra los resultados obtenidos en el análisis de determinación de presencia de antibióticos, el cual demuestra que el tratamiento T7 no es una leche segura de consumir, ya que presentó ausencia y presencia de antibióticos. Lo cual indica que no se lleva un registro de las vacas que fueron medicadas, a la vez la leche de estas vacas no es separada del resto y es mezclada junto con la leche de vacas sanas. Por lo tanto se exige sin antibióticos, ya que al ser transformada en queso o yogurt éstos no permiten una maduración y, por lo tanto, no es posible obtener un producto de calidad. Los riesgos de consumir una leche con residuos de antibióticos se centran fundamentalmente en reacciones de hipersensibilidad (alergias) y alteraciones de la flora intestinal.

4.1.13 Análisis de la variable Contaje de microorganismos aerobios mesófilos

Comprenden los microorganismos de la flora bacteriana de la leche y aquellos que llegan por efecto de contaminación. Dentro de este grupo géneros de bacterias tales como: streptococos, lactococcus, leuconastoc, lactobacillus y enterobacterias.

Este análisis se empleó para determinar la calidad higiénica (microbiológica) de la leche, en cuanto está relacionado al cuidado puesto durante la producción, manipulación e insuficiente enfriamiento de la leche.

A continuación se presentan los valores del Contenido de microorganismos aerobios mesófilos para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones.

Cuadro 43: Valores obtenidos de la variable Contaje de microorganismos aerobios mesófilos (UFC/ml)

Rep Trat	I	II	III	ΣTRAT	MEDIA
T1	3×10^5	2×10^5	1×10^6	2×10^6	5×10^5
T2	5×10^5	4×10^5	4×10^5	1×10^6	4×10^5
T3	6×10^6	5×10^5	2×10^6	9×10^6	3×10^6
T4	2×10^5	2×10^5	4×10^5	8×10^5	3×10^5
T5	2×10^5	2×10^5	3×10^6	3×10^6	1×10^6
T6	2×10^4	1×10^5	1×10^7	1×10^7	4×10^6
T7	2×10^4	3×10^5	8×10^6	8×10^6	3×10^6
T8	1×10^4	3×10^4	4×10^6	4×10^6	1×10^6
T9	3×10^4	2×10^5	9×10^6	9×10^6	3×10^6
T10	1×10^4	8×10^4	6×10^6	6×10^6	2×10^6
T11	2×10^4	4×10^6	1×10^6	5×10^6	2×10^6
T12	1×10^5	7×10^6	2×10^6	9×10^6	3×10^6
ΣREP.	7×10^6	1×10^7	5×10^7	7×10^7	2×10^6

La NTE INEN N° 9 establece que una leche:

A (Buena)	Hasta 5×10^5
B (Regular)	Desde 5×10^5 , hasta $1,5 \times 10^6$
C (Mala)	Desde $1,5 \times 10^6$, hasta 5×10^6
D (Muy Mala)	Más de 5×10^6

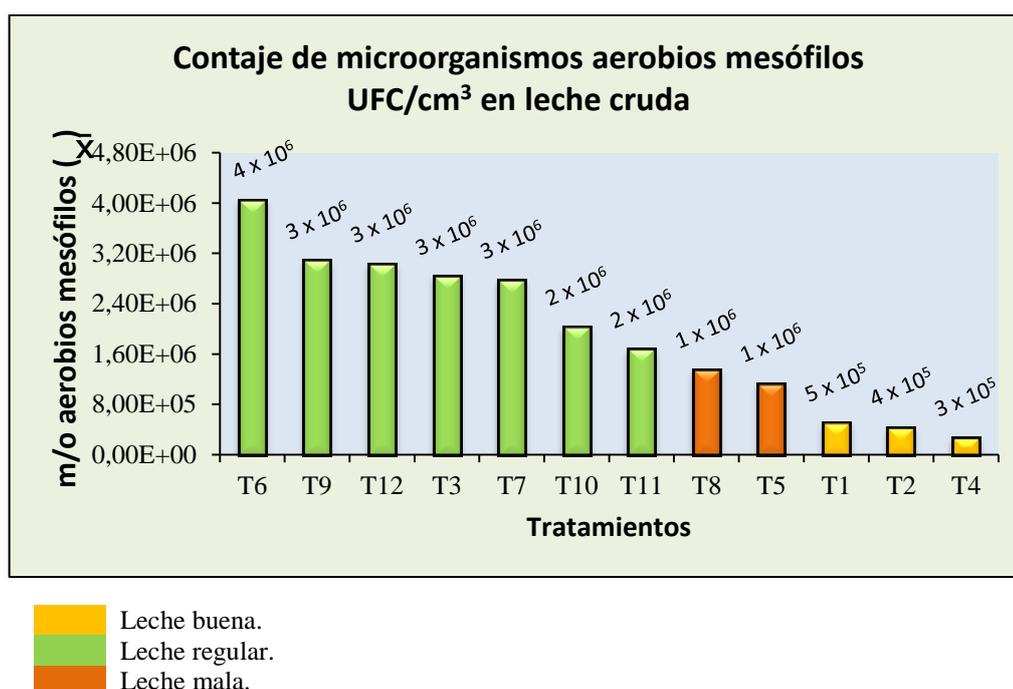
Por lo tanto considerando que existe una clasificación de las leches, podemos decir que los tratamientos **T1**, **T2** y **T4** se encuentran en la categoría **A**, ya que se encuentran dentro del estándar permitido, por lo tanto son leches buenas; los tratamientos T5 y T8 se ubican en la categoría B son leches regulares; mientras que los tratamientos T3, T6, T7, T9, T10, T11 y T12 se encuentran en la categoría C, y son consideradas leches malas, llegándose a concluir que esta contaminación microbiana es el resultado de deficientes prácticas higiénicas y cuidados durante el ordeño, manipulación, almacenamiento y que la leche no es enfriada

inmediatamente para retardar el crecimiento microbiano. Lo cual permite que microorganismos de la piel de los pezones, manos del ordeñador, equipo de ordeño, baldes y todo el entorno de ordeño lleguen a la leche, en este contexto se puede deducir fácilmente el resultado obtenido de las leches en estudio.

Esta es la fuente de contaminación más importante y variable, ya que aporta un gran número de microorganismos con diferentes propiedades microbiológicas.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 14: Comportamiento de los valores medios para la variable Contaje de microorganismos aerobios mesófilos



En el gráfico se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del estándar permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y se las clasifica como leches buenas aptas para el consumo, las barras de color tomate representan a leches de categoría regular y las barras de color verde representan a los tratamientos que representan a leches clasificadas como malas

por lo que no son aceptadas. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T1, T2 y T4 cumplen con el estándar para estar en la categoría de leches buenas, los tratamientos T8 y T5 son leches regulares, mientras que los tratamientos T6, T9, T12, T3, T7, T10 y T11 son leches malas.

4.1.14 Análisis de la variable Contaje de Enterobacterias

Las enterobacterias comprenden un grupo de bacterias provenientes del sistema gastrointestinal, tanto de animales como del ser humano, es un bacilo gram negativo y se las denomina bacterias oportunistas porque se aprovechan de las ricas condiciones nutricionales que tiene la leche y llega a ella porque ha entrado en contacto con materiales contaminados y por la mala higiene del personal de ordeño, dentro de estos microorganismos contaminantes se encuentran los géneros *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia Coli*, *Yersinia*, *Serratia*, *Enterobacter*, etc.

Esta variable se analizó para detectar contaminación por bacterias de origen fecal, animal o humano, ya que tiene gran importancia desde dos puntos de vista, higiénico: ya que varias de estas especies tienen poder patógeno, de las cuales la más temible es la *Salmonella* y otras que pueden provocar trastornos gastrointestinales (*Yersinia*, *E. Coli*, *Shigella*); y tecnológico: ya que son bacterias heterofermentativas, grandes productoras de gas (carbónico e hidrógeno) además producen sustancias viscosas y de sabor desagradable, todo lo cual conduce a la alteración de la leche o subproductos.

A continuación se presentan los valores de la variable contaje de Enterobacterias, para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones.

Cuadro 44: Valores obtenidos de la variable Contaje de Enterobacterias (UFC/ml)

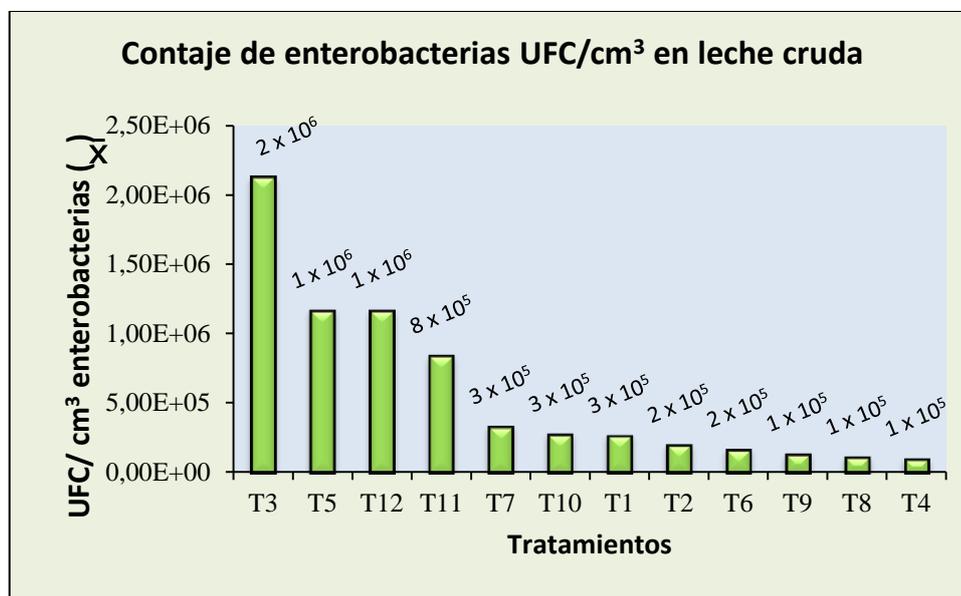
Rep Trat	I	II	III	ΣTRAT	MEDIA
T1	3×10^5	2×10^5	3×10^5	8×10^5	3×10^5
T2	2×10^5	2×10^5	2×10^5	6×10^5	2×10^5
T3	5×10^6	4×10^5	1×10^6	6×10^6	2×10^6
T4	6×10^4	4×10^4	2×10^5	3×10^5	1×10^5
T5	2×10^4	5×10^5	3×10^6	4×10^6	1×10^6
T6	1×10^5	2×10^5	2×10^5	5×10^5	2×10^5
T7	2×10^5	3×10^5	5×10^5	1×10^6	3×10^5
T8	2×10^4	2×10^4	3×10^5	3×10^5	1×10^5
T9	2×10^5	2×10^5	1×10^4	4×10^5	1×10^5
T10	2×10^4	1×10^4	8×10^5	8×10^5	3×10^5
T11	3×10^4	2×10^6	5×10^5	3×10^6	8×10^5
T12	3×10^5	3×10^6	2×10^5	4×10^6	1×10^6
ΣREP.	6×10^6	7×10^6	7×10^6	2×10^7	6×10^5

El cuadro muestra que todos los tratamientos presentan Enterobacterias. Ningún tratamiento es aceptable, su presencia en la leche indica una higiene deficiente de la piel de los pezones, manos del ordeñador, equipo, así como un pobre manejo de la rutina de ordeño, métodos de producción, transporte, etc. y ocasiona acidificaciones, lo que causa daños en la leche y sus productos.

La cantidad de microorganismos está en función de las prácticas de higiene y sanidad, observadas en el manejo del producto durante su producción, transporte y venta.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 15: Comportamiento de los valores medios para la variable Contaje de Enterobacterias



 No Cumplen con la NTE INEN N° 9

En el gráfico se representa mediante barras de color verde a los tratamientos que no cumplen con la NTE INEN N° 9 de la leche cruda. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que ningún tratamiento es aceptable.

4.1.15 Análisis de la variable Contaje de Células Somáticas

Esta variable es una medición de la severidad de las mastitis presentes en el rebaño. En general, el recuento de células somáticas refleja solamente la prevalencia de mastitis sub clínicas.

El Informe de resultados del contaje de células somáticas se presenta en el anexo N°16.

A continuación se presentan los valores de la variable contaje de Células Somáticas, para cada tratamiento con sus respectivas repeticiones.

Cuadro 45: Valores obtenidos de la variable Contaje de Células Somáticas (CCS x 1000/ml) – Patrón 750

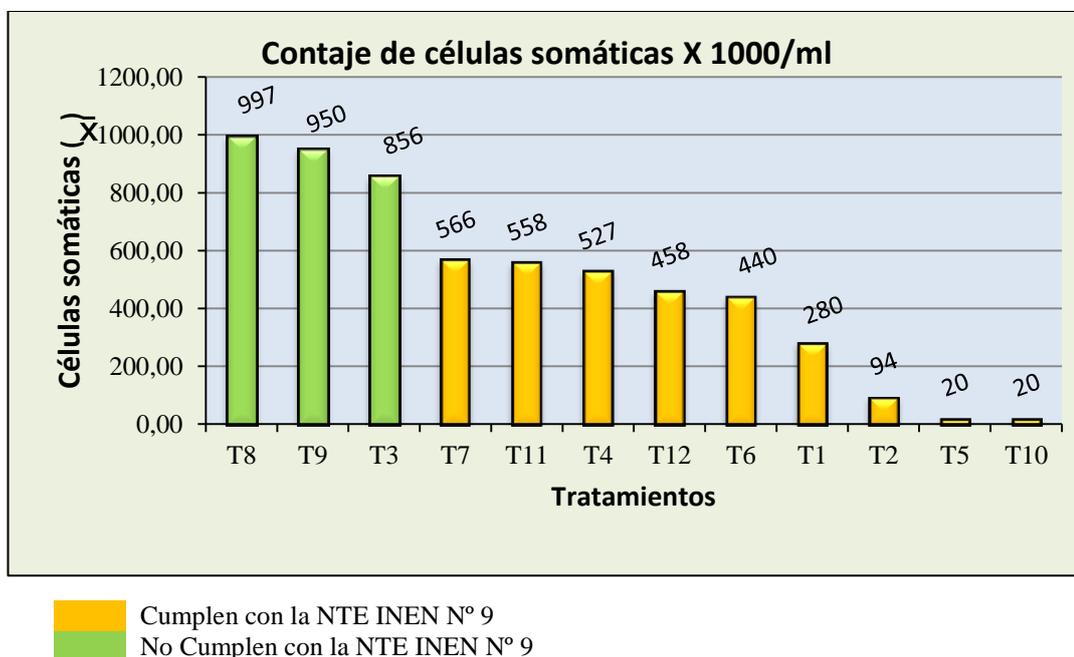
Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	373	148	318	839	280
T2	71	187	23	281	94
T3	16	2431	122	2569	856
T4	155	1335	90	1580	527
T5	15	21	25	61	20
T6	231	941	148	1320	440
T7	199	1313	187	1699	566
T8	280	280	2431	2991	997
T9	757	757	1335	2849	950
T10	19	19	21	59	20
T11	366	366	941	1673	558
T12	31	31	1313	1375	458
Σ REP.	2513	7829	6954	17296	480

La NTE INEN N° 9 establece que la leche debe tener *VMP = Valor máximo permitido Contaje de Células Somáticas: 750 x 1000/ml; por encima de este valor se trata de leche proveniente de un rodeo con alta prevalencia de infecciones intramamarias.

De acuerdo al cuadro N°45, los tratamientos **T1, T2, T4, T5, T6, T7, T10, T11 y T12** cumplen con el valor máximo en células somáticas que puede contener una leche cruda; mientras que los tratamientos T3, T8 y T9 se encuentran fuera de la norma, ya que sobrepasan el valor máximo permitido que es 750 x 1000/ml, llegándose a concluir que son leches mastíticas.

Para interpretar de mejor manera los resultados, se presenta el siguiente gráfico.

Gráfico 16: Comportamiento de los valores medios para la variable Contaje de Células Somáticas



En el gráfico se representa mediante las barras de color amarillo a los tratamientos que están dentro del rango permitido por la NTE INEN N° 9 de la leche cruda y las barras de color verde representan a los tratamientos que no están dentro del rango, por lo que no cumplen con el requisito establecido. Tomando en consideración lo antes descrito puede apreciarse que los tratamientos T7, T11, T4, T12, T6, T1, T2, T5 y T10 cumplen con el valor máximo permitido, mientras que los tratamientos T8, T9 y T3 sobrepasan el valor máximo permitido para leches crudas en contaje de Células Somáticas: 750 x 1000/ml.

4.2 SOCIALIZACIÓN

El día 14 de Diciembre de 2010, a las 04:00 pm, en la Tenencia Política de la Parroquia Los Andes del Cantón Bolívar provincia del Carchi, se llevo a cabo la conferencia dirigida a productores, transportistas y expendedores sobre el manejo adecuado de la leche, contando con



Foto 14: Asistentes a la conferencia

la participación de 17 personas, dónde se trataron los temas contenidos en el manual desarrollado como parte de la tesis y distribuidos en la conferencia dictada.

La conferencia se desarrolló en una hora de exposición, presentándose inquietudes por parte de los productores, transportistas y expendedores en temas como: manejo y control de la mastitis, uso de desinfectantes para aplicar en glándulas mamarias de vacas, desconocimiento de casas comerciales que expenden productos veterinarios, capacitación en pruebas rápidas de control de calidad de la leche (prueba de alcohol, acidez, densidad, peróxidos) y técnicas de enfriamiento principalmente.

Al final de la exposición se plantearon sugerencias por parte de los ganaderos que salen de los objetivos planteados en esta tesis, las sugerencias en temas que son de interés que se trate se encuentran anteriormente citadas.

Firmas de los asistentes a la conferencia en la Parroquia los Andes cantón Bolívar, anexo N°18.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Luego de haber realizado la investigación sobre la “Evaluación de la calidad Físico Química y Microbiológica de la leche cruda que se expende en el Cantón Bolívar provincia del Carchi”, se plantea las siguientes conclusiones:

- ❖ La densidad de las muestras de leche cruda, estableció que los tratamientos T7, T9, T1, T8, T5, T6, T12 cumplen con la Norma INEN 9 ya que están dentro del rango de 1,029 a 1,033 g/cm³ a 15 °C, a diferencia de los tratamientos T2, T3, T4, T11 y T10 que se encuentran por debajo del mínimo permitido que es 1,029 g/cm³, demostrándose que han sido adulteradas con agua.
- ❖ En cuanto a la variable acidez titulable, los tratamientos T5, T12, T7, T6, T9, T1, T8 y T2 cumplen con la INEN 9 el cual establece un rango de 0,13 a 0,16 % como ácido láctico, a diferencia de los tratamientos T10, T3, T11 y T4 que están por debajo del porcentaje mínimo permitido que es 0,13 %, lo que nos indica presencia de calostro, descomposición microbiana, y adición de agua.
- ❖ En lo referente a la prueba de alcohol, los resultados de los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T7 y T12 dieron resultado negativo por lo tanto son leches

aptas para ser sometidas a pasteurización; los tratamientos T6, T10 y T11 dieron resultado positivo indicando la presencia de bacterias, acidificación o que contienen calostro, mientras que los tratamientos T8 y T9 no son leches confiables puesto que se obtuvieron resultados positivos y negativos.

- ❖ En el análisis de almidón e identificación de peróxido de hidrógeno los resultados dieron negativo para todos los tratamientos por lo tanto cumplen con la norma INEN 9, no contienen adulterantes (harina, almidón), como tampoco existe adición de conservantes (peróxido de hidrógeno).
- ❖ En el análisis porcentaje de grasa, sólidos no grasos y sólidos totales los tratamientos T9, T7, T8, T6, T1, T12, T5, T3 y T4 cumplen con la normativa establecida de 3,2 %, 8,2 % y 11,4 % respectivamente, a diferencia de los tratamientos T2, T11 y T10 que presentan valores inferiores al establecido, por lo que se concluye que están adulteradas con agua y que su posibilidad de rendimiento industrial y valor nutritivos son bajos, debido a esta adulteración.
- ❖ El análisis punto de congelación, contenido de proteína y ceniza determinó que los tratamientos T6, T7, T1, T12, T9, y T5 cumplen con la norma INEN 9, ya que están dentro del rango establecido de -0,536 a -0,512 máximo, 2,9 % y 0,65 % respectivamente mientras que los tratamientos T8, T3, T2, T4, T11 y T10 está fuera de la norma, llegándose a concluir que son leches adulteradas con agua.
- ❖ Con respecto al análisis microbiológico contaje de microorganismos aerobios mesófilos, los mejores tratamientos fueron T1, T2 y T4, ubicándose en la categoría A de leches buenas, T8 y T5 se ubican en la categoría regular, mientras que T6, T9, T12, T3, T7, T10 y T11 se ubican en la categoría de leches malas. Concluyéndose que esta contaminación microbiana es el resultado de deficientes prácticas higiénicas y cuidados durante el ordeño, manipulación, almacenamiento y que la leche no es enfriada inmediatamente para retardar el crecimiento microbiano.

- ❖ En cuanto al contaje de enterobacterias ninguno de los tratamientos es aceptable, ya que su presencia en la leche se relaciona con contaminación de origen fecal (animal y humano) las que no deberían encontrarse, indican una higiene deficiente de los pezones, manos del ordeñador, equipo, así como un pobre manejo de la rutina de ordeño, métodos de producción y transporte.
- ❖ Respecto al contaje de células somáticas, los tratamientos T7, T11, T4, T12, T6, T1, T2, T5 y T10 de acuerdo a la norma INEN 9 están dentro del valor máximo permitido, por lo tanto cumplen con la normativa, mientras que los tratamientos T8, T9 y T3 sobrepasan el valor máximo permitido para leches crudas el cual es de (750 x 1000/ml), sobre este valor se trata de leche proveniente de un rodeo con alta prevalencia de infecciones intramamarias, no apta para el consumo humano.
- ❖ De lo mencionado anteriormente se concluye que los mejores tratamientos son el T6 y T7, siendo los que cumplen con los parámetros físicos, químicos y microbiológicos establecidos en la norma técnica ecuatoriana INEN 09-2009. El resto de tratamientos evaluados, indican que: sea por el ordeñador, transportista o expendedor, la leche pierde sus características nutricionales y de calidad higiénica, pudiendo ser perjudicial para el consumidor final.
- ❖ Desde el punto de vista de Salud Pública, no es recomendable el consumo de leche cruda debido a que no se dispone de la tecnología adecuada para obtener leche apta para el consumo humano sin que sea sometida a un tratamiento térmico. La inexistencia de cadena de frío, luego del ordeño, durante el transporte y en los sitios de expendio, además de la ausencia de equipos y recipientes necesarios para que la leche se conserve a temperaturas adecuadas, permite la multiplicación de bacterias, alterando la calidad original de la leche. El crecimiento microbiológico, se ve alterado cuando se aplica una refrigeración oportuna con temperaturas entre 2 y 4 °C.

- ❖ En muchas fincas no se ejecutan prácticas de ordeño y manejo adecuadas de este producto tan delicado y el resultado es leche de baja calidad higiénica, contaminada por microorganismos.

- ❖ Ningún productor evaluado realiza prácticas de conservación, e higiene idónea durante el proceso de ordeño, transporte y expendio de la leche.

- ❖ La adulteración inescrupulosa en la leche cruda en el cantón Bolívar Provincia del Carchi, no solo perjudica económicamente al consumidor, sino que atenta también a la salud de este, debido a la falta de control por parte de entidades públicas.

5.2 RECOMENDACIONES

El desarrollo de la presente investigación, permite sugerir las siguientes recomendaciones:

- ❖ Deben ejecutarse programas sanitarios preventivos por parte de las autoridades municipales con el fin de garantizar un producto de buena calidad.
- ❖ Se recomienda que para trabajos posteriores relacionados con este tema que compromete la salud de los consumidores, el departamento municipal a cargo, realice un seguimiento de acuerdo a los requisitos establecidos por la NTE INEN 09.
- ❖ Desarrollar una estrategia que lleve a poner en práctica lo establecido en el MANUAL TÉCNICO DEL MANEJO DE LA LECHE CRUDA.
- ❖ Se comprometan todos y cada uno de los elementos de la cadena, relacionados con la producción de la leche y su calidad para el cumplimiento de lo que establezcan las autoridades municipales.
- ❖ Se recomienda al consumidor final, tomar las debidas precauciones ya sea pasteurizando o hirviendo la leche antes de su consumo.
- ❖ Se recomienda que para trabajos posteriores relacionados con este tema, la Universidad Técnica del Norte establezca convenios con los gobiernos municipales, a fin de que los estudiantes de la carrera de Ingeniería Agropecuaria compartan sus conocimientos brindando talleres de capacitación.

CAPÍTULO VI

RESUMEN

El presente trabajo se basa en la “EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE CRUDA QUE SE EXPENDE EN EL CANTÓN BOLÍVAR PROVINCIA DEL CARCHI”.

En el cantón Bolívar, provincia del Carchi, se expende a la población leche cruda en tarros de aluminio y barriles de plástico, generalmente en camionetas abiertas. Al no existir control de la calidad de la leche que se expende, el Departamento de Gestión Ambiental del Municipio solicita a la Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Técnica del Norte que se realice un control para determinar que muestras de leche cumplen con lo establecido en la NTE INEN 09, además el cuidado en el momento del ordeño, recolección, transporte, conservación, higiene y adulteraciones por diversos procedimientos, condiciones que ayudan a mantener una leche de calidad.

Por tratarse de un experimento donde el factor en estudio es la leche cruda, para el análisis estadístico se aplicó un Diseño Completamente al Azar (D.C.A), con doce tratamientos con tres repeticiones cada uno, un análisis funcional de prueba de Tukey al 5 % para tratamientos, además de calcularse el coeficiente variación (C.V) y la unidad experimental estuvo conformada por un litro de leche cruda por tratamiento. Los tratamientos fueron seleccionados al azar de tres parroquias. Los Andes, García Moreno y Bolívar.

Las variables analizadas fueron: determinación de la densidad a 15 °C, determinación de la acidez titulable, prueba de alcohol, detección de almidón, cuantificación de peróxido de hidrógeno, contenido de grasa, determinación de sólidos no grasos, determinación de sólidos totales, determinación del punto de congelación, agua añadida, contenido de proteínas, contenido de cenizas, presencia de antibióticos, conteo de microorganismos aerobios mesófilos, conteo de Enterobacterias y conteo de Células Somáticas.

La fase experimental de la presente investigación se realizó en el “Laboratorio de Uso Múltiple de la Universidad Técnica del Norte”, ubicado en la ciudad de Ibarra. Los análisis de determinación de presencia de antibióticos y conteo de células somáticas se los efectuó en el Laboratorio de Calidad de Leche de la Universidad Politécnica Salesiana ubicado en Cayambe.

Al evaluar los resultados obtenidos de los análisis físicos químicos y microbiológicos se deduce que los tratamientos que cumplen con los requisitos establecidos en la norma INEN 9 en cada variable son los siguientes:

Parámetro	Porcentaje de cumplimiento	Tratamientos que cumplen
Densidad a 15 °C (g/cm ³)	58,33	T7, T9, T1, T8, T5, T6 y T12
Acidez (% ácido láctico)	66,66	T5, T12, T7, T6, T9, T1, T8 y T2
Prueba de alcohol	58,33	T1, T2, T3, T4, T5, T7 y T12
Detección de almidón	100	Negativo en todos los tratamientos
Cuantificación de peróxido de hidrógeno	100	Negativo en todos los tratamientos
Contenido de grasa (%)	66,66	T6, T8, T12, T3, T1, T9, T5 y T7
Contenido de sólidos no grasos (%)	75,00	T9 T7 T8 T6 T1 T12 T5 T3 y T4
Contenido de sólidos totales (%)	75,00	T6, T1, T12, T8, T9, T7, T5, T3 y T4
Punto de congelación (°C)	50,00	T6, T7, T1, T12, T9 y T5
Contenido de proteína (%)	58,33	T7, T6, T1, T9, T12, T5 y T8
Contenidos de cenizas (%)	50,00	T1, T5, T6, T7, T12 y T9
Presencia de antibióticos	100	Negativo en todos los tratamientos
Contenido de microorganismos aerobios mesófilos (UFC/ml)	25,00	T1, T2 y T4
Contaje de enterobacterias (UFC/ml)	0,00	Positivo en todos los tratamientos
Contaje de células somáticas	75,00	T7, T11, T4, T12, T6, T1, T2, T5 y T10

Los resultados obtenidos en esta investigación, se pone en conocimiento y consideración de autoridades y público en general en lo referente a la calidad de la leche cruda que se consume en el Cantón Bolívar provincia del Carchi.

SUMMARY

This present work is base in the **“EVALUATION OF THE PHYSICAL-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL OF RAW MILK THAT FOR SALE IN THE CITY BOLIVAR, CARCHI PROVINCE”**.

In the city Bolivar, Carchi Province, for sale to the population raw milk in aluminum containers and plastic barrels, usually is small truck. No exist quality control of the milk for sale the Departament of Intervention Environmental of Municipality, requestto the Faculty of Engineering Sciences Agropecuarie and Environmentals of the North Technical University that realize a control for determine the samples of milk meet with established in the NTE INEN 09, moreover, the care at the time of milking, recollection, transport, conservation, hygiene and adulterations by various methods, conditions that help maintain milk quality.

By treatate an experiment that factor in studied is the raw milk, by the statistic analysis is applied a completely randomized desing (C.D.R), with twelve treatments, and with three repetitions each, a functional analysis of Tukey test to 5% for treatments, moreover calculated the coefficient of variation (C.V) and the experimental unit was adapt of one liter of raw milk for treatment.

The treatments were selected to randomly from three parish, Los Andes, Garcia Moreno and Bolivar.

The variables analyzed were: determination of the density at 15 ° C, determination of acidity ,alcohol test, detection of starch, quantification of hydrogen peroxide, grease content, determination of no greases solids, determination of total solids, determination freezing point, protein content, ash content, presence of antibiotics, aerobic platecount, enterobacteriaceae count y and somatic cell count.

The experimental phase of the investigation present was done in the Multi-use Laboratory of “The North Technical University” located in the Ibarra city. The analysis determined the presence of antibiotics and somatic cell count performed in the milk quality Laboratory of the Salesian Polytechnic University located in Cayambe.

To the evaluate the results getting of the physical-chemical and microbiological analysis is deduce that the treatments that fulfilling with the requirements established in the standard INEN 9 in each variable are:

Parametric	Percentage of compliment	Treatments of compliment
Density at 15 ° C (g/cm ³)	58,33	T7, T9, T1, T8, T5, T6 y T12
Acidity (% acid lactic)	66,66	T5, T12, T7, T6, T9, T1, T8 y T2
Alcohol test	58,33	T1, T2, T3, T4, T5, T7 y T12
Detection of starch	100	Negative in all treatments
Quantification of hydrogen peroxide	100	Negative in all treatments
Grease content (%)	66,66	T6, T8, T12, T3, T1, T9, T5 y T7
Determination of no greases solids (%)	75,00	T9 T7 T8 T6 T1 T12 T5 T3 y T4
Determination of total solids (%)	75,00	T6, T1, T12, T8, T9, T7, T5, T3 y T4
Determination freezing point (°C)	50,00	T6, T7, T1, T12, T9 y T5
Protein content (%)	58,33	T7, T6, T1, T9, T12, T5 y T8
Ash content (%)	50,00	T1, T5, T6, T7, T12 y T9
Presence of antibiotics	100	Negative in all treatments
Aerobic platecount (UFC/ml)	25,00	T1, T2 y T4
Enterobacteriaceae count (UFC/ml)	0,00	Positive in all treatments
Somatic cell count	75,00	T7, T11, T4, T12, T6, T1, T2, T5 y T10

The results getting in this investigation on understanding and consideration of the authorities and general public in the referring to the raw milk quality that consumed in the city Bolivar, Carchi Province.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA

- CENDES, “Leche y sus productos lácteos. Características, propiedades físicas, químicas, bacteriológicas”, Quito. Ecuador. 1982.
- Terranova editores Enciclopedia Agropecuaria Tomo I Producción agrícola Editorial Impresos S.A. Bogotá - Colombia. 1995 pp. 224 - 226
- Terranova editores Enciclopedia Agropecuaria Tomo V. Ingeniería Agroindustria Editorial Impresos S.A. Bogotá - Colombia. 1995 pp. 112 - 126.
- Primary production of milk. Tetra Pak Processing Systems AB S-22186, Lund, Suecia 2003.
- F.M. Luquet. Leche y productos Lácteos. Editorial Acribia, SA. Zaragoza - España 1993.
- J.W.G Porter. Leche y productos lácteos. Editorial Acribia. Zaragoza - España 1981.
- Richard Ellner. Microbiología de la leche y de los productos lácteos. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Madrid España 2000.
- Manual del ganadero actual Tomo I. Grupo Latino LTDA. Bogotá - Colombia 2004.
- Leche y productos lácteos. Editado por Pancreat Química, S.A. 044 - 15 - 500 - 7/99
- Batty, J y Folman, L. Fundamentos de Ingeniería de los alimentos. Editorial continental, S.A. México 1983.

Bibliografía Electrónica

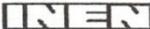
- [Documento en línea]. Disponible:
http://www.science.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/LA_LECHE/le_html/cap3_1eche.htm. Título buscado: “Leche cruda”. [Consulta: 2009/09/16]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.mailxmail.com/curso-leche-produccion-lactea/lechedefinicion-composicion> Título buscado: “Definición de leche”. [Consulta: 2009/09/16]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://latinut.net/micro/documentos/leche.pdf>. Título buscado: “Definición de la leche”. [Consulta: 2009/09/16]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.geocities.com/jpardo16/pausteri.html>. Título buscado: “Propiedades organolépticas de leche”. [Consulta: 2009/09/16]
- [Documento en línea]. Disponible:
www.unapiquitos.edu.pe. Título buscado: “Componentes de la leche”. [Consulta: 2009/09/16]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.elergonomista.com/alimentos/alteracion.htm>. Título buscado: “Alteraciones de la leche”. [Consulta: 2009/09/17]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.mundohelado.com/materiasprimas/leche/lalecheconservacion.htm>
Título buscado: “Conservación de la leche”. [Consulta: 2009/09/17]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.mailxmail.com/curso-leche-produccionlactea/microorganismo-leche-crud>. Título buscado: “Microorganismos de la leche”. [Consulta: 2009/09/17]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.mailxmail.com/curso-leche-produccion-lactea/calidad-leche>.
Título buscado: “Características de la leche”. [Consulta: 2009/09/17]

- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.misionrg.com.ar/lacconta.htm#contaminaci%C3%93n%20de%20la>. Título buscado: “Contaminación de la leche”. [Consulta: 2009/09/17]
- [Documento en línea]. Disponible:
http://www.sica.gov.ec/cadenas/leche/docs/produccion_link2.htm. Título buscado: “Producción de leche”. [Consulta: 2009/09/27]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.monografias.com/trabajos6/lacte/lacte.shtml>. Título buscado: “Composición de la leche”. [Consulta: 2009/09/28]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.scribd.com/doc/24353285/1-LECHE-Y-LACTEOS>. Título buscado: “Leche cruda”. [Consulta: 2010/01/28]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.copanswabs.com/products/cmt/howtouse.php>. Título buscado: “Test antibióticos en la leche”. [Consulta: 2010/02/14]
- [Documento en línea]. Disponible:
<http://www.scribd.com/doc/6906371/Microbiologia-de-Alimentos-Control-Microbiologico-de-La-Leche> . Título buscado: “Microorganismos de la leche”. [Consulta: 2009/09/29]

CAPÍTULO VIII

ANEXOS

Anexo 1: NTE INEN 9. Leche cruda requisitos.

	
INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN	
Quito - Ecuador	
<hr/>	
NORMA TÉCNICA ECUATORIANA	NTE INEN 9: 2008
	Cuarta Revisión
<hr/>	
LECHE CRUDA. REQUISITOS.	
Primera Edición	
RAW MILK. SPECIFICATIONS.	
First Edition	
<hr/>	
DESCRIPTORES: Leche y productos lácteos, leche cruda, requisitos	
AL 03.01-401	
CDU: 637.133.4	
CIIU: 3112	
ICS: 67.100.01	

Norma Técnica
Ecuatoriana
Obligatoria

LECHE CRUDA.
REQUISITOS.

NTE INEN
9:2008
Cuarta revisión
2008-12

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3599 – Baquerizo Moreno EB-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohíbe la reproducción

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la leche cruda de vaca.

2. DEFINICIONES

2.1 **Leche cruda.** Es el producto de la secreción normal de las glándulas mamarias, obtenida a partir del ordeño íntegro e higiénico de vacas sanas, sin adición ni sustracción alguna, exento de calostro y libre de materias extrañas a su naturaleza, destinado al consumo en su forma natural o a elaboración ulterior (Ver Nota 1)

3. CLASIFICACION

3.1 Según el recuento estándar en placa ufc/cm³ de microorganismos aerobios mesófilos, determinado de acuerdo a la NTE INEN 1529-5, la leche cruda se clasifica en las siguientes cuatro categorías (ver tabla 3):

- a) *Categoría A (buena)*
- b) *Categoría B (regular)*
- c) *Categoría C (mala)*
- d) *Categoría D (muy mala)*

4. DISPOSICIONES GENERALES

4.1 La leche cruda se considera no apta para consumo humano cuando:

4.1.1 No cumple con los requisitos establecidos en el Capítulo 5 de la presente norma.

4.1.2 Es obtenida de animales cansados, deficientemente alimentados, desnutridos, enfermos o manipulados por personas afectadas de enfermedades infectocontagiosas.

4.1.3 Contiene sustancias extrañas ajenas a la naturaleza del producto como: conservantes (formaldehído, peróxido de hidrógeno, hipocloritos, cloraminas, dicromato de potasio, lactoperoxidasa adicionada), adulterantes (harinas, almidones, sacarosa, cloruros, suero de leche, grasa vegetal), neutralizantes, colorantes y antibióticos, en cantidades que superen los límites indicados en la tabla 1.

4.1.4 Contiene calostro, sangre, o ha sido obtenida en el periodo comprendido entre los 12 días anteriores y los 7 días posteriores al parto.

4.1.5 Contiene gérmenes patógenos o un conteo microbiano superior al máximo permitido por la presente norma, toxinas microbianas o residuos de pesticidas, medicamentos veterinarios y metales pesados en cantidades superiores al máximo permitido.

4.2 La leche cruda después del ordeño debe ser enfriada, almacenada y transportada hasta los centros de acopio y/o plantas procesadoras en recipientes apropiados autorizados por la autoridad sanitaria competente.

4.3 En los centros de acopio la leche cruda debe ser filtrada y enfriada, a una temperatura inferior a 10°C con agitación constante

4.4 Los límites máximos de pesticidas serán los que determine el Codex Alimentarius (volumen 2) y/o el USDA

(Continúa)

NOTA 1: La denominación de leche cruda se aplica para la leche que no ha sufrido tratamiento térmico, salvo el de enfriamiento para su conservación ni ha tenido modificación alguna en su composición

DESCRIPTORES: Alimentos, productos lácteos, leche cruda, Requisitos

4.5 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios serán los que determine el Codex Alimentario (volumen 3) y/o el USDA.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos Específicos

5.1.1 Requisitos organolépticos (ver nota 2)

5.1.1.1 *Color.* Debe ser blanco opalescente o ligeramente amarillento.

5.1.1.2 *Olor.* Debe ser suave, lácteo característico, libre de olores extraños.

5.1.1.3 *Aspecto.* Debe ser homogéneo, libre de materias extrañas.

5.1.2 Requisitos físicos y químicos

5.1.2.1 La leche cruda, debe cumplir con los requisitos físico-químicos que se indican en la tabla 1.

5.1.3 *Contaminantes.* El límite máximo para contaminantes es el que se indica en la tabla 2.

TABLA 2. Límites para contaminantes

Contaminante	Límite Máximo (LM)	Método de ensayo
Plomo, mg/kg	0,02	AOAC – 972.25
Aflatoxina M1, mg/kg	0,5	AOAC – 980.21

5.1.4 Requisitos microbiológicos y TRAM para clasificación

5.1.4.1 Los requisitos microbiológicos y TRAM para clasificación se establecen en la tabla 3 y su validez está condicionada a la comprobación de la presencia de conservantes o neutralizantes.

TABLA 3. Clasificación de la leche cruda de acuerdo al TRAM o al contenido de microorganismos

Categoría	Tiempo de Reducción del Azul de Metileno (TRAM) NTE INEN 18	Contenido de microorganismos aerobios mesófilos REP UFC/cm ³ NTE INEN 1529-5
A (buena)	Más de 5 horas*	Hasta 5×10^5
B (regular)	De 2 a 5 horas	Desde 5×10^5 , hasta $1,5 \times 10^6$
C (mala) ¹⁾	De 30 minutos a 2 horas	Desde $1,5 \times 10^6$, hasta 5×10^6
D (muy mala) ¹⁾	Menos de 30 minutos	Más de 5×10^6

* Puede deberse a la presencia de conservantes por lo que se recomienda su identificación según la NTE INEN 1500.

¹⁾ La leche de categoría C y D no se acepta para ser procesada

6.2 Requisitos complementarios

6.2.1 El almacenamiento, envasado y transporte de la leche cruda debe realizarse de acuerdo a lo que señala el Reglamento de leche y productos lácteos.

NOTA 2. Se podrán presentar variaciones en estas características, en función de la raza, estación climática o alimentación pero estas no deben afectar significativamente las características sensoriales indicadas

(Continúa)

TABLA 1. Requisitos físico – químicos de la leche cruda

REQUISITOS	UNIDAD	MIN.	MAX.	MÉTODO DE ENSAYO
Densidad relativa: a 15 °C a 20 °C	- -	1,029 1,026	1,033 1,032	NTE INEN 11
Materia grasa	%(m/m)	3,2	-	NTE INEN 12
Acidez titulable como ácido láctico	%(m/m)	0,13	0,16	NTE INEN 13
Sólidos totales	%(m/m)	11,4	-	NTE INEN 14
Sólidos no grasos	%(m/m)	8,2	-	*
Cenizas	%(m/m)	0,65	-	NTE INEN 14
Punto de congelación (punto crioscópico) **	°C °H	-0,536 -0,555	-0,512 -0,530	NTE INEN 15
Proteínas	%(m/m)	2,9	-	NTE INEN 16
Ensayo de reductasa (azul de metileno)***	h	2	-	NTE INEN 18
Reacción de estabilidad proteica (prueba de alcohol)	No se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol neutro de 65 % en peso o 75 % en volumen			NTE INEN 1 500
Presencia de conservantes ¹⁾	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de neutralizantes ²⁾	-	Negativo		NTE INEN 1500
Presencia de adulterantes ³⁾	-	Negativo		NTE INEN 1500
Grasas vegetales	-	Negativo		NTE INEN 1500
Suero de Leche	-	Negativo		NTE INEN 2401
Prueba de Brucelosis	-	Negativo		Prueba de anillo PAL (Ring Test) AOAC – 978.26
Contaje de células somáticas	-		750 000	
Antibióticos:				
β-Lactámicos	µg/l	-	5	AOAC –988.08
Tetraciclínicos	µg/l	-	100	16 Ed. Vol. 2
Sulfas	µg/l	-	100	
<p>* Diferencia entre el contenido de sólidos totales y el contenido de grasa. ** °C= °H · f, donde f= 0,9658 *** Aplicable a la leche cruda antes de ser sometida a enfriamiento 1) Conservantes: formaldehído, peróxido de hidrógeno, cloro, hipocloritos, cloraminas, lactoperoxidasa adicionada y dióxido de cloro. 2) Neutralizantes: orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio, jabones. 3) Adulterantes: Harina y almidones, soluciones azucaradas o soluciones salinas, colorantes, leche en polvo, suero, grasas extrañas.</p>				

6. INSPECCIÓN

6.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con la NTE INEN 4

6.2 Aceptación o rechazo

6.2.1 Se acepta el producto si cumple con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

Anexo 2: NTE INEN 4. Leche y productos lácteos. Muestreo.

Norma Ecuatoriana	LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. MUESTREO.	INEN 4 Primera Revisión														
1. OBJETO																
1.1 Esta norma establece los procedimientos para la extracción de muestras de leche y productos lácteos.																
2. TERMINOLOGIA																
2.1 Partida. Es la cantidad de material de características similares que satisface totalmente un pedido.																
2.2 Lote. Es cualquier cantidad de material de características similares, provenientes de una fuente común.																
2.3 Unidad de muestreo. Es una porción de material o un artículo individual, extraído al azar de un lote.																
2.4 Muestra. Es el conjunto de unidades de muestreo que se usa como información de la calidad de un lote.																
3. DISPOSICIONES GENERALES																
3.1 Tamaño de la muestra																
3.1.1 En casos de discrepancia o litigio, deberán tomarse las muestras de un mismo lote.																
3.1.2 Podrá usarse como unidad de muestreo el contenido total de un envase pequeño destinado a la venta al por menor, en cuyo caso el envase original no deberá abrirse o alterarse.																
3.1.3 Par a productos envasados en recipientes voluminosos, cada muestra deberá integrarse seleccionando al azar el número de recipientes indicados en la Tabla 1, extrayendo de cada uno de ellos una unidad de muestreo de masa o volumen igual al especificado para cada producto en el capítulo 5.																
TABLA 1. Muestreo para unidades voluminosas																
<table border="1"><thead><tr><th data-bbox="507 1467 831 1512">Tamaño del lote</th><th data-bbox="831 1467 1150 1512">Unidades para muestreo</th></tr></thead><tbody><tr><td data-bbox="507 1512 831 1556">1</td><td data-bbox="831 1512 1150 1556">1</td></tr><tr><td data-bbox="507 1556 831 1590">2 - 5</td><td data-bbox="831 1556 1150 1590">2</td></tr><tr><td data-bbox="507 1590 831 1624">6 - 60</td><td data-bbox="831 1590 1150 1624">3</td></tr><tr><td data-bbox="507 1624 831 1657">61 - 80</td><td data-bbox="831 1624 1150 1657">4</td></tr><tr><td data-bbox="507 1657 831 1691">81 - 100</td><td data-bbox="831 1657 1150 1691">5</td></tr><tr><td data-bbox="507 1691 831 1736">más de 100</td><td data-bbox="831 1691 1150 1736">*</td></tr></tbody></table>			Tamaño del lote	Unidades para muestreo	1	1	2 - 5	2	6 - 60	3	61 - 80	4	81 - 100	5	más de 100	*
Tamaño del lote	Unidades para muestreo															
1	1															
2 - 5	2															
6 - 60	3															
61 - 80	4															
81 - 100	5															
más de 100	*															
* 4, más 1 por cada 2 500 unidades adicionales o fracción de tal cantidad.																
<i>(Continúa)</i>																

3.1.4 Para productos envasados o empacados en recipientes o unidades pequeñas, cada muestra deberá formarse extrayendo al azar el número de unidades o recipientes indicados en la Tabla 2; cada unidad -o envase constituirá una unidad de muestreo (ver 3.1.2).

TABLA 2. Muestreo para unidades pequeñas

Tamaño del lote	Unidades para muestreo
menos de 100	1
101 - 1 000	2
1 001 - 10 000	3
más de 10 000	*

* 4, más 1 por cada 2 500 unidades adicionales o fracción de tal cantidad.

3.2 Condiciones pequeñas al muestreo

3.2.1 Deberá fijarse a cada muestra una tarjeta que incluya un número de identificación y la fecha de muestreo.

3.2.2 Los envases o empaques que contengan las unidades de muestreo deberán sellarse y marcarse con las rúbricas de las partes interesadas, y deberá suscribirse una acta de muestreo que incluya la siguiente información:

- a) número de la norma INEN de referencia: INEN 4.
- b) número de identificación de la muestra,
- c) fecha de muestreo,
- d) nombre del producto y marca comercial,
- e) identificación del lote o de la partida;
- f) masa o volumen total del lote o de la partida;
- g) número de unidades de muestreo obtenidas;
- h) lugar de procedencia del producto,
- i) lugar de toma de las muestras,
- J) observaciones que se consideren necesarias, y
- k) nombres, firmas y direcciones de las partes interesadas.

3.2.3 Las tres muestras deberán destinarse, respectivamente, al fabricante o distribuidor, a un laboratorio de análisis y a la entidad que deba actuar en caso de discrepancia.

3.2.4 La muestra destinada al laboratorio deberá enviarse tan pronto como sea obtenida, tomando precauciones durante el transporte para que no haya exposición directa del producto a la luz y para que la temperatura no sea menor de 0°C ni mayor de 10°C. Cuando las muestras sean destinadas a examen microbiológico, deberá usarse un recipiente aislado que permita mantener una temperatura comprendida entre 0°C y 5°C, excepto en el caso de productos lácteos en conserva envasados en sus recipientes originales, o en el caso de distancias cortas de transporte. Las muestras de queso deberán mantenerse en condiciones que eviten la separación de grasa o humedad, y el queso fresco deberá mantenerse siempre a una temperatura comprendida entre 0°C y 5°C.

(Continúa)

3.2.5 Para resolver en casos de discrepancia, las muestras restantes deberán almacenarse en refrigerador (ver 3.2.6) a una temperatura comprendida entre 0°C y 5°C, durante un tiempo no mayor de siete días si los ensayos no son microbiológicos, y 24 h si son microbiológicos; al cabo de este tiempo las muestras deberán eliminarse adecuadamente.

3.2.6 Podrá añadirse un preservador adecuado a las muestras de productos líquidos o quesos, cuando éstas se destinan a análisis químico o físico, siempre que el mismo no interfiera con el análisis. En tales casos, la naturaleza del preservador y la cantidad añadida deberán indicarse en la etiqueta de la muestra y en cualquier informe relativo al muestreo. No deberán añadirse preservadores a las muestras de productos sólidos o semisólidos (excepto queso) o a las muestras destinadas a ensayos microbiológicos.

3.2.7 Las unidades de muestreo podrán mezclarse antes del análisis o examinarse individualmente, según el criterio del laboratorio de análisis o por solicitud expresa de las partes interesadas.

4. INSTRUMENTAL

4.1 Características generales

4.1.1 El instrumental destinado a tomar muestras para análisis químico, físico o fisicoquímico, deberá estar completamente limpio y seco.

4.1.2 El instrumental destinado a tomar muestras para análisis microbiológico deberá estar completamente limpio y seco; además, deberá esterilizarse mediante uno de los métodos siguientes:

- a) Exposición al aire caliente a 170°C durante 2 horas. Después de esta operación, el instrumental podrá guardarse si se mantiene condiciones estériles.
- b) Exposición al vapor a 120°C, en autoclave, durante 20 min. Después de esta operación, el instrumental podrá guardarse si se mantienen condiciones estériles.
- c) Exposición al vapor a presión atmosférica durante 1,5 horas. Después de esta operación, el equipo deberá usarse el mismo día.
- d) Inmersión al alcohol etílico al 70% (V/V) y exposición a la llama hasta eliminar el alcohol, inmediatamente antes del uso.
- e) Exposición a una llama de gas (propano, butano), inmediatamente antes del uso, de modo que todas las superficies útiles del instrumental entren en contacto con la llama.

La elección del método de esterilización dependerá de la naturaleza, forma y tamaño del instrumental, y de las condiciones del muestreo. Se recomienda emplear, siempre que sea posible, el método a) ó el b).

4.1.3 Los envases destinados a contener muestras líquidas deberán reunir las siguientes características:

- a) ser de vidrio resistente a los métodos de esterilización descritos en 4.1.2;
- b) tener forma y capacidad adecuadas para contener la muestra o la unidad de muestreo y permitir su mezcla mediante agitación;

(Continúa)

- c) estar provistos de cierre hermético que evite la contaminación o alteración del producto. El cierre puede ser tapón de caucho o plástico, o tapa roscada de metal inoxidable o plástico, revestida interiormente con un sello de material plástico, impermeable, insoluble, no atacable por las grasas y que no influya en el olor, sabor o composición del producto;
- d) si se usan tapones de caucho, éstos deben cubrirse con un material plástico adecuado antes de colocarlos y presionarlos en el recipiente.

4.1.4 Los envases destinados a contener muestras sólidas o semisólidas deberán reunir las siguientes características:

- a) ser de vidrio o de material plástico resistente a los métodos de esterilización descritos en 4.1.2;
- b) tener boca ancha y capacidad adecuada para recibir y contener la muestra o la unidad de muestreo, y permitir su mezcla mediante agitación;
- c) estar provisto de cierre hermético que evite la contaminación o alteración del producto; el cierre debe ser tapa roscada de metal inoxidable o plástico, revestida interiormente con un sello de material plástico, impermeable, insoluble, no atacable por las grasas y que no influya en el olor, sabor o composición del producto.

4.1.5 El instrumental usado para la mezcla del producto y la extracción de muestras será, preferentemente, de acero inoxidable o aluminio, pero podrá usarse otros materiales adecuados (ejemplo: material estañado). Todas las superficies deberán ser lisas y no presentar hendiduras o salientes. Cuando existan soldaduras, éstas deberán ser capaces de resistir una temperatura de esterilización de 180°C.

4.2 Dispositivos

4.2.1 *Agitador de disco pequeño.* Construido de acuerdo a la figura A.1 para productos contenidos en recipientes de varios litros de capacidad.

4.2.2 *Agitador de disco grande.* Construido de acuerdo con la figura A-2 para productos contenidos en recipientes, tanques o depósitos de gran capacidad.

4.2.3 *Sacamuestras para mantequilla.* Similar al indicado en la figura A.3, de longitud suficiente para atravesar al recipiente que contiene el producto, diagonalmente hasta su base.

4.2.4 *Sacamuestras para queso.* Similar al indicado en la figura A.4 de dimensiones adecuadas al tipo de queso que debe muestrearse.

4.2.5 *Sacamuestras para leche en polvo.* Similar al indicado en la figura A.5. Debe tener un largo comprendido entre 40 y 50 cm y un diámetro exterior de aproximadamente 40 mm, y estar formado por dos tubos concéntricos de aluminio provistos de ranuras que puedan abrirse o cerrarse al girar el tubo interior. El tubo exterior debe terminar en punta para facilitar la penetración.

4.2.6 *Cucharón,* de capacidad no menor de 85 cm³ (ver figura A.6).

4.2.7 *Cucharas,* de acero inoxidable.

(Continúa)

4.2.8 *Espátulas*, de acero inoxidable.

4.2.9 *Cuchillos*, de acero inoxidable, con hoja terminada en punta.

5. PROCEDIMIENTO

5.1 Leche y productos lácteos líquidos. (exceptuando la leche condensada y la leche evaporada). Debe aplicarse el siguiente procedimiento:

5.1.1 Mezclar completamente el producto, transvasándolo varias veces de un recipiente a otro, o agitándolo adecuadamente con un agitador de disco (ver 4.2.1 y 4.2.2).

5.1.2 En el caso de muestrear crema, debe usarse uno de los agitadores de disco (ver 4.2.1 y 4.2.2), según el tamaño del recipiente, sumergiéndolo un número suficiente de veces para asegurar una mezcla completa del producto. El agitador debe moverse cuidadosamente para evitar la formación de espuma o el efecto del batido.

5.1.3 Inmediatamente después de la agitación, tomar una unidad de muestreo no menor de 200 cm³ mediante un cucharón y transferirla a un envase adecuado (ver 4.1.4).

5.1.4 Si hay dificultades para homogeneizar el producto, deben mostrarse porciones de diferentes lugares del recipiente hasta totalizar la cantidad requerida.

5.1.5 Si el producto está envasado en recipientes pequeños para la venta, la muestra debe formarse de acuerdo con lo indicado en 3.1.4, y los recipientes no deben abrirse hasta el momento del análisis.

5.2 Leche condensada y leche envasada. Debe aplicarse el siguiente procedimiento:

5.2.1 Si el producto está contenido en recipientes voluminosos, mezclar el contenido del recipiente usando un agitador de disco (ver 4.2.1 y 4.2.2) u otro dispositivo adecuado, cuidando de raspar e incorporar el material adherido a la pared y al fondo del recipiente. Extraer, con un cucharón o un dispositivo adecuado, 2 a 3 litros del producto y transferirlos a un recipiente más pequeño, repetir la agitación, tomar una unidad de muestreo no menor de 200 cm³ y guardarla en un envase adecuado (ver 4.1.4).

5.2.2 Si el producto está envasado en recipientes pequeños para la venta, la muestra debe formarse de acuerdo con lo indicado en 3.1.4 y los recipientes no deben abrirse hasta el momento del análisis.

5.3 Leche en polvo y productos lácteos en polvo. Debe realizarse primero el muestreo para examen micro-biológico y luego, sobre el mismo recipiente, el muestreo para análisis químico y examen organoléptico. Deben aplicarse los siguientes procedimientos:

5.3.1 *Muestreo para examen microbiológico.* Usando una cuchara estéril (ver 4.1.2) de acero inoxidable, retirar la capa superior de polvo de la zona de muestreo. Con otra cuchara estéril, tomar una unidad de muestreo de 50 a 200 g. de ser posible de un punto cercano al centro del recipiente. Transferir la porción

(Continúa)

extraída, tan pronto como sea posible y en condiciones asépticas, a un envase estéril adecuado (ver 4.1.4) de color ámbar si es transparente. El envase debe cerrarse inmediatamente. En caso de litigio sobre las condiciones bacteriológicas de la capa superficial del producto, debe tomarse una muestra especial de esta capa.

5.3.2 Muestreo para análisis químico y examen organoléptico. Introducir el sacamuestras para leche en polvo (ver 4.2.3) con velocidad uniforme a través del producto. Cuando el tubo llega al fondo del recipiente, girar el tubo interior para cerrar las ranuras, sacar el aparato y transferir la porción extraída a un envase adecuado (ver 4.1.4). El producto no debe tocarse con las manos, y la operación debe repetirse hasta completar una unidad de muestreo de 300 g a 500 g.

5.4 Mantequilla. Debe aplicarse uno de los procedimientos siguientes:

5.4.1 Si el producto está envasado en recipientes cilíndricos de gran capacidad, deberá emplearse el sacamuestras para mantequilla (ver 4.2.3). Insertar el sacamuestras diagonalmente desde el borde del recipiente y extraer una porción del producto; luego, extraer porciones adicionales insertando el sacamuestras verticalmente en diferentes puntos de la masa, hasta completar una unidad de muestreo no menor de 200 g. Si el recipiente tiene forma cúbica o rectangular, las porciones deben obtenerse insertando el sacamuestras diagonalmente desde las esquinas superiores hacia el centro del fondo del recipiente. En ambos casos, debe girarse una vuelta completa el sacamuestras antes de sacarlo de la masa. Para transferir el producto al envase respectivo, (ver 4.1.4) sostener la punta del sacamuestras sobre la boca del envase e, inmediatamente, transferir el producto separándolo con una espátula en partes de 7 cm a 8 cm. No debe incluirse la humedad que se adhiera a la parte exterior del sacamuestras, y éste debe limpiarse y secarse antes de extraer cada porción. Luego de llenar (hasta por lo menos la mitad) el envase con la unidad de muestreo, cerrarlo herméticamente y envolverlo en papel o almacenarlo en lugar oscuro. Si antes del muestreo el producto está congelado y presenta un aspecto duro, ablandarlo almacenándolo a 10°C durante 24 horas.

5.4.2 Si el producto está empaquetado en cantidades pequeñas para la venta, la muestra debe tomarse de acuerdo con lo indicado en 3.1.4 y los paquetes no deben abrirse hasta el momento del análisis. Cada paquete debe envolverse en papel y almacenarse en un lugar oscuro.

5.5 Queso. Debe aplicarse uno de los procedimientos siguientes:

5.5.1 Si el producto es queso de tamaño grande (masa de 2 kg o más); dependiendo de la forma, masa y tipo de queso, debe emplearse uno de los siguientes métodos:

- a) Insertar el sacamuestras para queso (ver 4.2.4) oblicuamente hacia el centro del queso, una o varias veces, sobre una de las caras planas y en puntos localizados a una distancia no menor de 10 cm del borde. De las caladuras así obtenidas cortar tapones de 2 cm en los extremos que tienen la piel o cascara de queso y usando estos tapones, cerrar cuidadosamente (y sellar si es posible) los agujeros hechos en el producto. Juntar los remanentes de las caladuras hasta completar una unidad de muestreo con masa no menor de 50 g.
- b) Aplicar el método a) pero insertar el sacamuestras perpendicularmente en una de las caras y atravesándolo hasta alcanzar la cara opuesta.

(Continúa)

- c) Aplicar el método a) pero insertar el sacamuestras horizontal mente en la superficie vertical del queso, aproximadamente a la mitad de su altura, y dirigiéndolo hacia el centro del producto.
- d) Sí el queso está contenido en barriles, cajas u otros envases de transporte al granel, o si está moldeado en bloques grandes y compactos, aplicar el método a) pero insertar el sacamuestras oblicuamente a través del contenido desde la parte superior hasta la base.

5.5.2 Si el producto es queso de tamaño pequeño (masa menor de 2 kg), debe hacerse, usando un cuchillo adecuado (ver 4.2.9), dos cortes radiales desde el centro del queso (si la base es rectangular). El tamaño de la pieza así obtenida debe ser tal que, luego de separar la corteza, la porción restante (unidad de muestreo) no tenga una masa menor de 50 g.

5.5.3 Si el producto es muy pequeño o está empaquetado en cantidades para la venta, la muestra debe formarse de acuerdo con lo indicado en 3.1.4, y los paquetes no deben abrirse hasta el momento del análisis.

(Continúa)

Anexo 3: Instructivo para la toma de Muestras. Laboratorio de calidad de Leche.

	<p>LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE</p>	
	<p>INSTRUCTIVO PARA LA TOMA DE MUESTRAS (BIDONES)</p>	<p>Revisión: 19/03/2009 Edición: CERO Total de páginas: 2</p>

1. MUESTRA PARA CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) y COMPOSICIÓN

- Identificar el frasco con tapa **blanca**, colocar la etiqueta del código de identificación de la muestra en la parte lateral.
- Colocar la muestra de leche en el frasco de 40 ml. (previa homogenización del bidón o recipiente del que se tome la muestra de leche).
- Inmediatamente después de transferida al frasco la leche debe ser homogenizada para disolver las pastillas de bronopol.
- La homogenización debe ser hecha volteando el frasco delicadamente por varias veces. Esta operación debe ser repetida después de algunos minutos para garantizar la disolución completa de la pastilla.

NOTA 1 No llenar completamente el frasco pues dificulta la disolución de la pastilla y su homogenización.

2. MUESTRA PARA CONTAJE TOTAL DE BACTERIAS (CBT)

- Identificar el frasco con tapa **roja**, colocar la etiqueta del código de identificación de la muestra en la parte lateral.
- Colocar la muestra de leche en el frasco de 40 ml. (previa homogenización del bidón o recipiente del que se tome la muestra de leche).
- Añadir **4 gotas** de azidol
- Homogenizar la leche volteándose el frasco delicadamente por varias veces.
- No llenar completamente el frasco pues dificulta la dispersión del conservante, además de favorecer el acumulo de grasa en la tapa.

NOTA 1: Es fundamental utilizar utensilios debidamente limpios para evitar contaminación de la muestra.

NOTA 2: Debe ser utilizada la recomendación de cuatro gotas de azidol por frasco. Cantidades inferiores o muy superiores pueden afectar el resultado.

NOTA 3: El Azidol es un producto extremadamente tóxico. Evite el contacto con la piel y los ojos. El laboratorio se redime de cualquier problema que pueda ocurrir por la mala utilización del producto.

Nota 4: El azidol que no use, por favor regréselo al laboratorio.

3. MUESTRA PARA DETECCIÓN DE ANTIBIOTICOS

- Identificar el frasco con tapa **blanca que no contiene la pastilla de bronopol**, colocar la etiqueta del código de identificación de la muestra en la parte lateral.
 - Colocar la muestra de leche en el frasco de 40 ml. (previa homogenización del bidón o recipiente del que se tome la muestra de leche).
 - Homogenizar la leche volteándose el frasco delicadamente por varias veces.
 - No llenar completamente el frasco debido a que favorece el acumulo de grasa en la tapa.
-
- Las muestras para CBT, CCS, COMPOSICION Y DETECCION DE ANTIBIOTICOS deben ser refrigeradas. La temperatura de almacenamiento debe ser inferior a los 10 °C desde la colecta hasta la llegada al laboratorio.
 - Las muestras deben ser enviadas en cajas térmicas con hielo reciclable en cantidades adecuadas para garantizar la refrigeración. No utilizar hielo natural pues podría ocurrir formación de agua lo que afectaría la identificación de la muestra.

Norma Ecuatoriana	LECHE. DETERMINACION DE LA DENSIDAD RELATIVA.	INEN 11 Primera Revisión
<p>1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los métodos para determinar la densidad relativa de la leche,</p> <p>2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a cualquier tipo de leche que se presente en el estado líquido,</p> <p>2.2 En esta norma se describen el método del lactodensímetro y el método del picnómetro.</p> <p>3. TERMINOLOGIA</p> <p>3.1 Densidad relativa. Es la relación entre la densidad de una sustancia y la densidad del agua destilada, consideradas ambas a una temperatura determinada.</p> <p>4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 Para determinar la densidad relativa de la leche, podrá usarse cualquiera de los dos métodos descritos en esta norma. En casos de discrepancia o de litigio, deberá usarse el método del picnómetro.</p> <p>4.2 El lactodensímetro deberá calibrarse periódicamente contra soluciones patrón de densidad conocida.</p> <p>5. METODO DEL LACTODENSIMETRO</p> <p>5.1 Fundamento</p> <p>5.1.1 El método se basa en el uso de un densímetro graduado adecuadamente.</p> <p>5.2 Instrumental</p> <p>5.2.1 <i>Lactodensímetro</i>, con temperatura de referencia 20°C y provisto de graduaciones de 0,001 u otras que permitan una aproximación mayor a la misma temperatura.</p> <p>5.2.2 <i>Probeta de 250 cm³</i>, de medidas que permitan libre movimiento al lactodensímetro.</p> <p>5.2.3 <i>Termómetro</i>. Graduado en grados Celsius y con divisiones no mayores de 0,5°C. El termómetro puede estar incorporado en el lactodensímetro.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p>		

5.2.4 Baño de agua, con regulador de temperatura, ajustado a una temperatura comprendida entre 15°C y 25°C (preferiblemente 20°C), con precisión de $\pm 0,5^\circ\text{C}$.

5.3 Preparación de la muestra

5.3.1 Llevar la muestra a una temperatura aproximadamente igual a la del baño de agua (ver 5.2.4) y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

5.3.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35° - 40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriar rápidamente hasta 18° - 20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

5.4 Procedimiento

5.4.1 Manteniendo inclinada la probeta para evitar la formación de espuma, verter la muestra hasta llenar la probeta completamente.

5.4.2 Introducir la probeta en el baño de agua, en tal forma que el nivel de agua quede de 1 cm a 3 cm por debajo del borde de la probeta.

5.4.3 Luego de estabilizar la temperatura de la leche con una variación máxima de $\pm 0,5^\circ\text{C}$, determinar su valor mediante el termómetro y registrarlo como t. Sumergir suavemente el lactodensímetro hasta que esté cerca de su posición de equilibrio e imprimirle un ligero movimiento de rotación para impedir que se adhiera a las paredes de la probeta. Durante la inmersión debe desbordarse la leche de tal manera que la zona de lectura del lactodensímetro quede por encima del plano superior de la probeta.

5.4.4 Esperar que el lactodensímetro quede en completo reposo y, sin rozar las paredes de la probeta, leer la medida de la graduación correspondiente al menisco superior y registrar su valor como d (ver nota I).

5.5 Cálculos

5.5.1 La densidad relativa a [20/20°C] de la leche, se calcula mediante la ecuación siguiente:

$$d_{20} = d + 0,0002 (t - 20)$$

Siendo:

d_{20} = densidad relativa a 20/20°C;

d = densidad aparente a t°C (ver 5.4.4);

t = temperatura de la muestra durante la determinación, en °C, (ver 5.4.3).

NOTA 1. Al realizar la lectura debe tenerse en cuenta que algunos lactodensímetros indican sólo las milésimas de la densidad relativa (supuesta mayor de 1,0); en tales casos, un valor, digase por ejemplo, 27, de la escala debe interpretarse como 1,027.

(Continúa)

Anexo 5: NTE INEN 13. Leche. Determinación de la Acidez Titulable.

Norma Ecuatoriana	LECHE DETERMINACION DE LA ACIDEZ TITULABLE	INEN 13 Primera Revisión
-------------------	---	-----------------------------

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece el método para determinar la acidez titulable de la leche.

2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:

- a) Leche fresca.
- b) Leche homogenizada (pasteurizada o esterilizada).
- c) Leche descremada o semidescremada.

3. TERMINOLOGIA

3.1 **Acidez titulable de la leche.** Es la acidez de la leche, expresada convencionalmente como contenido de ácido láctico, y determinada mediante procedimientos normalizados.

3.2 Otros términos relacionados con esta norma se definen en la Norma INEN 3.

4. RESUMEN

4.1 Se titula la acidez con una solución estandarizada de hidróxido de sodio, usando fenolftaleína como indicador.

5. INSTRUMENTAL

- 5.1 **Balanza analítica.** Sensible al 0,1 mg.
- 5.2 **Matraz Erlenmeyer** de 100 cm³.
- 5.3 **Matraz aforado** de 500 cm³.
- 5.4 **Bureta** de 25 cm³, con divisiones de 0,05 cm³ o de 0,1 cm³.
- 5.5 **Estufa**, con regulador de temperatura, ajustada a 103° ± 2°C.
- 5.6 **Desecador**, con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.

(Continúa)

6. REACTIVOS

- 6.1 Solución 0,1 N de hidróxido de sodio**, debidamente estandarizada.
- 6.2 Solución indicadora de fenolftaleína.** Disolver 0,5 g de fenolftaleína en 100 cm³ de alcohol etílico de 95 - 96 % (V/V).
- 6.3 Agua destilada**, exenta de CO₂ y fría.

7. PREPARACION DE LA MUESTRA

- 7.1** Llevar la muestra a una temperatura aproximada de 20°C y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.
- 7.2** Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35° - 40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente; enfriar rápidamente hasta 18° - 20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

8. PROCEDIMIENTO

- 8.1** La determinación realizar por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- 8.2** Lavar cuidadosamente y secar el matraz Erlenmeyer en la estufa a 103° ± 2°C durante 30 min. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg.
- 8.3** Invertir, lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada; inmediatamente, transferir al matraz Erlenmeyer y pesar con aproximación al 0,1 mg, aproximadamente 20 g de muestra.
- 8.4** Diluir el contenido del matraz con un volumen dos veces mayor de agua destilada, y agregar 2 cm³ de solución indicadora de fenolftaleína.
- 8.5** Agregar, lentamente y con agitación, la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, justamente hasta conseguir un color rosado persistente (fácilmente perceptible si se compara con una muestra de leche diluida de acuerdo con lo indicado en 8.4) que desaparece lentamente.
- 8.6** Continuar agregando la solución hasta que el color rosado persista durante 30 s.
- 8.7** Leer en la bureta el volumen de solución empleada, con aproximación a 0,05 cm³.

(Continúa)

8. CALCULOS

9.1 La acidez titulable de la leche se calcula mediante la ecuación siguiente (ver nota 1).

$$A = 0,090 \frac{V \times N}{m_1 - m} \times 100$$

Siendo:

A = acidez titulable de la leche, en porcentaje en masa de ácido láctico (ver Anexo A).

V = volumen de la solución de hidróxido de sodio empleado en la titulación, en cm³.

N = normalidad de la solución de hidróxido de sodio.

m = masa del matraz Erlenmeyer vacío, en g.

m₁ = masa del matraz Erlenmeyer con la leche, en g.

9.2 El porcentaje de acidez titulable debe calcularse con aproximación a milésimas.

10. ERRORES DE MÉTODO

10.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder de 0,005%, en caso contrario, debe repetirse la determinación.

11. INFORME DE RESULTADOS

11.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación, aproximada a centésimas.

11.2 En el informe de resultados, debe indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

11.3 Deben incluirse todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

NOTA 1. El factor 0,090 de la ecuación de cálculo es exacto

(Continúa)

ANEXO A

EXPRESIÓN DE LA ACIDEZ EN OTRAS UNIDADES

A.1 Si se desea calcular la acidez titulable de la leche en gramos de ácido láctico por cada 1 000 cm³ de leche (g/1 000 cm³) deberá aplicarse la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez en g/1 000 cm}^3 = 10 \cdot A \cdot d$$

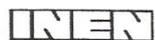
Donde:

d = densidad relativa de la leche.

A = acidez titulable de la leche, en porcentaje en masa de ácido láctico.

A₂ = si se desea calcular la acidez titulable de la leche en grados Dornic (0,1 g/1 000 cm³), debe dividirse para 10 la acidez titulable expresada en g/1 000 cm³ (ver A.1).

determinación de la calidad.



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1 500:2003

LECHE. MÉTODOS DE ENSAYO CUALITATIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD.

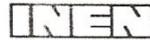
Primera Edición

MILK. METHODS OF QUALITATIVE TEST FOR QUALITY DETERMINATION.

First Edition

DESCRIPTORES: Alimentos, productos lácteos, leche, métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad.
AL 03.01-333
CDU: 637.133.4
CIU: 3112
ICS: 67.100.10

CDU: 637.133.4
ICS: 67.100.10



CIIU: 3112
AL 03.01-333

Norma Técnica
Ecuatoriana
Voluntaria

LECHE.
MÉTODOS DE ENSAYO CUALITATIVOS PARA LA
DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD.

NTE INEN
1 500:2003
2003-01

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno ES-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece varios métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la calidad de la leche.

2. ACIDEZ

2.1 Determinación de estabilidad proteica

2.1.1 Definiciones

2.1.1.1 La estabilidad proteica es la propiedad que tiene la leche de no producir precipitación o coagulación de la proteína en presencia de una solución de alcohol etílico o de una solución alcohólica de alizarina, ó, por acción del calor, debido a la acidificación.

2.2 Método de la prueba de la leche con alcohol

2.2.1 Fundamento

2.2.1.1 El método consiste en añadir a la leche una cantidad de alcohol etílico neutro; si ésta ha sufrido acidificación o es anormal por contener calostro o provenir de vacas afectadas con mastitis, se forman coágulos y el ensayo se reporta como positivo.

2.2.2 Equipo

2.2.2.1 Tubos de ensayo con capacidad para 20 cm³

2.2.2.2 Pipetas graduadas de 5 cm³

2.2.2.3 Gradilla

2.2.3 Reactivos

2.2.3.1 Solución acuosa de alcohol etílico neutro de 68 % en peso o 75 % en volumen

2.2.4 Procedimiento

2.2.4.1 Transferir 5 cm³ de muestra a un tubo de ensayo y añadir 5 cm³ de la solución acuosa de alcohol etílico. Tapar el tubo y agitar invirtiéndolo dos o tres veces, observar su aspecto.

2.2.5 Expresión de resultados

2.2.5.1 Si no existe precipitación o formación de coágulos de la leche, reportar como negativa la prueba del alcohol y se dice que esta presenta estabilidad proteica.

DESCRIPTORES: Alimentos, productos lácteos, leche, métodos de ensayo cualitativos para la determinación de la Calidad.

2.3 Método de la prueba de la alizarina

2.3.1 Fundamento

2.3.1.1 El método consiste en añadir a la leche una cantidad de solución alcohólica de alizarina; si ésta ha sufrido acidificación se forman grumos gruesos y una coloración amarilla. Si no hay formación de grumos y se produce una coloración lila, indica la presencia de sustancias neutralizantes (leche alcalina).

2.3.2 Equipo

2.3.2.1 Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm³

2.3.2.2 Pipetas graduadas de 5 cm³

2.3.2.3 Gradilla

2.3.3 Reactivos

2.3.3.1 *Alizarol*. Solución alcohólica de alizarina al 0,2 % m/v (en alcohol neutro al 75 % en volumen).

2.3.4 Procedimiento

2.3.4.1 Mezclar volúmenes iguales de leche y alizarol, agitar y observar el color y aspecto.

2.3.5 Expresión de resultados

2.3.5.1 Si se produce precipitación o formación de coágulos y una coloración amarilla de la leche, reportar como positiva la prueba de la alizarina y se dice que la leche posee una fuerte acidez y no presenta estabilidad proteica.

2.3.5.2 Si no presenta formación de coágulos y a su vez, presenta una coloración lila al morado intenso, según las concentraciones agregadas, se dice que la leche posee sustancias neutralizantes.

2.4 Prueba de ebullición

2.4.1 Fundamento

2.4.1.1 El método consiste en someter una muestra de leche a ebullición; si ésta ha sufrido acidificación se observará grumos o partículas coaguladas. Esta prueba es una alternativa de la prueba de alcohol, pero consume más tiempo en el análisis y es menos sensible.

2.4.2 Equipo

2.4.2.1 Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm³

2.4.2.2 Pipetas graduadas de 5 cm³

2.4.2.3 Gradilla

2.4.2.4 Pinzas para tubo

2.4.2.5 Fuente de calor

2.4.3 Procedimiento

2.4.3.1 Hervir agitando constantemente una muestra de 2 a 5 cm³ de leche en un tubo de ensayo.

2.4.5 Expresión de resultados

2.4.5.1 Si se observan grumos o formación de coágulos, reportar como positiva la prueba de ebullición. La leche no ácida no coagula por aplicación de calor, lo hace la leche ácida y los calostros.

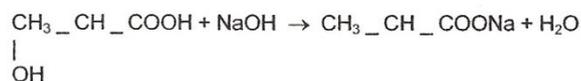
3. NEUTRALIZANTES ALCALINOS

3.1 Definiciones

3.1.1 Son sustancias que tienen como finalidad neutralizar el ácido láctico desarrollado por la fermentación de la lactosa a través de microorganismos específicos. Dentro de estas sustancias están: orina bovina, carbonatos, hidróxido de sodio y jabones de mala calidad.

3.2 Fundamento

3.2.1 Las diversas sustancias indicadas en 3.1.1, neutralizan el ácido láctico a medida que éste se forma, ejemplo:



Ácido Láctico + Hidróxido de sodio → Lactato de sodio + agua

3.3 Método de la prueba de la Alizarina

3.3.1 Ver numeral 2.3

3.4 Método de la prueba del Ácido Rosólico (aurina)

3.4.1 Fundamento

3.4.1.1 El ácido rosólico es un indicador de pH que tiene un rango de viraje entre 6,8 a 8,0.

3.4.2 Equipo y materiales

3.4.2.1 Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm³

3.4.2.2 Pipetas graduadas de 5 cm³

3.4.2.3 Gradilla

3.4.2.4 Embudo

3.4.2.5 Papel filtro

3.4.3 Reactivos

3.4.3.1 Alcohol etílico neutralizado

3.4.3.2 Solución de ácido rosólico en alcohol etílico neutralizado

3.4.4 Procedimiento

3.4.4.1 Pipetear en un tubo de ensayo 5 cm³ de leche, adicionar 5 cm³ de alcohol etílico neutralizado y homogenizar por inversión lentamente.

3.4.4.2 Filtrar la mezcla con papel filtro, recibiendo el filtrado en otro tubo de ensayo.

3.4.4.3 Agregar al filtrado, 2 a 3 gotas de ácido rosólico.

3.4.5 *Expresión de resultados*

3.4.5.1 En presencia de neutralizantes la reacción da una coloración rojo carmesí.

3.4.5.2 Preparar en un tubo de ensayo un blanco, usando en vez del filtrado el mismo volumen de alcohol etílico y el mismo número de gotas de ácido rosólico. Si la coloración de la muestra es más intensa que la del tubo con el blanco, reportar el resultado como positivo.

3.5 **Identificación de orina en la leche mediante la prueba de "pupo"**

3.5.1 *Equipo*

3.5.1.1 Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm³

3.5.1.2 Pipetas graduadas de 10 cm³

3.5.2.3 Gradilla

3.5.2 *Reactivos*

3.5.2.1 Ácido clorhídrico ($\rho = 1,19$)

3.5.2.2 Etanol absoluto

3.5.2.3 Ácido nítrico ($\rho = 1,42$)

3.5.3 *Procedimiento*

3.5.3.1 Pipetear en un tubo de ensayo 5 cm³ de leche, adicionar 5 cm³ de ácido clorhídrico, 5 cm³ de etanol absoluto y 5 cm³ de ácido nítrico.

3.5.4 *Expresión de resultados*

3.5.4.1 Si se observa una coloración rosado-violácea con fluorescencia azulada, indica la presencia de orina en la leche. Reportar el resultado como positivo.

3.6 **Determinación de la adición de orina (método alternativo)**

3.6.1 *Fundamento*

3.6.1.1 La leche en presencia de una solución alcohólica de timol y cloroformo presenta una coloración violeta cuando ha sido añadida orina.

3.6.2 *Equipo*

3.6.2.1 Embudo

3.6.2.2 Papel filtro

3.6.2.3 Vaso de precipitación

3.6.2.4 Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 cm³

3.6.3 Reactivos

3.6.3.1 Ácido tricloroacético al 20 %

3.6.3.2 Solución alcohólica de Timol al 5 %

3.6.3.3 Ácido clorhídrico concentrado que contenga 0,5 g de cloruro férrico por cada 100 cm³

3.6.3.4 Cloroformo al 37 %

3.6.4 Procedimiento

3.6.4.1 A 10 cm³ de leche añadir 5 cm³ de ácido tricloroacético al 20 % y filtrar, al filtrado añadir 1 cm³ de la solución alcohólica de Timol y 10 cm³ ácido clorhídrico concentrado. Dejar en reposo 20 minutos y añadir 2 cm³ de cloroformo y observar el color.

3.6.5 Expresión de resultados

3.6.5.1 La aparición de una coloración violeta en la capa clorofórmica, indica la presencia de orina en la leche, caso contrario permanece incolora.

4. CONSERVANTES

4.1 Identificación de formaldehído (prueba de hehner)

4.1.1 Equipo

4.1.1.1 Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm³

4.1.1.2 Pipetas graduadas de 10 cm³

4.1.2.3 Gradilla

4.1.2.4 Fuente de calor

4.1.2.5 Gotero

4.1.2 Reactivos

4.1.2.1 Solución acuosa de cloruro férrico al 1 %, recién preparada

4.1.2.2 Ácido sulfúrico diluido (1 + 1) en volumen, $\rho = 1,820$ a $1,825$

4.1.2.3 Solución diluida de formaldehído: diluir dos gotas de solución de formaldehído de 38 % a 40 % en 100 cm³ de agua.

4.1.3 Procedimiento

4.1.3.1 Pipetear en un tubo de ensayo 5 cm³ de leche previamente homogenizada, agregar 1 cm³ de ácido sulfúrico diluido y una gota de cloruro férrico. Mezclar y calentar a ebullición.

4.1.4 Expresión de resultados

4.1.4.1 Si se observa una coloración violeta en la interfase entre el ácido y la leche, indica la presencia de formaldehído en la leche. Reportar el resultado como positivo.

4.2 Prueba de confirmación (formaldehído)

4.2.1 Fundamento

4.2.1.1 Se separa el formaldehído por destilación en medio ácido y el destilado se hace reaccionar con ácido cromotrópico, en caliente. La presencia de formaldehído está indicada por una coloración púrpura.

4.2.2 Equipo

4.2.2.1 Balón y equipo de destilación de Kjeldahl

4.2.2.2 Material de vidrio

4.2.2.3 Baño de agua con temperatura controlada

4.2.3 Reactivos

4.2.3.1 Ácido sulfúrico grado reactivo

4.2.3.2 Ácido fosfórico grado reactivo

4.2.3.3 Sal sódica del ácido cromotrópico $C_{10}H_6O_8S_2Na_2 \cdot 2H_2O$: Disolver 500 mg de la sal sódica en 100 cm^3 de una mezcla de 85 partes de ácido sulfúrico y 15 partes de agua.

4.2.4 Procedimiento

4.2.4.3 Colocar en un balón de Kjeldahl 100 cm^3 de leche y 100 cm^3 de agua. Agregar 5 cm^3 de ácido fosfórico, se adapta la trampa de destilación y el refrigerante y se destila lentamente hasta obtener 50 cm^3 de destilado.

4.2.4.4 En un tubo de ensayo colocar 5 cm^3 de la solución de ácido cromotrópico, adicionar 1 cm^3 de destilado, mezclar y colocar en un baño de María hirviendo por 15 minutos, observar el color durante el calentamiento.

4.2.5 Expresión de resultados

4.2.5.1 La presencia de formaldehído está indicada por la aparición de un color púrpura, cuya intensidad depende de la cantidad de formaldehído presente.

4.3 Identificación de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada)

4.3.1 Método de Arnold y Mentzer (óxido de Vanadio)

4.3.1.1 *Fundamento.* El óxido de vanadio en medio ácido sulfúrico reacciona con el agua oxigenada, dando un compuesto de coloración anaranjada (rosa salmón).

4.3.1.2 Equipo

a) Tubo de ensayo con capacidad de 20 cm^3

b) Pipetas graduadas de 5 y 10 cm^3

NOTA: Cuando la concentración del formaldehído en la leche es alta, la prueba es menos sensible por lo que se recomienda hacer diluciones de la muestra con leche libre de formaldehído.

4.3.1.3 Reactivos

- a) Solución de pentóxido de vanadio al 1 % (m/v) (V_2O_5) en ácido sulfúrico diluido, preparado agregando cuidadosamente 6 cm^3 de ácido sulfúrico concentrado (del 95 % al 98 %) a 94 cm^3 de agua

4.3.1.4 Procedimiento

- a) Pipetear en el tubo de ensayo 10 cm^3 de leche, agregar 10 gotas de la solución de óxido de vanadio y agitar.
- b) Al mismo tiempo trabajar con un testigo negativo (leche fresca y pura) y con un positivo (leche pura adicionada de unas gotas de agua oxigenada).

4.3.1.5 Expresión de resultados

- a) Si se observa una coloración anaranjada (rosa salmón), indica la presencia de peróxido de hidrógeno. Reportar el resultado como positivo. Una coloración amarillenta, igual al reactivo, debe considerarse como negativa.

4.3.2 Método del Ácido Clorhídrico y formol

4.3.2.1 *Fundamento.* El ácido clorhídrico con el formol reacciona con el agua oxigenada, dando una coloración violeta azulada.

4.3.2.2 Equipo

- a) Tubos de ensayo con capacidad de 25 cm^3
- b) Pipetas graduadas de 1 y 10 cm^3
- c) Fuente de calor

4.3.2.3 Reactivos

- a) Ácido clorhídrico concentrado.
- b) Solución de formol al 1 %

4.3.2.4 Procedimiento

- a) Pipetear en el tubo de ensayo 10 cm^3 de leche, agregar 10 cm^3 de ácido clorhídrico y una gota de formol al 1 %, agitar y calentar hasta desprendimiento de vapores.

4.3.2.5 Expresión de resultados

- a) Si se observa una coloración violeta azulada, indica la presencia de peróxido de hidrógeno. Reportar el resultado como positivo.

4.3.3 Método del yoduro de potasio

4.3.3.1 *Fundamento.* La catalasa natural de la leche destruye el H_2O_2 añadido. El yoduro de potasio reacciona con el peróxido de hidrógeno dando una coloración amarillo canario.

4.3.3.2 Equipo

- a) Tubos de ensayo con capacidad de 25 cm³
- b) Pipetas graduadas de 1 y 10 cm³

4.3.3.3 Reactivo

- a) Solución de yoduro de potasio al 35 %, recién preparada.

4.3.3.4 Procedimiento

- a) Pipetear en el tubo de ensayo 5 cm³ de leche y agregar unas gotas de la solución de yoduro de potasio.

4.3.3.5 Expresión de resultados

- a) Si se observa una coloración amarillo canario, indica la presencia de peróxido de hidrógeno. Reportar el resultado como positivo.

4.4 Identificación de cloro, hipocloritos, cloraminas y dióxido de cloro

4.4.1 Método del yoduro de potasio

4.4.1.1 *Fundamento.* El método se fundamenta en la formación de yodo libre a partir del yoduro de potasio, por la acción del cloro libre o hipocloritos.

4.4.1.2 Equipo

- a) Tubo de ensayo con capacidad de 20 cm³
- b) Pipetas graduadas de 1 y 5 cm³
- c) Baño de agua con temperatura controlada

4.4.1.3 Reactivos

- a) Solución de yoduro de potasio al 7,5 %, recién preparada
- b) Ácido acético

- c) Solución de almidón al 1 %

4.4.1.4 Procedimiento

- a) Pipetear en un tubo de ensayo 5 cm³ de leche y agregar 0,5 cm³ de la solución de yoduro de potasio al 7,5 %, agitar. Observar la coloración del medio.

4.4.1.5 Expresión de resultados

- a) Si se observa una coloración amarilla, indica la presencia de cloro libre. Para confirmar se añade 1 cm³ de la solución de almidón al 1 %, deberá desarrollarse una coloración azul violeta. Si no se presenta cambio en la coloración, adicionar 4 cm³ de ácido acético, colocar en baño de María a 80 °C por 10 minutos (no sobrepasar los 80 °C), enfriar en agua corriente y observar la coloración de la cuajada. En presencia de hipoclorito ésta deberá ser amarilla. Para confirmar adicionar 1 cm³ de la solución de almidón al 1 %, deberá desarrollarse una coloración azul violeta. Reportar el resultado como positivo.

b) Hacer una prueba en blanco con ácido clorhídrico.

4.5 Método alternativo para la identificación cloro, hipocloritos, cloraminas y dióxido de cloro.

4.5.1 Equipo

4.5.1.1 Material de vidrio

4.5.1.2 Baño de agua con temperatura controlada

4.5.2 Reactivos

4.5.2.1 Solución de yoduro de potasio. Disolver 7,5 g de yoduro de potasio en 100 cm³ de agua destilada. preparar cuando se vaya a usar.

4.5.2.2 Ácido clorhídrico diluido. A 100 cm³ de ácido clorhídrico (36,5 a 38, 5 %), agregar 200 cm³ de agua destilada.

4.5.2.3 Solución de almidón. Hervir un gramo de almidón soluble en 100 cm³ de agua destilada. Enfriar antes de usar.

4.5.3 Procedimiento.

4.5.3.1 PRUEBA I

Pipetear 5 cm³ de leche en un tubo de ensayo, agregar 1,5 cm³ de solución de yoduro de potasio, mezclar bien por agitación. Anotar el color de la leche.

4.5.3.2 PRUEBA II

Si no cambia el color de la leche, agregar 4 cm³ de ácido clorhídrico diluido, mezclar bien con una varilla de vidrio de extremo plano y observar el color de la cuajada.

4.5.3.3 PRUEBA III

Colocar luego el tubo en el baño de María calentado previamente a 85 °C y dejar en reposo 10 minutos, (durante este tiempo la cuajada sube a la superficie), enfriar rápidamente colocando el tubo en agua fría. Anotar el color de la cuajada y el líquido.

4.5.3.4 PRUEBA IV

Agregar luego al líquido por debajo de la cuajada 0,5 a 1 cm³ de la solución de almidón. Observar el color inmediatamente.

Determinar la concentración de cloro disponible según la tabla siguiente.

TABLA DE REACCIONES DE LAS DISTINTAS PRUEBAS

Prueba	CONCENTRACIÓN DE CLORO DISPONIBLE					
	1000 mg	500 mg	200 mg	100 mg	40 mg	20 mg
PRUEBA I	Pardo Amarillo	Amarillo intenso	Amarillo Pálido difuso	-	-	-
PRUEBA II	Pardo Amarillo	Amarillo intenso	Amarillo Claro	-	-	-
PRUEBA III	Pardo amarillo	Amarillo intenso	Amarillo	Amarillo	Amarillo Pálido	Amarillento
PRUEBA IV	Azul Violáceo	Azul Violáceo	Azul Violáceo	Rojo Violáceo oscuro	Rojo Violáceo	Rojo Violáceo Pálido

5. ADULTERANTES

5.1 Definiciones

5.1.1 Se considera que la leche ha sido adulterada cuando se ha añadido espesantes como productos feculentos (harina o almidones, claro de maíz, etc.), soluciones azucaradas o soluciones salinas, etc., con el propósito de mantener la densidad en los rangos señalados, cuando se agua y así evitar su rápida detección.

5.2 Detección de almidón

5.2.1 Fundamento

5.2.1.1 El almidón con el yodo libre forma un compuesto de absorción de coloración azulada.

5.2.2 Equipo

5.2.2.1 Tubos de ensayo de 20 cm³

5.2.2.2 Pipetas graduadas de 1 y 10 cm³

5.2.2.3 Baño de agua con temperatura controlada

5.2.3 Reactivos

5.2.3.1 Solución lugol o tintura de yodo

5.2.4 Procedimiento

5.2.4.1 Pipetear en un tubo de ensayo 10 cm³ de leche, calentar hasta ebullición en el baño de María hirviendo y mantener el calentamiento por 5 min. Enfriar en agua corriente y adicionar 5 gotas de la solución de lugol o tintura de yodo.

5.2.5 Expresión de los resultados

5.2.5.1 Si se observa una coloración azul, indica la presencia de almidón o harina. Reportar el resultado como positivo.

5.3 Identificación de harina y almidones (método alternativo)

5.3.1 Equipo

5.3.1.1 Fuente de calor

5.3.1.2 Recipiente con agua-hielo

5.3.2 Reactivos

5.3.2.1 Solución de yoduro de potasio (yodo 1 g y yoduro de potasio 2 g)

5.3.2.2 Agua destilada 300 cm³

5.3.3 Procedimiento

5.3.3.1 Pipetear en un tubo de ensayo 5 cm³ de leche, calentar hasta ebullición, enfriar en el agua con hielo y agregar 5 gotas del reactivo.

5.3.3.2 Preparar un testigo negativo con leche pura fresca y un testigo positivo con la misma leche adicionada de almidón.

5.3.4 Expresión de resultados

5.3.4.1 Positivo: Una coloración azul indica la presencia de almidón o harina.

5.3.4.2 Negativo: Color amarillento

5.3.4.3 El color azul debe desaparecer por calentamiento.

5.4 Detección de sacarosa

5.4.1 Equipo

5.4.1.1 Tubos de ensayo con capacidad de 20 cm³

5.4.1.2 Probeta graduada de 10 cm³

5.4.1.3 Baño de agua caliente con temperatura controlada

5.4.2 Reactivos

5.4.2.1 Solución acuosa de bilis de buey, preparada así: 2 gramos de bilis de buey desecada para bacteriología, disuelta en 100 cm³ de agua destilada

5.4.2.2 Ácido clorhídrico fumante del 37 %, grado analítico, $\rho = 1,19$.

5.4.3 Procedimiento

5.4.3.1 En un tubo de ensayo colocar 4 gotas de leche, 4 gotas de la solución de bilis de buey y 3 cm³ de ácido clorhídrico. Mezclar y colocar en el baño de agua a 50 °C exactamente durante 5 min.

5.4.3.2 Preparar un testigo negativo con leche cruda, fresca y pura.

5.4.3.3 Preparar un testigo positivo con la misma leche anterior a la que se adiciona sacarosa en una proporción de 0,2 %.

5.4.4 *Expresión de resultados*

5.4.4.1 Si se observa una coloración rojo violeta, indica la presencia de sacarosa. Reportar el resultado como positivo. La aparición de un color rojo tenue se considera negativo.

5.5 **Colorantes**

5.5.1 Los colorantes como el achiote (bixa Orellana) y anilinas son adicionados a la leche descremada o aguada para restablecer el color normal de la leche.

5.5.2 *Equipo*

5.5.2.1 Tubos de ensayo

5.5.2.2 Pipetas graduadas de 2 cm³

5.5.3 *Reactivos*

5.5.3.1 Éter etílico

5.5.4 *Procedimiento*

5.5.4.1 Mezclar partes iguales de leche y éter, dejar en reposo y observar.

5.5.5 *Expresión de resultados*

5.5.5.1 Si se ha adicionado achiote, el éter depositado en la superficie resulta teñido. Cuando se ha añadido anilina, el coágulo sin grasa por la extracción con el éter tiene color anaranjado.

5.6 **Identificación de colorantes (Método alternativo)**

5.6.1 *Fundamento*

5.6.1.1 Se investiga la presencia de colorantes en el precipitado obtenido, al adicionar ácido acético a la leche tibia.

5.6.2 *Equipo*

5.6.2.1 Material de vidrio

5.6.2.2 Cápsula de porcelana

5.6.3 *Reactivos*

5.6.3.1 Ácido acético diluido (1 + 3)

5.6.3.2 Éter etílico

5.6.3.3 Solución de hidróxido de sodio al 2 %

5.6.3.4 Solución de cloruro estannoso al 40 %

5.6.3.5 Ácido clorhídrico concentrado

5.6.4 Procedimiento

5.6.4.1 Colocar aproximadamente 150 cm³ de leche en un vaso de precipitación y calentar a unos 50 °C; adicionar 5 cm³ de ácido acético (1 + 3) y continuar calentando lentamente, agitando hasta cerca del punto de ebullición, procurando aglutinar el precipitado en una sola masa, con ayuda de un agitador. Separar el líquido utilizando un tamiz o un dispositivo similar, prensar el precipitado para separar el líquido residual y transferir a un erlenmeyer pequeño. Adicionar 50 cm³ de éter etílico, tapar y dejar en reposo por varias horas, agitando por intervalos regulares. Decantar el éter en un vaso de precipitación o en una cápsula, evaporar con las precauciones del caso y en el residuo investigar colorantes.

5.6.4.2 Para comprobar la presencia de achote (annato), proceder de la siguiente manera.

5.6.4.3 Tomar una porción del residuo y calentar con la solución de hidróxido de sodio al 2 %. Con esta solución impregnar una tira de papel filtro.

Si el achote está presente, el papel absorbe color y cuando se lava cuidadosamente con agua, permanece coloreado. Dejar secar, agregar una gota de la solución de cloruro estannoso al 40 % y secar. Si la coloración se torna púrpura, se confirma la presencia de achiote.

5.6.4.4 Si después de extraer con éter el precipitado de la leche, ésta todavía presenta coloración amarillenta o anaranjada, nítida, debe sospecharse la presencia de un colorante sintético. para la identificación de colorantes sintéticos, seguir métodos convencionales conocidos.

Norma Ecuatoriana	LECHE DETERMINACION DEL CONTENIDO DE GRASA	INEN 12 1973-06
OBLIGATORIA	<p>1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer los métodos para determinar el contenido de grasa de la leche.</p>	
<p>2. ALCANCE</p>		
<p>2.1 Esta norma se aplica a los siguientes tipos de leche:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) Leche fresca. b) Leche homogeneizada (pasteurizada o esterilizada). c) Leche descremada o semidescremada. <p>2.2 En esta norma se describen el método de Gerber y el método de Röse-Gottlieb.</p>		
<p>3. TERMINOLOGIA</p>		
<p>3.1 <i>Contenido de grasa de la leche.</i> Es la cantidad, expresada en porcentaje de masa, de sustancias, principalmente grasas, extraídas de la leche mediante procedimientos normalizados.</p> <p>3.2 Otros términos relacionados con esta norma están definidos en la norma INEN 3.</p>		
<p>4. DISPOSICIONES GENERALES</p>		
<p>4.1 Para determinar el contenido de grasa en los productos considerados por esta norma, podrá usarse cualquiera de los dos métodos descritos en esta norma. En casos de discrepancia o litigio deberá usarse el método de Röse-Gottlieb.</p> <p>4.2 Las pipetas aforadas y los butirómetros, usados para aplicar el método de Gerber, deberán estar debidamente estandarizados e inspeccionados.</p>		

(Continúa)

5. METODO DE GERBER

5.1 Resumen

5.1.1 Separar, mediante acidificación y centrifugación, la materia grasa contenida en el producto analizado, y determinar el contenido de grasa mediante lectura directa en un butirómetro estandarizado.

5.2 Instrumental

5.2.1 *Pipeta aforada de 10 cm³*, de seguridad, para ácido sulfúrico.

5.2.2 *Pipeta aforada de 1 cm³*, para alcohol amílico.

5.2.3 *Pipeta aforada de 10,94 cm³*, para medir la muestra.

5.2.4 *Butirómetros Gerber*, para leche y para leche descremada, (ver A.1).

5.2.5 *Centrífuga*, con velocidad de 1100 ± 100 r/min.

5.2.6 *Baño de agua*, con regulador de temperatura, ajustado a 65 ± 2 °C.

5.2.7 *Baño María*.

5.3 Reactivos

5.3.1 *Acido sulfúrico*, concentrado para análisis, con densidad $1,815 \pm 0,003$ g/cm³ a 20°C. (dens. instr. , Agua helada - hielo - probeta de 250 ml)

5.3.2 *Alcohol amílico*, compuesto principalmente de 3-metil-butanol y 2-metil-butanol y prácticamente exento de alcoholes amílicos secundarios o terciarios y furfural; deberá tener una densidad de $0,811 \pm 0,002$ g/cm³ a 20°C.

5.3.3 *Agua destilada*.

5.4 Preparación de la muestra

5.4.1 Llevar la muestra a una temperatura de aproximadamente 20°C, y mezclarla mediante agitación suave hasta que esté homogénea, cuidando que no haya separación de grasa por efecto de la agitación.

(Continúa)

5.4.2 Si se forman grumos de crema y éstos no se dispersan, calentar la muestra en baño María hasta 35°-40°C, mezclando cuidadosamente e incorporando cualquier partícula de crema adherida al recipiente, y enfriar rápidamente hasta 18°-20°C. Si quedan partículas blancas o grumos de grasa adheridos a las paredes del recipiente, la determinación no dará resultados exactos.

5.5 Procedimiento

5.5.1 Para la determinación del contenido de grasa en la leche fresca u homogeneizada (pasteurizada o esterilizada) debe usarse el butirómetro Gerber para leche, mientras que para la leche descremada debe usarse el butirómetro Gerber para leche descremada.

5.5.2 Verter 10 cm³, exactamente medidos, de ácido sulfúrico en el butirómetro respectivo, cuidando de no humedecer con ácido el cuello del butirómetro.

5.5.3 Invertir lentamente, tres o cuatro veces, la botella que contiene la muestra preparada, y pipetear 10,94 cm³ de leche, de tal manera que el borde inferior del menisco coincida con la línea de calibración de la pipeta después de limpiar con papel absorbente la parte exterior de su punta de descarga. Luego, sosteniendo la pipeta con su punta pegada al borde inferior del cuello del butirómetro, descargar cuidadosamente la leche en el mismo hasta que el menisco se detenga, dejar transcurrir 3 segundos y frotar la punta de la pipeta contra la base del cuello del butirómetro.

5.5.4 Verter 1 cm³, exactamente medido, de alcohol amílico en el butirómetro, cuidando de no humedecer con el alcohol el cuello del butirómetro. El alcohol amílico debe añadirse siempre después de la leche.

5.5.5 Tapar herméticamente el cuello del butirómetro y agitar en una vitrina de protección, invirtiendo lentamente al butirómetro dos o tres veces durante la operación, hasta que no aparezcan partículas blancas.

5.5.6 Inmediatamente después de la agitación, centrifugar el butirómetro con su tapa colocada hacia afuera. Si no hay un número suficiente de butirómetros para llenar completamente la centrifuga, colocarlos simétricamente, equilibrándolos con uno que contenga igual volumen de agua en caso de ser necesario. Una vez que la centrifuga alcanza la velocidad necesaria, continuar la centrifugación durante un tiempo no menor de 4 min ni mayor de 5 min, a tal velocidad.

(Continúa)

5.5.7 Retirar el butirómetro de la centrifuga y colocarlo, con la tapa hacia abajo, en el baño de agua a $65^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante un tiempo no menor de 4 min ni mayor de 10 min, manteniendo la columna de grasa completamente sumergida en el agua.

5.5.8 Luego, dependiendo del tipo de leche analizada, proceder de acuerdo con 5.5.9, 5.5.10 ó 5.5.11.

5.5.9 *Leche fresca.* Antes de proceder a la lectura, colocar el nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa sobre la marca de una graduación principal de la escala; esto se consigue presionando o aflojando adecuadamente la tapa del butirómetro. Leer las medidas correspondientes a la parte inferior del menisco de grasa y al nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa; la diferencia entre las dos lecturas da el contenido de grasa de la leche. Al realizar las lecturas, debe mantenerse la escala en posición vertical y el punto de lectura al mismo nivel de los ojos. La lectura del menisco debe aproximarse a $0,05^{\circ}/o$. (ver 5.5.12).

5.5.10 *Leche homogeneizada (pasteurizada o esterilizada).* Realizar una primera lectura de acuerdo con lo indicado en 5.5.9. Luego, ajustar la tapa si es necesario e, inmediatamente, repetir por segunda vez la centrifugación, el calentamiento a $65^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y la lectura. Si la segunda lectura difiere de la primera, repetir por tercera vez la centrifugación, el calentamiento a $65^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y la lectura; la medida válida corresponde a la segunda o tercera lectura, según el caso, (ver 5.5.12).

5.5.11 *Leche descremada.* Repetir por segunda vez la centrifugación y el calentamiento a $65^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, y realizar la lectura de acuerdo con lo indicado en 5.5.9, (ver 5.5.12).

5.5.12 *Instrucciones adicionales.* Si existe formación de una capa esponjosa o no definida en la base de la columna de grasa, debe repetirse el ensayo teniendo cuidado de añadir el volumen correcto de alcohol amílico y de disolver completamente cualquier partícula blanca de la leche. Si la columna de grasa presenta una coloración muy oscura que dificulta la lectura, o hay carbonización en la interfase, debe repetirse el ensayo luego de verificar la densidad del ácido sulfúrico. El butirómetro debe lavarse perfectamente al final de la operación (ver A.1).

Anexo8: Porcentaje de acidez de los doce tratamientos de la leche

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	0,140	0,135	0,140	0,415	0,138
T2	0,135	0,135	0,130	0,400	0,133
T3	0,108	0,108	0,109	0,325	0,108
T4	0,108	0,108	0,106	0,322	0,107
T5	0,144	0,144	0,150	0,438	0,146
T6	0,144	0,140	0,142	0,422	0,1407
T7	0,144	0,142	0,142	0,424	0,1413
T8	0,153	0,135	0,126	0,414	0,138
T9	0,135	0,130	0,153	0,418	0,139
T10	0,108	0,120	0,100	0,328	0,109
T11	0,108	0,108	0,108	0,324	0,108
T12	0,142	0,142	0,142	0,426	0,142
Σ REP.	1,561	1,547	1,548	4,656	0,129

Tratamientos	Medias	Rangos
T5	0,146	a
T12	0,142	a
T7	0,141	a
T6	0,141	a
T9	0,139	a
T1	0,138	a
T8	0,138	a
T2	0,133	a
T10	0,109	b
T3	0,108	b
T11	0,108	b
T4	0,107	b

Anexo9: Porcentaje de grasa de los doce tratamientos de la leche

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	3,800	3,600	3,000	10,400	3,467
T2	2,600	2,600	3,100	8,300	2,767
T3	3,600	3,600	3,500	10,700	3,567
T4	3,200	3,100	3,000	9,300	3,100
T5	3,500	3,000	3,800	10,300	3,433
T6	4,700	4,600	4,700	14,000	4,667
T7	3,400	3,300	3,400	10,100	3,367
T8	3,900	4,300	3,100	11,300	3,767
T9	3,500	3,400	3,500	10,400	3,467
T10	2,500	2,300	2,600	7,400	2,467
T11	2,700	2,400	3,000	8,100	2,700
T12	3,800	3,500	3,700	11,000	3,667
Σ REP.	41,200	39,700	40,400	121,300	3,369

Tratamientos	Medias	Rangos
T6	4,667	a
T8	3,767	a
T12	3,667	b
T3	3,567	b
T1	3,467	b
T9	3,467	b
T5	3,433	b
T7	3,367	b
T4	3,100	b
T2	2,767	c
T11	2,700	c
T10	2,467	c

Anexo10: Porcentaje de Sólidos no grasos de los doce tratamientos de la leche

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	9,09	9,05	8,43	26,57	8,857
T2	8,20	8,10	8,10	24,40	8,113
T3	8,46	8,46	8,42	25,34	8,447
T4	8,43	8,31	8,34	25,08	8,360
T5	8,92	8,36	8,83	26,11	8,703
T6	8,95	8,98	9,00	26,93	8,977
T7	9,12	9,15	9,17	27,44	9,147
T8	9,08	9,96	8,11	27,15	9,050
T9	9,09	9,39	9,75	28,23	9,410
T10	6,54	6,34	6,68	19,56	6,520
T11	7,00	6,91	7,09	21,00	7,000
T12	8,83	8,96	8,79	26,58	8,860
Σ REP.	101,71	101,97	100,71	304,39	8,455

Tratamientos	Medias	Rangos
T9	9,410	a
T7	9,147	a
T8	9,050	a
T6	8,977	a
T1	8,857	a
T12	8,860	a
T5	8,703	a
T3	8,447	a
T4	8,360	b
T2	8,113	b
T11	7,000	c
T10	6,520	d

Anexo11: Porcentaje de Sólidos totales de los doce tratamientos de la leche

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	13,19	13,05	12,93	39,17	13,057
T2	10,90	10,91	11,41	33,22	11,073
T3	12,06	12,06	11,92	36,04	12,013
T4	11,53	11,41	11,34	34,28	11,427
T5	12,42	11,36	12,63	36,41	12,137
T6	13,65	13,58	13,65	40,93	13,643
T7	12,52	12,45	13,70	37,52	12,507
T8	12,98	14,26	12,55	38,45	12,817
T9	12,59	12,79	11,21	37,63	12,543
T10	9,04	8,64	12,25	26,96	8,987
T11	9,70	9,31	9,28	29,10	9,700
T12	12,63	13,96	10,09	39,08	13,027
Σ REP.	143,21	143,78	141,80	428,79	11,911

Tratamientos	Medias	Rangos
T6	13,643	a
T1	13,057	a
T12	13,027	a
T8	12,817	a
T9	12,543	a
T7	12,507	a
T5	12,137	a
T3	12,013	a
T4	11,427	b
T2	11,073	b
T11	9,700	c
T10	8,987	c

Anexo12: °C Punto de Congelación de los doce tratamientos de la leche

Rep Trat	I	II	III	ΣTRAT	MEDIA
T1	- 0,524	- 0,524	- 0,518	- 1,566	- 0,522
T2	- 0,472	- 0,470	- 0,492	- 1,434	- 0,478
T3	- 0,488	- 0,488	- 0,487	- 1,463	- 0,488
T4	- 0,479	- 0,478	- 0,477	- 1,434	- 0,478
T5	- 0,520	- 0,509	- 0,519	- 1,548	- 0,516
T6	- 0,524	- 0,525	- 0,525	- 1,574	- 0,525
T7	- 0,524	- 0,523	- 0,524	- 1,571	- 0,524
T8	- 0,522	- 0,523	- 0,471	- 1,516	- 0,505
T9	- 0,520	- 0,520	- 0,512	- 1,552	- 0,517
T10	- 0,346	- 0,340	- 0,347	- 1,033	- 0,344
T11	- 0,384	- 0,356	- 0,388	- 1,128	- 0,376
T12	- 0,519	- 0,524	- 0,515	- 1,558	- 0,519
ΣREP.	- 5,822	- 5,780	- 5,775	- 17,377	- 0,483

Tratamientos	Medias	Rangos
T6	- 0,525	a
T7	- 0,524	a
T1	- 0,522	a
T12	- 0,519	a
T9	- 0,517	a
T5	- 0,516	a
T8	- 0,505	a
T3	- 0,488	b
T2	- 0,478	b
T4	- 0,478	b
T11	- 0,376	c
T10	- 0,344	d

Anexo13: Porcentaje de Proteína de los doce tratamientos de la leche

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	3,300	3,480	3,250	10,030	3,343
T2	2,700	2,750	2,800	8,250	2,750
T3	2,870	2,820	2,830	8,520	2,840
T4	2,790	2,850	2,700	8,340	2,780
T5	3,290	3,310	3,270	9,870	3,290
T6	3,350	3,670	3,020	10,040	3,347
T7	3,520	3,510	3,280	10,310	3,437
T8	3,300	3,230	3,290	9,820	3,273
T9	3,320	3,320	3,320	9,960	3,320
T10	2,270	2,250	2,290	6,810	2,270
T11	2,500	2,460	2,540	7,500	2,500
T12	3,310	3,310	3,320	9,940	3,313
Σ REP.	36,520	36,960	35,910	109,390	3,039

Tratamientos	Medias	Rangos
T7	3,437	a
T6	3,347	a
T1	3,343	a
T9	3,320	a
T12	3,313	a
T5	3,290	a
T8	3,273	a
T3	2,840	b
T4	2,780	c
T2	2,750	c
T11	2,500	c
T10	2,270	d

Anexo14: Porcentaje de Cenizas de los doce tratamientos de la leche

Rep Trat	I	II	III	Σ TRAT	MEDIA
T1	0,69	0,68	0,65	2,02	0,67
T2	0,63	0,62	0,60	1,85	0,62
T3	0,64	0,64	0,62	1,90	0,63
T4	0,62	0,63	0,61	1,86	0,62
T5	0,68	0,65	0,67	2,00	0,67
T6	0,68	0,67	0,68	2,03	0,68
T7	0,67	0,68	0,68	2,03	0,68
T8	0,68	0,51	0,66	1,85	0,62
T9	0,69	0,68	0,62	1,99	0,66
T10	0,47	0,46	0,47	1,40	0,47
T11	0,51	0,50	0,52	1,53	0,51
T12	0,67	0,67	0,66	2,00	0,67
Σ REP.	7,63	7,39	7,44	22.46	0,62

Tratamientos	Medias	Rangos
T6	0.68	a
T7	0.68	a
T1	0.67	a
T5	0.67	a
T12	0.67	a
T9	0.66	a
T3	0.63	a
T4	0.62	a
T2	0.62	a
T8	0.62	a
T11	0.51	b
T10	0.47	c

Anexo 15: Informe de resultados de Determinación de presencia de Antibióticos. Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe



LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE UPS

Análisis solicitado por: JHOANNA FREIRE
Fecha de recepción: 21 de enero y 03 febrero del 2010
Fecha de entrega de resultados: 30 de marzo del 2010
Número de muestras: 12
Repetición: Primera
Parámetro analizado: Antibióticos

TRATAMIENTOS	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADOS
T1	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T2	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T3	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T4	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T5	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T6	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T7	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T8	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T9	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T10	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T11	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T12	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo

Sensibilidad del Kit COPAN MILK TEST
 *VMP = Valor máximo permitido. (Fuente de Datos INEN Leche cruda N°0009:2008)
 Antibióticos: β lactámicos 5 ppb, tetraciclina 100 ppb y sulfas 100 ppb

LABORATORIOS BIOAGROPECUARIOS

Cayambe, Av. Natalia Jarrín N - 385 y 9 de Octubre • Teléfonos: 396 2946 / 396 2927 / 396 2931
 • Fax: 396 2946 • E-mail: bioagrolab@ups.edu.ec

LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE UPS

Análisis solicitado por: JHOANNA FREIRE
 Fecha de recepción: 03 -18 febrero del 2010
 Fecha de entrega de resultados: 30 de marzo del 2010
 Número de muestras: 12
 Repetición: Segunda
 Parámetro analizado: Antibióticos

TRATAMIENTOS	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADOS
T1	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T2	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T3	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T4	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T5	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T6	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T7	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T8	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T9	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T10	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T11	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T12	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo

Sensibilidad del Kit COPAN MILK TEST

*VMP = Valor máximo permitido. (Fuente de Datos INEN Leche cruda N°0009:2008)

Antibióticos: β lactámicos 5 ppb, tetraciclina 100 ppb y sulfas 100 ppb

LABORATORIOS BIOAGROPECUARIOS

Cayambe, Av. Natalia Jamín N - 385 y 9 de Octubre • Teléfonos: 396 2946 / 396 2927 / 396 2931
 • Fax: 396 2946 • E-mail: bioagrolab@ups.edu.ec

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
 LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE UPS

Análisis solicitado por: JHOANNA FREIRE
 Fecha de recepción: 04 de marzo del 2010
 Fecha de entrega de resultados: 30 de marzo del 2010
 Número de muestras: 12
 Repetición: Tercera
 Parámetro analizado: Antibióticos

TRATAMIENTO	METODO	UNIDAD	RESULTADOS
T1	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T2	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T3	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T4	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T5	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T6	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T7	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Positivo
T8	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T9	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T10	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T11	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo
T12	Test cualitativo COPAN	Negativo/Positivo	Negativo

Sensibilidad del Kit COPAN MILK TEST

= Valor mínimo permitido. (Fuente de Datos INEN Leche cruda N°0009:2008)
 lactámicos 5 ppb, tetraciclinas 100ppb y sulfas 100ppb

* VMP
 Antibióticos b

LABORATORIOS BIOAGROPECUARIOS

Cayambe, Av. Natalia Jarín N - 385 y 9 de Octubre • Teléfonos: 396 2946 / 396 2927 / 396 2931
 • Fax: 396 2946 • E-mail: bioagrolab@ups.edu.ec

Antimicrobiano	Límite de detección (ppb)	Antimicrobiano	Límite de detección (ppb)
Na penicillin G	2,5	Sulphadiazine	50
Ampicillin	4	Clorotetracycline	100
Amoxicillin	4	Oxytetracycline	150
Cloxacillin	25	Tetracycline	100
Dicloxacillin	20	Erytromycin	200
Oxacillin	15	Spiramycin	1500
Cephapirín	10	Tylosin	100
Ceftiofur	50	Tylmicosine	100
Sulfhamethazine	125	Gentamycin	250
Sulphadimethoxin	50	Neomycin	600
Sulfathiazole	50	Dihydrostreptomycin	2000
Trimetoprim	200	Streptomycin SO ₄	2000

Límites de detección del Test Kit COPAN


 Ing. Juan Noboa
 Asistente de laboratorio

 **SALESIANA**
 Jefe de Laboratorios
LABORATORIO DE CALIDAD ECHE


 Q. de Alim - Paola Simbaña
 Control de Calidad

LABORATORIOS BIOAGROPECUARIOS

Cayambe, Av. Natalia Jamrín N - 385 y 9 de Octubre • Teléfonos: 396 2946 / 396 2927 / 396 2931
 • Fax: 396 2946 • E-mail: bioagrolab@ups.edu.ec

Anexo16: Informe de resultados del Contaje de Células Somáticas. Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana de Cayambe





LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

Cliente: JHOANNA FREIRE

Fecha de entrega: 30 de marzo del 2010

Cantidad de muestras: 12

Fecha de análisis: 21 de enero y 18 de febrero 2010

Dirección: Ibarra

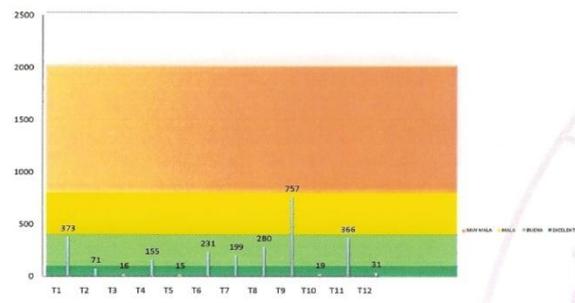
Temperatura: 7.4 °C (Máx. permitido 7°C)

RESULTADOS

Ruta / Filtro:	Código examinado	Contaje de Células Somáticas (CCS) (x1000/mL)	Observaciones
Primera	T1	373	-
Primera	T2	71	-
Primera	T3	16	-
Primera	T4	155	-
Primera	T5	15	-
Primera	T6	231	-
Primera	T7	199	-
Primera	T8	280	-
Primera	T9	757	-
Primera	T10	19	-
Primera	T11	366	-
Primera	T12	31	-
Promedios resultados		209.42	-
Patrón		750*	-

* VMP = Valor mínimo permitido. (Fuente de Datos INEN Leche cruda N°0009:2008)

Principio Analítico Empleado: CCS e CBT, técnica por Citometría de Imagen y Flujo; Composición Centesimal, técnica por Interferometría.

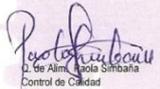




Ing. Juan Noboa
Asistente de laboratorio



LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE



D. de Alim. Paola Simbaña
Control de Calidad

LABORATORIOS BIOAGROPECUARIOS

Cayambe, Av. Natalia Jamín N - 385 y 9 de Octubre • Teléfonos: 396 2946 / 396 2927 / 396 2931
• Fax: 396 2946 • E-mail: bioagrolab@ups.edu.ec

LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

Cliente: JHOANNA FREIRE
Fecha de entrega: 30 de marzo del 2010
Cantidad de muestras: 12
Fecha de análisis: 24 de febrero del 2010

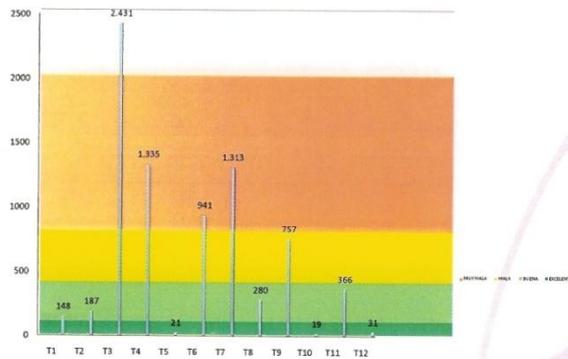
Dirección: Ibarra
Temperatura: 6.5 °C (Máx. permitido 7°C)

RESULTADOS

Ruta / Filtro:	Código examinado	Contaje de Células Somáticas (CCS) (x1000/mL)	Observaciones
Segunda	T1	148	-
Segunda	T2	187	-
Segunda	T3	2.431	-
Segunda	T4	1.335	-
Segunda	T5	21	-
Segunda	T6	941	-
Segunda	T7	1.313	-
Segunda	T8	280	-
Segunda	T9	757	-
Segunda	T10	19	-
Segunda	T11	366	E
Segunda	T12	31	E
Promedios resultados		652,42	-
Patrón		750*	-

* VMP = Valor mínimo permitido. (Fuente de Datos INEN Leche cruda N°0009:2008)

Principio Analítico Empleado: CCS Técnica por Citometría de Imagen
(E) Presencia de somáticas



[Signature]
Ingridy Noboa
Asistente de laboratorio

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

[Signature]
Control de Calidad

LABORATORIOS BIOAGROPECUARIOS

Cayambe, Av. Natalia Jamín N - 385 y 9 de Octubre • Teléfonos: 396 2946 / 396 2927 / 396 2931
• Fax: 396 2946 • E-mail: bioagrolab@ups.edu.ec

LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

Cliente: JHOANNA FREIRE
Fecha de entrega: 30 de marzo del 2010
Cantidad de muestras: 12
Fecha de análisis: 04 de marzo del 2010

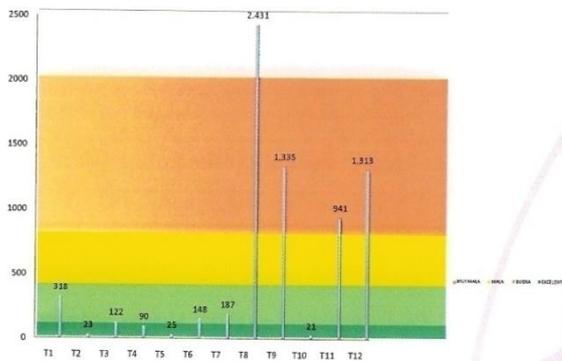
Dirección: Ibarra
Temperatura: 6.5 °C (Máx. permitido 7°C)

RESULTADOS

Ruta / Filtro:	Código examinado	Contaje de Células Somáticas (CCS) (x1000/mL)	Observaciones
Tercera	T1	318	-
Tercera	T2	23	-
Tercera	T3	122	-
Tercera	T4	90	-
Tercera	T5	25	-
Tercera	T6	148	-
Tercera	T7	187	-
Tercera	T8	2.431	-
Tercera	T9	1.335	-
Tercera	T10	21	-
Tercera	T11	941	E
Tercera	T12	1.313	E
Promedios resultados		579,50	-
Patrón		750*	-

* VMP = Valor mínimo permitido. (Fuente de Datos INEN Leche cruda N°0009:2008)

Principio Analítico Empleado: CCS Métrica por Citometría de Imagen
(E) Presencia de sociedades



[Signature]
Miguel Noboa
Asistente de laboratorio

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA ECUADOR
LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

[Signature]
C. de Am. Paola Simbana
Control de Calidad

LABORATORIOS BIOAGROPECUARIOS

Cayambe, Av. Natalia Jamín N - 385 y 9 de Octubre • Teléfonos: 396 2946 / 396 2927 / 396 2931
• Fax: 396 2946 • E-mail: bioagrolab@ups.edu.ec

Anexo17: Informe de resultados de los análisis realizados en el Laboratorio de Uso Múltiple de la Universidad Técnica del Norte.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

IBARRA - ECUADOR

UNIVERSIDAD TECNICA DEL NORTE
Laboratorio de Uso Múltiple

Informe Nº: 54 -2010

Análisis solicitado por: Jhoanna Freire y Zianie Villegas

Número de muestras : Treinta y seis, leche fresca

Fecha de recepción de las muestras: 15 de febrero de 2010

Ibarra, 07 de diciembre de 2010

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados						Metodología Utilizada
		T1R1	T1R2	T1R3	T2R1	T2R2	T2R3	
Densidad	g/cm ³	1,0303	1,0302	1,0304	1,0284	1,0284	1,028	Lactodensímetro de Quevenne
Acidez (como ác. láctico)	%	0,14	0,135	0,14	0,135	0,135	0,13	AOAC 935.57
Prueba de Alcohol	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Etanol al 75 %
Almidón	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Lugol
Peróxido de hidrógeno	mg/l	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Quantofix Peróxido 25
Grasa	%	3,80	3,60	3,00	2,60	2,60	3,10	LACTOSCAN
Sólidos No Grasos	%	9,09	9,05	8,43	8,2	8,1	8,1	
Sólidos Totales	%	13,19	13,05	12,93	10,9	10,91	11,41	
Punto de congelación	°C	-0,524	-0,524	-0,518	-0,472	-0,47	-0,492	
Proteína	%	3,3	3,48	3,25	2,7	2,75	2,8	
Carbón	%	0,69	0,68	0,65	0,63	0,62	0,6	
Recuento Aerobios Mesófilos	UFC/ml	3 x 10 ³	2 x 10 ³	1 x 10 ⁴	5 x 10 ³	4 x 10 ³	4 x 10 ³	AOAC 985.33
Recuento de Enterobacterias	UFC/ml	3 x 10 ³	2 x 10 ³	3 x 10 ³	2 x 10 ³	2 x 10 ³	2 x 10 ³	AOAC 2003.01

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados						Metodología Utilizada
		T3R1	T3R2	T3R3	T4R1	T4R2	T4R3	
Densidad	g/cm ³	1,0262	1,0282	1,0281	1,028	1,028	1,0282	Lactodensímetro de Quevenne
Acidez (como ác. láctico)	mg/100 ml	0,108	0,108	0,109	0,108	0,108	0,106	AOAC 935.57
Prueba de Alcohol	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Etanol al 75 %
Almidón	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Lugol
Peróxido de hidrógeno	mg/l	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Quantofix Peróxido 25
Grasa	%	3,60	3,60	3,50	3,20	3,10	3,00	LACTOSCAN
Sólidos No Grasos	%	8,46	8,46	8,42	8,43	8,31	8,34	
Sólidos Totales	%	12,06	12,06	11,92	11,53	11,41	11,34	
Punto de congelación	°C	-0,488	-0,488	-0,487	-0,479	-0,478	-0,477	
Proteína	%	2,87	2,82	2,83	2,79	2,85	2,70	
Carbón	%	0,64	0,64	0,62	0,62	0,63	0,61	
Recuento Aerobios Mesófilos	UFC/ml	5 x 10 ³	5 x 10 ³	2 x 10 ³	2 x 10 ³	2 x 10 ³	4 x 10 ³	
Recuento de Enterobacterias	UFC/ml	5 x 10 ³	4 x 10 ³	1 x 10 ⁴	6 x 10 ³	4 x 10 ³	2 x 10 ³	

Misión Institucional
Contribuir al desarrollo educativo, científico, tecnológico, socioeconómico y cultural de la región norte del país. Formar profesionales éticos, humanistas y éticos comprometidos con el cambio social.





UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

IBARRA - ECUADOR

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados						Metodología Utilizada	
		T5R1	T5R2	T5R3	T6R1	T6R2	T6R3		
Densidad	g/cm ³	1,0301	1,0283	1,0295	1,0292	1,0294	1,0294	Lactodensímetro de Quevenne	
Acidez (como ác. láctico)	mg/100 ml	0,144	0,144	0,15	0,144	0,14	0,142	AOAC 935.57	
Prueba de Alcohol	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	POSIT.	POSIT.	POSIT.	Etanol al 75 %	
Almidón	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Lugol	
Peróxido de hidrógeno	mg/l	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Quantofix Peróxido 25	
Grasa	%	3,50	3,00	3,80	4,70	4,60	4,70	LACTOSCAN	
Sólidos No Grasos	%	8,92	8,36	8,83	8,95	8,98	9		
Sólidos Totales	%	12,42	11,36	12,63	13,65	13,58	13,65		
Punto de congelación	°C	-0,52	-0,509	-0,519	-0,524	-0,525	-0,525		
Proteína	%	3,29	3,31	3,27	3,35	3,67	3,02		
Cenizas	%	0,68	0,65	0,67	0,68	0,67	0,68		
Recuento Aerobios Mesófilos	UFC/ml	2 x 10 ⁵	2 x 10 ⁷	3 x 10 ⁶	2 x 10 ⁴	1 x 10 ⁵	1 x 10 ⁷		AOAC 986.33
Recuento de Enterobacterias	UFC/ml	2 x 10 ⁴	5 x 10 ⁷	3 x 10 ⁵	1 x 10 ⁵	2 x 10 ⁵	2 x 10 ⁵		AOAC 2003.01

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados						Metodología Utilizada	
		T7R1	T7R2	T7R3	T8R1	T8R2	T8R3		
Densidad	g/cm ³	1,031	1,0312	1,0312	1,0304	1,033	1,0272	Lactodensímetro de Quevenne	
Acidez (como ác. láctico)	mg/100 ml	0,144	0,142	0,142	0,153	0,135	0,126	AOAC 935.57	
Prueba de Alcohol	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Etanol al 75 %	
Almidón	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Lugol	
Peróxido de hidrógeno	mg/l	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Quantofix Peróxido 25	
Grasa	%	3,40	3,30	3,40	3,90	4,30	3,10	LACTOSCAN	
Sólidos No Grasos	%	8,12	9,15	9,17	9,08	9,96	8,11		
Sólidos Totales	%	12,52	12,45	13,7	12,98	14,26	12,55		
Punto de congelación	°C	-0,524	-0,523	-0,524	-0,522	-0,523	-0,471		
Proteína	%	3,52	3,51	3,28	3,30	3,23	3,29		
Cenizas	%	0,67	0,68	0,68	0,68	0,51	0,66		
Recuento Aerobios Mesófilos	UFC/ml	2 x 10 ⁴	3 x 10 ⁵	8 x 10 ⁵	1 x 10 ⁴	3 x 10 ⁴	4 x 10 ⁴		AOAC 986.33
Recuento de Enterobacterias	UFC/ml	2 x 10 ⁵	3 x 10 ³	5 x 10 ³	2 x 10 ⁴	2 x 10 ⁴	3 x 10 ⁵		AOAC 2003.01



Misión Institucional

Contribuir al desarrollo educativo, científico, tecnológico, socioeconómico y cultural de la región norte del país. Formar profesionales críticos, humanistas y éticos comprometidos con el cambio social.

Ciudadela Universitaria barrio El Olivo
Teléfono (06) 2 953-461 Casilla 199
(06) 2 679-420 2 640-89 Fax: Ext.101
E-mail: utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

IBARRA - ECUADOR

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados						Metodología Utilizada	
		T9R1	T9R2	T9R3	T10R1	T10R2	T10R3		
Densidad	g/cm ³	1,0308	1,0321	1,0294	1,0214	1,0208	1,0219	Lactodensímetro de Quevenne	
Acidez (como ác. láctico)	mg/100 ml	0,135	0,13	0,153	0,108	0,12	0,1	AOAC 935.57	
Prueba de Alcohol	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	POSIT.	POSIT.	POSIT.	Etanol al 75 %	
Almidón	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Lugol	
Peróxido de hidrógeno	mg/l	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Quantofix Peróxido 25	
Grasa	%	3,50	3,40	3,50	2,50	2,30	2,60	LACTOSCAN	
Sólidos No Grasos	%	9,09	9,39	9,75	6,54	6,34	6,68		
Sólidos Totales	%	12,59	12,79	11,21	9,04	8,64	12,25		
Punto de congelación	°C	-0,52	-0,52	-0,512	-0,346	-0,84	-0,347		
Proteína	%	3,32	3,32	3,32	2,27	2,25	2,29		
Cenizas	%	0,69	0,68	0,62	0,47	0,46	0,47		
Recuento Aerobios Mesófilos	UFC/ml	3 x 10 ⁵	2 x 10 ⁵	9 x 10 ⁶	1 x 10 ⁶	8 x 10 ⁴	6 x 10 ⁶		AOAC 986.33
Recuento de Enterobacterias	UFC/ml	2 x 10 ⁵	2 x 10 ⁵	1 x 10 ⁴	2 x 10 ⁶	1 x 10 ⁴	8 x 10 ⁵		AOAC 2003.01

Parámetro Analizado	Unidad	Resultados						Metodología Utilizada	
		T11R1	T11R2	T11R3	T12R1	T12R2	T12R3		
Densidad	g/cm ³	1,0231	1,023	1,0232	1,0295	1,029	1,0294	Lactodensímetro de Quevenne	
Acidez (como ác. láctico)	mg/100 ml	0,108	0,108	0,108	0,142	0,142	0,142	AOAC 935.57	
Prueba de Alcohol	Neg./posit.	POSIT.	POSIT.	POSIT.	NEG.	NEG.	NEG.	Etanol al 75 %	
Almidón	Neg./posit.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	NEG.	Lugol	
Peróxido de hidrógeno	mg/l	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Quantofix Peróxido 25	
Grasa	%	2,70	2,40	3,00	3,80	3,50	3,70	LACTOSCAN	
Sólidos No Grasos	%	7,00	6,91	7,09	8,83	8,96	8,79		
Sólidos Totales	%	9,7	9,31	9,28	12,63	13,96	10,09		
Punto de congelación	°C	-0,384	-0,356	-0,388	-0,519	-0,524	-0,515		
Proteína	%	2,50	2,46	2,54	3,31	3,31	3,32		
Cenizas	%	0,51	0,50	0,52	0,67	0,67	0,66		
Recuento Aerobios Mesófilos	UFC/ml	2 x 10 ⁵	4 x 10 ⁴	1 x 10 ⁶	1 x 10 ⁵	7 x 10 ⁶	2 x 10 ⁴		AOAC 986.33
Recuento de Enterobacterias	UFC/ml	3 x 10 ⁵	2 x 10 ⁶	5 x 10 ⁵	3 x 10 ⁵	3 x 10 ⁶	2 x 10 ⁵		AOAC 2003.01

Los resultados corresponden exclusivamente para las muestras analizadas.

Atentamente:

Blaq. José Luis Moreno
ANALISTA



Misión Institucional

Contribuir al desarrollo educativo, científico, tecnológico, socioeconómico y cultural de la región norte del país. Formar profesionales críticos, humanistas y éticos comprometidos con el cambio social.

Ciudadela Universitaria barrio El Olivo
Teléfono (06) 2 953-461 Casilla 199
(06) 2609-420 2640-88 Fax: Ext:1011
E-mail: utn@utn.edu.ec
www.utn.edu.ec

Anexo18: Firmas de los asistentes a la conferencia en la Parroquia los Andes cantón Bolívar.

SEMINARIO TALLER MANEJO ADECUADO DE LA LECHE CRUDA

REGISTRO DE ASISTENCIA

Provincia: Carchi.

Cantón: Bolívar

Nº	NOMBRES	APELLIDOS	FECHA	FIRMA
1	José	Córdova	14/12/10	José Córdova
2	Carmen	Argamarcos		Carmen Argamarcos
3	Rafael Amos	Quintero	14/12/2010	Rafael Amos
4	Vicente Nejes	Nejes	14/12/2010	Vicente Nejes
5	Saul Nejes	Nejes	14-12-2010	Saul Nejes
6	Victor	Alvarado	14-12-2010	Victor Alvarado
7	Vicente	Rosel	14/12/2010	Vicente Rosel
8	Isabel	Duval	14-2010	Isabel Duval
9	Fanny	Nejes	14-12-2010	Fanny Nejes
10	HARLENE	VALENZUELA	14-12-2010	Harlene Valenzuela

FACILITADORAS



Jhoanna Freire Carrera



Zianie Villegas Mantuano



Sra. Aura Hernández

PRESIDENTA JUNTA PARROQUIAL LOS ANDES

SEMINARIO TALLER MANEJO ADECUADO DE LA LECHE CRUDA

REGISTRO DE ASISTENCIA

Provincia: Carchi.

Cantón: Bolívar

Nº	NOMBRES	APELLIDOS	FECHA	FIRMA
11	Maria Jimio	Jimio	14/12/10	
12	Paco El Dorado	El Dorado	14/12/10	
13	Bartolomé	Urbano	14/12/10	
14	Hector Guillermo	IBUES NESER	14/12/10	
15	Juan José Jalón	Jalón	14/12/10	
16	Marcos Emilio	Najer Loandrea	14/12/2010	
17	Wilson Guerrero	Guerrero	14/12/2010	
18				
19				
20				

FACILITADORAS

Jhoanna Freire Carrera

Zianie Villegas Mantuano

Sra. Aura Hernández

PRESIDENTA JUNTA PARROQUIAL LOS ANDES