

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN-TACNA**

**Facultad de Ciencias**

**Escuela Académico Profesional de Biología Microbiología**

**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE CRUDA EXPEDIDA  
A LOS ALREDEDORES DE LOS MERCADOS DEL  
DISTRITO DE TACNA, PROVINCIA DE TACNA**

**TESIS**

**Presentada por:**

**Bach. ANIBAL HIPOLITO COHAILA PIHUAYCHO**

**Para optar el Título Profesional de:**

**BIÓLOGO MICROBIÓLOGO**

**TACNA - PERÚ**

**2013**

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA MICROBIOLOGIA

Acta de sustentación de Tesis N° 202

En la ciudad de Tacna, en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional "Jorge Basadre Grohmann", siendo las 10:00 hrs. Del día 06 de Diciembre del 2013. El jurado calificador designado mediante Resolución de Facultad N° 7550-2013-FACI-UN/JBG, constituido por:

- MSc. Cesar Efraín Rivasplata Cabanillas
- Blgo. Mblgo. Luis LLoja Lozano
- MSc. Angela Verónica Choque Miranda

Acto seguido se dio lectura a la Resolución de Facultad antes mencionada y el artículo 22 del capítulo VI del Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias.

A continuación el Presidente del Jurado Calificador invita al Bachiller ANIBAL HIPOLITO COHAILA PIHUAYCHO, a sustentar la tesis titulada: "Calidad microbiológica de la leche cruda expedida a los alrededores de los mercados del Distrito de Tacna, Provincia de Tacna".

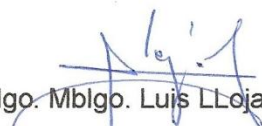
Siendo las 11:45 hrs.; el Bachiller en mención concluyó el acto de sustentación de la tesis antes mencionada. A continuación el Presidente del Jurado calificador invitó a los miembros a realizar las preguntas y con el compromiso de realizar el levantamiento de las observaciones hechas, se dio por concluida la sustentación de la Tesis. Seguidamente el Jurado Calificador en forma individual y escrita emitieron sus calificaciones, con el siguiente resultado: APROBADO POR UNANIMIDAD, con el calificativo de 15 (QUINCE) BUENO, de acuerdo al artículo 20 del reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias de la UNJBG

Siendo las 11:45 hrs., se dio por concluido el acto de sustentación, firmando los miembros del Jurado en Señal de conformidad.



MSc. Cesar Efraín Rivasplata Cabanillas

PRESIDENTE



Blgo. Mblgo. Luis LLoja Lozano

SECRETARIO



MSc. Angela Verónica Choque Miranda

VOCAL



## INDICE GENERAL

Agradecimiento	1
Dedicatoria	2
Resumen	3
CAPITULO I: ASPECTOS GENERALES	4
1.1 Introducción	4
1.2 Problema	8
1.3 Justificación del problema	8
1.4 Hipótesis	10
1.5 Objetivos	10
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Historia de la leche y productos lácteos	12
2.2 Antecedentes del problema	15
2.3 Situación de leche en el mundo	18
2.4 Situación de la leche en el Perú	20
2.5 Situación de la leche en Tacna	26
2.6 Bases teóricas	28

2.7 Fuentes de Contaminación	39
2.8 Microorganismos de la leche	44
2.9 Calidad higiénica	58
2.10 Normas nacionales e internacionales y su relación con el mercado	64
<b>CAPITULO III: MATERIALES Y METODOS</b>	<b>66</b>
3.1 Material de vidrio y otros	66
3.2 Equipos	68
3.3 Medios de cultivo y reactivos	69
3.4 Tipo de estudio	69
3.5 Variables de estudio	70
3.6 Tamaño de la muestra	71
3.7 Área de estudio	71
3.8 Material de estudio	72
3.9 Lugar de experimentación	72
3.10 Metodología de la Investigación	72
3.11 Métodos de laboratorio	74
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS</b>	<b>84</b>

Discusión	111
Conclusiones	116
Recomendaciones	118
Bibliografía	120
CAPITULO V: ANEXOS	130

## INDICE DE TABLAS

	<b>Pag.</b>
Tabla 1. Resultados de los análisis microbiológicos	85
Tabla 2. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> , expendido alrededor del Mercado Bolognesi del distrito de Tacna.	87
Tabla 3. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> , expendido alrededor del Mercado Túpac Amaru del distrito de Tacna.	89
Tabla 4. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> , expendido alrededor del Mercado 2 de Mayo del distrito de Tacna.	91
Tabla 5. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> , expendido alrededor del Mercado Túpac Amaru II del distrito de Tacna	93

Tabla 6.	Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> , expendido del Mercado Leoncio Prado del distrito de Tacna.	95
Tabla 7.	Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> , expendido alrededor del Mercado Central del distrito de Tacna.	97
Tabla 8.	Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> , expendido alrededor del Mercado Polvos Rosados del distrito de Tacna.	99
Tabla 9.	Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> , expendido alrededor del Mercado Grau del distrito de Tacna.	101

Tabla 10.	Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de <i>E. coli</i> expendido alrededor del Mercado 1 de Mayo del distrito de Tacna	103
Tabla 11.	Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables (BAMV) en muestras de Leche cruda en nueve mercados de la ciudad de Tacna.	105
Tabla 12.	Porcentaje de muestras aptas y no aptas para Coliformes Totales en muestras de Leche cruda en nueve mercados de la ciudad de Tacna.	107
Tabla 13.	Porcentaje d muestras aptas y no aptas para <i>Escherichia coli</i> en muestras de Leche cruda en nueve mercados de la ciudad de Tacna	109

## INDICE DE CUADROS

	Pag.
CUADRO 01. Composición típica y propiedades físicas de la leche cruda de vaca	33
CUADRO 02. Bacterias presentes en la leche cruda	41
CUADRO 03. Enterobacteriaceae	50
CUADRO 04. Control bacteriológico de la leche cruda	63
CUADRO 05. Procedimientos para el análisis de la Leche cruda.	73

## INDICE DE GRAFICOS

	Pag.
GRAFICO 1. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Bolognesi del distrito de Tacna.	88
GRAFICO 2. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Túpac Amaru del distrito de Tacna.	90
GRAFICO 3. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado 2 de Mayo del distrito de Tacna.	92
GRAFICO 4. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Túpac Amaru II del distrito de Tacna.	94

GRAFICO 5.	Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Leoncio Prado del distrito de Tacna.	96
GRAFICO 6.	Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Central del distrito de Tacna.	98
GRAFICO 7.	Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Polvos Rosados del distrito de Tacna.	100
GRAFICO 8.	Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Grau del distrito de Tacna.	102

GRAFICO 9.	Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado 1 de Mayo del distrito de Tacna.	104
GRAFICO 10.	Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, encontrados en muestras de leche cruda expendida a los alrededores de nueve mercados del distrito de Tacna.	106
GRAFICO 11.	Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Coliformes Totales, encontrados en muestras de leche cruda expendida a los alrededores de nueve mercados del distrito de Tacna.	108
GRAFICO 12.	Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para <i>Escherichia coli</i> , encontrados en muestras de leche cruda expendida a los alrededores de nueve mercados del distrito de Tacna.	110

## **AGRADECIMIENTO**

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerle a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado, por todas las buenas almas de las que me rodeas, pues mi logro es también el suyo, porque juntos y con fe tenemos más fuerza para seguir adelante.

Agradezco también a mis padres, Julián y Juana, por brindarme su invaluable apoyo e inmedible cariño; esta conquista es sólo el comienzo de tantas, que les demostraré pues serán producto de su formación implantada y fe en su hijo que los adora en demasía.

A mi hermano Jose Luis, que con su apoyo y consejos me ha ayudado a afrontar los retos que se me han presentado a lo largo de mi vida.

A mi asesor de tesis, quien me apoyo en todo momento resolviendo las dudas y fortaleciéndome en mis vacilaciones.

A la vida por cruzar mi sendero con seres excepcionales como los amigos Josmell, Giancarlo, Pamela, María, Luis, Lina, por estar siempre apoyándome.

Y gracias a todas las personas que de alguna manera apoyaron a la realización de la Tesis.

Para ellos: Muchas gracias y que Dios los bendiga.

## **DEDICATORIA**

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando a punto de caer he estado; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo a Dios.

De igual forma, dedico esta tesis a mi madre que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

A mi padre que es mi fortaleza y mi ejemplo de profesional a seguir.

A mi familia en general, porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar la calidad microbiológica de leche cruda obtenida en los alrededores de los mercados del distrito de Tacna, se tomaron 64 muestras de 500 ml cada una de leche cruda, de los 32 puestos de venta de los mercados que se encuentran en el distrito de Tacna durante los meses de Diciembre del 2012 y Mayo del 2013. Se registraron las características organolépticas de textura, olor y color; así mismo, se evaluó mediante métodos microbiológicos de cultivo el número de gérmenes/ml de leche cruda de bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes totales y *Escherichia coli*.

Se encontró que el 100% de muestras analizadas presentaron una mala calidad microbiológica por no cumplir con las características microbiológicas que INDECOPI establece para este alimento.

Para la determinación de la calidad microbiológica de la leche cruda los resultados obtenidos revelaron valores superiores a los permitidos por INDECOPI, para: Microorganismos Aerobios Mesófilos Viables (92%), para Coliformes Totales (97%). Así mismo, hubo presencia de *Escherichia coli* en el 100% de las muestras.

## CAPÍTULO I: ASPECTOS GENERALES

### 1.1 INTRODUCCIÓN

Se entiende por leche cruda al producto integro no alterado ni adulterado y sin calostro (primera leche de la vaca después del parto), del ordeño higiénico, regular y completo de las vacas sanas y bien alimentadas. La composición química de la leche de diferentes especies de animales es semejante, pero no igual. Todas ellas contienen los tres principios inmediatos: glúcidos, lípidos y próticos, así como vitaminas y sales minerales. Todo ello en perfecto equilibrio estable, que se va a romper si tiene lugar un crecimiento bacteriano. (Aguilar, 2010). Secreción natural de la glándula mamaria de los animales mamíferos. La denominación *leche* sin indicación de especie, se refiere a la *leche de vaca*. Cuando se tratase de leche perteneciente a otras especies se exige el nombre de la especie (leche de cabra, leche de oveja). (Pascual 2000).

La leche es uno de los alimentos de más trascendencia durante el desarrollo del ser humano, debido a sus excelentes propiedades nutricionales, aportando una amplia gama y gran cantidad de nutrientes

esenciales; así desde el recién nacido hasta la vida adulta es un alimento único e indispensable. Para esto el ganadero debe concientizarse de que no sólo está produciendo un alimento de primera necesidad sino también que la leche cruda obtenida es la materia prima que va a condicionar la calidad del producto final, ya sea leche líquida, queso, yogurt o cualquier otro derivado lácteo.(Zarraga, 2006)

Los usos más importantes para la leche cruda son el consumo humano directo y la alimentación de terneros en las fincas. Otros usos destacados son el procesamiento artesanal de los quesos, las mantequillas y la industrialización para elaborar leche pasteurizada y los derivados lácteos. Generalmente ocurre en las pequeñas empresas rurales de nuestra provincia, las condiciones de ordeño, transporte y conservación de la leche cruda no se encuentran dentro de los parámetros adecuados, esto es causado por varios factores, entre los más significativos podemos citar la falta de capacitación, no cuentan con los recursos técnicos apropiados, o simplemente existe un marcado descuido en el tratamiento adecuado de la leche; esto conlleva a que se trabaje con materias primas de mala calidad acompañado esto a la ausencia de buenas prácticas de manufactura que se deberían aplicar al momento del trabajo.(Heredia, 2006)

El sector Lácteo tiene una importancia en la producción Agropecuaria y Agroindustrial en el País. La ganadería vacuna es la segunda actividad en aporte al sector agropecuario, con el 11,5 % del valor de la Producción (VP), mientras que la producción de leches evaporadas y pasteurizadas contribuyen el 20 % al VP agroindustrial.(Zarraga, 2006)

En el Perú, el sector lácteo en relación a sus similares de otros países de Sudamérica ocupa el tercer lugar entre los países que consumen y producen menor cantidad de leche, demostrando indicadores de consumo y producción per cápita de tan solo 46 y 42 Kg. Respectivamente, mientras que la FAO recomienda un consumo mínimo vital de 120 Kg. De leche por habitante al año. (Ministerio de Agricultura, 2003)

Sin embargo, en Tacna existe un conocimiento limitado de los peligros microbiológicos asociados a la falta de éstas , por el consumo de leche cruda ya sea ingerida directamente o en sus derivados como los quesos, debido a que no se rige un sistema de control adecuado , ésta situación podría convertirse en un riesgo para la salud pública, además de los indicadores de la calidad bacteriológica de la leche cruda, la alta prevalencia de las enfermedades de la ubre, la existencia de un mercado marginal de producción y la presencia de brotes donde este alimento está implicado,

indicaría que no existe un compromiso en la inocuidad del mismo. Por otra parte la aparición, distribución y frecuencia de los microorganismos y enfermedades asociadas al consumo de alimentos contaminados así como los peligros implicados no siempre siguen el mismo patrón de comportamiento en cada zona geográfica, lo que hace necesario la realización de estudios específicos, a fin de establecer las medidas necesarias para garantizar la seguridad y salubridad del producto alimentario, incluida la manipulación por el consumidor desde el momento en que adquiere el alimento en un punto de venta hasta que lo consume, por ello es que los alimentos comercializados en cualquier punto de venta deben cumplir todas las normas higiénicas, sanitarias, y estar controlados por las autoridades competentes. La presencia de patógenos en la leche cruda puede reducirse considerablemente mediante una adecuada higiene y buenas prácticas de manufactura, siguiendo las normas propuestas por el gobierno peruano. Por ello es de importancia fundamental la determinación de la calidad microbiológica de la leche cruda, que constituye uno de los productos de mayor consumo popular e infaltable en la alimentación de las familias tacneñas.

## **1.2 PROBLEMA**

¿En qué porcentajes se encuentran los microorganismos indicadores presentes en la leche cruda expedida a los alrededores de los mercados, en el distrito de Tacna?

## **1.3 JUSTIFICACION E IMPORTANCIA DEL PROBLEMA**

La leche cruda distribuida deberá reunir características de calidad bacteriológicas que se enmarquen dentro de los parámetros establecidos por los organismos nacionales e internacionales, encargados de velar por la salud pública, la economía y la tecnología. Por tanto, la leche cruda deberá estar libres de microorganismos patógenos, bajo conteo bacteriano total, libres de sedimentos y materias extrañas o nocivas, entre otras.

La leche cruda por su gran cantidad de nutrientes ideales para el desarrollo microbiano, es necesario realizarle frecuentes análisis microbiológicos que den una información de la calidad de su elaboración. La leche es un alimento que constituye un hábitat ideal para el desarrollo bacteriológico, ya que consta de grasa emulsionada, de concentración fisiológico de azúcares, sales, proteínas, vitaminas y minerales disueltas en

agua. Los carbohidratos están representados por la lactosa y galactosa. Su pH es de 6.8 que el límite óptimo para la mayoría de las bacterias. Los microorganismos invaden la leche y la contaminan por medio del polvo de ahí que pueden desarrollarse todas las especies. El organismo que generalmente invaden primero es el *Streptococcus lactis*, el cual fermenta la lactosa con producción de ácido láctico principalmente. Cuando el pH baja se desarrollan otras especies como el *Bacillus acidophilus* y el *Lactobacillus casei*. A una temperatura corporal se desarrolla el *Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli*.

Al determinar la presencia de microbios en las muestras de leche cruda se podrá saber qué tipo de organismos se hallan en estas y que tan segura es la leche cruda para el consumo de la población. Al determinar también los parámetros organolépticos se puede saber cómo es la calidad de la leche cruda que consume la población.

## **1.4 HIPOTESIS**

Las poblaciones de microorganismos indicadores serán elevadas en la leche cruda.

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar la calidad microbiológica de la leche cruda expendida en los alrededores de los mercados del distrito de Tacna.

### **1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Determinar el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos Viables (según norma NTP 202.001 2003) en la leche cruda que se expende en los alrededores de los mercados del distrito de Tacna.
- Determinar el recuento de Coliformes Totales (según norma NTP 202.001 2003) en la leche cruda que se expende en los alrededores de los mercados del distrito de Tacna.

- Evaluar la presencia de *Escherichia coli* en la leche cruda que se expende en los alrededores de los mercados del distrito de Tacna.
- Determinar si la carga microbiana existente en la leche cruda sobrepasa los límites microbiológicos permisibles dadas por las normas peruanas

## **CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRAFICA**

### **2.1 HISTORIA DE LA LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS**

Desde hace 8,000 años, los pueblos de Mesopotamia intentaron domesticar animales productores de leche, por lo que es lógico pensar que desde entonces el hombre buscara utilizar y procesar la leche con fines alimentarios. Recientemente se descubrió que el hombre mediterráneo de la Edad del Cobre (hace aproximadamente 6,000 años) consumía leche y ya conocía técnicas para su conservación, produciendo desde entonces dos variedades de queso: el requesón o queso Ricotta (queso fresco obtenido del suero de leche) y el Tuma (especie de queso madurado de leche de oveja).

Es posible que el queso haya sido descubierto accidentalmente hace por lo menos 5,000 años en el intento de transportar y conservar la leche, quizás dentro de un saco hecho con el estómago de una oveja, donde las enzimas de la pared del estómago, aunadas al calor y el movimiento, acidificaron la leche y coagularon las proteínas, surgiendo así la primera “cuajada”.

Las leches fermentadas y el yoghurt se conocen desde siempre entre las poblaciones orientales; de hecho el término “joggurt” (en turco “leche densa”) tiene orígenes antiquísimos, siendo ya citado en la Biblia y descrito por Aristóteles; sin embargo, al igual que el queso y dada la probable casualidad de su descubrimiento, es difícil definir cuándo apareció por primera vez pero se cree que su origen data de hace por lo menos 4,000 años. En el siglo XX su consumo se extendió hacia Occidente y se popularizó gracias a los estudios realizados por Metchnikov, quien aisló el *Lactobacillus bulgaricus* (a partir de una muestra de yoghurt proveniente de Bulgaria), e intuyó que el consumo constante de este alimento podía proteger al hombre contra bacterias nocivas en el intestino. (García y col, 2011)

Probablemente el primer animal que fue criado para la obtención de leche fue la cabra, aunque otros autores mencionan a la oveja como el primer mamífero domesticado para este fin. Con la domesticación del ganado vacuno, sin embargo, las cabras fueron sustituidas por las vacas como fuente principal de leche. La descripción gráfica más antigua que se conoce del ordeño es un bajorrelieve en un templo mesopotámico que data del 2,900 A.C. En tiempos de los antiguos griegos y romanos se criaban rebaños de vacas como fuente de leche y se piensa que fueron los romanos quienes

introdujeron el ganado en otras partes de Europa cuando invadieron la Bretaña en el siglo I D.C. El primer queso suizo se registra en el 58 D.C. y el primer queso inglés data del 120 D.C.

La introducción del ganado lechero en la Nueva España fue en unos principios reducidos dados las dificultades para su transporte; sin embargo la producción animal creció y se dispersó rápidamente observándose un auge a mediados del siglo XVI. Hasta inicios del siglo XIX, la gente en México bebía la leche producida en granjas y rancherías cercanas. Con el desarrollo del ferrocarril, la leche estuvo a disposición de mucha más gente. Sin embargo, la calidad de la leche era a veces muy pobre y podía estar contaminada con bacterias que causaban enfermedades. Hacia finales del siglo XIX con el surgimiento de la pasteurización y la estandarización se logró obtener una leche de mucha mayor calidad y con mucho menor riesgo para la salud. (García y col, 2011)

Actualmente, gracias al advenimiento de la biotecnología y los avances tecnológicos industriales se han logrado desarrollar productos lácteos cada vez más sofisticados y funcionales que contribuyen no sólo a agradar al paladar, sino a procurar la salud del consumidor. (García y col, 2011)

## 2.2 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA

Ludeña, F.; Peralta, S.; Arroyo, O.; Fung, L. y Gonzales, (2006). C. realizaron el trabajo titulado, **“Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la leche de cabra y su conservación mediante la activación del sistema lactoperoxidasa”**. Realizaron este estudio con la finalidad de presentar las características fisicoquímicas y microbiológicas de la leche de cabra criolla, el trabajo se realizó entre 14 a 18 semanas, teniendo resultado para la leche de cabra acidez titulable (14,53+2,06 °D), pH (6,70+0,08), densidad (1,030+0,003 g/ml), grasa (4,89+1,36%), proteína (3,77+0,59 %), lactosa (4,01+0,46 %), sólidos totales (13,38+1,69 %), estabilidad al alcohol (48,93+ 4,97 %), bacterias aerobias mesófilas viables (3,81x10<sup>4</sup>+4,98x10<sup>4</sup> ufc/ml) y coliformes totales (5,68x10<sup>2</sup>+1,14x10<sup>3</sup> ufc/ml). El sistema lactoperoxidasa extendió la conservación de leche caprina de buena calidad higiénica, almacenada a 22-25 °C, en 4,3 horas. Muestras almacenadas a 6 °C incrementaron su tiempo de conservación en 55,89 horas y 54,22 horas en leche de buena y mala calidad higiénica, respectivamente.

Emiro Valbuena, Gustavo Castro, Keidy Lima, Wendy Acosta, Wilfido Bríñez y Armando Tovar, (2004) realizaron un estudio del producto lácteo fluido que se consume en Venezuela de título; **“Calidad Microbiológica De Las Principales Marcas De Leche Pasteurizada Distribuidas En La Ciudad De Maracaibo, Venezuela”** evaluaron cinco marcas de leche pasteurizada con el propósito de analizar las condiciones microbiológicas en las cuales se encuentran, se les practicaron las pruebas de recuento de aeróbios mesófilos (RAM), coliformes, termodúricos, psicrótrofos, pruebas para evaluar la eficiencia de la pasteurización, entre otras. Entre los resultados obtenidos se encontró un RAM promedio de  $4,3 \times 10^4$  ufc/mL, resultando el 14,35% de las muestras superando el límite establecido por la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). Los coliformes promediaron  $2,8 \times 10^2$  ufc/mL, con 50,93% de las muestras por encima de  $1,0 \times 10^2$  ufc/mL. Los termodúricos y psicrótrofos arrojaron promedios de  $5,9 \times 10^3$  ufc/mL y  $8,7 \times 10^2$  ufc/mL respectivamente. Se obtuvo una elevada carga bacteriana, más del 99% de las muestras resultaron negativas a la prueba de peroxidasa, indicando un marcado sobrecalentamiento en el procesamiento térmico, por lo cual se concluye que las muestras analizadas fueron con mucha frecuencia, contaminadas después de la pasteurización,

probablemente por fallas en la aplicación de las buenas prácticas de manufactura.

Sol Roman, Lourdes Guerrero, Lidis Pacheco (2003) realizaron el siguiente trabajo titulado: **“Evaluación De La Calidad Fisicoquímica, Higiénica Y Sanitaria De La Leche Cruda Almacenada En Frío”** cuyo objetivo de este trabajo era el de evaluar la calidad fisicoquímica, higiénica y sanitaria de la leche cruda almacenada en los silos refrigerados de cuatro industrias, a las muestras se les determino pH, acidez titulable, proteína total, conteo de bacterias mesófilas y psicrótrofos totales; psicrótrofos proteolíticos y lipolíticos y recuento de células somáticas totales. Donde se encontró calidad higiénica deficiente que se caracterizó por elevados contajes de mesófilos y psicrótrofos totales y una alta proporción de psicrótrofos proteolíticos sobre todo, en aquellas muestras almacenadas por dos o más días antes de ser procesadas. Los promedios de células somáticas fueron menores de 400.000 cel/mL, límite dentro del cual las propiedades tecnológicas de la leche son consideradas aceptables.

Alfredo Pinzon Fernandez, (2006) realizo un trabajo titulado **“Determinación Del Índice De Bacterias Mesófilas Aerobias Presentes En La Leche Cruda Versus Leche Pasteurizada Que Se Comercializan En La Zona Urbana De La Ciudad De Popayán”**, donde demostró que la el índice de bacterias mesofilas aerobias de la leche cruda fue mayor a la presentadas en la leche pasteurizadas, el problema que se presentó en el trabajo fue el tiempo de refrigeración en la muestra de leche cruda, ya que la leche cruda fue adquirida departe de vendedores de la vía publica, que no cuentan con un sistema de refrigeración para la leche que ellos ofrecen, caso contrario paso con la leche pasteurizada que si se encontraba refrigerada, entonces lo que hace suponer que mientras pasan las horas la cantidad de bacterias encontradas en la leche cruda va a aumentar por aumento de la temperatura del producto.

### **2.3 SITUACION DE LA LECHE EN EL MUNDO**

En el mundo los sistemas de compraventa de leche entre la industria de quesería y los productores de leche fluida han evolucionado durante las últimas décadas, no solamente por la cantidad sino también por la

composición y la calidad de los componentes de la leche (Box y Bisgaard, 1987).

Los países más avanzados en lechería, cuentan con esquemas de sobreprecio por alta calidad y de penalización por baja calidad. Generalmente se cuenta con la participación de agencias gubernamentales, particularmente en lo concerniente a aspectos de salud pública. En Francia hay dos etapas de penalización para cuentas aerobias totales (de 100,000 UFC/ml a 300,000 UFC/ml y mayores de 300,000 UFC/ml), tres etapas de penalización para el conteo de células somáticas (de 250,000 células/ml a 300,000; de 300,000 a 500,000 y mayor de 500,000) y una etapa para lipólisis (mayor de 0.25 de índice de acidez oleica). (Harasic y Marban 1999).

En el Reino Unido, se da una bonificación para cuentas aerobias totales menores de 20,000 UFC/ml, no se bonifica ni se penaliza el rango entre 20,000 y 100,000 y hay penalizaciones severas para conteos mayores de 100,000 UFC/ml. También hay penalizaciones severas para conteos de células somáticas mayores de 700,000 células /ml. En el Reino Unido, el 80% de la leche está dentro de la banda de bonificaciones y menos del 2% está en la banda de penalizaciones (Harasic y Marban 1999).

## **2.4 SITUACION DE LA LECHE EN EL PERU**

En el Perú, la producción nacional de leche fresca tiene diferentes destinos: plantas procesadoras, programas sociales, industrias artesanales (quesos), porongueros para venta directa al público, autoconsumo y terneraje. El destino varía de acuerdo a la zona de producción, mientras que en las cuencas lecheras se destina más del 80% a la industria Formal, en las zonas de producción no especializada el principal destino es la industria artesanal de derivados y el consumo humano directo. La tendencia actual es de incrementar el destino hacia la industria, que en la década de los ochentas solo acopiaba un 23 % y actualmente alcanza el 42 % de la producción nacional de leche cruda fresca, lo que ha generado el desarrollo de nuevas cuencas lecheras como las de Ica y La Libertad. (Ministerio de Agricultura, 2003)

### **2.4.1 Programas de Asistencia Alimentaria**

Existe una diversidad de programas sociales cuyo objetivo es el de elevar el nivel alimentario y nutricional de la población en situación de pobreza y extrema pobreza, logrando en el largo plazo la seguridad alimentaria en lo referente al acceso y uso de los alimentos, entre ellos

tenemos el Programa de Vaso de Leche (PVL), Desayunos Escolares, Comedores Populares, Alimentación Escolar y Alimentación Infantil. El primero manejado por las Municipalidades y el resto por el Programa Nacional de Asistencia Alimentaria – PRONAA.

El estado, asigna anualmente a estos programas recursos de tesoro público, a fin de cumplir con la adquisición de insumos alimenticios en los que se involucra a la leche como insumo para la preparación de sus raciones, es así que para el año 2002 el Estado llegó a adquirir aproximadamente 20,497 Tm de leche a través del PRONAA e Institución Nacional de Salud (INS), y el gasto social para estos programas ascendió para el año 2001 alrededor de US \$ 269,909 millones de dólares, lo que resulta un mercado interesante para los productores agropecuarios.

#### **2.4.2 Costos de producción de leche fresca.**

Hay una gran diferencia entre los costos unitarios de producción, de las empresas ganaderas, debido a que son muy heterogéneas con relación al tamaño de hato, rendimiento y calidad del producto, disponibilidad y precios del agua, calidad y disponibilidad de forraje, formas del manejo del ganado, que sumado a la variada y difícil geografía (relacionada

particularmente a los costos de transporte), generan costos de producción que van desde los S/. 0.6 a S/.1.1 por litro. La estructura de costos de producción varía principalmente de acuerdo a los sistemas de alimentación, así tenemos que en la cuenca lechera de Arequipa el principal rubro lo representa la producción de forraje (60%), mientras que en la de Lima, la compra de alimento balanceado es el principal costo de producción (57%). (Ministerio de Agricultura, 2003)

#### **2.4.3 Precios de leche fresca.**

El precio de la leche fresca que paga la industria local, está determinada por la calidad de la leche, considerando principalmente dos indicadores: acidez y porcentaje de grasa, paralelamente se consideran otros factores como: volumen, distancia al centro de acopio, hatos libre de brucelosis y tuberculosis bovina, sólidos totales, entre otros. El precio por kilogramo de leche varía entre cuencas y micro cuencas y va desde los S/. 0.49 / Lt. en zonas alejadas de Arequipa hasta S/.0.91/ Lt. a productores de Lima que se encuentra cerca de las Plantas de Transformación, el precio promedio nacional en el años 2002 fue de S/.0.84/L. (Ministerio de Agricultura, 2003)

#### **2.4.4 Industria láctea.**

La industria nacional está conformada por la “Gran Industria” y la Industria Artesanal.

- **La “Gran Industria”.-** La componen principalmente tres empresas privadas reconocidas: Gloria, Nestlé y Laive, de las cuales la empresa Gloria S.A. acopia el 56% de la leche fresca nacional destinada para la industria. Esta Industria está integrada verticalmente desde el acopio de la leche y en algunos casos desde la misma producción, en el año 2002 acopió 501,480 Tm, (42% de la producción nacional) y se encuentra ubicada principalmente en las cuencas de Lima, Arequipa y Cajamarca. El producto principal de la Industria es la leche evaporada, teniendo en el año 2002 un Valor de la Producción Agroindustrial de 683 millones de nuevos soles, representando el 70% de la leche fresca utilizada, también produce diferentes tipos de derivados como yogures, quesos frescos y madurados, mantequilla y manjar blanco, existiendo entre las empresas una cierta especialización. (Ministerio de Agricultura, 2003)

- **La Industria Artesanal.-** El 43% de la producción nacional de leche fresca cruda se destina a la Industria Artesanal y al Consumo Humano directo, el producto principal de esta Industria son principalmente los derivados lácteos, siendo el queso fresco el que alcanza volúmenes importantes, siendo el departamento de Lima el principal destino de la agroindustria artesanal en donde cerca del 50% de los quesos que se consumen son artesanales y provienen de diferentes regiones del país. (Ministerio de Agricultura, 2003)

#### **2.4.5 Abastecimiento Nacional de leche y derivados**

El abastecimiento local de leche y derivados está dado por la producción nacional y la importación, este ha venido creciendo por una mayor producción nacional como producto de la inversión de los ganaderos, incremento de la productividad y la instalación de centros de acopio por parte de la industria, trayendo como consecuencia una disminución de la importación. (Ministerio de Agricultura, 2003)

#### **2.4.6 Comercio Exterior**

La importación de leche y derivados en los últimos 10 años viene decreciendo, al año 2002 las importaciones han alcanzado el equivalente a 249,000 Tm de leche fresca cruda, habiendo decrecido en 66% respecto al año 1994. En la década de los noventa se importaba principalmente de Nueva Zelanda llegando a representar hasta el 68% de la importación, esta situación viene cambiando a partir de año 2000, año en el que se empieza a importar leche de Bolivia. Las exportaciones de leche han venido creciendo en los últimos cuatro años de manera importante, en la presentación de leche evaporada en un 98%; encontrándose en el 2002 en niveles de 14,093 Tm, siendo aún bastante marginales con respecto al volumen de importación. (Dirección de crianzas, 2003)

Para compensar los subsidios en los países exportadores y proteger la producción ganadera desde 1993 se estableció el Sistema de Derechos Específicos Variables, por el cual las importaciones además del arancel debían pagar un monto adicional en relación a la discrepancia existente entre el Precio de Referencia en el mercado mundial y el Precio Piso, éste último calculado como un promedio del Precio de Referencia de los últimos 60 meses. Los productos lácteos en el Perú están protegidos por un arancel de

20% más una sobretasa de 5% y un derecho adicional que varía dependiendo del precio internacional de la leche en polvo descremada. Mientras más bajo es este precio, más alto es el derecho adicional (y viceversa). En septiembre de este año, el derecho adicional alcanzaba 42.5%, lo que sumado al arancel de 20% y la sobretasa de 5%, suma 67.5% de arancel total que deben pagar los importadores de productos lácteos. Este 67.5% de arancel total está lejos del 97% que permiten nuestros acuerdos con la OMC, por lo que aún hay espacio para elevar la protección. Sin embargo, hay que considerar que en el 2004 este "techo" de 97% bajará a 68%, y el sector debe prepararse para ese momento. (Dirección de crianzas, 2003)

## **2.5 SITUACIÓN DE LA LECHE EN TACNA**

En Tacna la leche fresca es empleada para diferentes programas del gobierno como lo son los programas del PRONAA-Tacna, que se encargan de los desayunos escolares, para esto el programa requiere de leche de

buena calidad, nutritiva y en cantidad para abastecer a todos los colegios tanto en la zona urbana como en la zona rural, como lo dijo la ingeniera a cargo "Los desayunos escolares para los niños en etapa escolar en toda la región Tacna está garantizado, respecto a la diferencia que no ha sido cubierta, nosotros inmediatamente vamos a informar al PRONAA Lima para que tomen las medidas de caso".

Otro uso que se le da a la leche es para los programas de las municipalidades como el Programa de Vaso de Leche, para este uso, estos programas tienen requisitos como lo son la calidad organoléptica, la calidad microbiológica, la calidad fisicoquímica, etc... para esto los ganaderos deben de tener sus documentos con todos estos ensayos que son de rigor y están regidas por las normas técnicas peruanas del INDECOPI.

También en Tacna la leche cruda es utilizada para el consumo directo de la población y también para la elaboración de sus derivados como lo son, en su mayoría, los quesos y los yogures. En las zonas alto andinas y rurales en su mayoría se utiliza la leche cruda directamente para la elaboración de los quesos sin pasar por ningún tipo de tratamiento, esto hace que se produzca una contaminación en cadena que puede ser muy peligroso para la población que es la consumidora de aquellos productos.

## **2.6 BASES TEORICAS**

### **2.6.1 LECHE**

Se puede definir a la leche como el líquido que segregan las glándulas mamarias de hembras sanas; esto es desde el punto de vista fisiológico, no debiendo contener calostro (calostro es una secreción líquida de color amarillento, de aspecto viscoso y amargo, ácido que segrega la vaca aproximadamente 6 ó 7 días después del parto) (Amiot, 1995).

Se sabe desde hace muchos años que a través de la leche se pueden transmitir enfermedades al hombre y se han estado realizando continuos esfuerzos, tanto para erradicar las zoonosis transmitidas por la leche, como tuberculosis y brucelosis, así como para aumentar la calidad higiénica global de la leche, lo cual implica la concientización de los ganaderos, ayudados por los análisis en el laboratorio para conocer el estado microbiológico de la leche en su explotación (Alais, 1986).

La leche como producto natural analizada contiene microorganismos, que deben ser estudiados por su utilidad y otros por la capacidad de alterar la composición y características organolépticas de la leche y derivados lácteos o por ser agentes causales de enfermedad en los consumidores, es

así que en ella pueden encontrarse microorganismos de los diferentes grupos: bacterias, hongos (mohos y levaduras) y virus (Juárez, 1985).

La calidad de la leche cruda tiene fundamental importancia para obtener un producto uniforme y de buenas cualidades. A pesar de los adelantos en los diseños y características de los equipos se puede afirmar que es imposible hacer productos de calidad aceptable si se cuenta con leche de calidad pobre o inferior. Se hace por ello, controlar diariamente la leche que se recibe y tener suficiente criterio para su admisión o rechazo (Alais, 1986).

Por sus características, los productos frescos conservan y acentúan los defectos que pudiera presentar la leche con que fueron elaborados. 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. Las leches que contienen contaminantes o inhibidores, son también inapropiadas para la elaboración de productos frescos, porque dificultan los procesos tecnológicos impidiendo lograr las características de sabor, aroma, textura y apariencia deseada. (Vernam y Shuterland, 1995).

## 2.6.2 COMPOSICIÓN NUTRITIVA

La leche es un producto biológico rico en hidratos de carbono, grasas, proteínas, minerales, vitaminas y oligoelementos, y por poseer un pH óptimo (cerca de la neutralidad), se constituye en un medio adecuado para la multiplicación de la mayoría de las bacterias contaminantes (Herer, 1994). Recogida asépticamente y procedente de un animal sano, siempre contiene células provenientes de la sangre y de la glándula mamaria, además de los diversos microorganismos que habitan normalmente en el canal del pezón. (Homas, 1996)

La leche es una mezcla, tanto física como químicamente. Es una mezcla de sustancias definidas: lactosa, glicéridos de ácidos grasos, caseínas, albúminas, sales, etc. Desde el punto de vista físico, coexisten varios estados emulsión, suspensión y solución.

La heterogeneidad de la leche es conocida por el vulgo; como se sabe, la leche abandonada a la temperatura ambiente se separa progresivamente en tres partes:

- La nata: capa de glóbulos grasos reunidos por efecto de la gravedad;

- La cuajada: caseína coagulada como consecuencia de la acción microbiana;
- El suero, que contiene los productos solubles y que se separa de la cuajada (esta última se retrae más o menos rápidamente, según la naturaleza de la microflora presente).

De esta concepción de la leche, considerada como una mezcla, se derivan importantes consecuencias:

- Las proporciones de los componentes de la mezcla pueden variar ampliamente.
- Cada uno de estos elementos puede aislarse de la mezcla sin modificación.
- A pesar de ello, estos componentes no disponen, en la leche, de la independencia que se podría suponer cuando se los estudia aisladamente con un fin didáctico. Existen, por el contrario, interdependencias más o menos estrechas. Pueden citarse numerosos ejemplos: caseína y fosfato de cal; agua ligada a las proteínas; colesterol y lecitina, etc.
- Las modificaciones experimentadas por uno de ellos pueden influir sobre el estado del otro. Existe por lo tanto en la leche un estado

de equilibrio que puede romperse por acciones diversas, circunstancia en extremo importante para la tecnología lechera. Cuando se pretende aplicar un tratamiento a la leche, es necesario pensar en los cambios que puede provocar en el estado de uno o de varios de sus componentes y las repercusiones secundarias que se derivan y que en ocasiones son inesperadas. Normalmente se trata de cambios previsibles de las cualidades físicas, organolépticas, nutritivas, etc. Que deben poseer la leche y los productos lácteos.

Veremos, también numerosos ejemplos; he aquí dos muy característicos:

- La degradación de la lactosa por las bacterias se acompaña de producción de ácidos; como consecuencia se provoca la floculación de la caseína que, sin embargo, no había sido atacada por aquellas bacterias.
- El calentamiento de la leche reduce la ionización del calcio y aumenta la estabilidad del fosfocaseinato en una determinada zona de temperatura, y de aquí las dificultades de coagulación por las enzimas. Además, desnaturaliza ciertas proteínas y retarda el desnatado espontáneo.

Cuadro 01. Composición típica y propiedades físicas de la leche cruda de vaca

	Composición gramos por litro	Estado físico de los componentes
Agua	905	Agua libre (disolvente + agua ligada(3,7%))
Glúcidos: lactosa	49	Solución
Lípidos	35	Emulsión de los glóbulos grasos (3 a 5 micras)
Materia grasa propiamente dicha	34	
Lecitina (fosfolípidos)	0,5	
Parte insaponificable (esteroles, carotenos, tocoferoles)	0,5	
Prótidos	34	Suspensión micelar de fosfocaseinato de cal (0,08 a 0,12 micras)
Caseína	27	
Prótidos "solubles" (globulinas, albúminas)	5,5	Solución (coloidal)
Sustancias nitrogenadas no proteicas	1,5	Solución (verdadera)
Sales	9	Solución o estado coloidal (P y Ca)
Del ácido cítrico (en ácido)	2	(Sales de K, Ca, Na, Mg, etc)
Del ácido fosfórico (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	2,6	
Del ácido clorhídrico (NaCl)	1,7	
Componentes diversos (vitaminas, enzimas, gases disueltos)	Indicios	
Extracto seco (total)	127	
Extracto seco desengrasado	92	

Continuación...Cuadro 01. Composición típica y propiedades físicas de la leche cruda de vaca

Densidad de la leche completa	1,032	Conductibilidad eléctrica, mhos	45 x 10-4
Densidad de la leche descremada	9,036	Tensión superficial (dinas/cm/15°)	53
Densidad de la materia grasa	0,949	Viscosidad absoluta (15°)	,021-,025
Poder calórico (por litro), calorías	700	Índice de refracción	
pH	6,6-6,8	Punto de congelación	- 0,55°
		Calor específico	0,93

Fuente: Ciencia de la Leche. 1986. En el cuadro anterior se da la composición media de la leche de vaca en sus principales elementos y las propiedades físicas más importantes.

Es corriente reducir la leche a sus cuatro componentes más importantes: lactosa, grasa, proteínas y sales, y despreciar las sustancias presentes en pequeñas cantidades. Esta simplificación no puede aceptarse más que para un balance de análisis ponderal o para el cálculo del valor energético de la leche. Desde cualquier otro punto de vista no pueden despreciarse los pequeños componentes que en buen número se encuentran en la leche, ya que sólo pueden considerarse como secundarios en lo que se refiere a su proporción ínfima; en determinadas circunstancias pueden tener una importancia preponderante. Tales son los representantes de grandes familias de la bioquímica:

- Fosfolípidos (lecitina);
- Carotenoides, esteroides, tocoferoles;
- Flavinas y vitaminas hidrosolubles;
- Enzimas;
- Nucleótidos.

El perfeccionamiento de las técnicas analíticas y los progresos de las investigaciones sobre la fisiología de la lactación, han permitido descubrir una gran variedad de sustancias orgánicas en la leche; muchas de ellas relacionadas con diferentes metabolismos. (Alais, 1986)

### 2.6.3 DIFERENTES FASES EN LA LECHE

A) Recordemos que se llama “fase”, en un medio heterogéneo, a cualquier parte que constituya una de las materias homogéneas, sea cual sea su estado de división.

En la leche se pueden distinguir tres fases:

- La emulsión de materia grasa bajo forma globular;
- La suspensión de caseína, ligada a las sales minerales;
- La solución o fase hídrica, que forma el medio más voluminoso, continuo.

La leche puede contener gases disueltos, pero en realidad no constituyen una fase gaseosa diferenciada.

B) La distinción de una “fase coloidal”, que comprendería la caseína y las proteínas llamadas “solubles” (globulinas, albúminas) no está justificada. Se trata de un sistema heterogéneo.

El estado “coloidal” no se considera por los fisicoquímicos como fundamentalmente diferente del estado “cristaloide” (soluciones “verdaderas” de sustancias cristalizables de bajo peso molecular). Cuando el tamaño de

las moléculas en solución se vuelve cada vez más grande, las propiedades aparecen cada vez más señaladas, pero no hay discontinuidad. Las proteínas solubles de la leche pertenecen al tipo de los “coloides macromoleculares hidrófilos”, pues poseen una gran afinidad por el disolvente, en este caso el agua; pero se debe considerar que su estado físico es el de solución. Por el contrario, se puede diferenciar el estado micelar, que corresponde a la agregación de varias moléculas en una misma partícula. Por otro lado, tales partículas pueden ser separadas más fácil y completamente que las moléculas de las proteínas solubles. (Alais, 1986)

#### **2.6.4 FASE HÍDRICA. LACTOSUEROS**

La fase hídrica puede considerarse como formada por el conjunto de sustancias disueltas en el agua, cualquiera que sea el tamaño de sus moléculas (incluidas las proteínas solubles), o únicamente por las sustancias de bajo peso molecular: principalmente la lactosa y las sales que constituirán la solución verdadera. (Alais, 1986)

Esta fase está representada, más o menos completamente, por los “lactosueros”, que pueden obtenerse de diversas formas.

### **A) Lactosueros físicos**

La aplicación de métodos físicos no desnaturalizantes permite separar el lactosuero original; tales son la filtración a través de membranas de poros muy finos (ultrafiltración) o la sedimentación bajo la influencia de campos centrífugos muy elevados, hasta 300 000 veces la aceleración de la gravedad (ultracentrifugación). La separación completa de las proteínas solubles es difícil, pero los equilibrios entre las diferentes fases no se modifican. (Alais, 1986).

### **B) Lactosueros de coagulación**

Los lactosueros obtenidos en la práctica, no representan fielmente la solución original. La separación de la caseína por coagulación ácida o enzimática (cuajo) se acompaña de modificaciones de la solución. El lactosuero de quesería se denomina en Francia "petit-lait". La facilidad de esta separación hace que se utilice, habitualmente, incluso en el laboratorio, para la preparación del lactosuero, que es interesante para numerosos estudios.

La fase hídrica, reducida a la solución de moléculas pequeñas, tiene una propiedad importante: la constancia de su composición molecular. La

cantidad total de moléculas no disociadas y de iones, en la unidad de volumen, varía muy poco. Es la consecuencia de un hecho fisiológico: la presión osmótica de la leche en la mama debe ser semejante a la del suero sanguíneo, que es asimismo casi constante; ahora bien, la presión osmótica depende casi exclusivamente de la concentración de las moléculas pequeñas disueltas, ionizadas o no. Se dice que el lactosuero es isotónico con el suero sanguíneo. Las características del lactosuero son los valores más constantes de todos cuantos se refieren a la leche. (Alais, 1986)

## **2.7 FUENTES DE CONTAMINACIÓN**

La leche contiene pocas bacterias al extraerla de la ubre de una vaca sana que, por otra parte, no se multiplican cuando la leche se manipula correctamente. Sin embargo, durante el ordeño, la leche se contamina a partir del animal, especialmente de las zonas externas de la mama y áreas próximas. Las bacterias también pueden llegar a la leche desde el estiércol, suelo y agua. El número de organismos contaminantes por esta vía es mucho menor con el ordeño mecánico que con el manual. Esta contaminación se reduce esquilando los costados y la ubre, cepillando al

ánima lavando la mama con agua o con una solución germicida antes de ordeñar. La contaminación a partir del suelo, agua estiércol se reducen pavimentando y drenando la vaquería, manteniendo las vacas alejadas de aguas estancadas y retirando el estiércol de los establos o salas de ordeño. (Frazier, 1978)

Probablemente las dos fuentes de contaminación más significativas sean el utillaje y las superficies que contactan con la leche, como son los cubos maquinas ordeñadoras, así como los coladores, recipientes, tuberías y circuitos de refrigeración. Si los utensilios o las superficies se limpian, desinfectan o secan incorrectamente, las bacterias pueden multiplicarse notablemente en los residuos lácteos, contaminando posteriormente la leche que entre en contacto con estas superficies. Entre las bacterias procedentes de estos orígenes se incluyen a los Estreptococos lácticos, bacterias coliformes, bacterias Gram-negativos psicrótrofos, así como termodúricos, que resisten la pasterización (micrococos, bacilos y brevibacterias). (Frazier, 1978)

Cuadro 2. Bacterias presentes en la leche cruda

Muestra tomada de	Límites usuales (recuento total/ml)
Leche recogida asépticamente	500 – 1000
Leche del cubo o de la ordeñadora	1000 – 10 000
Leche del tanque de la granja	5000 – 20 000
Recuento total en placa por mililitro	

Fuente: Ciencia de la leche. 1986

Estos microorganismos existentes en la leche cruda de vaca están compuestos por los que puedan hallarse presentes en la ubre y en la piel de la vaca y los existentes en la piel de la vaca, en los utensilios de ordeño o líneas de ordeño. En condiciones de manipulación y conservación adecuadas, la flora microbiana predominante es Gram-positiva. La leche cruda conservada a temperatura de nevera durante varios días invariablemente muestra la presencia de varias o de todas las bacterias de los géneros siguientes: *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Oerskovia*, *Propionibacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Listeria*, así como representantes de al menos uno de los géneros de *Coliformes*.

La leche es el vehículo de algunas enfermedades, los brotes transmitidos por la leche generalmente suponen el consumo de leche cruda, que incluyendo a la leche fresca certificada. La alteración microbiana de la leche cruda sigue una pauta parecida a la anterior, suponiendo que el producto se mantenga bajo refrigeración. La viscosidad es un estado que a veces se observa en la leche cruda que es originado por *Alaligenes viscolactis*. Su crecimiento es favorecido por la conservación de la leche a temperatura baja durante varios días. La fibra de la leche viscosa está formado por material de la capa de mucílago producido por las células bacterianas, y comunica al producto una consistencia fibrosa.(James, 2000)

La actividad bacteriana en la leche puede deberse a la contaminación, provocando alteración en la composición, desarrollo de patógenos, formación de toxinas, etc., o bien por inoculación, como ocurre en los procesos de elaboración de los productos fermentados (Comini y col, 1981). Una alta carga de bacterias contaminantes en la leche disminuye la vida útil de los productos elaborados, desmejora la calidad organoléptica y nutricional, e interviene en los procesos de fermentación ácido láctica y en la coagulación enzimática promoviendo el deterioro o proteólisis de las caseínas (Acuña, 1999). La tasa de multiplicación de las bacterias es dependiente de la

temperatura, y cuanto más controlado se encuentre el ambiente de las vacas durante el ordeño, menor número de organismos podrán ingresar y colonizar el canal del pezón (Comini y col, 1981).

Conservar la leche recién ordeñada a ~ 4 °C permite mantener estable la carga bacteriana. Sin embargo, a bajas temperaturas por largos períodos de tiempo se selecciona el desarrollo de la flora psicrotrofa, lo cual origina serios problemas en la industria láctea, siendo importante por lo tanto no solo conocer la cantidad de bacterias presentes sino también su tipo, ya que ciertos grupos (*Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*, etc.) son productores de enzimas proteolíticas y lipolíticas, las cuales ocasionan reducción en los rendimientos queseros, rancidez, gelificación de la leche UHT, etc. (Reinheimer, 1994).

Es importante resaltar que la presencia de células somáticas (CS) en la leche cruda es el principal indicador de la salud de la ubre de la vaca, el valor normal en un animal sano oscila alrededor de 200 000 CS/mL y conteos superiores a 400 000 CS/mL indican problemas de mastitis en las vacas. El impacto de estas cuentas elevadas es significativo tanto en el volumen de producción de leche, como en la calidad de la misma, afectando económicamente tanto al sector productivo como al industrial. Al primero por

la reducción de litros de leche / vaca/ día, al segundo, por la disminución de la calidad y cantidad de las proteínas contenidas en la leche, así como la vida en anaquel de los productos elaborados a partir de ella. (Reinheimer, 1994)

## **2.8 MICROORGANISMOS DE LA LECHE**

Se pueden distinguir dos grandes categorías de bacterias gracias al método especial de coloración de Gram. Las bacterias “Gram positivas” se caracterizan por mayores exigencias nutritivas y una sensibilidad más elevada a los agentes bactericidas, que las bacterias “Gram negativas”. Estas últimas son, sin embargo, más sensibles que las bacterias “Gram positivas” a ciertas sustancias inhibidoras. Recordemos que las sustancias inhibidoras detienen el crecimiento sin destruir los gérmenes, por ejemplo, la ázida de sodio, las teluritas y el acetato de talio. Estas propiedades permiten componer medios selectivos, que facilitan el aislamiento de las bacterias que pertenecen a una de estas categorías.

## A) Bacterias “Gram positivas”

### – Bacterias Lácticas

Las bacterias más importantes, en los productos lácteos, tanto por sus actividades bioquímicas como por su número (proporción en la microflora total y frecuencia de los exámenes), son aquellas que fermentan la lactosa dando una proporción elevada de ácido láctico en los productos de degradación y que sólo son débilmente proteolíticas.

Pertenecen a la familia de las *Lactobacillaceae* y *Streptococcaceae*, que se estudiarán en un capítulo especial.

### – Micrococos

Estas bacterias son aerobias estrictas (metabolismo respiratorio); no fermentan la glucosa, sino que la degradan sin provocar más que un débil descenso del pH (mínimo entre 5,0 y 5,5). Utilizan tanto el acetato como el lactato como fuente de carbono. Los Micrococos no son patógenos; están desprovistos de coagulasa y de hemolisina; se hallan con frecuencia sobre la piel del hombre y de los animales.

Los Micrococos forman parte de la flora inocua que contamina la leche, y se encuentran frecuentemente después del ordeño. Por presentar una temperatura óptima bastante elevada (hacia 37°C), y por sus actividades enzimáticas reducidas, tienen poca importancia en los problemas referentes a la conservación y tratamiento de la leche. Se han aislado micrococos que no atacan la lactosa. Otras especies tienen una actividad proteolítica limitada y pueden alcalinizar el medio; esta actividad es interesante desde el punto de vista de la “maduración” de la leche en quesería.

Los Micrococos influyen en el resultado de las pruebas de apreciación de la calidad bacteriológica de la leche, que habitualmente se efectúan a 37 °C. (Alais, 1986)

#### – Estafilococos

Estos gérmenes son aero-anaerobios facultativos; provocan una fermentación acidificante de la glucosa con un descenso acusado del pH (hacia 4,3 y 4,5); producen acetoina, contrariamente a los micrococos. Actúan en una amplia zona de pH de 4,2 a 9,3.

Los especialistas en microbiología alimentaria distinguen dos grupos:

- Estafilococos patógenos, que poseen con frecuencia una coagulasa; se consideran patógenos si tienen los dos caracteres: DNasa positiva y fosfatasa positiva, que están ligados a la producción de enterotoxinas. Hoy día se reconoce una sola especie: *Staphylococcus aureus*, que se parece a la vez a los estafilococos “dorados” y a los estafilococos no pigmentados.
- Estafilococos no patógenos, siempre coagulasa-negativos y sin toxinas.

– Bacterias esporuladas (*Bacillaceae*)

Estas bacterias son las únicas que forman una endospora, que tiene la importante propiedad de resistir temperaturas elevadas. Mientras las otras bacterias se destruyen generalmente por debajo de 80°C las esporuladas sólo mueren por encima de 100°C; tienen por ello una enorme importancia tecnológica en lo que se refiere a las conservas de productos alimenticios no adicionadas de agentes conservadores.

A pesar de su termorresistencia, debida a las esporas, muchas de estas bacterias son mesófilas; es decir, se desarrollan a unos 30°C y se inhiben a temperaturas superiores a 45°C. Sin embargo, existen especies termófilas, que se desarrollan bien por encima de los 60°C. (Alais, 1986)

Las bacterias esporuladas no suelen manifestarse en la leche cruda y en los productos lácteos que no se han calentado. Por el contrario, son responsables de la alteración de las leches hervidas o insuficientemente esterilizadas, de los quesos fundidos, de los quesos de pasta cocida, de las leches concentradas, etc. El calentamiento tiene como resultado una selección de estos gérmenes cuando se hallan inicialmente presentes en cantidad considerable. Las bacterias lácticas las inhiben rápidamente.

En los productos lácteos se encuentran representados dos de los cinco géneros:

- Bacillus: bacterias esporuladas aerobias estrictas o anaerobias facultativas con actividades enzimáticas variadas: acidificación, coagulación y proteólisis.
- Clostridia: bacterias esporuladas anaerobias estrictas (que no se desarrollan más que en medios exentos de oxígeno); son

perjudiciales en quesería, sobre todo por la producción de gas; algunas son peligrosas por sus toxinas, en especial el

*Clostridium perfringens*.

- La leche fresca puede contener muchas bacterias del género *Corynebacterium*; son bastoncitos finos, que se presentan en agrupaciones características. Estas bacterias tienen poca importancia práctica por sus actividades poco acusadas y por su temperatura óptima bastante elevada: 37°C.
- *Propionibacterium*. Bacterias propiónicas, que tienen importancia en la maduración de los quesos de pasta dura.
- *Brevibacterium*. Bacterias de bastoncitos cortos (cocoides), que se encuentran corrientemente en las materias animales o vegetales en descomposición. No fermentan la lactosa. La *Brevibacterium linens* abunda en las cortezas rojas pegajosas de la superficie de los quesos madurados en atmósfera húmeda.

## B) BACTERIAS “Gram negativas” ANAEROBIAS FACULTATIVAS

- Enterobacterias

La familia de las *enterobacteriaceae* es una de las más vastas y de las más difíciles de subdividir.

Cuadro 3. Enterobacteriaceae (principales géneros)

Géneros (*)	Indol (1)	Rojo de metilo (2)	Acetoína (1)	Citrato sódico (3)	Lactosa (3)	Glucosa (4)	Ureasa (1)	H <sub>2</sub> S (1)	Gelatina (5)	Movilidad (...)
<b>A. Lactosa fermentada</b>										
- Escherichia coli	+(-)	+	-	-	++(+)	+	-	-		+(-)
- Citrobacter	-(+)	+	-	+	++(+)	+	+/-	+/-		+
- Enterobacter	-	-	+	+	++(+)	+	-	-	-(+)	+
- Klebsiella	(-)	-	+	+	++(+)	+	+	-	-(+)	-
<b>B. Lactosa no (o poco) fermentada</b>										
- Serratia	-	-	+	+	-(+)	-	-(+)	-(+)	++	+
- Proteus	+(-)	-		+(-)	-	+	+	+(-)	+(-)	+
- Salmonella	-	+	-	+(-)	-	+	-	+(-)	-(+)	+(-)
- Shigela	-(+)	+	-	-	-(+)	-	-	-	-	+
(...) Carácter encontrado raramente (1) Producción (2) Viraje (3) Utilización (4) Producción de gas (5) Licuefacción										

(Fuente. Ciencia de la leche. Charles Alain)

En el cuadro anterior se señaló los principales caracteres distintivos de 8 géneros sobre los 12 actualmente reconocidos. Las especies más frecuentes en los productos lácteos son las que fermentan la lactosa; pero también se encuentran las otras. La mayor parte de las enterobacterias son huéspedes normales del intestino de los mamíferos; su presencia en el agua o la leche, puede atribuirse a una contaminación de origen fecal. Muchas de estas especies tienen una fase de vida libre en el suelo y en las aguas. Algunas se encuentran en los productos vegetales.

Las enterobacterias suelen ser menos abundantes en la leche que otras bacterias Gram negativas; sin embargo, tienen una gran importancia desde dos puntos de vista:

- Higiénico: varias especies de esta familia son responsables de enfermedades infecciosas, que pueden adquirir carácter epidérmico; en el caso de los productos lácteos, las salmonelas son las más temibles; a otras especies se atribuyen infecciones gastrointestinales benignas, salvo en los niños.
- Tecnológicos: una propiedad bioquímica de las enterobacterias es la fermentación de los azúcares con formación de gas (gas

carbónico e hidrógeno) y ácidos. Algunas especies producen sustancias viscosas o de sabor desagradable.

Esta importancia aumenta por la facultad de desarrollarse a muy diferentes temperaturas (algunas especies se desarrollan de 10°C a 40°C, y el *Escherichia coli* puede crecer hasta a 44 °C), y por su resistencia a los antibióticos que se encuentran ocasionalmente en la leche. En estas condiciones las enterobacterias pueden suplantar a las bacterias lácticas e invadir el medio. El término “bacterias coliformes” se ha utilizado para designar a las enterobacterias más frecuentemente encontradas en los productos lácteos y pertenecientes a los cuatro primeros géneros del cuadro. El recuento de estas bacterias (colimetría) es uno de los medios más significativos para la apreciación de la calidad higiénica de la leche y de la eficacia del saneamiento a que se han hecho selectivos por adición de sustancias que inhiben la mayor parte de las otras especies. (Alais, 1986)

a) *Escherichia*. Este género no comprende más que una especie bien definida: el *Escherichia coli*, con algunas variedades de caracteres antigénicos diferentes. Es el único productor de indol del grupo, y por ser fácil poner de manifiesto este cuerpo, constituye el principio de una reacción de

caracterización; no obstante, su significado es reducido, ya que otras bacterias netamente diferenciadas (*Proteus*, *Enterobacter*) son también indológenas. Produce mucho gas y ácidos orgánicos (láctico, acético, succínico, etc.). Sin embargo, es menos “acidificante” que las bacterias lácticas, que lo inhiben cuando el pH desciende por debajo de 5 – 5,2. Como todas las enterobacterias, el *Escherichia coli* reduce los nitratos a nitritos; en presencia de nitratos, la producción de gas es limitada.

b) *Enterobacter*. Este género se designaba anteriormente por *Aerobacter* y luego como *Cloaca*. El *Enterobacter aerogenes* es igualmente un gran productor de gas en los productos lácteos, pero no origina más que una débil acidificación; por el contrario, produce una sustancia neutra, la acetoina. Estas bacterias no son patógenas.

c) *Klebsiella*. Género muy próximo al anterior pero, en oposición a las otras bacterias coliformes, las células son inmóviles y capsuladas; comprende cepas saprófitas y cepas patógenas (neumobacilo).

d) *Citrobacter*. Gérmenes que antes se clasificaban como *Escherichia* (*E. freundii*); son especies inocuas presentes en las materias fecales, caracterizadas por la producción de H<sub>2</sub>S (no todas las cepas).

Aparte las coliformes, pueden encontrarse en la leche enterobacterias que no fermentan la lactosa y que son especies inocuas, como las *Serratia* y *Proteus*, que son proteolíticas; pero también pueden hallarse especies patógenas temibles, como *Salmonella* (bacilo tífico) y más raramente *Shigella* (bacilo disentérico).

Un nuevo género, *Yersinia* comprende bacterias cuya patogenicidad parece muy variable según las cepas; se reproducen bien en las cámaras frigoríficas. *Yersinia enterocolítica* se encuentra frecuentemente en la leche y en los helados. (Alais, 1986)

– Géneros afiliados

El género *Flavobacterium* comprende especies que se cultivan preferentemente a baja temperatura y no se desarrollan por encima de los 30°C; son comunes en las aguas, en los productos vegetales y en los productos lácteos. Tienen metabolismo respiratorio y por lo tanto no fermentan la lactosa. Sobre medios sólidos dan colonias amarillas o rojas, y de ahí su nombre.

El género *Aeromonas* engloba especies acuáticas que en ocasiones se encuentran en la leche; fermentan los azúcares y producen indol, como

las del género *Escherichia*, lo que puede dar lugar a confusiones en los análisis de leches pasteurizadas. Su temperatura óptima se sitúa hacia los 30°C. (Alais, 1986)

### **C) BACTERIAS “Gram negativas” AEROBIAS ESTRUCTAS**

- Alcaligenes (ex-Achromobacteriaceae)

Son bastante frecuentes en la leche cruda, la que no modifican mucho, porque no fermentan los azúcares; la leche no se coagula y puede volverse alcalina. Ninguna especie es sospechosa desde el punto de vista higiénico. Estas bacterias presentan interés porque forman la parte de la microflora sicrotrofa que prolifera en la leche conservada a baja temperatura. Algunas especies producen sustancias viscosas o coloreadas.

- *Pseudomonas*

La leche contiene frecuentemente gérmenes pertenecientes a este género, transportados principalmente por las aguas impuras; constituyen la parte esencia de la microflora sicrotrofa y son nocivos a causa de sus actividades proteolíticas y lipolíticas. Las especies más representadas en la leche son: *P. fluorescens* y *P. pútrida*.

– *Brucella*

Bacterias patógenas para el hombre y los animales, agentes causales de la “brucelosis”, que pueden contaminar la leche. (Alais, 1986)

#### **D) LEVADURAS Y MOHOS**

Estos microorganismos son menos importantes que las bacterias en el conjunto de los problemas microbianos referentes a la leche y a los productos lácteos (con excepción a los quesos). Los consideramos aquí sin extendernos innecesariamente.

– Levaduras

En la leche cruda suelen encontrarse frecuentemente células voluminosas, esféricas u ovaladas, de levaduras no esporulantes que pertenecen al género *Candida*. Estas levaduras producen gas y poco o nada de alcohol. En las condiciones habituales no se manifiestan en la leche: excepcionalmente son causa de la “leche espumosa”. También pueden encontrarse en la leche levaduras esporulantes, como el *Kluyveromyces fragilis* y el *K. lactis* que fermentan la lactosa, con producción de alcohol. En el kéfir, leche fermentada oriental, se encuentra una variedad del *K. fragilis*

llamada *Torula kéfir*, asociada a un estreptococo láctico, en zoogreas características.

En diversos productos lácteos, las levaduras pueden provocar fermentaciones gaseosas y sabores indeseables; estas alteraciones se producen frecuentemente en las “natas de granja” y en las cuajadas frescas de quesería; como causa se encuentra corrientemente la *Torulopsis sphaerica*. En la leche condensada azucarada pueden producirse accidentes análogos con la *Torulopsis lactis condensi*. (Alais, 1986)

Las levaduras forman parte también de las flores pegajosas de los quesos de corteza húmeda, especialmente en los de corteza roja, con bacterias proteolíticas, como *Brevibacterium linens* y micrococos.

– Mohos

No tienen importancia práctica en la leche líquida; por el contrario la tienen, y en alto grado, en la mayor parte de productos lácteos; se desarrollan en la superficie y en las partes en contacto con el aire.

- *Penicillium*. Varias especies intervienen en el afinado de diversos tipos de quesos, principalmente: *P. camemberti* y sus variedades, *P. caseicolum* y *P. álbum* en los quesos de corteza blanca con mohos,

como el Camembert, y *P. roqueforti* en los quesos azules, con mohos internos.

- *Geotrichum candidum*. Es un moho que invade las cuajadas frescas de quesería; es sensible a la sal, que retarda su desarrollo.
- Aparte de los anteriores, se encuentran diversos mohos sobre las mantequillas enmohecidas y sobre las natas viejas y mal conservadas. Como las levaduras, los mohos se destruyen fácilmente durante la pasterización; sus esporas no son termorresistentes. (Alais, 1986)

## **2.9 CALIDAD HIGIÉNICA**

El logro de una leche cruda de calidad higiénica involucra la planificación y realización de una serie de actividades que contribuyen con el cumplimiento de los requisitos mínimos para producir leche apta para el consumo humano y su adecuado procesamiento en la elaboración de productos lácteos. Entre estos requisitos básicos, se encuentran el contar con áreas adecuadas para el ordeño, los utensilios para el ordeño, almacenamiento de utensilios, la capacitación y la motivación del personal

encargado de las labores de producción de leche y condiciones mínimas de los animales con capacidad productora de leche.

¿Cómo puede afectar el manejo de la leche, una vez que haya sido ordeñada de la vaca? Después que la leche sale de la vaca, ya no se puede cambiar su composición fisicoquímica, a no ser con algunos ajustes permitidos para mejorar su aspecto y/o disminuir algunos de sus componentes para hacerla más atractiva para algún consumidor especial, todo ello mediante tecnologías permitidas. Pero, en la cadena de producción de este preciado producto, desde el hato lechero hasta la planta procesadora, es necesario cuidar todos aquellos factores que no se manejan adecuadamente y que van a provocar deterioro del mismo con pérdidas para el productor y disminución de volúmenes hábiles para la industria.

La leche, por ser un producto altamente perecedero, debe ser manejada adecuadamente desde el momento de su obtención. La planta procesadora es responsable de la calidad desde la recepción en los centros de acopio hasta que el producto llegue al consumidor final.

### **2.9.1 CALIDAD DE LA LECHE**

Las condiciones de higiene y sanidad en las explotaciones lecheras tienen un efecto importante en la calidad microbiológica de la leche, cuanto mayores sean los cuidados aplicados a la obtención higiénica de la leche y a la sanidad de los animales productores de leche, menores serán los contenidos microbianos en la misma. Asimismo, corrales libres de estiércol y lodo, salas de ordeño limpias, equipo de ordeño funcionando de manera adecuada y una rutina de ordeño correcta, resultarán en una baja incidencia de mastitis, lo cual se manifestará con bajos recuentos de células somáticas.

En la actualidad, existen programas que contemplan análisis fisicoquímicos, bacteriológicos y aquellos referidos a la sanidad de la ubre, los cuales permiten implementar sistemas de pagos por calidad, e inclusive, numerosos han sido los esfuerzos para desarrollar y aplicar metodologías rápidas de diagnóstico como ser la evaluación de ATP bioluminiscencia, enumeración de microorganismos por fluorescencia óptica utilizando naranja de acridina y actividad de catalasa para detectar altos niveles de bacterias mesófilas. En este marco, los aspectos microbiológicos adquieren suma relevancia, en especial el recuento de bacterias totales ya que define la calidad higiénica de la leche producida. Por otro lado son numerosas las

estrategias en lo que respecta a incorporar programas de aseguramiento de la calidad en la industria lechera, al igual que establecer rigurosos sistemas de control a nivel de productos terminados. (Revelli, 2000)

## **2.9.2 LA LECHE CRUDA. METODOS PREVENTIVOS**

### **a) Enfermedades del ganado y control veterinario**

Las medidas generales oficiales deberían conducir a la erradicación de las enfermedades del ganado que tienen trascendencia sobre la calidad higiénica de la leche. Ya se trate de tuberculosis, brucelosis y otras enfermedades, el método racional comprende las etapas siguientes:

1. Descubrimiento de los animales contagiados por examen del conjunto del ganado.
2. Marcado, aislamiento y tratamiento hasta la curación controlada; si las probabilidades de curación controlada; si las probabilidades de curación son pocas o nulas, es indispensable el sacrificio de todos los animales infectados.
3. Control de los movimientos del ganado en las regiones donde se está llevando a cabo una campaña de erradicación.

4. Persistencia del control sanitario para descubrir las recontaminaciones.

#### **b) Control sanitario del personal**

Este es uno de los puntos delicados del sistema preventivo. El examen frecuente del conjunto de las personas que manipulan la leche o los utensilios, es difícil de realizar y caro. El paso del estado de salud verdadera al estado de portador de gérmenes puede ser muy rápido. Se conocen ejemplos de contaminación masiva de la leche por personas tuberculosas o que padecían enfermedades producidas por estreptococos, que ignoraban la gravedad de su estado. (Alais, 1986)

#### **c) Higiene de los locales y del material**

Hemos visto ya las posibilidades múltiples de contaminación por ésta vía. La contaminación por el medio exterior parece ser la más fácil de eliminar por la observancia escrupulosa y continua de las reglas de limpieza y asepsia, pero la disciplina que esto exige parece difícil de adquirir en determinados medios.

#### d) La comercialización de la leche cruda.

A pesar de que la mayoría de los científicos especialistas están de acuerdo en que no es posible garantizar, con medidas preventivas una calidad irreprochable a la leche si no se la somete a los debidos tratamientos térmicos, aún persiste en algunos países, la venta de leche cruda y se mantiene esta apetencia en algún sector de los consumidores. (Alais, 1986)

Cuadro 4. Control bacteriológico de la leche cruda

	Número de muestras	%
a) Flora total:		
- Menos de 10000 gérmenes/ml	7	17,5
- de 10 a 50000 gérmenes/ml	21	52,5
- de 50 a 100000 gérmenes/ml	7	17,5
- de 100 a 500000 gérmenes/ml	4	10
- Más de 600000 gérmenes/ml	1	2,5
b) Bacterias coliformes:		
- Menos de 1 por ml	0	0
- Menos de 10 por ml	2	5
- de 10 a 100 por ml	8	20
- de 100 a 500 por ml	16	40
- de 500 a 1000 por ml	3	7,5
- Más de 1000 por ml	11	27,5
c) Bacterias coliformes % de la flora total:		
- Menos de 0,5 %	10	25
- de 0,5 a 1 %	11	28
- de 1 a 5 %	15	37
- Más de 5 %	4	10

Fuente: Ciencia de la leche. 1986

## **2.10 NORMAS NACIONALES E INTERNACIONALES Y SU RELACIÓN CON EL MERCADO**

### – Normas Técnicas Internacionales

Son aquellas aprobadas por los organismos internacionales de normalización, ejemplos de ello tenemos:

- Normas Técnicas ISO aprobadas por la Organización Internacional para la Normalización ISO.
  - Normas Técnicas del CODEX ALIMENTARIUS, aprobadas por la Comisión del CODEX ALIMENTARIUS (FAO-OMS).
- ### – Normas Técnicas Nacionales

Son aquellas aprobadas por el Organismo Peruano de Normalización:

- Normas Técnicas Peruanas–NTP, aprobadas por el INDECOPI, en su calidad de Organismo Peruano de Normalización.

– Normas Técnicas Peruanas (NTP)

Las Normas Técnicas Peruanas son estándares orientados a elevar la calidad de los productos o uniformizarlos de acuerdo a las exigencias del mercado, facilitando así su acceso o permanencia en él. La calidad de un producto debe ser definida por cada fabricante, por eso las Normas Técnicas Peruanas constituyen estándares referenciales.

Las Normas Técnicas Peruanas no constituyen necesariamente requisitos mínimos de salud o seguridad pública, sino que pueden involucrar otros aspectos de calidad asociados a la presentación comercial del producto o incluso trascender los requisitos mínimos. Por eso, no deben confundirse las normas técnicas con los reglamentos técnicos, que son normas jurídicas (obligatorias) a través de las cuales el Estado regula los requisitos mínimos que debe cumplir un producto en cuanto a seguridad, salud pública, protección del ambiente o prevención de prácticas que induzcan a error al consumidor (rotulado). Las Normas Técnicas Peruanas y Reglamentos Técnicos (obligatorias) relacionados a la Leche fresca y algunos derivados, Norma Técnica Peruana (NTP 202.001:2003, NTS N° 071-MINSA/DIGESA) para leche y productos lácteos. (Fernández y col, 2010)

## **CAPITULO III: MATERIALES Y METODOS**

### **3.1 MATERIAL DE VIDRIO Y OTROS**

- Matraz 250, 500 mL.
- Placas Petri 100 x 20, 100 x 15 mm
- Pipetas serológicas, terminales de 1, 2, 5, 10 mL, deben tener la graduación claramente marcada y la punta intacta.
- Tubos de Ensayo de 16x160 mm, 20x200 mm. Con sus respectivas taparoscas.
- Vaso precipitado 250, 500 mL.
- Probeta 50, 100, 500 mL.
- Vaso de precipitación de 250 mL.
- Frascos de dilución de 100, 250, 500 ml.
- Campanas Durham 16x160 mm.
- Asa de Drigalsky
- Asa bacteriológica
- Espátulas de metal
- Alcohol 70 y 98 %

- Paquete de algodón
- Plumones y marcadores
- Asa de siembra de níquel de 3 a 3.5 mm de diámetro.
- Pinza punta plana
- Gradillas para tubos.
- Cooler
- Marcador de vidrio
- Mecheros
- Bombilla de succión
- Papel kraft
- Pabilo
- Mascarillas
- Guantes quirúrgicos

### 3.2 EQUIPOS

- Refrigeradora, debe mantener una temperatura entre 1-10°C.
- Balanza digital de capacidad no inferior a 2 500 g. y una sensibilidad de 0,1 g.
- pHmetro
- Agitador Vortex
- Incubadora de 30 a 37 °C
- Estufa (para el secado de material de vidrio)
- Baño María de 47 °C
- Destiladora
- Horno para esterilización
- Autoclave
- Cocina

### **3.3 MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS**

- Agua peptonada tamponada
- Plate count agar (PCA)
- Caldo lauril sulfato (CLS)
- Caldo verde brillante bilis lactosa
- Caldo EC
- Agua triptona
- Reactivo kovacs

### **3.4 TIPO DE ESTUDIO**

Se definió como un estudio de tipo descriptivo, longitudinal, transversal.

### 3.5 VARIABLES DE ESTUDIO

#### Variable independiente

Presencia de microorganismos de contaminación.

#### Variable dependiente

Calidad microbiológica de la leche cruda.

#### Indicadores

Calidad Microbiológica      Número de bacterias aerobias mesófilas viables

Numero de coliformes totales

Investigación de *Escherichia coli*

### **3.6 TAMAÑO DE MUESTRA Y MUESTREO**

El tamaño de la muestras estuvo conformado por las muestras de leche cruda que se expenden a los alrededores de los mercados del distrito de Tacna, como los Mercado Bolognesi, Mercado Túpac Amaru I, Mercado 2 de Mayo, Mercado Túpac Amaru II, Mercado 1 de Mayo, Mercado Leoncio Prado, Mercado Central, Mercado Polvos Rosados, Mercado Grau; de donde se consideró al total de expendedores de leche fresca que son 32 puestos de venta.

Hallándose un total de 32 puestos de venta para la toma de muestra, tomándose 1 muestra por cada expendedor, la toma de muestra se realizó con 2 repeticiones.

### **3.7 AREA DE ESTUDIO**

El área de estudio estuvo conformado por los alrededores de los diferentes mercados del distrito de Tacna, donde se expende la leche cruda.

### **3.8 MATERIAL DE ESTUDIO**

La leche cruda proveniente de los puestos de venta ubicados a los alrededores de los mercados del distrito de Tacna.

### **3.9 LUGAR DE EXPERIMENTACION**

El análisis del total de las muestras de leche cruda se realizó en el laboratorio de Salud Ambiental, de la Dirección Regional de Salud – Tacna.

### **3.10 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.10.1 OBTENCIÓN Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS**

Para la toma de muestra se obtuvo la cantidad de 1 000 ml. de leche cruda, cada muestra de leche cruda se colocó en una bolsa plástica de primer uso, tal y como se vendería a una persona común, la muestra fue transportada en un cooler con refrigerante hasta el laboratorio.

CUADRO 05. Procedimientos para el análisis de la Leche cruda.

MUESTRA	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS
LECHE CRUDA	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="570 632 1409 743">• Preparación y dilución de muestras de alimentos para análisis microbiológico (norma ISO 6887-1:1999.)</li>   <li data-bbox="570 854 1409 1037">• Método: ISO 4833:2003. Método horizontal para la numeración de microorganismos. Técnica de conteo de colonias por placa.</li>   <li data-bbox="570 1148 1409 1257">• Procedimiento de análisis para la numeración de coliformes. (norma ISO 4831:2006)</li>   <li data-bbox="570 1369 1409 1478">• Procedimiento de análisis para la numeración presuntiva de <i>Escherichia coli</i>.(norma ISO 7251:1993)</li> </ul>

### **3.11 METODOS DE LABORATORIO**

**Método: norma ISO 6887-1: 1999. INSTRUCTIVO DE PREPARACIÓN Y DILUCIÓN DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

#### **PREPARACION DE LA MUESTRA**

- Se manipuló la muestra de tal manera que se evitó todo riesgo de contaminación, se tomó las siguientes precauciones:
  - Cuando se trabajó en una cabina de bioseguridad, se trabajó siempre cerca de la flama del mechero.
  - Se limpió la superficie del envase, de la muestra que fue abierta, con 70% de etanol.
  - Todos los instrumentos utilizados para abrir la muestra (abridores de lata, tijeras etc.), fueron esterilizados.
  - Se marcó cuidadosamente el código de laboratorio de la muestra, en el frasco recipientes que fueron utilizados para analizar las muestras.

## **PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN INICIAL (PRIMERA DILUCIÓN).**

Se preparó en un recipiente estéril 10 mL de la muestra con una pipeta estéril. Se adicionó 90 mL del diluyente. Esta cantidad debe ser medida preferiblemente por volumen con una incertidumbre de  $\pm 5\%$ . Para evitar dañar los microorganismos, por un cambio de temperaturas, la temperatura del diluyente durante el análisis fue de aproximadamente el mismo de la temperatura ambiente. Se homogenizó la muestra, en el agitador Vortex con el tiempo suficiente para conseguir un total de 15,000 a 20,000 revoluciones, por 60 segundos.

## **PREPARACIÓN DE LAS DILUCIONES DECIMALES ADICIONALES**

Se transfirió, por medio de una pipeta, 1 mL de la suspensión inicial (primera dilución), a un tubo conteniendo 9ml de diluyente estéril a la temperatura apropiada. Para una óptima precisión no introducir la pipeta más de un cm dentro de la

dilución inicial. Se mezcló cuidadosamente con un agitador durante 5 a 10 segundos, para obtener la dilución de  $10^{-2}$ . Se repitió esta operación tomando 1 mL de la dilución  $10^{-2}$ . Se debe utilizar una pipeta estéril diferente para cada una de las diluciones  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , hasta que se obtenga el número apropiado de microorganismos. La selección de las diluciones que se prepararon dependió del número esperado de microorganismos en la muestra.

### **DURACIÓN DEL PROCEDIMIENTO**

En general el tiempo entre el término de la preparación de la suspensión inicial y la inoculación en los medios de cultivo no excedió los 45 minutos, tener en cuenta que no debe pasar más de 30 minutos entre la preparación de la suspensión inicial y el comienzo de la preparación de las siguientes diluciones decimales.

## **CONTROL DE CALIDAD**

Se llevó un control del diluyente inoculando 1 ml en un tubo con el medio respectivo y se llevó a incubar de 24 a 48 horas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$

**Método: ISO 4833:2003. MÉTODO HORIZONTAL PARA LA NUMERACIÓN DE MICROORGANISMOS. TÉCNICA DE CONTEO DE COLONIAS POR PLACA.**

Asépticamente, se pipeteó 1 ml. de cada dilución ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ) y se sembró por duplicado en Placas Petri previamente codificadas. Se agregó a cada una de las placas 12-15 ml. de PCA (Plate Count Agar) previamente fundido a baño maría y enfriado a  $44-46^\circ\text{C}$ . No debe transcurrir un tiempo mayor de 15 minutos entre la dilución de la muestra y la siembra en placas. Inmediatamente se mezcló la muestra diluida y el agar mediante agitación manual suave (movimientos circulares), durante un lapso igual o superior a un minuto, evitando mojar los bordes de la placa; se dejó enfriar sobre una superficie plana y horizontal. Una vez solidificado el agar, invertir las Placas Petri e incubar a  $12$  a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 a

48 horas. Para realizar el conteo, se escogió las placas que presenten entre 30 y 300 colonias, y se utilizó una caja de recuento de colonias; se puso la placa Petri abierta con la superficie de vidrio hacia arriba y, se dividió en sectores marcando mediante un lápiz grueso a lo largo de los diámetros. La diferencia entre los resultados extremos de la determinación efectuada por duplicado, no excedió del 10% de la media aritmética de los 2 resultados.

**Método: ISO 4831:2006. ENSAYO PARA LA NUMERACIÓN DE COLIFORMES CON EL MÉTODO HORIZONTAL TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE.**

### **INOCULACIÓN E INCUBACIÓN**

Se tomó 3 tubos con Caldo Lauril Sulfato (CLS), usando una pipeta estéril se transfirió a cada uno de estos tubos 1 mL de la muestra problema que; para este caso es Leche cruda. Con la máxima esterilidad se llevó a incubar a  $37 \pm 2$  °C por 12

a 24 horas. Después de las 24 horas los tubos que presentaron formación de gas y turbidez, se pasan a la prueba confirmativa que es en Caldo Verde Brillante Bilis, los tubos que no presentaron gas y turbidez se deja por unas 24 horas más.

### **CONFIRMACIÓN**

Los tubos que presentaron gas y turbidez en el Caldo Verde Brillante Bilis, se pasan a su posterior lectura; y los que no presentan gas y turbidez se les deja 24 horas más, luego de esto se hará lectura solo de las que presenten gas y turbidez, los tubos que no presentaran se procede a su desecho y se da por concluida la prueba.

### **INTERPRETACIÓN**

Por cada dilución, se contó el número total de tubos en el cual se observó la formación de gas (tubos positivos) después de las 24 h + 2 h o después de las 48 h + 2 h. Se calculó el

número más probable del número de tubos positivos de cada dilución.

## **REPORTE**

Los resultados obtenidos, se expresaron en NMP de coliformes/mililitro.

## **CONTROL DE CALIDAD**

Se sembró dos tubos extra del medio de cultivo (caldo) y se procedió a través de todo el protocolo analítico usado para la muestra prueba. Un medio de control positivo asegura que ninguna sustancia en el medio de cultivo es inhibidor para los coliformes. Se incluyen además un tipo de control negativo. Un medio de control negativo que asegure que el medio preparado no esté contaminado con coliformes. El control es preparado colocando un tubo con el medio de cultivo sin inocular a través de todo el procedimiento realizado para la muestra prueba.

## **PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS PARA LA NUMERACIÓN PRESUNTIVA DE *ESCHERICHIA COLI*. (NORMA ISO 7251:1993)**

### **INOCULACIÓN E INCUBACIÓN**

Se tomó 3 tubos con Caldo Lauril Sulfato (CLS), usando una pipeta estéril se transfirió a cada uno de estos tubos 1 mL de la muestra problema que; para este caso es Leche cruda. Con la máxima esterilidad se llevó a incubar a  $37 \pm 2$  °C por 12 a 24 horas. Después de las 24 horas los tubos que presentaron formación de gas y turbidez, se pasan a la prueba confirmativa que es en Caldo EC, los tubos que no presentaron gas y turbidez se deja por unas 24 horas más.

### **SEGUNDA INCUBACIÓN**

Se incubó los tubos de Caldo EC inoculados en el baño de agua, a 45°C por 24 h+ 2 h. Si en esta etapa no se observa la formación de gas incubar por 48 horas.

## **CONFIRMACIÓN**

Los tubos que presentaron gas y turbidez en el Caldo EC, se pasan a su posterior lectura; y los que no presentaron gas y turbidez se procede a su descarte.

## **INOCULACIÓN EN AGUA TRIPTONA E INCUBACIÓN**

Para cada tubo incubado y que mostró formación de gas, se inoculó con un asa en agua de triptona, previamente calentando a 45°C. Se incubó los tubos inoculados en baño de agua a 45°C por 48 horas.

## **PRUEBA PARA LA PRODUCCIÓN DE INDOL E INTERPRETACIÓN**

Se añadió 0,5 mL del reactivo de Kovacs en los tubos que contenían agua de triptona inoculado, se mezcló bien y se examinó después de un minuto. Para cada dilución se contó el

número de tubos con un color rojo en la fase alcohólica, indicando la presencia de Indol (tubos positivos).

### **INTERPRETACIÓN FINAL**

Por cada dilución, se contó el número total de tubos en la cual se observa la formación de indol (tubos positivos).

## **CAPITULO IV: RESULTADOS**

### **EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

La tabla muestra los resultados de las 64 muestras de leche fresca obtenida de los nueve mercados muestreados del distrito de Tacna.

- \* Los análisis microbiológicos se realizaron por duplicado y los valores mostrados son el promedio de ambas muestras.

Tabla 1. Resultados de los análisis microbiológicos.

Lugar de Muestreo	MUESTRA	COLIFORMES TOTALES (ufc/ml)*	ESCHERICHIA COLI (ufc/ml)*	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables (ufc/ml)*
MERCADO BOLOGNESI	1 – 1	43 x 10 <sup>2</sup>	92 x 10	16 x 10 <sup>4</sup>
	2 – 2	>11 x 10 <sup>4</sup>	15 x 10 <sup>2</sup>	5 x 10 <sup>7</sup>
	3 – 3	>11 x 10 <sup>4</sup>	2x10 <sup>2</sup>	1.08x10 <sup>5</sup>
	4 – 4	>11 x 10 <sup>4</sup>	15 x 10 <sup>2</sup>	1.41x10 <sup>5</sup>
	5 – 5	36x10 <sup>2</sup>	74x10	14x10 <sup>4</sup>
	6 – 6	>11 x 10 <sup>4</sup>	75x10 <sup>2</sup>	35x10 <sup>5</sup>
	7 – 7	11x10 <sup>4</sup>	15x10 <sup>2</sup>	16x10 <sup>7</sup>
	8 – 8	>11 x 10 <sup>4</sup>	92x10	35x10 <sup>5</sup>
MERCADO TUPAC AMARU	1 – 1	>11 x 10 <sup>4</sup>	28 x 10 <sup>2</sup>	2,6x10 <sup>5</sup>
	2 – 2	29 x 10 <sup>3</sup>	15 x 10 <sup>2</sup>	1,6x10 <sup>5</sup>
	3 – 3	29 x 10 <sup>2</sup>	35 x 10 <sup>2</sup>	1,4x10 <sup>5</sup>
	4 – 4	>11 x 10 <sup>4</sup>	35 x 10 <sup>2</sup>	1.6x10 <sup>5</sup>
	5 – 5	>11 x 10 <sup>4</sup>	2x10 <sup>2</sup>	29x10 <sup>5</sup>
	6 – 6	21x10 <sup>3</sup>	92x10	32x10 <sup>5</sup>
	7 – 7	29x10 <sup>2</sup>	35x10 <sup>2</sup>	56x10 <sup>7</sup>
	8 – 8	>11 x 10 <sup>4</sup>	21x10 <sup>2</sup>	34x10 <sup>5</sup>
MERCADO 2 DE MAYO	1 – 1	24 x 10 <sup>3</sup>	36 x 10	24.6x10 <sup>5</sup>
	2 – 2	>11 x 10 <sup>4</sup>	27 x 10 <sup>2</sup>	29.3x10 <sup>5</sup>
	3 – 3	21 x 10 <sup>2</sup>	62 x 10	28.9x10 <sup>5</sup>
	4 – 4	35 x 10 <sup>2</sup>	15 x 10 <sup>2</sup>	15.2x10 <sup>7</sup>
	5 – 5	>11 x 10 <sup>4</sup>	21 x 10 <sup>2</sup>	13.5x10 <sup>5</sup>
	6 – 6	93x10 <sup>2</sup>	36x10	36x10 <sup>5</sup>
	7 – 7	11x10 <sup>4</sup>	21x10 <sup>2</sup>	82x10 <sup>5</sup>
	8 – 8	15x10 <sup>2</sup>	21x10 <sup>2</sup>	32x10 <sup>5</sup>
	9 – 9	2x10 <sup>2</sup>	74x10	46x10 <sup>5</sup>
	10 – 10	15x10 <sup>2</sup>	74x10	9x10 <sup>5</sup>
MERCADO TUPAC AMARU II	1 – 1	28 x 10 <sup>2</sup>	74 x 10	12.4x10 <sup>5</sup>
	2 – 2	>11 x 10 <sup>4</sup>	4,3 x 10 <sup>2</sup>	5.31x10 <sup>7</sup>
	3 – 3	>11 x 10 <sup>4</sup>	36 x 10	5.56x10 <sup>7</sup>
	4 – 4	28x10 <sup>2</sup>	15x10 <sup>2</sup>	44x10 <sup>5</sup>
	5 – 5	>11 x 10 <sup>4</sup>	36x10 <sup>2</sup>	64x10 <sup>7</sup>
	6 – 6	21x10 <sup>3</sup>	72x10	63x10 <sup>5</sup>

Fuente: Elaboración propia

Continuación... Tabla 1. Resultados de los análisis microbiológicos.

Lugar de Muestreo	MUESTRA	COLIFORMES TOTALES (ufc/ml)*	ESCHERICHIA COLI (ufc/ml)*	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables (ufc/ml)*
MERCADO LEONCIO PRADO	1 – 1	>11 x 10 <sup>4</sup>	21 x 10 <sup>2</sup>	22.9x10 <sup>6</sup>
	2 – 2	>11 x 10 <sup>4</sup>	75 x 10 <sup>2</sup>	14x10 <sup>7</sup>
	3 – 3	>11 x 10 <sup>4</sup>	35 x 10 <sup>2</sup>	18.5x10 <sup>7</sup>
	4 – 4	>11 x 10 <sup>4</sup>	28 x 10 <sup>2</sup>	21.9x10 <sup>7</sup>
	5 – 5	>11 x 10 <sup>4</sup>	28x10 <sup>2</sup>	23x10 <sup>6</sup>
	6 – 6	11x10 <sup>4</sup>	75x10 <sup>2</sup>	13x10 <sup>7</sup>
	7 – 7	>11 x 10 <sup>4</sup>	27x10 <sup>2</sup>	42x10 <sup>7</sup>
	8 – 8	>11 x 10 <sup>4</sup>	35x10 <sup>2</sup>	36x10 <sup>6</sup>
MERCADO CENTRAL	1 – 1	>11 x 10 <sup>4</sup>	35 x 10 <sup>2</sup>	25.3x10 <sup>4</sup>
	2 – 2	>11 x 10 <sup>4</sup>	21 x 10 <sup>3</sup>	17.3x10 <sup>7</sup>
	3 – 3	11 x 10 <sup>4</sup>	93 x 10 <sup>2</sup>	27.5x10 <sup>7</sup>
	4 – 4	>11 x 10 <sup>4</sup>	21x10 <sup>3</sup>	95x10 <sup>4</sup>
	5 – 5	11x10 <sup>4</sup>	21x10 <sup>2</sup>	15x10 <sup>7</sup>
	6 – 6	46x10 <sup>3</sup>	93x10 <sup>2</sup>	32x10 <sup>7</sup>
MERCADO POLVOS ROSADOS	1 – 1	>11 x 10 <sup>4</sup>	36 x 10	16.2x10 <sup>7</sup>
	2 – 2	46 x 10 <sup>3</sup>	92 x 10	12.5x10 <sup>6</sup>
	3 – 3	46 x 10 <sup>3</sup>	21 x 10 <sup>2</sup>	1x10 <sup>7</sup>
	4 – 4	46x10 <sup>3</sup>	2x10 <sup>3</sup>	51x10 <sup>7</sup>
	5 – 5	11x10 <sup>4</sup>	92x10	15x10 <sup>6</sup>
	6 – 6	11x10 <sup>4</sup>	2x10 <sup>3</sup>	18x10 <sup>7</sup>
MERCADO GRAU	1 – 1	92 x 10	36 x 10	3.9x10 <sup>6</sup>
	2 – 2	23 x 10 <sup>2</sup>	23 x 10 <sup>2</sup>	5.7x10 <sup>6</sup>
	3 – 3	92 x10	36x10	52x10 <sup>5</sup>
	4 – 4	75x10 <sup>2</sup>	35x10 <sup>2</sup>	32x10 <sup>6</sup>
MERCADO 1 DE MAYO	1 – 1	29 x 10 <sup>3</sup>	35 x 10 <sup>2</sup>	16.5x10 <sup>7</sup>
	2 – 2	>11 x 10 <sup>4</sup>	11 x 10 <sup>4</sup>	26.7x10 <sup>7</sup>
	3 – 3	>11 x 10 <sup>4</sup>	21 x 10 <sup>3</sup>	16.6x10 <sup>7</sup>
	4 – 4	>11 x 10 <sup>4</sup>	35 x 10 <sup>2</sup>	11.1x10 <sup>7</sup>
	5 – 5	21x10 <sup>3</sup>	35x10 <sup>2</sup>	15x10 <sup>7</sup>
	6 – 6	>11 x 10 <sup>4</sup>	46x10 <sup>3</sup>	27x10 <sup>7</sup>
	7 – 7	11x10 <sup>4</sup>	15x10 <sup>3</sup>	32x10 <sup>7</sup>
	8 – 8	>11 x 10 <sup>4</sup>	28x10 <sup>2</sup>	12x10 <sup>7</sup>

Fuente: Elaboración propia

— Resultados que sobrepasan los límites establecidos

— Resultados que no sobrepasan los límites establecidos

Tabla 2. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado Bolognesi del distrito de Tacna.

MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
<b>Bolognesi</b>	8	6	75,0	2	25,0	8	100,0	0	0,0	Presencia

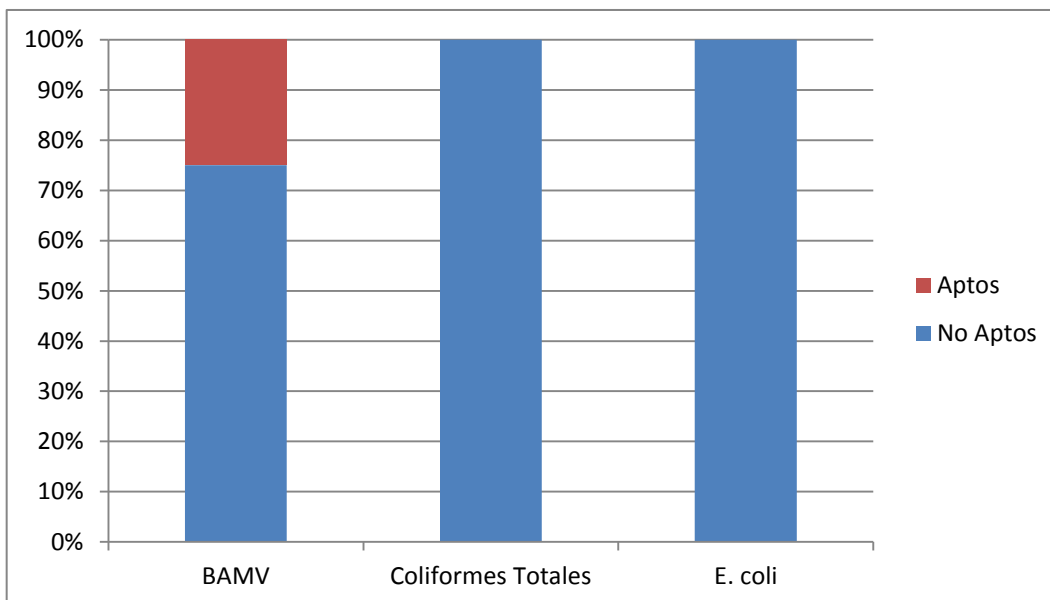
**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 2 nos indica que los valores para el Mercado Bolognesi muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables el 75% de las muestras no son aptos para el consumo directo; en cuanto a los resultados obtenidos de los ensayos para Coliformes Totales, presentaron un 100% de no aptos; y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003 (Anexo 1); cabe señalar que estos resultados elevados de BAMV podrán deberse a que en los alrededores del Mercado Bolognesi, la leche se expende en el suelo por las noches, donde hay un elevado tránsito de

personas así como vehicular, los mismos que con su movimiento levantan partículas de polvo. Con respecto a los Coliformes Totales y la presencia de *E. coli*, este podría deberse a la mala higiene de los depósitos y elementos empleados para el expendio de la leche cruda.

Los resultados se muestran gráficamente de la siguiente manera:

Grafico 1. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Bolognesi del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 3. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, Coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado Túpac Amaru del distrito de Tacna.

MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
Túpac Amaru	8	8	100,0	0	0,0	8	100,0	0	0,0	Presencia

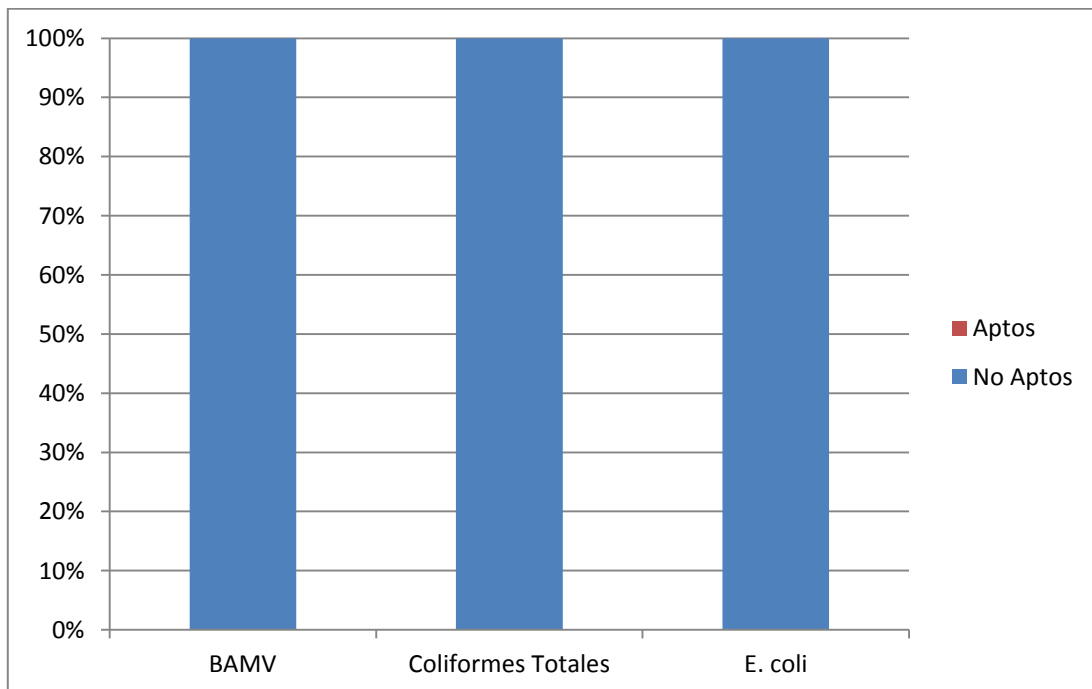
**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 3 nos indica que los valores para el Mercado Túpac Amaru muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales muestran un 100% de muestras no aptas, y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003(Anexo 1); Estos resultados podrán deberse a que el expendio de la leche cruda no se realiza en forma única sino que va acompañado de la mano de otros productos como son:

quesos, chorizos, hierbas, entre otros. Esto interviene de alguna manera condicionando la contaminación cruzada de este producto.

Los resultados se muestran gráficamente de la siguiente manera:

Grafico 2. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Túpac Amaru del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 4. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, Coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado 2 de Mayo del distrito de Tacna.

MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
2 de Mayo	10	9	90,0	1	10,0	10	100,0	0	0,0	Presencia

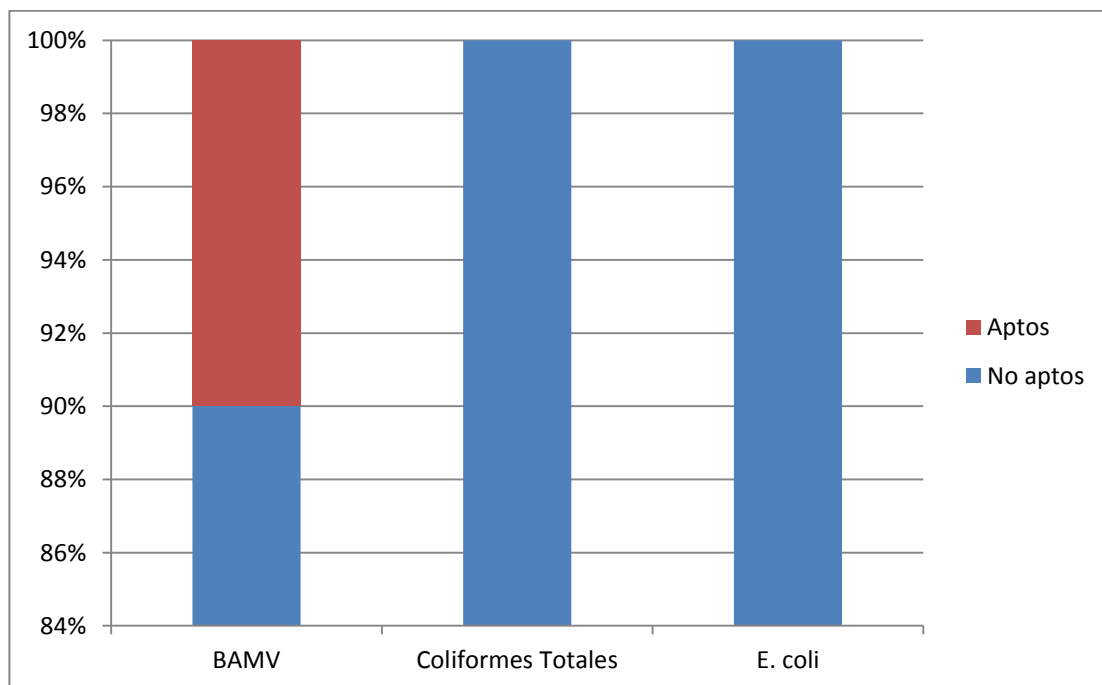
**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 4 nos indica que los valores para el Mercado 2 de Mayo muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables el 90% no son aptos para el consumo directo; los resultados obtenidos de los ensayos para Coliformes Totales presentaron un 100% de no aptos y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003 (Anexo 1); estos resultados podrán deberse a que en el lugar donde se expende la leche cruda no es adecuado para este fin, ya que horas antes este lugar fue albergado por la venta de otros productos como las frutas, carnes entre otros. Por otro lado

esta zona no se le aplica ningún tipo o forma de limpieza para la venta de la leche cruda.

Los resultados se muestran gráficamente en la siguiente:

Grafico 3. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales expendido alrededor del Mercado 2 de Mayo del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 5. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado Túpac Amaru II del distrito de Tacna.

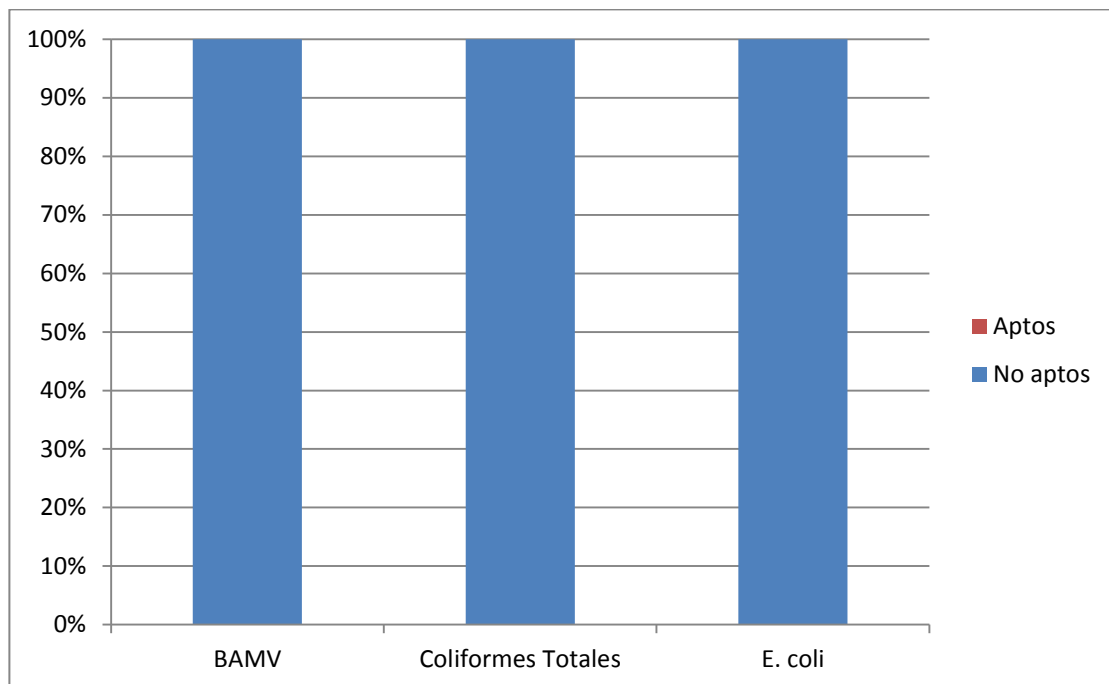
MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
Túpac Amaru II	6	6	100,0	0	0,0	6	100,0	0	0,0	Presencia

**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 5 nos indica que los valores para el Mercado Túpac Amaru II muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales muestran un 100% de muestras no aptas, y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003(Anexo 1); cabe señalar que esta zona es altamente limitado por las personas y vehículos ya que es un área de alto comercio de productos importados, siendo ésta un área inadecuada para la venta de productos alimenticios como es la leche cruda, razón por la cual razón por la cual el total de las muestras son no aptos.

Los resultados se muestran gráficamente de la siguiente manera

Grafico 4. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Túpac Amaru II del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 6. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, Coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado Leoncio Prado del distrito de Tacna.

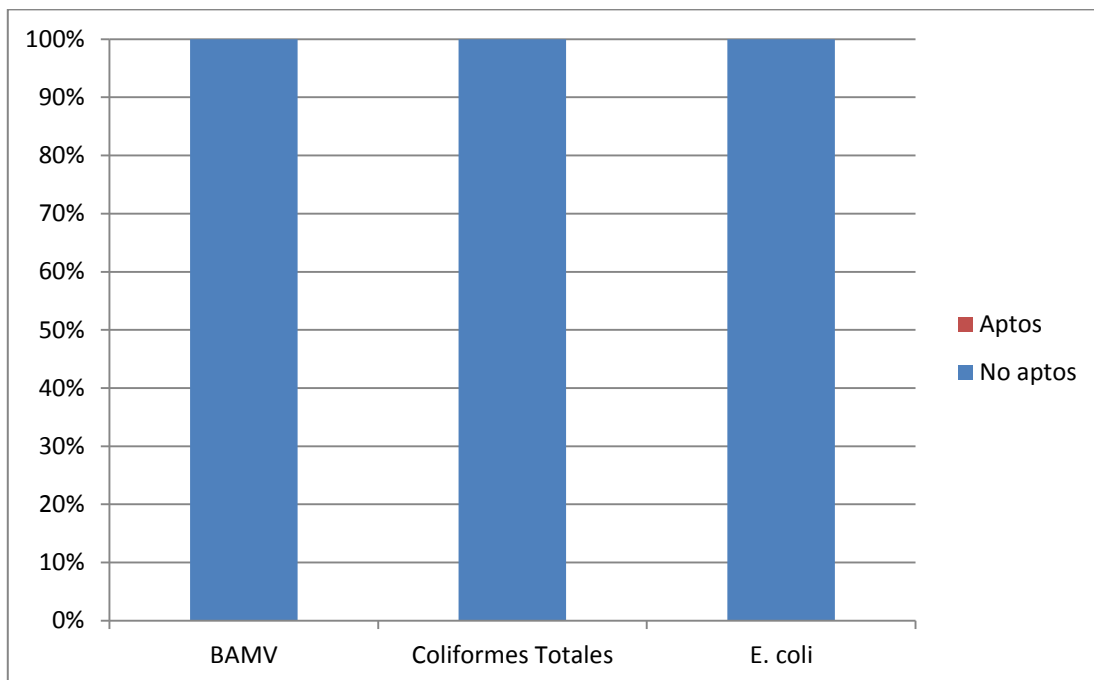
MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
Leoncio Prado	8	8	100,0	0	0,0	8	100,0	0	0,0	Presencia

**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 6 nos indica que los valores para el Mercado Leoncio Prado muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales muestran un 100% de muestras no aptas, y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003(Anexo 1); en este lugar abunda la suciedad, ya que se encuentra a las afueras de un mercado con poca disponibilidad a la limpieza, junto a esto la venta de otros productos va a ayudar a la contaminación de la leche cruda que se expende en este lugar.

Los resultados se muestran gráficamente de la siguiente manera:

Grafico 5. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Leoncio Prado del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 7. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado Central del distrito de Tacna.

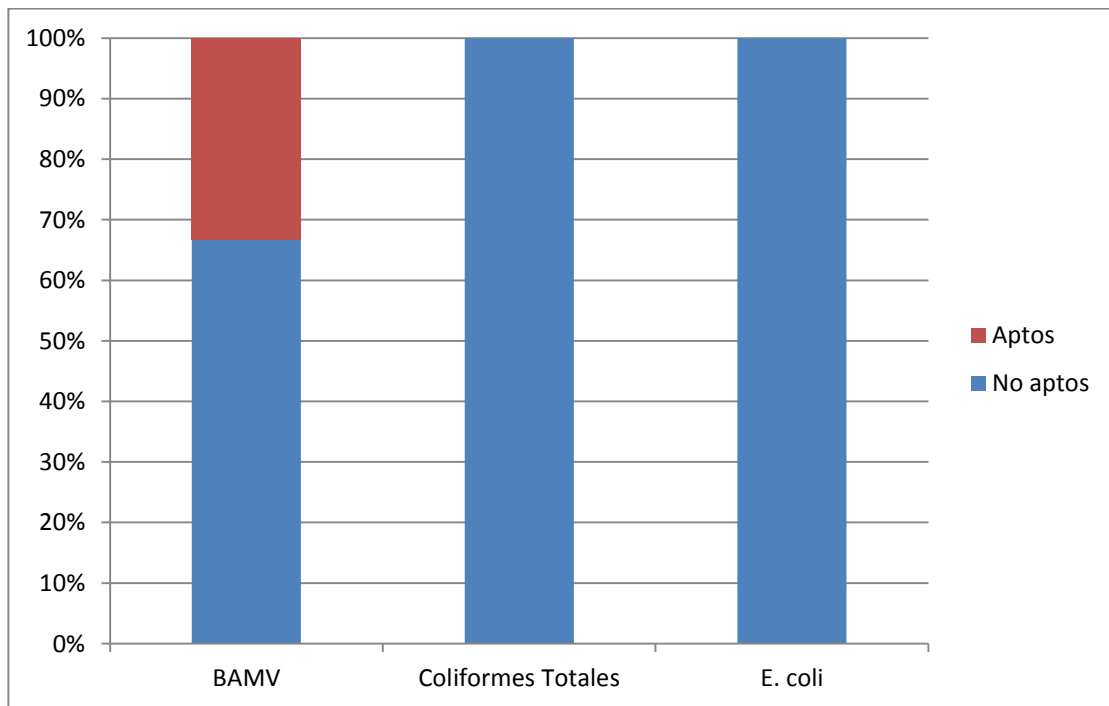
MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
Central	6	4	66,7	2	33,3	6	100,0	0	0,0	Presencia

**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla N 7 nos indica que los valores para el Mercado Central muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables el 66,7% no son aptos para el consumo directo al igual que los resultados obtenidos de los ensayos para Coliformes Totales presentaron un 100% de muestras no aptas; y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003(Anexo 1); Los resultados podrían deberse a que en la zona donde se expende la leche cruda es una zona destinada al paradero de vehículos urbanos habiendo por lo tanto una alta contaminación provocado por las personas y vehículos.

Los resultados se muestran gráficamente de la siguiente manera:

Grafico 6. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Central del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 8. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, Coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado Polvos Rosados del distrito de Tacna.

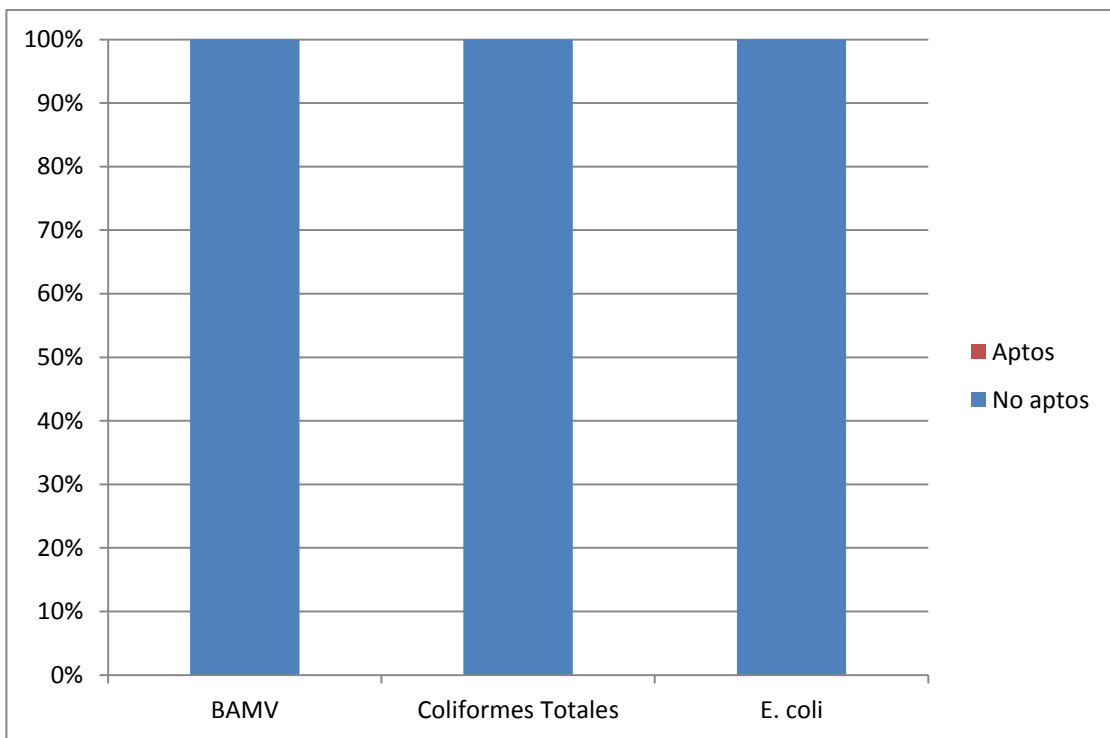
MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
Polvos Rosados	6	6	100,0	0	0,0	6	100,0	0	0,0	Presencia

**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 8 nos indica que los valores para el Mercado Polvos Rosados muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables y Coliformes Totales muestran un 100% de muestras no aptas y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003 (Anexo 1); cabe destacar que en este lugar se encuentra bastante comercio de diferentes productos alimenticios como frutas, verduras, entre otros, también se encuentra un paradero de vehículos de rutas y todo esto contribuye a la contaminación de la leche cruda.

Los resultados se muestran gráficamente de la siguiente manera:

Grafico 7. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Polvos Rosados del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 9. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, Coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado Grau del distrito de Tacna.

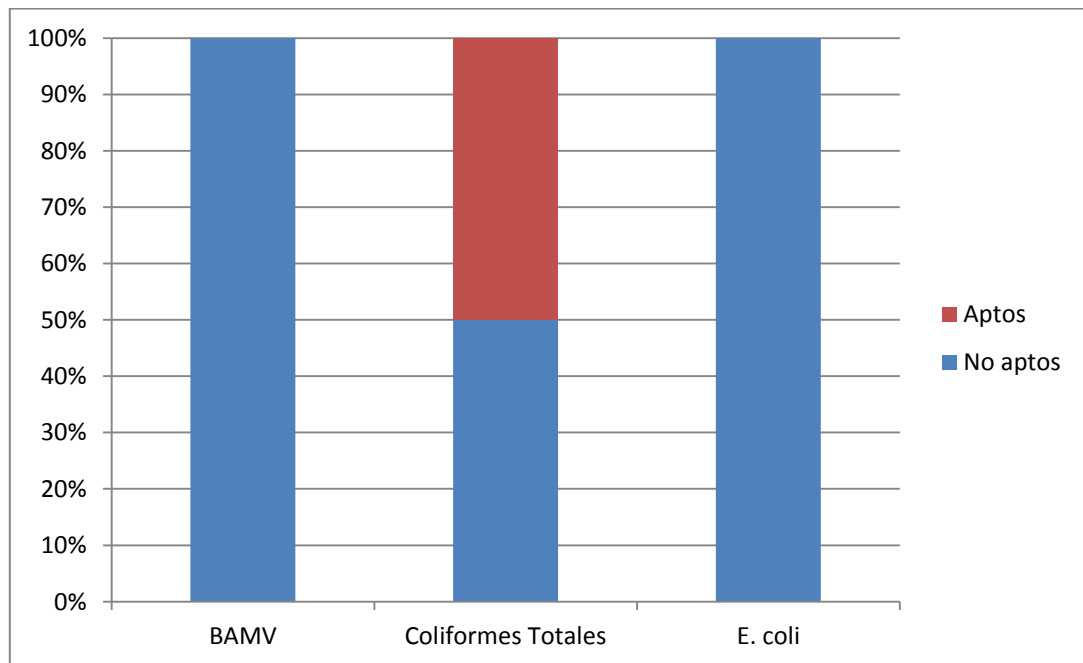
MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
<b>Grau</b>	4	4	100,0	0	0,0	2	50,0	2	50,0	Presencia

**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 9 nos indica que los valores para el Mercado Grau muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables el 100% no son aptos para el consumo directo; los resultados obtenidos de los ensayos para Coliformes Totales muestran un 50% de muestras no aptas; y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003(Anexo 1); Estos resultados podrían deberse porque entre otros factores de contaminación existen en este lugar el tránsito de animales en forma constante.

.Los resultados se muestran gráficamente de la siguiente manera:

Grafico 8. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado Grau del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 10. Porcentaje de muestras aptas y no aptas para bacterias aerobias mesófilas viables, Coliformes Totales e investigación de *E. coli*, expendido alrededor del Mercado 1 de Mayo del distrito de Tacna.

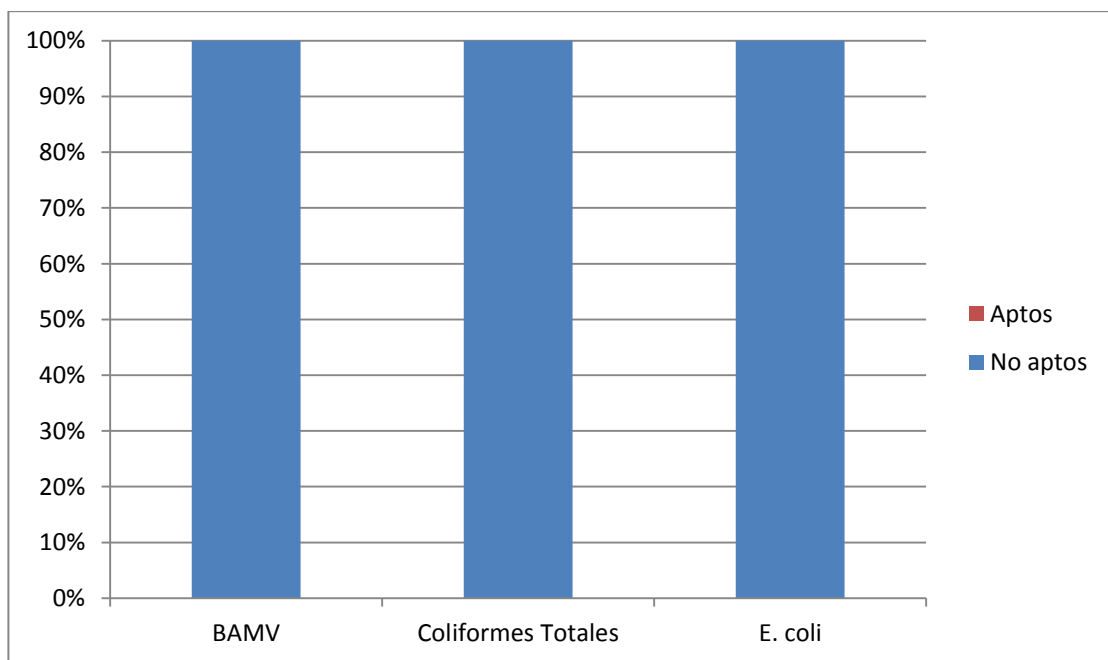
MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables ufc/ml				Coliformes Totales/ml				Investigación de <i>Escherichia coli</i>
		No aptos		Aptos		No aptos		Aptos		Ausencia/Presencia
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
1 de Mayo	8	8	100,0	0	0,0	8	100,0	0	0,0	Presencia

**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 10 nos indica que los valores para el Mercado 1 de Mayo muestran, que para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales muestran un 100% de muestras no aptas; y para la investigación de *E. coli* el resultado fue la presencia de la bacteria, estos criterios basados en la NORMA TECNICA PERUANA 202.001(Anexo 1); en esta área se encuentra mayormente el expendio de otro productos como refrescos, productos alimenticios de diferente clase, y también existe un tránsito vehicular excesivo.

Los resultados se muestran gráficamente de la siguiente manera:

Grafico 9. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, Coliformes Totales, expendido alrededor del Mercado 1 de Mayo del distrito de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 11. Resumen de las muestras aptas y no aptas para el recuento bacterias aerobias mesófilas viables (BAMV) en muestras de Leche cruda de los nueve mercados del distrito de Tacna.

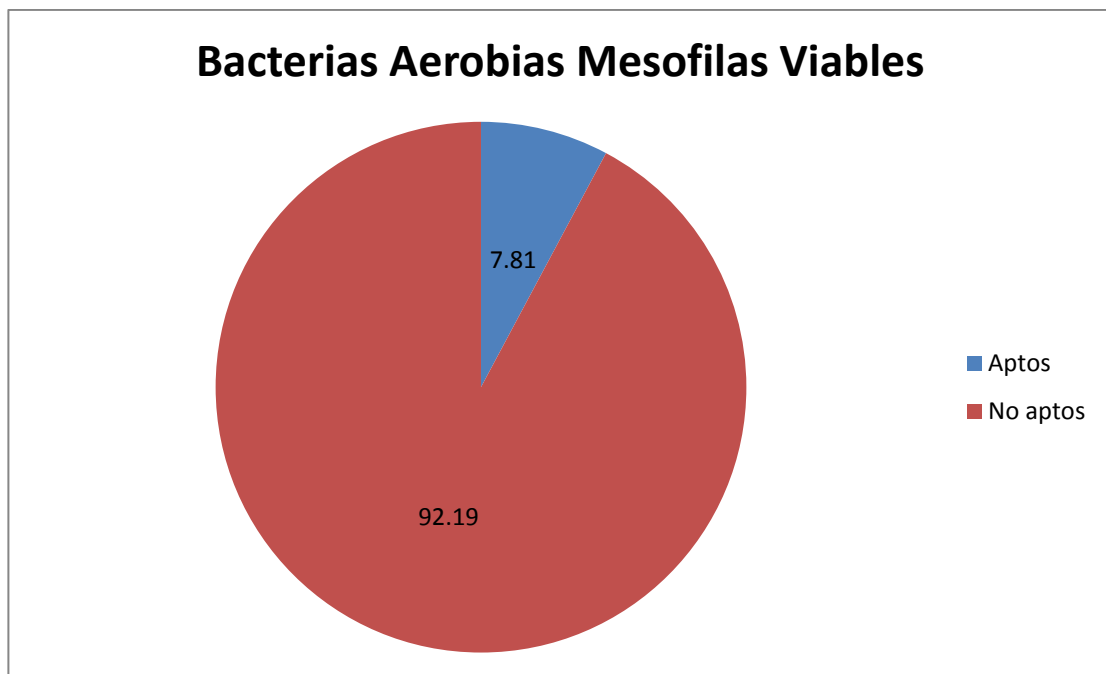
MERCADO	Cantidad de Muestras	Bacterias Aerobias Mesófilas Viables			
		No aptos		Aptos	
		N°	%	N°	%
<b>Bolognesi</b>	8	6	75,0	2	25,0
<b>Túpac Amaru</b>	8	8	100,0	0	0,0
<b>2 de Mayo</b>	10	9	90,0	1	10,0
<b>Túpac Amaru II</b>	6	6	100,0	0	0,0
<b>Leoncío Prado</b>	8	8	100,0	0	0,0
<b>Central</b>	6	4	66,7	2	33,3
<b>Polvos Rosados</b>	6	6	100,0	0	0,0
<b>Grau</b>	4	4	100,0	0	0,0
<b>1 de Mayo</b>	8	8	100,0	0	0,0
<b>Total</b>	64	59	92,19	5	7,81

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 11 nos indica que de los valores obtenidos para las Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, en leche cruda, se encontró que solo cinco muestras del total son aptas, para el consumo humano representado este aproximadamente el 8% según NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003 (Anexo 1),

Estos resultados podemos observar en el grafico a continuación:

Grafico 10. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Bacterias Aerobias Mesófilas Viables, encontrados en muestras de leche cruda expendida a los alrededores de nueve mercados de la ciudad de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 12. Resumen de muestras aptas y no aptas para Coliformes Totales en muestras de Leche cruda de los nueve mercados del distrito de Tacna.

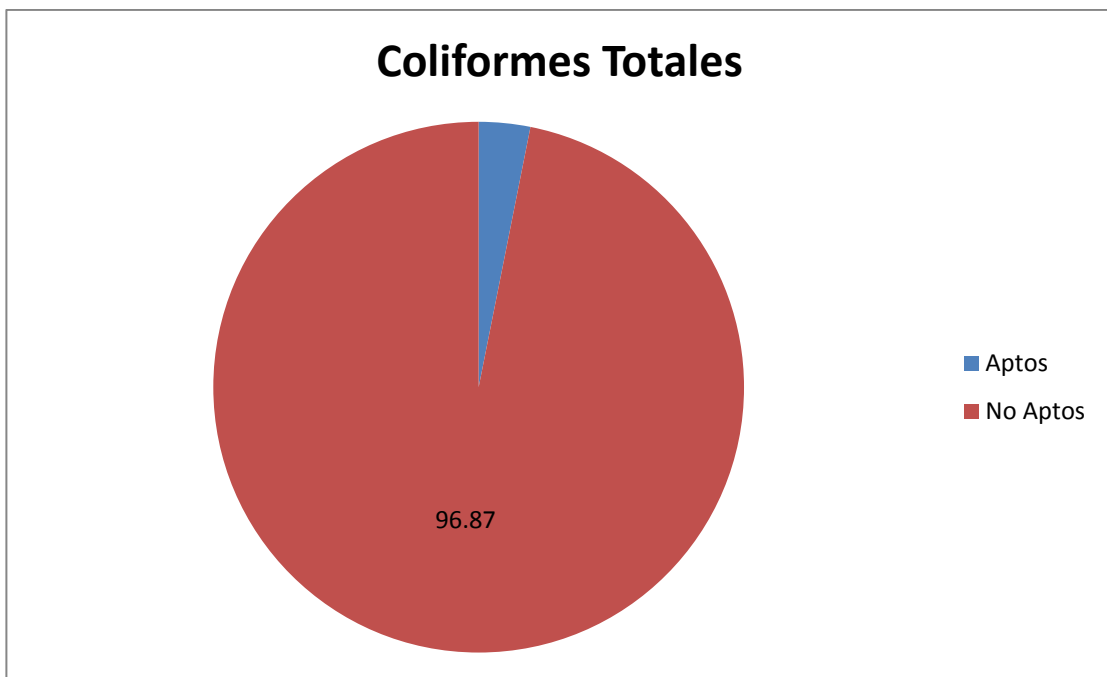
MERCADO	Cantidad de Muestras	Coliformes Totales			
		No aptos		Aptos	
		N°	%	N°	%
Bolognesi	8	8	100,0	0	0,0
Túpac Amaru	8	8	100,0	0	0,0
2 de Mayo	10	10	100,0	0	0,0
Túpac Amaru II	6	6	100,0	0	0,0
Leoncio Prado	8	8	100,0	0	0,0
Central	6	6	100,0	0	0,0
Polvos Rosados	6	6	100,0	0	0,0
Grau	4	2	50,0	2	50,0
1 de Mayo	8	8	100,0	0	0,0
<b>Total</b>	<b>64</b>	<b>62</b>	<b>96.87</b>	<b>2</b>	<b>3.13</b>

**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 12 nos indica que de los valores obtenidos para las Coliformes Totales, en leche cruda, se encontró que sólo 2 muestras del total son aptas y para el consumo humano representando aproximadamente el 3% según NORMA TECNICA PERUANA 202.001.2003 (Anexo 1).

Estos resultados podemos observar en el siguiente gráfico:

Grafico 11. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para Coliformes Totales, Encontrados en muestras de leche cruda expendida a los alrededores de nueve mercados de la ciudad de Tacna.



**Fuente:** Elaboración propia

Tabla 13. Resumen de la ausencia y presencia de la Investigación de *Escherichia coli* en muestras de Leche cruda en nueve mercados del distrito de Tacna.

MERCADO	Cantidad de Muestras	Investigación de <i>Escherichia coli</i>			
		Ausencia		Presencia	
		N°	%	N°	%
Bolognesi	8	0	0	8	100,0
Túpac Amaru	8	0	0	8	100,0
2 de Mayo	10	0	0	10	100,0
Túpac Amaru II	6	0	0	6	100,0
Leoncio Prado	8	0	0	8	100,0
Central	6	0	0	6	100,0
Polvos Rosados	6	0	0	6	100,0
Grau	4	0	0	4	100,0
1 de Mayo	8	0	0	8	100,0
<b>Total</b>	<b>64</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>64</b>	<b>100,0</b>

**Fuente:** Elaboración propia

La Tabla 13 nos indica que de los valores obtenidos para *Escherichia coli*, en leche cruda, se encontró que ninguna muestra es apta ya que todas las muestras reportan presencia de la bacteria.

Estos resultados podemos observar en el siguiente gráfico:

Gráfico 12. Distribución porcentual de los valores aptos y no aptos para *Escherichia coli*, encontrados en muestras de leche cruda expendida a los alrededores de nueve mercados de la ciudad de Tacna.



Fuente: Elaboración propia

## DISCUSION

El presente estudio fue realizado en los alrededores de 9 mercados de abastos del distrito de Tacna durante el período comprendido entre Febrero y Marzo del 2013, ya que estas en estas fechas presentan mayor temperatura por ser estación de verano y por consiguiente va a condicionar una mayor actividad microbiológica, es así que en el presente trabajo se obtuvieron que el 92,19% de las muestras fueron no aptos para BAMV, para los coliformes totales un 100% y la investigación de *Escherichia coli* resultó la presencia de esta bacteria en todas las muestras.

Hallazgos realizados por **Machaca y col. (2001)** en la ciudad de Tacna – Perú, en 13 mercados de la ciudad de Tacna se encontró que del total de muestras analizadas, 89,6% presentó una deficiente calidad microbiológica, no cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos, el 72,9% superó el número permitido de microorganismos aerobios mesófilos viables y 87,5% superó el número de coliformes, estos resultados están por debajo de los hallados en el presente trabajo esto difiere

a los resultados presentados por Machaca y col. Ya que este trabajo se realizó en zonas periurbanas de la ciudad de Tacna.

Existen muchos factores que condicionan los resultados como son la higiene de los vendedores, la limpieza del lugar, factores externos que están asociados a la venta del producto como lo son el tránsito de personas, el tránsito vehicular, el tránsito de animales callejeros, etc.

**Revelli y col. (2002)** de un total de 6.998 muestras de leche cruda, correspondientes a 55 establecimientos lecheros asociados a la Cooperativa Tambara Nueva Alpina, fueron recolectadas entre los años 1993 y 2002. Se realizó el recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos Totales, obteniéndose como resultado un valor medio de  $1,2 \times 10^5 \pm 2,4 \times 10^5$  ufc/ml que caracteriza la zona. **Lancelle y col. (2004)** a lo largo del año se determinó la carga microbiana de la leche cruda usada para la elaboración de quesos artesanales de Corrientes, tuvo como resultados que para el recuento de bacterias aeróbicas mesófilas mostraron niveles de  $9.33 \times 10^4$ , representando el grupo dominante de la flora microbiana evaluada. Para coliformes que fue el grupo mayoritario dentro de los microorganismos contaminantes, presentando un bajo valor medio de  $5,25 \times 10^2$ , sin embargo algunas muestras presentaron un rango elevado de  $1 \times 10^5$  de este grupo de indicadores.

**Arrieta (2001)** nos dice que durante el ordeño la leche fluye por efectos hormonales, que por la presión que se genera en el pezón atraviesa el orificio del mismo. La ubre mantiene contacto con el exterior, los microorganismos que tienen acceso al pezón pueden situarse en la apertura del mismo y avanzar hacia el interior, debido a esto los microorganismos presentes en la leche pueden provenir del interior de la ubre, en esta, se pueden encontrar especies termoresistentes.

**ICMSF (1995)** nos indica que la presencia de estos microorganismos se debe a la falta de limpieza en el momento del ordeño, por esta razón es de gran importancia mantener un riguroso control de higiene en el ordeño, para mejorar la calidad de la materia prima. La contaminación de la leche por esta fuente es de gran significado, puesto que los materiales que normalmente se encuentran en el entorno del animal, como el pasto, la tierra, el estiércol, entre otros, pasan a la superficie de la ubre, pezón y piel en mayor o menor extensión.

La contaminación ambiental durante el ordeño, producto de deficientes prácticas de manejo, permite que microorganismos de la piel de los pezones, manos del ordeñador, pezoneras, equipos de ordeño, baldes y todo el entorno del ordeño, lleguen a la leche. Esta es la fuente de contaminación más importante y variable, ya que aporta un gran número de microorganismos con diferentes propiedades microbiológicas.

A la contaminación inicial de la leche debe sumarse la multiplicación que sufren las bacterias, debido a que esta es un excelente medio de cultivo para la mayoría de los microorganismos. **ICMSF (2000)** El recuento de bacterias aerobias mesófilas viables es el más comúnmente utilizado para indicar la calidad sanitaria de los alimentos, los recuentos altos en los alimentos a menudo indican contaminación o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario, mientras que en los productos perecederos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento.

El análisis de coliformes totales es un indicador de contaminación fecal que en el caso de la leche cruda se convierte en el evaluador del grado de limpieza de la piel de los pezones, manos y pezoneras. Para mantener su control se deben ordeñar pezones limpios, desinfectados y secos, con manos y pezoneras limpias.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación de Leche cruda, teniendo como parámetros microbiológicos a los establecidos por Indecopi para las pruebas realizadas se puede concluir que:

1. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables, fue elevado de un 92.19% de las muestras analizadas de un total de 64 muestras, no cumplió con la norma microbiológica por encima de  $1 \times 10^6$  ufc/ml.
2. En el recuento de coliformes totales se obtuvo que el 100% de las muestras están por encima de  $1 \times 10^3$  ger/ml analizadas de un total de 64 muestras no cumplió con la norma microbiológica.
3. En el total de las muestras analizadas existe la presencia de *Escherichia coli*.

4. Se determinó que del total de las 64 muestras, el 100% sobrepaso los límites máximos permisibles, como requisito para que la muestra sea apta para su consumo.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda al tratamiento térmico un punto crítico de control, para garantizar la inocuidad de la leche cruda para los productos procesados a partir de esta.

Es importante realizar una capacitación a los vendedores para garantizar que vendan la leche cruda con el mayor cuidado sanitario que sea posible.

Mantener la limpieza y sanidad de todos los ambientes de depósito de leche cruda, así como también del lugar en donde se procesa el producto procesado de estos como, almacenes, sótanos, servicios higiénicos, etc.

Realizar un adecuado mantenimiento de depósitos que evite algún peligro, ya que la leche cruda uno de los principales alimentos elegidos por la población para su consumo.

Recomendar a las autoridades pertinentes (Municipios, Ministerio de Salud, Digesa, etc.) la realización de operativos para la inspección de puestos ambulatorios y posterior análisis de leche cruda expendida.

## BIBLIOGRAFIA

1. **ACUÑA, C. 1999.** Medidas tendientes a disminuir los conteos bacterianos en establecimientos lecheros. Primer Simposio Internacional de Calidad de Leche y Mastitis. Grupo Agro-Veterinario (GAV). Buenos Aires, Argentina.
2. **AGUILAR, M. 2010.** ESTUDIO DEL CONSUMO DE LECHE EN LAS FAMILIAS DEL DISTRITO DE BAMBAMARCA DEL AÑO 2000 AL AÑO 2009. Universidad Nacional de Cajamarca, Cajamarca.
3. **ALAIS, CH. 1986.** Ciencia de la leche. Trad. por Antonio Lacasa G. 6 ed. México. Continental.
4. **AMIOT. 1991.** Ciencia y tecnología de la leche: Principios y Aplicaciones. Editorial Acribia S.A. Zaragoza (España).

5. **ARRIETA, L. 2001.** EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE Y LOS PRODUCTOS LÁCTEOS PRODUCIDOS EN CUATRO EXPENDIOS DE LA ZONA METROPOLITANA DE MORELIA. Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Universidad Michoacana De San Nicolás De Hidalgo.
6. **AZABACHE N., BARRIENTOS G. 2001.** Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos. Lima Dirección General De Salud Ambiental.
7. **BOX, G Y BISGAARD S. 1987.** The Scientific Context of Quality Improvement. Reporte No. 25. Center for Quality and Productivity Improvement. University of Wisconsin. Madison, WI, EUA.
8. **COMINI L., TAHER M., PAURA A., MOGUILVSKY M. 1981.** Evaluación de la calidad microbiológica de leche cruda. Revista del I.T.A.

9. **DIRECCIÓN DE CRIANZAS. 2003.** Estudio Cálculo de los Costos de Producción de leche Fresca. Ministerio de Agricultura.
10. **EARLY R, 2000.** Tecnología de los productos lácteos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza (España).
11. **FERNÁNDEZ A., PAREDES L., QUISPE G., PAREJA J., MOORE J., PÉREZ L. 2010.** TECNOLOGIAS PRODUCTIVAS EN LACTEOS. Calidad de la Leche. Organización Privada de Desarrollo. Perú.
12. **FRAZIER W. 1978.** Microbiología de los Alimentos (3 edición española ed.): Editorial ACRIBIA S.A.
13. **GARCIA M., PÉREZ M., LEGORRETA P. 2011.** El Libro Blanco de la leche y los productos lácteos (CANILEC Ed. Primera edición ed. Vol. Volumen 1). México.
14. **HARASIC, O Y MARBAN R. 1999.** National Laboratories of Metrology in the Western Hemisphere. Quality Progress XXXII

15. **HEREDIA, M. 2006.** Aplicación de Antibut (Bactericida) para Eliminar Bacterias del grupo Coli Aerogenes en la Elaboracion de Queso Andino (Bachiller), Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
16. **HERER, G. 1994.** Calidad Bacteriológica de la leche cruda: PROCALE.
17. **HOMAS, M. W. 1996.** Technical Dairy Guide. Madison, Wisconsin: Institute for International Dairy Research and Development.
18. **ICMSF 1968.** Microorganismos de los alimentos (segunda edicion ed. Vol. I). España: Editorial ACRIBIA ZARAGOZA.
19. **ICMSF 1975.** Microorganismos de los Alimentos (Volumen 2 ed.): Editorial ACRIBIA S.A.
20. **ICMSF 1999.** Microorganismo de los Alimentos 2 (E. A. S.A. Ed. Vol. 2). España: University of Toronto Press.

21. **ICMSF 2000.** Microorganismos de los Alimentos I (U. o. T. Press Ed. segunda edición ed. Vol. 1). España: Editorial ACRIBIA S.A.
22. **JAMES, M. J. 2000.** Microbiología Moderna de los Alimentos (sexta edición ed.). Zaragoza, España: Editorial ACRIBIA, S.A
23. **JAY, J. 2002.** Microbiología Moderna de los Alimentos (4 ed.). España: Editorial ACRIBIA S.A.
24. **JUAREZ, M. 1985.** Composición y factores de variabilidad de la leche. Revista alimentación, equipo y tecnología.
25. **KEATING P. 1999.** Introducción a la lactología. Segunda Edición. Limusa. Noriega Editores México.

- 26. LANCELLE M., VASEK O. 2004.** Calidad Microbiológica de Leche Cruda usada en queserías de la Provincia de Corrientes. Facultad de Ciencias exactas, Naturales y Agrimensura. UNNE. Corrientes, Argentina.
- 27. LORA DE SAINT PAULET. 2003.** Guía de Prácticas del Curso de Tecnología de Leche. Facultad de Industrias Alimentarias. UNALM. Lima – Perú.
- 28. LUDEÑA F., PERALTA S., ARROYO O. Y COL. 2006.** Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la leche de cabra y su conservación mediante la activación del sistema lactoperoxidasa. Universidad Agraria La Molina. CONCYTEC.
- 29. MACHACA V., ALBARRACÍN M., QUISPE C., SAKURAY S. 2001.** Vigilancia sanitaria de Leche Cruda de expendio ambulatorio en los centros de abasto de la ciudad de Tacna. Laboratorio de Referencia Regional Tacna. Perú

30. **MADRID A. 1996.** Curso de Industrias Lácteas. Primera Edición. Mundi-Prensa. AMV Ediciones.
31. **MAGARIÑOS, H. 2000.** Producción Higiénica De La Leche Cruda (Producción y Servicios Incorporados S.A. ed.). Guatemala.
32. **MARTINEZ L., QUISPE G., PAREJA J. 2010.** Tecnología Productiva en Lácteos: Solid OPD.
33. **MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2003.** Plan Estratégico de la Cadena de Productos Lácteos. Perú.
34. **MOSSEL D. 1981.** Microbiología de los Alimentos (Primera edición ed.). España: Editorial ACRIBIA S.A.
35. **NORMA TECNICA PERUANA. 2003.** Leche y Productos Lácteos. Leche Cruda.

36. **PASCUAL M., 2000.** Microbiología Alimentaria (2 edición ed.): Díaz de Santos s.a.
  
37. **PINZON A. 2006.** Determinación Del Índice De Bacterias Mesofilas Aerobias Presentes En La Leche Cruda Versus Leche Pasteurizada Que Se Comercializan En La Zona Urbana De La Ciudad De Popayan. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Popayán, Colombia.
  
38. **REINHEIMER JA. 1994.** Actividad y ter-morresistencia de enzimas exocelulares de bacterias psicrotrofas aisladas de leche cruda. La Alimentación Latinoamericana.
  
39. **REVELLI G., SBODIO., TERCERO E. 2002.** Recuento de Bacterias Totales en Leche Cruda de Tambos que Caracterizan la Zona Noroeste de Santa Fe y Sur de Santiago del Estero. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina.

40. **REYES B., 2006.** Microbiológica de la Leche Cruda de Vaca. Directora de Normalización y Director General del Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados. COFOCALEC. México.
41. **ROBERTS D., GREENWOOD M. 2000.** Microbiología Practica de los Alimentos. España: Editorial ACRIBIA S.A.
42. **ROMAN S., GUERRERO L., PACHECO L. 2003.** Evaluación De La Calidad Fisicoquímica, Higiénica Y Sanitaria De La Leche Cruda Almacenada En Frio. Revista Científica FCV Luz, XIII.
43. **SBODIO O., TERCERO E. 1996.** Calidad de leche que produce la Cooperativa Tampera Nueva Alpina Ltda. Tecnología Láctea Latinoamericana.
44. **SCOTT R. 1991.** Fabricación de Queso. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España.

45. **VALBUENA E., LIMA K., CASTRO G., ACOSTA W. 2004.** Calidad microbiológica de las principales marcas de leche pasteurizada distribuidas en la ciudad de Maracaibo, Venezuela. Universidad de Zulia, Maracaibo, Venezuela.
46. **VARGAS T. 2004.** Calidad E Inocuidad De La Leche Y Productos Lácteos. Universidad Central de Venezuela, Venezuela.
47. **VARGAS T. 2005.** Calidad De La Leche: Visión De La Industria Láctea. Universidad de Venezuela. Venezuela.
48. **VERNAM, A. H. Y SHUTERLAND, J. P. 1995.** Leche y productos lácteos. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
49. **WALSTRA P. 2001.** Ciencia de la leche y de los productos lácteos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza España.
50. **ZARRAGA, V. A. 2006.** Requisitos Higiénico-Sanitarios para la Producción de Leche Cruda. Editorial ASEVETCA S.L.

## **CAPITULO V: ANEXOS**

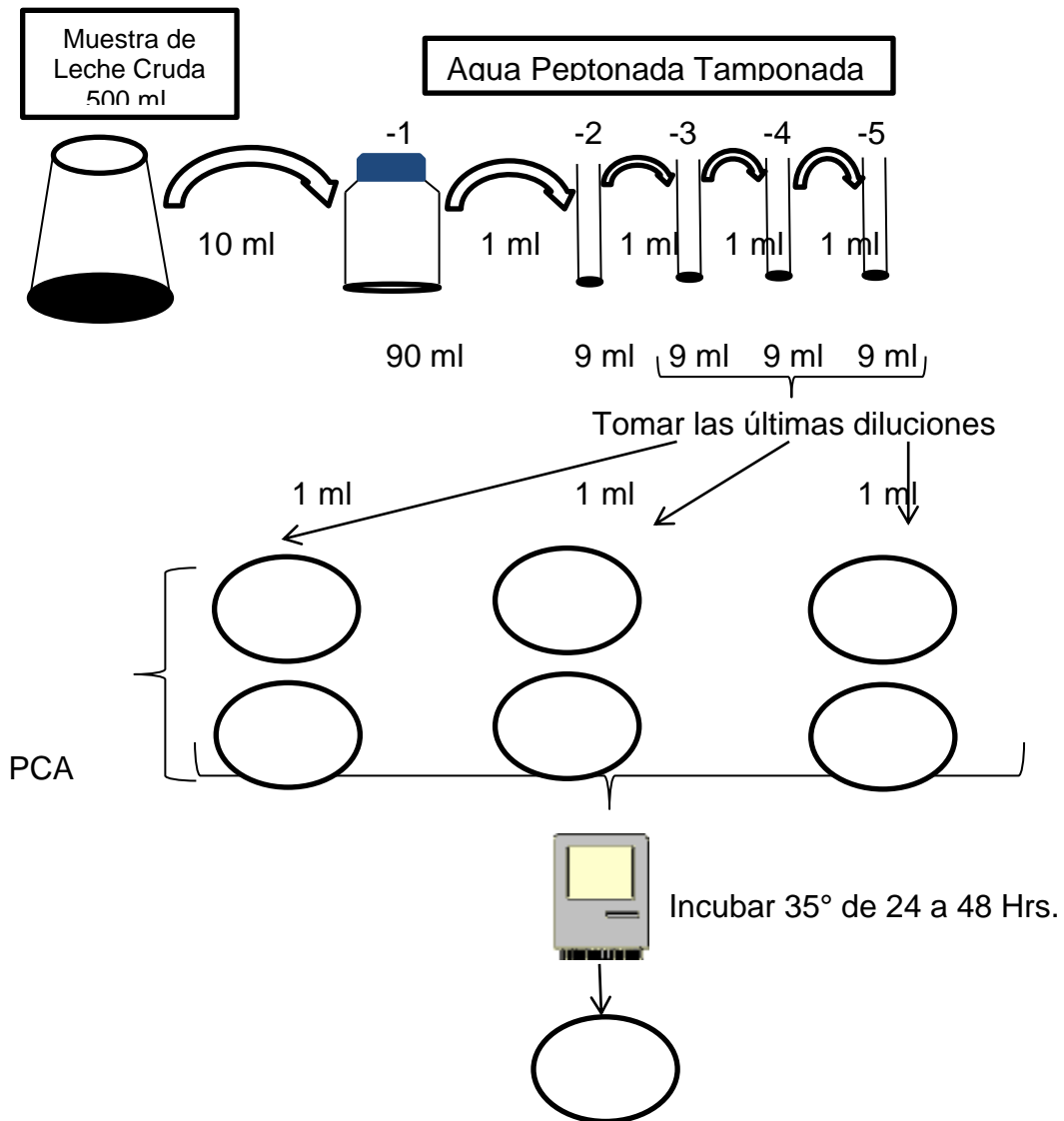
## **ANEXO 1**

### **Norma Técnica Peruana que establece los Requisitos Microbiológicos de la Leche Cruda**

<b>Ensayo</b>	<b>Requisito</b>
Numeración de microorganismos Mesófilos aerobios y facultativos viables ufc/ mL	Máximo 1 000 000
Numeración de coliformes ufc/mL	Máximo 1 000

## ANEXO 2

**Método horizontal para la numeración de microorganismos. Técnica de conteo de colonias por placa.**



Recuento de colonias

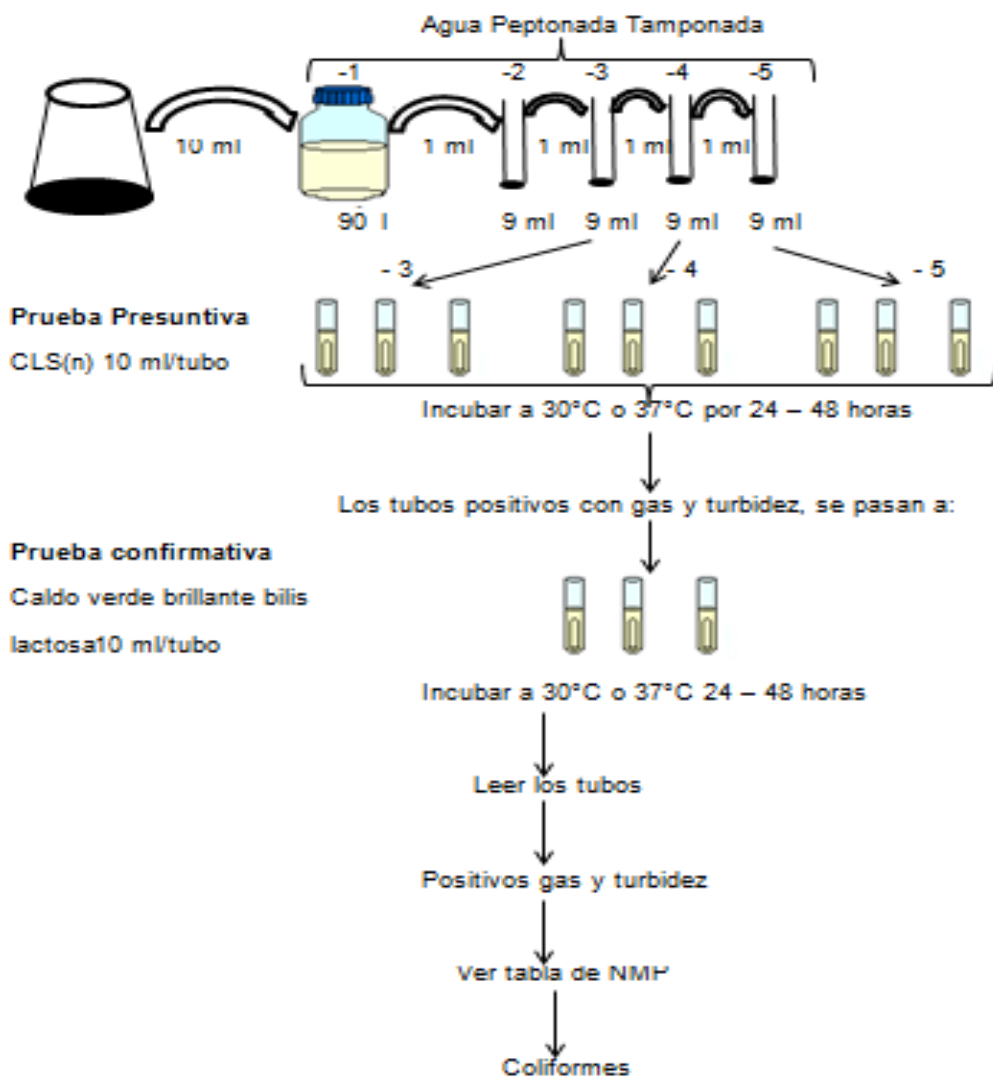
UFC Bacterias Heterotróficas / ml

**ANEXO 3**

**Procedimiento de Análisis para la Numeración de Coliformes**

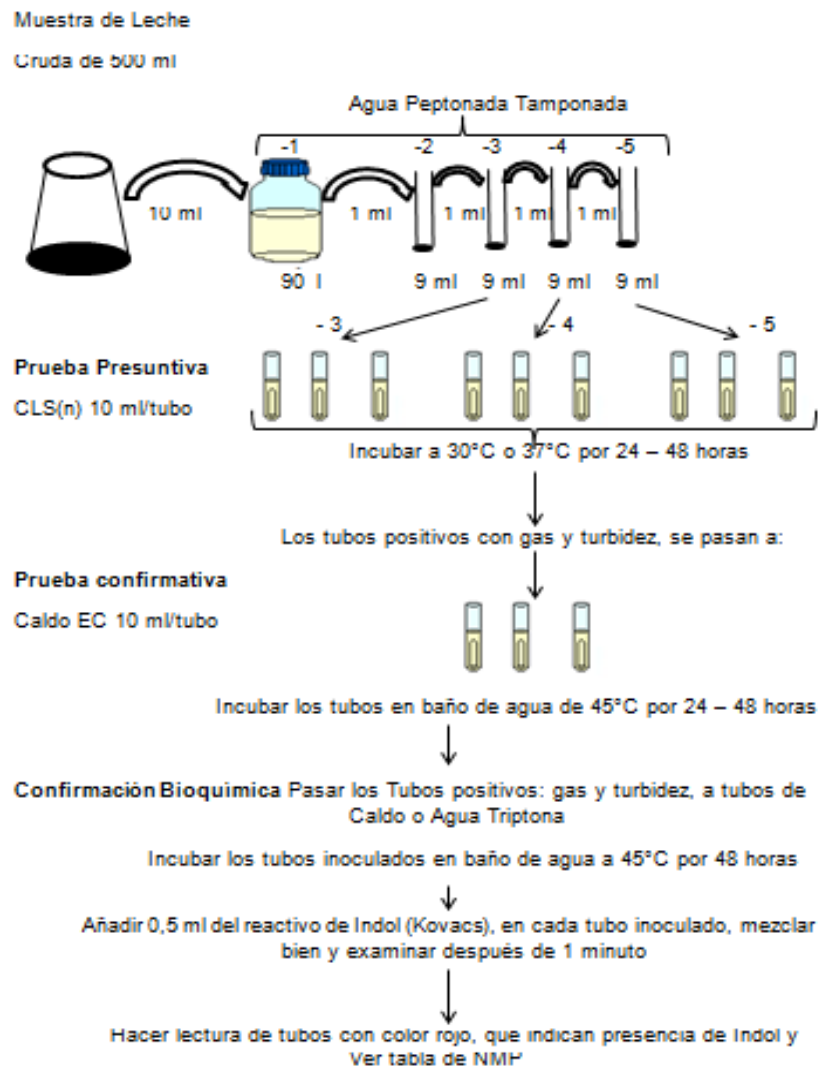
Muestra de Leche

Cruda de 500 ml



## ANEXO 4

### Procedimiento de Análisis para la Numeración presuntiva de *Escherichia coli*.

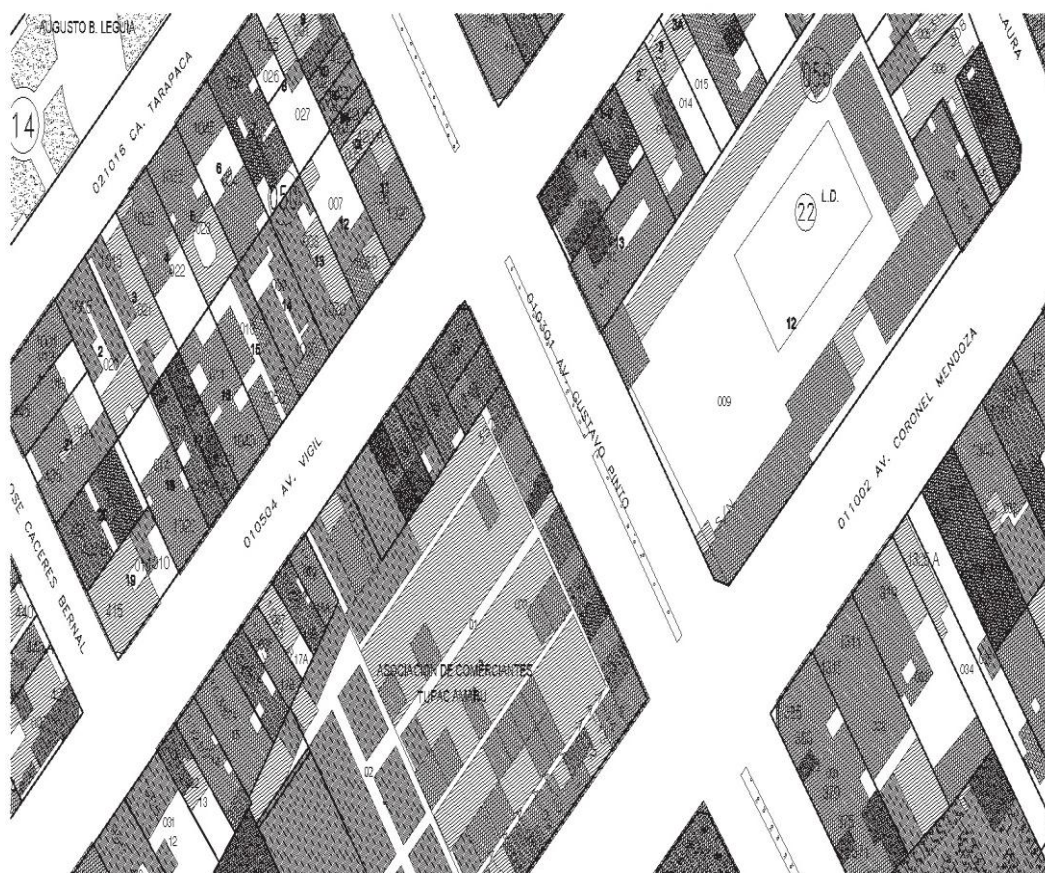




## ANEXO 6

### ZONA DE EXPENDIO DE LECHE CRUDA

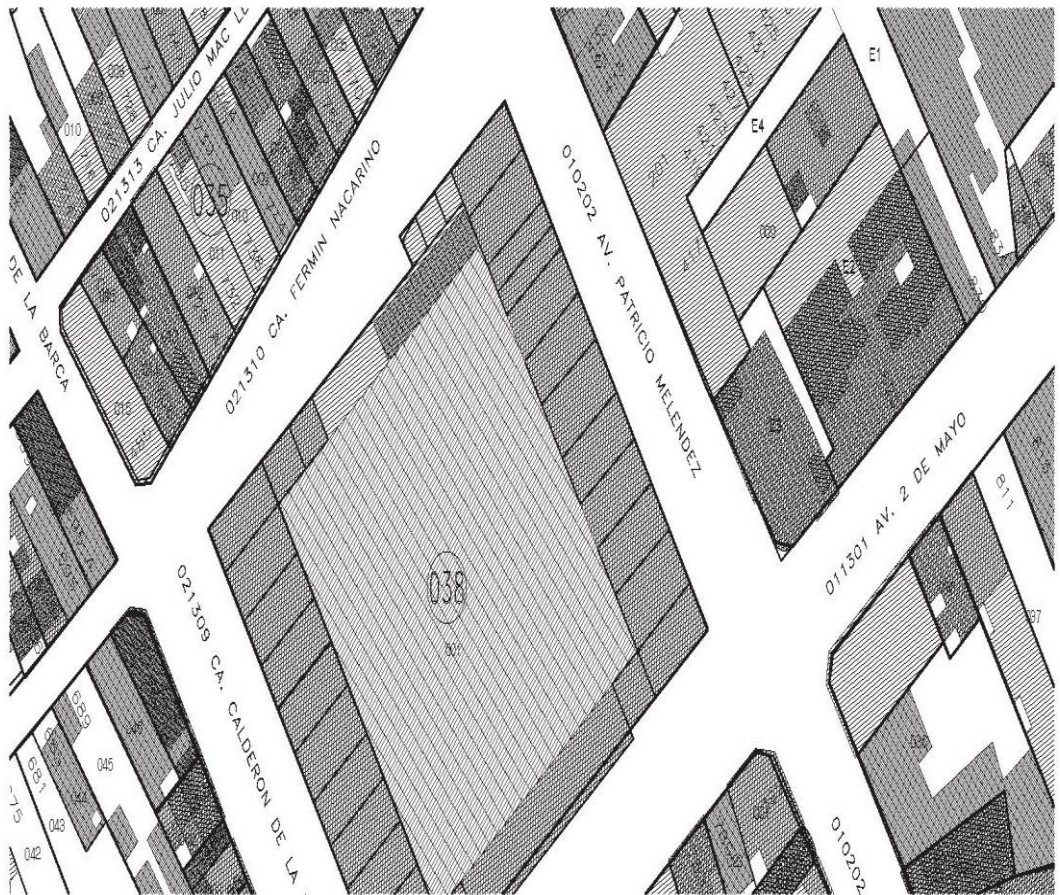
### MERCADO TUPAC AMARU



**ANEXO 7**

**ZONA DE EXPENDIO DE LECHE CRUDA**

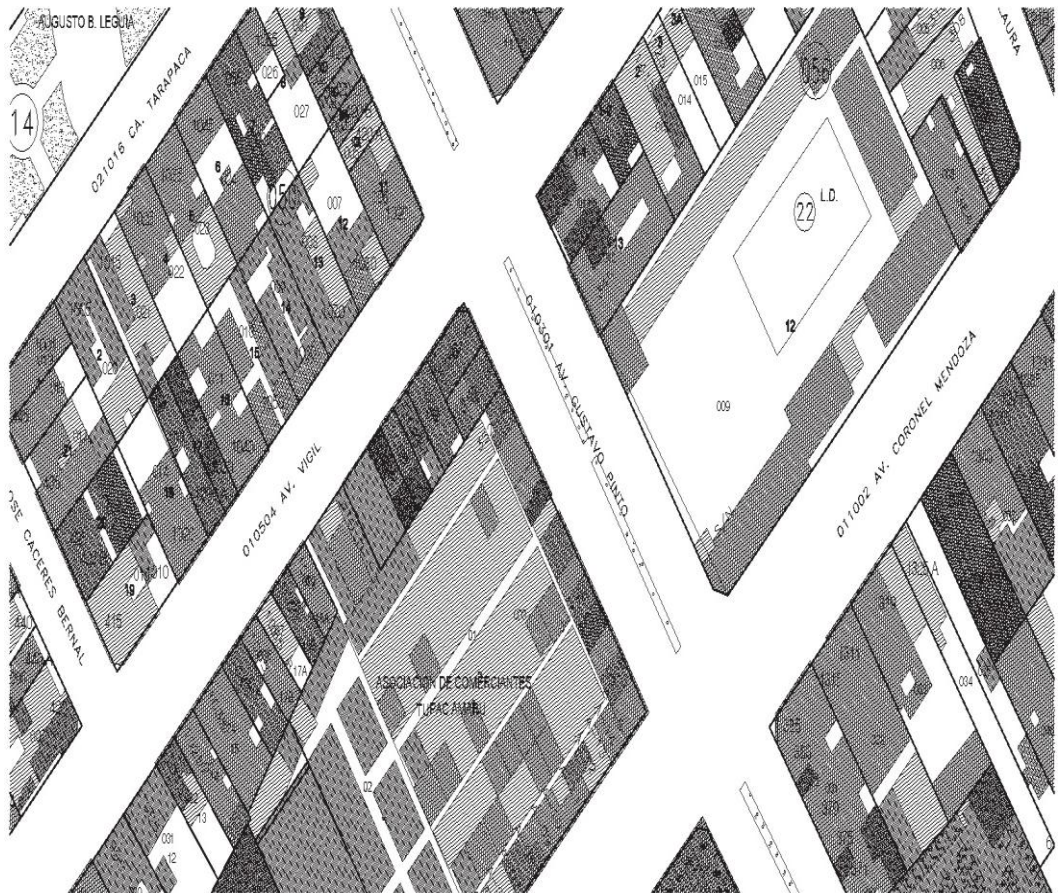
**MERCADO 2 DE MAYO**



**ANEXO 8**

**ZONA DE EXPENDIO DE LECHE CRUDA**

**MERCADO TUPAC AMARU II**



**ANEXO 9**

**ZONA DE EXPENDIO DE LECHE CRUDA**

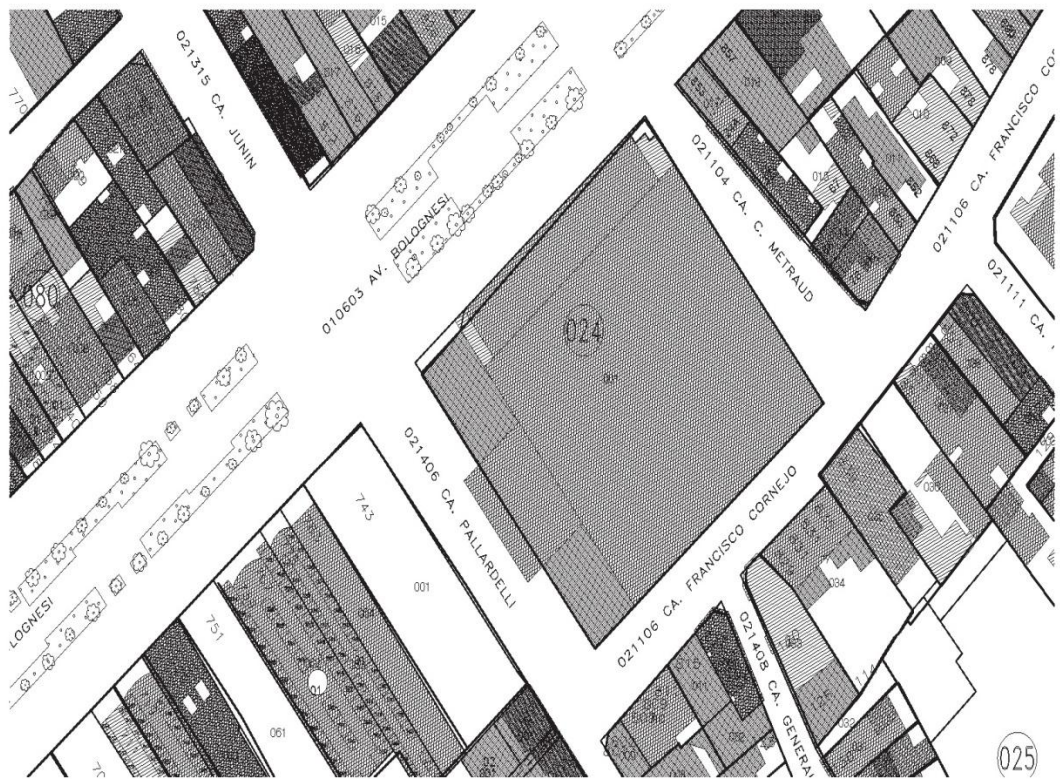
**MERCADO LEONCIO PRADO**



**ANEXO 10**

**ZONA DE EXPENDIO DE LECHE CRUDA**

**MERCADO CENTRAL**









**ANEXO 14**

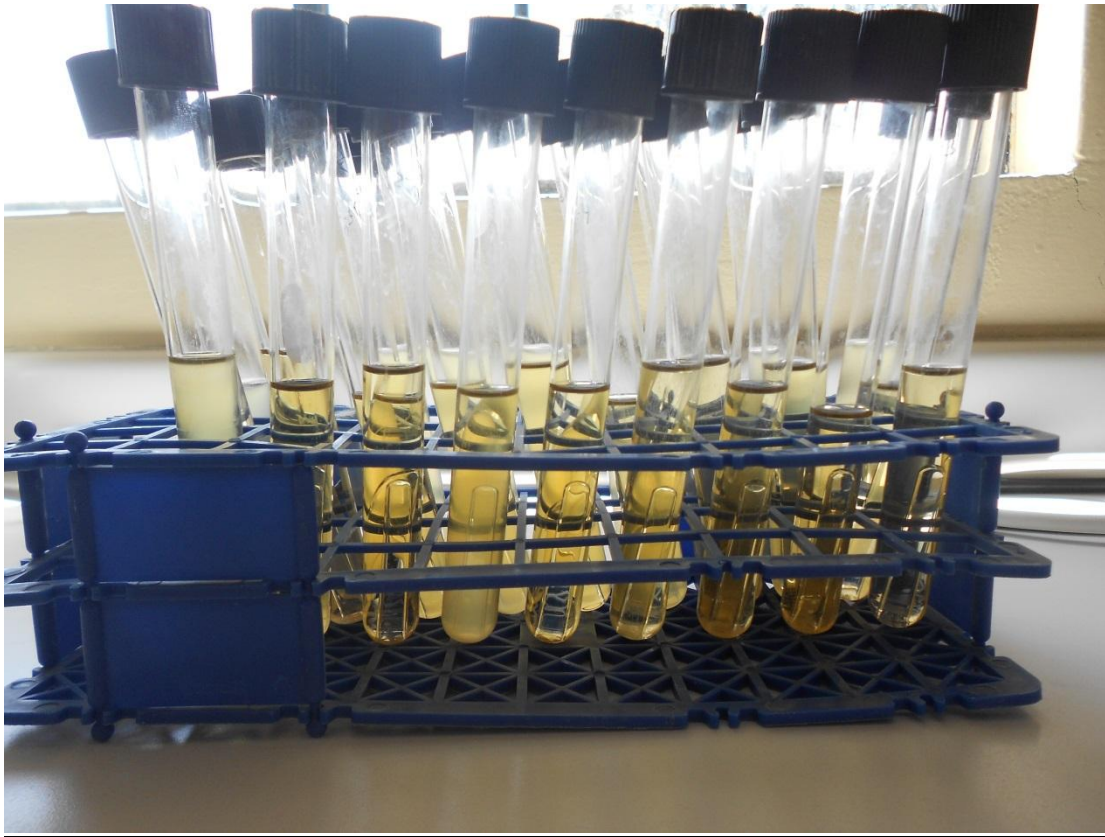


Fig. 1 Tubos de CLS sin inoculación

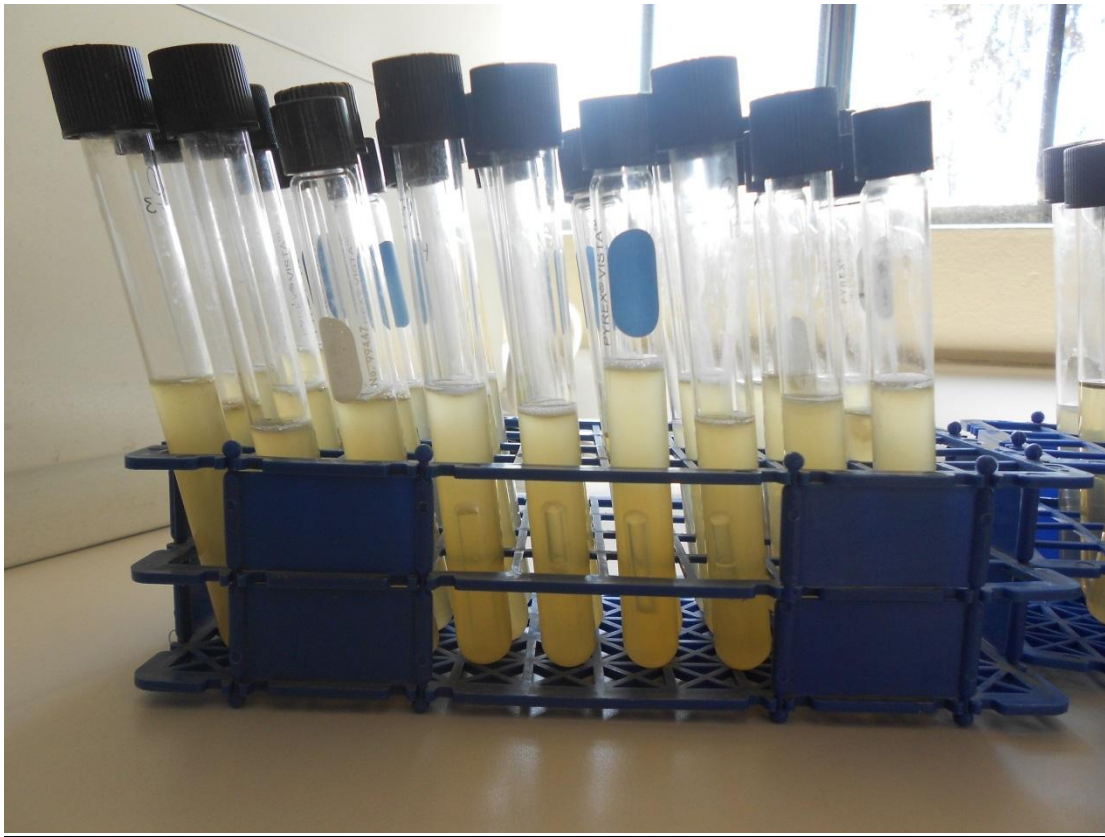


Fig. 2 Tubos de CLS inoculados

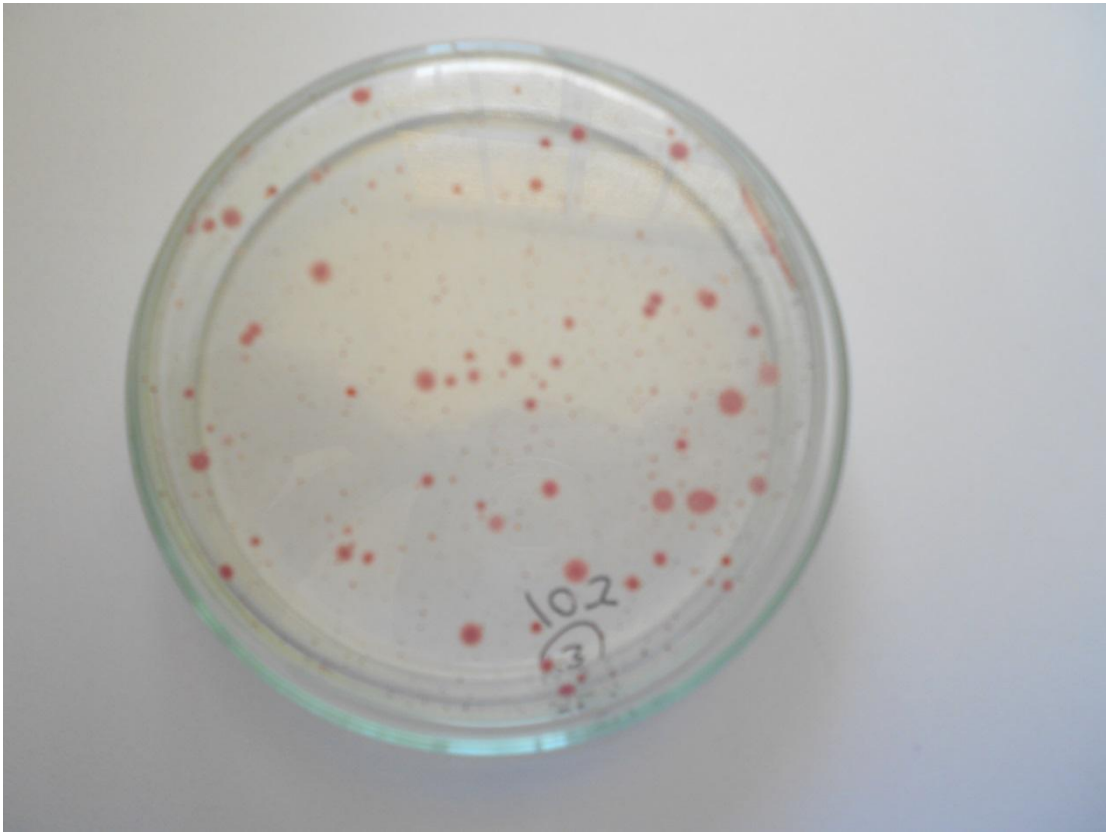


Fig. 3 Placa de PCA positiva



Fig. 4 Tubos de Caldo Brilla positivos y negativos

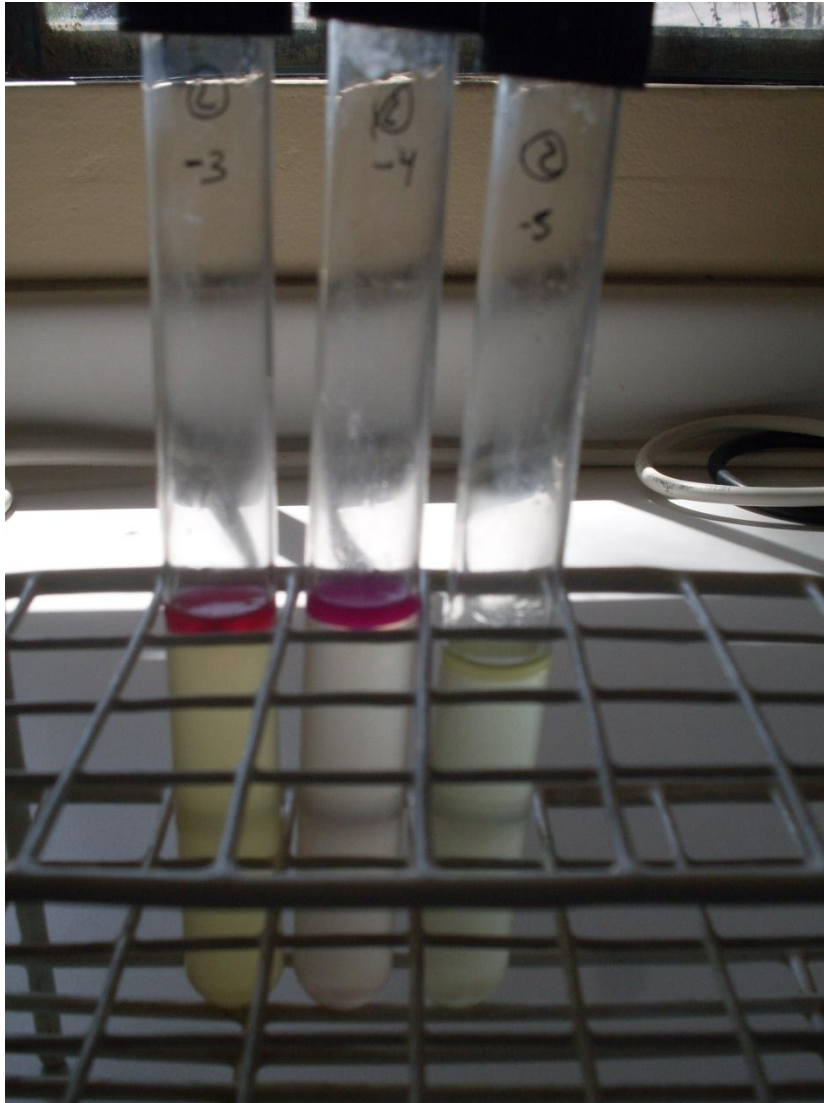


Fig. 5 Halo rosado, presencia de *E. coli* del reactivo de Kovac's



Fig. 6 Transporte de las Muestras

**ANEXO 15**

**TABLA DE NUMERO MAS PROBABLE**

Resultados de Número de Tubos Positivos			NMP	Resultados de Tubos Positivos			NMP
0	0	0	<0,30	2	2	0	2,1
0	0	1	0,30	2	2	1	2,8
0	1	0	0,30	2	2	2	3,5
0	1	1	0,61	2	3	0	2,9
0	2	0	0,62	2	3	1	3,6
0	3	0	0,94	3	0	0	2,3
1	0	0	0,36	3	0	1	3,8
1	0	1	0,72	3	0	2	6,4
1	0	2	1,1	3	1	0	4,3
1	1	0	0,74	3	1	1	7,5
1	1	1	1,1	3	1	2	12
1	2	0	1,1	3	1	3	16
1	2	1	1,5	3	2	0	9,3
1	3	0	1,6	3	2	1	15
2	0	0	0,92	3	2	2	21
2	0	1	1,4	3	2	3	29
2	0	2	2,0	3	3	0	24
2	1	0	1,5	3	3	1	46
2	1	1	2,0	3	3	2	110
2	1	2	2,7	3	3	3	>110