



Técnicas análisis calidad de la leche cruda



PRUEBAS DE PLATAFORMA
DE RECEPCIÓN EN
CENTROS DE ACOPIO



2019

TÉCNICAS ANÁLISIS CALIDAD DE LA LECHE CRUDA

PRUEBAS DE PLATAFORMA DE RECEPCIÓN EN CENTROS DE ACOPIO

INSTITUTO UNIVERSITARIO DE LA PAZ – UNIPAZ

Editorial: Instituto Universitario de la Paz – UNIPAZ

Representante legal: Oscar Orlando Porras Atencia

Página web:

2

ISBN: 978-958-5542-12-9

Autores

Microb. Esp. Irina Aleán Carreño

Ing. M.Sc. Mónica María Pacheco Valderrama

Ing. Esp. Shirley Lizeth Mancera

Ing. Esp. Leidy Andrea Carreño Castaño

Ing. Esp. Rafael Calderón Silva

Ing. Miguel Arturo Lozada Valero

Prologuista

Ing. Esp. Héctor Julio Paz Díaz

Barrancabermeja, 2019



TABLA DE CONTENIDO

PROLOGO	5
1. GENERALIDADES DE LA LECHE	6
CONCEPTO:	6
1.1.1. <i>Leche adulterada:</i>	6
1.1.2. <i>Leche alterada:</i>	6
1.1.3. <i>Leche contaminada:</i>	6
1.1.4. <i>Leche cruda:</i>	6
1.2. COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE	7
1.2.1. <i>Características de la leche cruda</i>	7
1.3. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LA LECHE CRUDA	8
2. ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DE LA CALIDAD DE LA LECHE	9
2.1. PRUEBA SENSORIAL	9
2.2. OLOR Y SABOR	9
2.3. DETERMINACIÓN DE PH	10
2.3.1. <i>Equipo y Materiales</i>	10
2.3.2. <i>Procedimiento</i>	10
2.6.1. <i>Descripción del procedimiento</i>	12
2.6.2. <i>Interpretación de resultados</i>	12
2.7. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE	12
2.6.1. <i>Descripción del procedimiento</i>	13
2.8. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD	13
2.8.1. <i>Descripción del procedimiento</i>	13
2.8.2. <i>Interpretación de resultados</i>	13
2.9. PRUEBA PARA DETERMINAR LA ADICIÓN DE ALMIDÓN O MAIZENA	14
2.9.1 <i>Descripción del procedimiento</i>	14
2.9.2. <i>Interpretación de resultados</i>	14
2.10. PRUEBA DE REDUCTASA	15
2.10.1. <i>Descripción del procedimiento</i>	15
2.10.2. <i>Interpretación de resultados</i>	15



3. ANÁLISIS MICROBIÓLOGICO DE LA LECHE CRUDA 15

3.1. DILUCIONES SERIADAS 16

3.2. DETERMINACIÓN DE AEROBIOS MESÓFILOS 17

BIBLIOGRAFÍA 18



PROLOGO

La leche por sus grandes aportes nutricionales y al ser un producto de consumo habitual a nivel mundial, genera gran interés a la escuela de Ingeniería Agroindustrial, ampliando el conocimiento a la comunidad educativa del Instituto Universitario de la Paz UNIPAZ, y así desarrollar esta cartilla con el ánimo de dar a conocer las diferentes técnicas de análisis de la calidad de la leche cruda.

5

En este documento encontrarán los conocimientos básicos de las generalidades de la leche, donde podrá diferenciar entre una leche adulterada, contaminada, altera y cruda. Adicional a esto podrá hallar las características fisicoquímicas y microbiológicas.



1. GENERALIDADES DE LA LECHE

CONCEPTO:

Según lo establecido en el Decreto 616 del 2006 expedido por el Ministerio de Salud y Protección Social, la leche está definida como “el producto de la secreción mamaria normal de animales bovinos, bufalinos



y caprinos lecheros sanos, obtenida mediante uno o más ordeños completos, sin ningún tipo de adición, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración posterior”.

6

1.1.1. Leche adulterada:

1. Es aquella a la que se le han sustraído parte de los elementos constituyentes, reemplazándolos o no por otras sustancias.
2. Que haya sido adicionada con sustancias no autorizadas y,
3. Que por deficiencias en su inocuidad y calidad normal hayan sido disimuladas u ocultadas en forma fraudulenta sus condiciones originales.

1.1.2. Leche alterada:

Es aquella que ha sufrido deterioro en sus características microbiológicas, físico-químicas y organolépticas o en su valor nutritivo, por causa de agentes físico-químicos o biológicos, naturales o artificiales.

1.1.3. Leche contaminada:

Es aquella que contiene agentes o sustancias extrañas de cualquier naturaleza en cantidades superiores a las permitidas en las normas nacionales o en su defecto en normas reconocidas internacionalmente.

1.1.4. Leche cruda:

Leche que no ha sido sometida a ningún tipo de termización ni higienización.



1.2. COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LA LECHE

La composición de la leche varía según aspectos como la especie, raza, genética, tipo de alimentación, estado de lactancia, el número de partos, época del año, número de ordeños, estado sanitario y fisiológico del animal. En la tabla 1, se puede observar el promedio de los nutrientes más importantes de la leche en diferentes mamíferos.

7

Tabla 1. Composición de la leche de diferentes especies (por cada 100 gramos).

Nutriente	Vaca	Búfalo	Humano
Agua	88	84	87,5
Energía Kcal	61	91	70
Proteína (g)	3,2	3,7	1,0
Grasa (g)	3,4	6,9	4,4
Lactosa (g)	4,7	5,2	6,9
Minerales (g)	0,72	0,79	0,20
Sólidos totales (g)	12,02	16,59	12,5

Fuente: Wattiaux M, 2014.

1.2.1. Características de la leche cruda

En el artículo 16 del Decreto 616 de 2006 expedido por el Ministerio de Salud y Protección Social, la leche cruda de animales bovinos debe cumplir con las características que se aprecian en la tabla 2.

En el Decreto 1880 del 2011, en el capítulo III, artículo 6, establece que la leche cruda para el consumo humano directo debe cumplir con las características físico químicas establecidas en el Artículo 16 del Decreto 616 de 2006 y en las normas que lo modifiquen, adicionen o sustituyan y adicionalmente, debe cumplir con la característica "La leche



líquida proveniente de animales bovinos debe tener como

Índice Permissible	Unidades Formadoras de Colonia/ml
Recuento de mesófilos aerobios	700.000

mínimo 2,9% de proteína” y “Debe estar libre de adulterantes, neutralizantes y conservantes”.

Tabla 2. Características de la leche cruda

8

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

Fuente: Decreto 616 de 2006

1.3. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LA LECHE CRUDA

En el Decreto 1880 del 2011 capítulo III, artículo 7, se establece que la leche cruda para consumo humano directo debe cumplir con las características microbiológicas de la tabla No. 3.

Tabla 3. Características Microbiológicas

Fuente: Decreto 1880



2. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA CALIDAD DE LA LECHE

Una vez que la leche es acopiada, (recolectada) ya sea de su propio hato ganadero o bien de proveedores diversos, es prudente realizar algunas pruebas de calidad. Para ello existen varios métodos; a continuación se describen los más comunes y empleados con mayor frecuencia.

9

2.1. Prueba Sensorial

1. Preparar unos 50 ml de muestra de leche en vaso limpio.
2. Si la muestra de leche está fría, puede calentar a unos 30° C. (Para que se pueda sentir más el olor y sabor de la muestra.)
3. Tomar un sorbo de la muestra caliente (al tiempo) en la boca, compararlo con olor de simple. Después escupirse, no tragarse. Enjuagarse la boca con agua.
4. Si se siente diferente olor y sabor, puede no someter esta leche al procesamiento de productos como bebidas fermentadas, es más aprovechable para productos como quesos o dulces. Es importante determinar bien el sabor característico de la leche, libre de productos químicos y sustancias extrañas.

2.2. Olor y Sabor

La leche no es insípida, aunque no tiene un gusto muy pronunciado. Su sabor es difícil de describir, es ligeramente azucarado.

Evidentemente hay que tener en cuenta estas características básicas en la evaluación comparativa de las distintas muestras de leche. El olor de la leche refleja generalmente su sabor y es suficiente con comprobar si es normal.



2.3. Determinación de pH

El pH normal de la leche fresca es de 6.5 -6.7 valores superiores generalmente se observan en leches mastíticas, mientras que valores inferiores indican presencia de calostro o descomposición bacteriana.

El método más adecuado para determinar el pH de la leche es el electrométrico empleando un electrodo de vidria en combinación con electrodo de referencia. El potencial se mide directamente en términos de pH en la escala de un potenciómetro calibrado con una solución buffer de pH conocido.

10

2.3.1. Equipo y Materiales

Potenciómetro

Reactivos: soluciones buffer para calibración de pH 4 y 7

2.3.2. Procedimiento

Preparar el potenciómetro de acuerdo con las instrucciones del aparato y haciendo la calibración con la solución buffer de pH conocido (4 y 7)

Ajustar el control del aparato a la temperatura de la muestra

Medir el pH y anotar los resultados

2.4. Prueba de ebullición

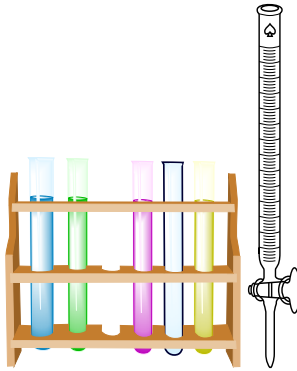
Se basa en el hecho de que el calor actúa como catalizador de la precipitación de la caseína por la formación de ácido láctico debido a la degradación de la lactosa

2.4.1 Equipo y Materiales

- Pipetas
- Gradillas
- Tubos de Ensayo



- Estufa o mechero
- Muestra de leche



2.4.2. Descripción del Procedimiento

- Tomar 2ml de leche y depositar en un tubo de ensayo.
- Llevar al calor hasta bullir.
- Observar si se presenta coagulación de la muestra y reportar el resultado como positiva a la ebullición.

2.5. Punto Crioscópico

Es un parámetro basado en el punto de congelación de la leche, comparado con el punto de congelación del agua, es decir, cuando se agrega solutos se diluye y el punto de congelación aumenta, acercándose al del agua.

2.6. Prueba de Alcohol

En los centros de acopio de leche y en las industrias esta prueba es clave, y tiene la finalidad de detectar la estabilidad térmica de la leche



cruda; es decir, si la leche tiene la capacidad de resistir altas temperaturas de procesamiento sin presentar coagulación visible.

2.6.1. Descripción del procedimiento

Regule la temperatura de la leche a 21 C.

Tome 5 cc (ml) de leche en el Beaker.

Agregue 5 ml de alcohol a 68% y homogenizar 3 a 4 veces de manera circular muy suave para que la leche se mezcle bien con el alcohol. Observe la reacción.

2.6.2. Interpretación de resultados

Si la leche en el Beaker muestra pequeñas partículas de cuajada, es positiva; grandes cantidades de cuajada indican que la acidez de la leche es mayor de 0.20 % o que existe cualquier otra anomalía. En ambos casos indica que la leche no es apta para su procesamiento y que no puede ser tratada con calor en los procesos de eliminación de microorganismos o pasteurización.

La coagulación de la leche en esta prueba puede ser debida a varias causas y no necesariamente a que la leche este ácida, porque la leche también se coagula cuando hay presencia de calostro o primera leche que dan las vacas, o bien cuando esta proviene de vacas con lactancia muy avanzada (terneros grandes) o porque la leche tenga falta de sales minerales.

Por tanto, debemos de tener claro que no se puede depender solo de esta prueba para aceptar o rechazar la leche por acidez.

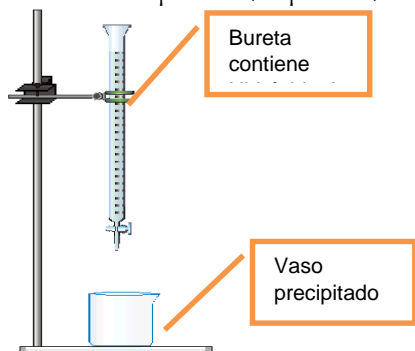
2.7. Determinación de la acidez titulable

La acidez de la leche, es un dato que nos indica la carga microbiana de la leche, el cuidado en cuanto a higiene y conservación.

Una leche con alta acidez total se interpreta como un producto de mala calidad debido a que esta acidez es producto de la presencia de microorganismos.



2.6.1. Descripción del procedimiento



Este procedimiento permite reconocer el estado de frescura de la leche; una leche en estado fresco, presenta una acidez entre 16 y 18 ° Th (grados Thorner), cuando la acidez aumenta se debe principalmente por la acción de la flora bacteriana y las enzimas; una acidez de mayor de 30°Th; denota una leche con gran actividad microbiana y enzimática.

Durante la titulación; cuando la leche cambie a un color rosa fuerte (palo de Rosa), leemos el volumen gastado de Hidróxido se multiplica por 10 (factor) y esta lectura corresponde a la acidez de la leche: ejemplo 2,2 ml gastados de Hidróxido, multiplicamos por 10, entonces, la leche tiene una acidez de 22 °Th (grados Thorner)

2.8. Determinación de la densidad

La determinación de la densidad es una prueba completamente simple que nos permite conocer en primera instancia algún posible fraude, como la adulteración de la leche con agua.

2.8.1. Descripción del procedimiento

Tome una muestra y verter la leche por las paredes de la probeta, sin hacer espuma.

Coloque suavemente el lactodensímetro dentro de la probeta y dejar flotar. Cuando está en reposo se realiza la lectura.

Luego, mida la temperatura de la leche.

2.8.2. Interpretación de resultados

El lactodensímetro tiene una escala graduada que comprende valores entre 20 y 40 que corresponden a las milésimas de densidad por encima de la unidad, es decir, que si el lactodensímetro marca 32, entonces indica la densidad 1,032.

La lectura correcta debe oscilar entre rangos de 1,028 a 1,033 g/ml. Si la lectura es menor a 1,028 g/ml se trata de leche adulterada con agua. Por otra parte, si la lectura está en el rango de 1,033 - 1,037 g/ml esta en presencia de una leche descremada.

Los lactodensímetros pueden venir calibrados a 15 °C o a 20 °C, los más comunes son los primeros. Si el lactodensímetro esta calibrado a 15°C, quiere decir que la lectura que realice a esa temperatura será la densidad de la leche, pero si la lectura se realiza cuando la leche esta a una temperatura diferente a 15° C se debe corregir el valor obtenido con unas tablas que generalmente vienen con el instrumento.

2.9. Prueba para determinar la adición de almidón o Maizena

Esta es una prueba que se basa en el hecho de que el yodo evidencia la presencia del almidón dando un color azul oscuro intenso. Por tanto, resulta una forma muy práctica para determinar si la leche se encuentra adulterada con almidón.

2.9.1 Descripción del procedimiento

Tome una muestra de 5 ml de leche en el Beaker o en el tubo de ensayo.

Agregue 2 gotas de yodo puro o bien 4 gotas de yodo diluido al 10%.

Observe la coloración de la reacción.



2.9.2. Interpretación de resultados

Si la leche se pone color azul oscuro intenso significa que le agregaron almidón o Maizena y por tanto debe ser rechazada.

2.10. Prueba de reductasa

Esta prueba permite saber el grado de contaminación de microbios que tiene la leche con base en simples cambios de color de la misma al agregar azul de metileno.

2.10.1. Descripción del procedimiento

Prepare 5 ml de azul de metileno líquido diluido en 195 cc (ml) de agua destilada.

Coloque 1 ml de la solución de azul de metileno en un tubo de ensayo.

Agregue 10 ml de leche cruda con la pipeta, tapar el tubo y menearlo para que se revuelva bien.

Ponga a incubar en baño maría cada tubo de ensayo a temperatura entre 37- 38°C.

Revise la muestra, que inicialmente tiene un color celeste, cada media hora, hasta que se torne blanca.

2.10.2. Interpretación de resultados

Cuanto más rápido se ponga blanca, más “mala” es la leche. El azul de metileno es decolorado por algunos microorganismos presentes en la leche cruda, se ha relacionado el tiempo de decoloración con la carga microbiana y la calidad de la leche así:

Tiempo de decoloración	Calidad de la leche
Mayor a 5 horas	Muy buena
3 a 5 horas	Buena
1 y 3 horas	Regular
1 hora	Mala
Menos de 30	Muy mala

Fuente:

3. ANÁLISIS MICROBIÓLOGICO DE LA LECHE CRUDA

La calidad higiénica al recuento de bacterias mesófilas aerobias, teniendo en cuenta que varios autores han señalado que este grupo indicador puede evaluar el grado de contaminación de la



leche cruda después del ordeño (calidad higiénica aceptada cuando: el recuento de mesófilos es menor a 700.000 UFC/mL).

3.1. Diluciones seriadas

La fracción de la muestra destinada para el análisis microbiológico, debe ser representativa de la población y constituida normalmente por 200 gramos o mililitros (esto dependiendo del análisis). Para la puesta en marcha, se utilizan 100 g o mL y el resto se almacena como reserva, por si se hace necesario repetir el recuento. Si la muestra está constituida por distintos componentes, se tomarán fracciones representativas de cada una de ellas en la superficie y en la profundidad de la misma.

Para casi todos los análisis, se parte de una suspensión líquida de concentración conocida, que se denomina suspensión madre y que tiene una dilución 1:10 (10⁻¹). Para conseguir este factor de dilución, se mide una cantidad de muestra (en gramos o mililitros), y el resultante, se multiplica por 9 (nueve). Este nuevo resultado serán los mililitros de diluyente que se debe añadir a la muestra para lograr la dilución decimal. A partir de esta dilución, se preparan las siguientes (1:100 ó 10⁻², 1:1000 ó 10⁻³, etc.), hasta el factor requerido y establecido por el analista; recuerde que siempre se debe tener la precaución de cambiar la pipeta entre la realización de cada una de las diluciones y de mantener en frío, los tubos de la serie de diluciones, hasta el comienzo de los análisis, pero sin prolongar por más de dos horas esta refrigeración.

Con la finalidad de realizar las diluciones con diferentes volúmenes o pesos de las muestras y obtener diferentes factores de dilución, se puede hacer uso de la siguiente fórmula:

$$\text{Factor de Dilución} = \frac{\text{Soluto}}{\text{Solvente} + \text{Soluto}}$$

Donde, el soluto es la muestra (sólida o líquida), y el solvente es el diluyente utilizado. Tenga en cuenta que para el cálculo de la segunda dilución y posteriores, debe multiplicar el resultado por el factor de dilución, de la dilución inmediatamente anterior.

La característica principal de un buen diluyente, es que no produzca modificaciones cualitativas ni cuantitativas en la microbiota de la muestra que van a ser analizada, sin suprimir ni



favorecer su desarrollo. En microbiología, se utilizan varios diluyentes, pero habitualmente se usan los siguientes: Agua de Triptona con Sal, Solución de Ringer $\frac{1}{4}$ y/o Agua de Peptonada Tamponada. El diluyente utilizado para la solución madre se suele emplear posteriormente, para efectuar las diluciones decimales.

3.2. Determinación de aerobios mesófilos

Realice inicialmente los cálculos de diluciones decimales iguales a 10-1, 10-2 y 10-3, siguiendo las indicaciones de la guía y las indicaciones del tutor.

Realice el proceso de dilución utilizando la muestra problema y el diluyente apropiado, guiándose por los cálculos realizados anteriormente. Recuerde utilizar solo material estéril en el procedimiento.

Con las tres diluciones preparadas, proceda a inocular diferentes cajas Petri vacías y con agar SPC (siembra en profundidad y en superficie).

Para la siembra en profundidad: De la dilución 10-1, tome con una pipeta estéril de 1mL de capacidad, 1mL y colóquelo en una caja de Petri estéril; repita este procedimiento en otra caja (cada dilución tendrá un duplicado), y de igual forma para las dos siguientes diluciones.

Cuando haya sembrado todas las cajas (seis cajas en total), proceda a verter agar Standard Plate Count – SPC (Agar para conteo estándar), fundido y mantenido a 45°C aproximadamente. Homogenice cada caja, realizando movimientos circulares y en ocho, hasta que el agar inicie su polimerización.

Para la siembra en superficie: De la dilución 10-1, tome con una pipeta estéril de 0,1mL de capacidad, 0,1mL y colóquelo en la superficie de una placa de agar SPC y con asa de vidrio, inmediatamente homogenice el inóculo por toda la superficie del agar; repita este procedimiento en otra caja (cada dilución tendrá un duplicado), y de igual forma para las dos siguientes diluciones.

Recuerde que en la técnica en superficie, debe utilizar 0.1mL de la dilución y en la técnica en profundidad 1 mL.

Incube invertidas las cajas a $37\pm 2^\circ\text{C}$. Revise las cajas a las 24 horas de incubación y realice un recuento de las colonias visibles; incube nuevamente y revise a las 48h, realice el recuento (Estas temperaturas y tiempos se aplican para el análisis de bacterias aerobias mesófilas). Para el recuento de Mohos y Levaduras, aplique la misma técnica (profundidad y superficie), e incube invertidas las

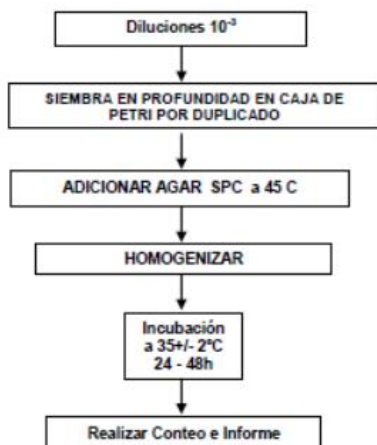


cajas a 25°C por 3 a 5 días (al igual que en el recuento de bacterias aerobias mesófilas, realice conteos a los 3 y posteriormente a los 5 días de incubación).

Con los datos obtenidos en los recuentos, proceda a realizar los cálculos, de acuerdo a los volúmenes utilizados en la siembra y al factor de dilución de cada pareja de cajas.

Reporte correctamente sus resultados del conteo de viables en UFC, por gramo o mililitro, de acuerdo a la naturaleza de la muestra analizada.

PROTOCOLO PARA DETERMINACIÓN DE Aerobios Mesófilos



Fuente: NTC

BIBLIOGRAFÍA

DECRETO 616 DE 2006

DECRETO 1880 del 2011

NTC

ROJAS TRIVIÑO





UNIPAZ
INSTITUTO UNIVERSITARIO DE LA PAZ