

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE “MEDICINA VETERINARIA”**



**“DETERMINACIÓN DE RELACIÓN ENTRE LA
VISCOSIDAD DE LA LECHE FLUIDA DE VACA Y LAS
PRUEBAS DE REDUCTASA Y RECuento BACTERIANO
EN PLACA”**

LIGIA MERCEDES JACOBO DUBÓN

Médica Veterinaria

GUATEMALA, ABRIL DE 2013

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE “MEDICINA VETERINARIA”**



**““DETERMINACIÓN DE RELACIÓN ENTRE LA
VISCOSIDAD DE LA LECHE FLUIDA DE VACA Y LAS
PRUEBAS DE REDUCTASA Y RECuento BACTERIANO
EN PLACA”**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

**PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
POR**

LIGIA MERCEDES JACOBO DUBÓN

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, ABRIL DE 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	MSc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M. V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
VOCAL I:	Lic. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	M. V. MSc Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M. V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Mercedes de los Ángeles Marroquín Godoy
VOCAL V:	Br. Jean Paul Rivera Bustamante

ASESORES

M. V. Luis Alfonso Morales Rodríguez
M. V. Julia Virginia Bolaños Santiago de Corzo
M. V. MSc Jaime Rolando Méndez Sosa

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

“DETERMINACIÓN DE RELACIÓN ENTRE LA VISCOSIDAD DE LA LECHE FLUIDA DE VACA Y LAS PRUEBAS DE REDUCTASA Y RECuento BACTERIANO EN PLACA.”

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICA VETERINARIA

DEDICATORIAS

A DIOS: Por ser mi guía en este camino recorrido, por su bendición y misericordia que ha permitido que este día sea una realidad.

A MIS PADRES: Por su apoyo incondicional tanto económico como moral durante toda mi carrera, y por sus sabios consejos cuando más los necesité.

A MIS HERMANOS: Por haber estado siempre al pendiente de mi en los momentos difíciles y apoyándome hasta el día de hoy.

A MI FAMILIA: Por quererme incondicionalmente y haber estado conmigo en los buenos y malos momentos.

A MIS AMIGOS: Por todo el tiempo que pasamos juntos en este largo trayecto, por los buenos y malos momentos que simplemente han fortalecido nuestra amistad. Por haberme ayudado, aconsejado y presionado para poder cumplir mi sueño.

AGRADECIMIENTOS

A Dios: por haberme permitido terminar este ciclo de mi vida y compartirlo con todas las personas que quiero.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala: Por el aprendizaje adquirido y prepararme para mi futura vida profesional.

A mis catedráticos: por todos los conocimientos compartidos para ser profesionales exitosos y poder terminar esta etapa.

A mis asesores: M.V: Luis Morales, M.V. Jaime Méndez y M.V. Virginia de Corzo por darme su incondicional apoyo en este trabajo y sobre todo por su paciencia y amistad.

Al personal del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia: por su colaboración y tiempo brindado, especialmente a Martín por su paciencia en cada duda surgida y por cada día trabajado en el laboratorio para poder terminar este trabajo.

Al personal de Departamento de Salud Pública: Por la colaboración brindada y sobre todo a Edgar Gaitán por haber estado siempre dispuesto a brindarme su colaboración y amistad.

A todas las personas y amigos: gracias por haber estado conmigo directa o indirectamente para poder terminar este trabajo.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS.....	3
III. OBJETIVOS.....	4
3.1 Objetivo General	4
3.2 Objetivos Específicos.....	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1 Leche: valor nutricional	5
4.1.1 Proteína.....	5
4.1.2 Grasa	6
4.1.3 Hidratos de carbono.....	6
4.1.4 Minerales.....	6
4.1.5 Vitaminas	7
4.2 Leches de consumo	7
4.3 Viscosidad de la leche	7
4.3.1 Producción de sustancias viscosas	7
4.3.2 Producción de viscosidad en medio neutro o poco ácido.....	8
4.3.3 Producción de viscosidad en medio ácido.....	9
4.4 Viscosímetros.	9
4.4.1 Viscosímetro de lectura dial.	10
4.5 Pruebas de calidad de la leche.....	11
4.5.1 Valoración del desarrollo de la leche.....	12
4.5.2 Métodos indirectos	13
4.5.3 El método de reductasa (reducción con azul de metileno)	13
4.5.4 Recuento bacteriano	14
V. MATERIALES Y MÉTODOS	15
5.1 Área de Estudio	15
5.2 Recursos humanos.....	15
5.3 Materiales y equipo	15
5.3.1 Materiales.....	15
5.3.2 Cristalería.....	15
5.3.3 Equipo.....	16

5.3.4 Reactivos	16
5.4 Métodos	16
5.5 Análisis estadístico.....	18
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
VII. CONCLUSIONES	22
VIII. RECOMENDACIONES.....	23
IX. RESUMEN.....	24
SUMMARY.....	25
X. BIBLIOGRAFÍA.....	26
XI. ANEXOS.....	28

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de prueba de viscosidad.....	29
Tabla 2. Resultados de prueba de recuento bacteriano en placa.....	29
Tabla 3. Resultados de prueba de reductasa.....	29

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1: Relación entre viscosidad y unidades formadoras de colonia en leche fluida de vaca.....	30
GRÁFICA 2: Relación entre viscosidad y prueba de reductasa en leche fluida de vaca.....	31

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, las demandas de los consumidores por adquirir alimentos de buena calidad que no comprometan su salud, obligan a los pequeños productores a verse en la necesidad de mejorar sus técnicas de control de calidad para los productos que distribuyen, siempre y cuando sus costos no se vean afectados de gran manera.

Los productos derivados de la leche tales como crema, mantequilla, quesos de distintos tipos, tienen muy buena aceptación en el mercado guatemalteco de tal forma que su expendio se realiza en toda la república. Esto cobra importancia pues su calidad depende en parte de la inocuidad de la leche fluida que se utiliza como materia prima, para la elaboración de estos sub productos.

Para determinar la calidad físico química y bacteriológica de la leche fluida, debe someterse a pruebas de plataforma y de laboratorio. Entre las de uso más frecuente y confiables en laboratorio, se encuentran la prueba de reductasa y el recuento bacteriano en placa. Ambas pruebas tienen un costo considerable para el productor, el cual se aumenta debido a que únicamente puede realizarse en laboratorios especializados y al tiempo destinado en la obtención de resultados, lo que impide que se realicen periódicamente. Por otro lado, se encuentra la prueba de viscosidad que según la literatura se encuentra relacionada con la carga bacteriana y que al contrario de las anteriormente mencionadas, proporciona resultados en corto tiempo y su costo es más económico.

Es por ello, que con éste estudio se pretende establecer una prueba alterna de referencia, relacionando los resultados de la prueba de reductasa y el recuento bacteriano, con la viscosidad de la leche. Dicha prueba pretendería determinar la calidad de la leche de una forma rápida y precisa, para garantizar a los

productores y procesadores de productos lácteos, la certeza de utilizar leche como materia prima de muy buena calidad.

II. HIPÓTESIS

- No existe relación entre la viscosidad de la leche y recuento bacteriano en placa.
- No existe relación entre la viscosidad y la prueba de reductasa.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL:

Generar información para la determinación de la calidad de la leche.

3.2 ESPECÍFICOS:

- Determinar si existe relación entre la viscosidad de la leche fluida de vaca y la prueba de reductasa.
- Determinar si existe relación entre la viscosidad de la leche fluida de vaca y el recuento bacteriano en placa.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Leche: valor nutricional

La leche es una mezcla de proteínas, grasas, carbohidratos, sales y otros componentes menores dispersos en agua (90%) como emulsiones, suspensiones coloidales y soluciones. En estado de disolución se encuentra la lactosa, vitaminas hidrosolubles y sales, total o parcialmente ionizadas y constituyen una fase estable.

En el suero lácteo se encuentran también proteínas, seroproteínas y bajas proporciones de caseínas solubles. Los glóbulos de grasa se encuentran rodeados de una membrana lipoprotéica que los mantiene en emulsión.

La composición de la leche puede variar por un conjunto de factores genéticos y ambientales así como contaminación microbiológica y química (Hernández, M. et al 1999).

4.1.1 Proteína

La proteína de la leche tiene un alto valor biológico y esta formada por caseínas (aproximadamente 80%) y por las proteínas del suero (aproximadamente 20%). Las caseínas aparecen en formas de micelas formadas por complejos macromoleculares de fosfoproteínas y glicoproteínas en suspensión coloidal. Las proteínas del suero son proteínas solubles, principalmente albuminas y globulinas. Las proteínas lácteas ejercen un importante papel de complementariedad con las proteínas de otros alimentos (Aranceta, J. 2005).

4.1.2 Grasa

Se encuentra junto con las vitaminas liposolubles en forma de emulsión. Cada glóbulo de grasa esta rodeado por una doble membrana de fosfolipidos y colesterol, que contribuyen a la estabilización de la emulsión.

En comparación con otros alimentos, la grasa de la leche presenta un contenido relativamente elevado en ácidos grasos de cadena corta y media, cuya absorción es rápida (Aranceta, J. 2005).

Por otra parte, la grasa de la leche es un vehículo óptimo de sustancias liposolubles como las vitaminas A, D, y E. en función del contenido en grasa, todos los tipos de leche se pueden presentar en tres categorías: leche entera, semidesnatada y desnatada (Aranceta, J. 2005).

4.1.3 Hidratos de carbono

La lactosa es junto con el agua, el principal componente de la leche y proporciona el 25% de la energía total del alimento. En el intestino, su absorción e hidrólisis se realizan de forma lenta, por lo que tiene un importante efecto saciante.

También están presentes otros azúcares en pequeñas cantidades como glucosa, galactosa, aminoazúcares y azúcares fosforilados. (Aranceta, J. 2005).

4.1.4 Minerales

La leche tiene un alto contenido en calcio, cuya absorción se ve favorecida por la presencia de lactosa, vitamina D y una adecuada proporción calcio/fósforo. La digestibilidad del calcio y del fósforo es bastante alta en la leche debido a que se encuentran conjuntamente con la caseína.

Debido a la baja concentración de hierro, la leche no es una buena fuente de este mineral. Sin embargo, contiene potasio y fósforo, así como magnesio y zinc en cantidades considerables (Aranceta, J. 2005).

4.1.5 Vitaminas

El contenido de vitaminas es destacable en vitamina A, tanto en forma de retinol como de carotenos, riboflavina, cialocobalamina y niacina. En cantidades menores, también aporta tiamina, piridoxina y ácido fólico.

En las leches semidesnatadas y desnatadas, el contenido en vitaminas liposolubles se ve reducido e incluso puede desaparecer, por lo que es frecuente que este tipo de leches sean enriquecidas en dichas vitaminas (Aranceta, J. 2005).

4.2 Leches de consumo

Para garantizar la seguridad higiénico-sanitaria de la leche, así como la calidad de conservación, se somete a distintos tratamientos térmicos que mediatizan la vida comercial de los productos y el tiempo de almacenamiento. Se distinguen fundamentalmente dos tipos de leche, pasteurizada y esterilizada. En la pasteurización se suelen utilizar temperaturas de 72-75 °C, durante 15 a 30 segundos. Para un efecto esterilizador se usan altas temperaturas en tiempos cortos y así ocasionar menos alteraciones en las características físico-químicas (Hernández, M. et al. 1999).

4.3 Viscosidad de la leche

La viscosidad de un líquido es su resistencia a fluir debido a la fricción entre las partículas que lo componen. En la leche, es función del número y tamaño de sus partículas y también de la temperatura. Sobre este parámetro influyen principalmente las proteínas y la materia grasa; el efecto de la lactosa y de las sales es menos importante (Amiot, J. 1991).

La viscosidad disminuye con el aumento de la temperatura; depende así mismo de la presión; en un líquido newtoniano, la velocidad de flujo es proporcional a la presión; la leche normal se comporta de esta forma pero no ocurre lo mismo con la nata espesada, la leche concentrada, la nata helada, que no son sustancias newtonianas.

La viscosidad se mide fácilmente por el tiempo de flujo en un capilar (pipeta de Ostwald) o por el tiempo de caída de una pequeña bola en una columna (viscosímetro de Hoppler). Cuando se desea mayor precisión están indicados los viscosímetros de rotación y de cilindros coaxiales (tipo Couette o Brookfield) (Alais, 1985).

La viscosidad aumenta con la disminución de la temperatura, el incremento del contenido graso, la homogenización, la fermentación, envejecimiento y altas temperaturas seguidas de enfriamiento (Revilla, A. 1982).

Toda modificación o alteración que actúe sobre la grasa o las proteínas, tendrá un efecto sobre la viscosidad:

- La homogenización eleva la viscosidad de la leche;
- Los factores que producen variaciones en el estado de hidratación de las proteínas (variación del agua ligada) también son causa de cambios en la viscosidad.
- La contaminación de ciertas bacterias aumenta la viscosidad de la leche, especialmente los estreptococos lácticos de la llamada "*leche filante*" (Alais, C. 1981).

4.3.1 Producción de sustancias viscosas

Existen varios tipos de microorganismos que al desarrollarse en la leche o en los productos lácteos son capaces de realizar gracias a la actividad de una transferasa, la síntesis de polisacáridos, mediante la condensación de uno o dos

restos de las monosas que constituyen la lactosa. Otros microorganismos pueden producir moléculas glúcido-nitrogenadas: las mucinas. Todas estas sustancias se incluyen en el grupo de los hidrocoloides gelificantes.

El resultado de esta actividad (que se ha denominado “fermentación viscosa”) cuando es paralela a la fermentación láctica, es el aumento de la viscosidad. La leche se vuelve filante y se vierte del mismo modo que un jarabe, pudiendo formarse masas viscosas parecidas a una gelatina. Los gérmenes causantes son inofensivos, pero en el caso de la leche de consumo, la viscosidad producida constituye un defecto. (Alais, C. 1985).

4.3.2 Producción de viscosidad en medio neutro o poco ácido

Los microorganismos causantes suelen encontrarse en las leches crudas. En general, la viscosidad no aumenta si se desarrolla al mismo tiempo una fermentación ácida (Alais, C. 1981).

Alcaligenes viscosus es la bacteria más común que necesita la presencia de aire y no se desarrolla manifiestamente más que en la capa cremosa superficial, por lo que las capas de leche inferiores no son viscosas. Vive bien a 10⁰ C y a 37⁰C, casi no produce materia viscosa. Este organismo está fuertemente encapsulado; en los cultivos viejos las células se reúnen en una masa gelatinosa (Alais, C. 1981).

Entre las bacterias diversas figura *Aerobacter aerogenes* y algunos micrococcos, especialmente *Staphylococcus cremoris-viscosi* (Alais, C. 1981).

4.3.3 Producción de viscosidad en medio ácido

La producción de viscosidad va frecuentemente asociada a la fermentación láctica, sobre todo por *Streptococcus lactis* var. *hollandicus*, *Lactobacillus bulgaricus* y *L. casei*. Su característica es muy inconstante, sin embargo, cuando

se aísla una cepa productora de viscosidad en condiciones bien determinadas de temperatura, la propiedad persiste si las condiciones se mantienen. Cuando la acidez aumenta considerablemente, la viscosidad disminuye (Alais, C. 1981).

Existen microorganismos que al desarrollarse aumentan la viscosidad, debido a producción de gomas (polisacáridos, galactanos) y mucinas (sustancias glúcido-nitrogenadas). Es perjudicial en leches de consumo, por otra parte el aumento en viscosidad se busca para productos como yogurt y cremas (Amiot, J. 1991).

Algunas cepas bacterianas de los géneros *Alcaligenes* y *Enterobacter* dan al producto una apariencia viscosa. Este fenómeno se observa principalmente a bajas temperaturas (Amiot, J. 1991).

Las bacterias lácticas de los géneros *Micrococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacillus* mejoran la viscosidad en productos como el yogurt, si se cultivan a temperaturas ligeramente inferiores a las óptimas (Amiot, J. 1991).

4.4 Viscosímetros

Instrumentos de medición y control de viscosidad, indispensables en el control de calidad de innumerables productos. Algunos viscosímetros utilizan el conocido principio de la viscosimetría rotacional; miden la viscosidad captando el par de torsión necesario para hacer girar a velocidad constante un husillo inmerso en la muestra de fluido. El par de torsión es proporcional a la resistencia viscosa sobre el eje sumergido, y en consecuencia, a la viscosidad del fluido.

- Son de fácil manejo e instalación, sin necesidad de un alto grado de conocimientos operativos.
- De gran versatilidad, cuentan con una amplia gama de viscosidades (LABEQUIM, S.A. 2005).

4.4.1 Viscosímetro de lectura dial

Instrumento de medida robusto. Las lecturas pueden transformarse en unidades centipoise (cps) mediante una tabla de conversión. Se pueden realizar determinaciones reproducibles de viscosidad en 30 segundos. Ahora con nuevo diseño con impulso electrónico que elimina el mecanismo de transmisión de inducción sistemática. Además al tener menor movimiento de partes, proporciona una segura operación silenciosa (LABEQUIM, S.A. 2005).

4.5 Pruebas de calidad de la leche

La calidad de la leche se relaciona con varios conceptos y en general se relaciona a los siguientes aspectos:

- La riqueza de la leche en sus diferentes componentes. Se puede admitir, desde un punto de vista general, que cuanto más rica es la leche en materias grasas, materias nitrogenadas, vitaminas, etc., mejor será la calidad química, llamada así para diferenciarla de la calidad bacteriológica (Alais, C. 1981).
- La calidad bacteriológica, que está en relación directa con el número y la naturaleza de los microorganismos presentes en la leche en un momento dado (Alais, C. 1981).

Existen relaciones entre la calidad bacteriológica y la composición de la leche. La proliferación de las bacterias se acompaña de modificaciones del medio, siendo la más importante, la descomposición de la lactosa con formación de ácido. Esta modificación es el principal factor en la reducción de la calidad técnica; es el aspecto más significativo, en general, para el industrial transformador de leche (Alais, C. 1981).

4.5.1 Valoración del desarrollo de la leche

Para valorar el crecimiento de microorganismos en la leche se pueden utilizar diversas técnicas. El método más simple es el recuento microscópico directo (DMC). Aunque este método no distingue entre las bacterias muertas y las vivas, tiene la ventaja que permite la identificación de las especies presentes.

Es un hecho bien conocido que la cantidad de oxígeno consumido en la leche guarda una estrecha correlación con el número de bacterias presentes. Las pruebas del azul de metileno y de la resarzurina, se basan en este principio y se aplican para la detección de leches con un elevado contenido microbiano. Estas pruebas son menos sensibles para las leches con menor población de microorganismos debido a la presencia de leucocitos, que también consumen oxígeno y pueden falsear los resultados.

Las técnicas oficiales para calcular el número de microorganismos en la leche y productos lácteos, consisten en su cultivo sobre agar y el recuento de las colonias después de la incubación. Sin embargo, este método subestima siempre el número de células, ya que una cadena compuesta por muchas células de estreptococos o de lactobacilos origina una sola colonia. Además, hay que tener en cuenta que las células que han sufrido alguna lesión (calor, radiación, shock osmótico), sobreviven con dificultad y casi nunca forman colonias.

La detención del desarrollo de las bacterias en la leche, en general, no se debe a la falta de nutrientes, sino principalmente a la acumulación de ácido láctico, que es una sustancia inhibidora (Amiot, J. 1991).

Existen numerosos y diversos métodos para apreciar la calidad bacteriológica de la leche. Los más precisos y significativos son aquellos que permiten la enumeración de las bacterias pero también son los más delicados y

más largos; además, no pueden realizarse más que en laboratorios bien equipados (Alais, C. 1981).

4.5.2 Métodos indirectos

Las características que se analizan en primera instancia son: color, sabor y olor; se mide la cantidad de leche a despachar y la temperatura que debe ser de menos de 5°C; se mide la acidez y la densidad, con el fin de detectar la adulteración de la leche con agua (Cabrera V., M. et al 2006).

Para tomar una muestra de leche se necesita un frasco con su respectiva etiqueta y un termo, el cual se lleva al laboratorio donde hacen un examen mas detallado de su composición de sólidos totales, proteína y grasa, se hace un recuento de unidades formadoras de colonias y se realiza también la prueba de reductasa (Cabrera V., M. et al 2006).

4.5.3 El Método de Reductasa (reducción con azul de metileno).

Este método, esta basado en el hecho que el color impartido a la leche mediante una pequeña cantidad de azul de metileno, desaparecerá mas o menos rápidamente, dependiendo casi por completo del número de bacterias que se encuentren en ella. Con la prueba de la reductasa se estima la cantidad de microorganismos ino cuos o patógenos que hay en un mililitro de leche (Infoleche. 2007).

El valor del método consiste en probar la calidad de una gran cantidad de muestras de leche en un tiempo relativamente corto y con muy poco equipo. Debido a que es exacta, la prueba de reductasa se utiliza por las compañías lecheras y los funcionarios de control para mejorar un abasto de leche relativamente malo (Infoleche. 2007). Para explicar esta reacción es necesario hacer las siguientes consideraciones:

- El colorante azul de metileno es un indicador de oxido-reducción, es azul cuando está oxidado e incoloro cuando está reducido.
- Varias especies de bacterias tienen la capacidad de secuestrar el oxígeno presente en el medio y por lo tanto generar la reducción del azul de metileno con la consecuente pérdida del tono azul.
- Básicamente la velocidad con la que se reduce el azul de metileno depende del número de microorganismos que tienen el efecto reductor, es decir que a mayor número de bacterias con esa propiedad, menor será el tiempo necesario para que se produzca el cambio de color en el tubo (Infoleche. 2007).

4.5.4 Recuento bacteriano

El crecimiento de muchos tipos de bacterias puede reducirse o detenerse mediante la refrigeración y la congelación, dos importantes prácticas en la preservación de los alimentos, incluyendo la leche. Sin embargo, la refrigeración por si sola no mata la mayor parte de las bacterias y no detiene totalmente el crecimiento de numerosas colonias de las mismas; por ello, a temperaturas normales de refrigeración, la leche se agria con el tiempo (Hazard, T.1997).

Varias metodologías se usan para evaluar el contenido de bacterias en la leche. La más común es la llamada Recuento en Placas Estándar. Con esta técnica una cantidad conocida de leche es incubada durante 48 horas a 37°C, contándose después el número de colonias existentes, asumiendo que cada colonia ha tenido su origen en una bacteria (Hazard T.1997).

La leche desde que sale de la ubre de la vaca es el mejor “caldo de cultivo” para la proliferación de microorganismos, los cuales son capaces de reproducirse a diferentes temperaturas. Por ello ésta debe ser almacenada rápidamente a 4°C (Hazard T.1997).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de estudio:

El estudio lo realicé en muestras de leche cruda en una Cooperativa, ubicada en el km. 53 carretera a Mataquescuintla. Ésta recolecta la leche de las fincas, por medio de un vehículo lechero y la transporta en burúlas de plástico (son pocas las fincas que trabajan con botes de aluminio).

Al llegar a la cooperativa la leche es analizada con un ecomilk, que mide la cantidad de agua, sólidos totales, materia grasa y proteína. Se realiza la prueba de alcohol y es pasada por un colador, luego a un banco de hielo, para posteriormente ser almacenada a los tanques milk keeper a 4 grados centígrados.

5.2 Recursos Humanos:

- Tesista
- Asesores
- Colaboradores de los laboratorios donde se realizó la fase experimental.

5.3 Materiales y equipo:

5.3.1 Materiales

- Placas de petri estériles de 90 mm
- Gradillas de metal
- Pipetas automáticas
- Puntas
- Asas estériles desechables

5.3.2 Cristalería

- Pipetas de vidrio estériles de 1 ml
- Pipetas de vidrio estériles de 10 ml

- Tubos de ensayo con tapón
- Beaker
- Termómetro

5.3.3 Equipo

- Incubadora a 37 grados centígrados.
- Viscosímetro rotacional
- Agitador vortex
- Contador de colonias de Quebec
- Baño maría

5.3.4 Reactivos:

- Medio de cultivo Plate count
- Agua destilada
- Solución de Tiocianato de Azul de metileno

5.4 Métodos

Fase 1: Toma de muestra

- Trabajé un total de 50 muestras de leche entera fluida.
- Tomé las muestras de las burúlas que los recolectores llevan a la Cooperativa.
- Transporté las muestras debidamente conservadas con hielo para procesarlas inmediatamente en los laboratorios correspondientes.
- La prueba de recuento bacteriano en placa en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y las pruebas de viscosidad y reductasa en el Departamento de Salud Pública.

Fase 2: Análisis microbiológico (recuento bacteriano en placa)

El recuento bacteriano en placa lo realicé en el Laboratorio de Microbiología

de la Facultad de Medicina Veterinaria bajo los siguientes parámetros:

-Preparación de diluciones decimales:

- En una serie de tubos de ensayo se miden 9 ml de solución fisiológica.
- En el primer tubo se coloca 1 ml de la muestra, se debe mezclar y rotular (10^1 ó 1/10).
- Se toma 1 ml de la dilución 10^1 y se agrega al segundo tubo, mezclar y rotular (10^2 ó 1/100).
- Se continúa con el mismo procedimiento para los tubos restantes.
- Se siembran las placas a partir de dichas diluciones tomando un inóculo de 1 ml, se coloca sobre la superficie de agar y se homogeniza con un asa descartable.
- Se espera de 15 a 20 minutos para que se absorba el inóculo.
- Se incuba a 37°C durante 24 horas.

-Recuento:

- Se seleccionan las placas con crecimiento de colonias bacterianas.
- Se cuenta el número de colonias multiplicándolo por el factor de dilución correspondiente.
- Realizar un promedio de acuerdo al número de placas utilizadas. El resultado se expresa como UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS UFC/ml.

Fase 3: Análisis de viscosidad

Esta fase la trabajé en el laboratorio de Salud Pública de la FMVZ.

Tomé cada una de las muestras de leche en un beaker y controlé la temperatura de la preparación a $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Bajé lentamente el rotor número 1, que debe estar bien sujeto al viscosímetro, hasta que quede muy cerca del centro de la superficie de la muestra sumergiéndolo a la profundidad adecuada. Después se corre lenta-

mente el recipiente en un plano horizontal hasta que la aguja esté localizada en el centro del recipiente para que la prueba se efectúe en una zona sin turbulencias.

Realicé la prueba con el viscosímetro a 60 rpm anotando la lectura y dejando el viscosímetro en reposo por un momento. El valor se ingresa a una tabla para determinar la constante que será aplicada a la fórmula establecida obteniendo la viscosidad.

Fase 4: Prueba de reductasa

La trabajé en el Laboratorio de Salud Pública de la FMVZ. La prueba de reductasa se inicia con el procedimiento que se usa para su montaje:

- Identificar los tubos adecuadamente.
- Poner 10 ml de la muestra de leche.
- Agregar 1 ml de solución de Tiocianato de azul de metileno en cada tubo.
- Colocar los tubos en el baño de María.
- Anotar la hora en la que se inicia la incubación.
- Verificar muestras cada hora y anotar la hora en la que pierde su coloración.

Al momento de agregar el azul de metileno la mezcla se torna azul. Inicé el control del tiempo con lecturas cada 30 minutos y al mismo tiempo realizaba un chequeo en los tubos, al haber cambio de color (de color azul a blanco), determinaba el tiempo que demoró este cambio y lo expresaba en horas o fracción de media. (Infoleche. 2007).

5.4 Análisis estadístico

El análisis de regresión lineal suele utilizarse para ver si existe relación entre una variable dependiente y varias independientes. Es por ello que es la opción indicada para este estudio.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la medida de viscosidad el parámetro establecido es de 1.7 - 2.2 grados centipoise (Alais, 1981). Se presume que el aumento de la viscosidad podría indicar la presencia de un alto contenido bacteriano entre otros factores causantes de la misma. El promedio para las muestras fue de 4 grados centipoise mostrando una moderada elevación (cuadro No. 1).

El Acuerdo Gubernativo 147-2002, DONDE SE ESTABLECEN NORMAS PARA LA INOCUIDAD, PASTEURIZACIÓN Y REHIDRATACIÓN DE LA LECHE, COMERCIALIZACIÓN DE LOS PRODUCTOS LACTEOS, SU EMPAQUE Y ETIQUETADO, ASÍ COMO LAS CONTRAVENCIONES Y SANCIONES POR SU INCUMPLIMIENTO menciona en el artículo 7 inciso b (calidad higiénica) el tipo de leche según la siguiente escala de análisis microbiológico:

- Leche grado "A" menor a 400,000 (UFC/ml)
- Leche grado "B" mayor de 400,000 y menor de 1,000,000 (UFC/ml)
- Leche grado "C" mayor de 1,000,000 y menor de 3,000,000 (UFC/ml)
- Leche grado "D" mayor de 3,000,000 (UFC/ml)

(MAGA,2002).

Categoría	No. de muestras	Porcentaje (%)
A	28	56%
B	10	20%
C	10	20%
D	2	4%
Total	50	100%

Con respecto a los resultados de los análisis microbiológicos, todas las muestras presentaron en promedio una contaminación de 2×10^6 UFC/ml (cuadro No. 2), encontrándose en las categorías C (más de 1×10^6 UFC/ml) y catalogándolas como leches de alta contaminación. Sin embargo, 28 muestras se encuentran en la categoría A y 10 en la categoría B, haciendo un total del 76%,

que son aceptables para el consumo; 10 muestras que corresponden al 20% y 2 al 4% que son las de más alta contaminación.

En cuanto a los análisis fisicoquímicos, la prueba de Reductasa presentó un promedio de 3.5 horas TRAM (cuadro No.3).Dicho resultado cataloga las muestras en la categoría de regular y con una alta contaminación (Alais. 1981). Las muestras fueron de mala calidad en un 54% y con parámetros aceptables en un 46%.

Categoría	No. de muestras	Porcentaje
Mala	1	2%
Pobre	6	12%
Regular	20	40%
Buena	9	18%
Muy buena	14	28%
Excelente	--	--
Total	50	100%

Es evidente que 23 muestras son aceptables en la prueba de reductasa pero manifestaron un alto conteo de unidades formadoras de colonias y sobre todo en cuanto a la prueba de viscosidad el resultado es variable y poco confiable. La viscosidad se vuelve una prueba de poco valor ante estos resultados y sobre todo debido a que su valor se mantuvo similar en muchas muestras cuyos valores de reductasa y recuento indicaban altas cantidades de contaminación.

Ahora bien el alto contenido de UFC/ml puede deberse a que cuando las colonias bacterianas crecen indiscriminadamente en leche, cambian el pH de la misma, lo que provoca la muerte de los microorganismos con mayor actividad de oxido reducción (*Lactococcus lactis*), subsistiendo algunas especies que son muy poco activas tales como (*Streptococcus agalactiae*, *Bacillus subtilis*) lo cual es congruente con estudios similares realizados en la Universidad de Zulia (2003).

Luego de realizado el análisis de regresión lineal se confirma que no existe relación entre la viscosidad de la leche fluida y las pruebas de recuento bacteriano en placa (gráfica no.1) y prueba de reductasa (gráfica No. 2), ya que los coeficientes de regresión son de 0.25 (viscosidad y recuento) y 0.11 (viscosidad y reductasa) respectivamente. Por lo tanto a pesar de ser la viscosidad un factor que determina presencia de ciertas bacterias en leche, no puede ser utilizada como una prueba para determinar si existe contaminación.

A su vez se confirmó que el recuento bacteriano en placa es la prueba más certera y confiable al momento de determinar el grado de contaminación bacteriana en la leche fluida.

VII CONCLUSIONES

1. No existe relación entre la viscosidad de la leche fluida de vaca y la prueba de recuento bacteriano en placa ya que el coeficiente de regresión es de 0.25.
2. No existe relación entre la viscosidad de la leche fluida de vaca y la prueba de reductasa ya que el coeficiente de regresión es de 0.11.
3. No existe relación entre las pruebas realizadas (recuento bacteriano, prueba de reductasa y viscosidad de la leche). Al no existir relación entre éstas, se concluye que la viscosidad no está influida por la cantidad de bacterias presentes en las muestras de leche fluida analizadas, ya que la viscosidad siempre se mantuvo entre los parámetros normales independientemente de la cantidad de bacterias presentes en la prueba de reductasa y recuento bacteriano en placa.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Someter las muestras de leche fluida a las distintas pruebas físico-químicas evitando con ello tomar como referencia el resultado de una sola prueba.
2. Que las cooperativas y empresas consideren el recuento bacteriano en placa como la prueba más confiable para determinar la población bacteriana de la leche.
3. Debido a que el principio de la prueba de reductasa es medir únicamente el proceso de oxidación-reducción, no debe considerarse como única prueba para evaluar la calidad microbiológica de la leche.
4. Realizar otros estudios para evaluar la efectividad de la prueba de viscosidad en subproductos lácteos o productos que necesiten un grado de viscosidad alto, para su industrialización o como parámetro de calidad.
5. Tomando en cuenta la poca exactitud del viscosímetro utilizado, se recomienda el uso de nuevos y más sofisticados viscosímetros digitales para realizar estudios similares.

IX. RESUMEN

El presente trabajo fue realizado en la Cooperativa Integral de Producción de Productos Lácteos R.L., ubicada en la aldea el Zapote en el km. 53 carretera a Mataquescuintla. Se obtuvieron 50 muestras de leche cruda para evaluar la calidad de la misma, con tres pruebas distintas: viscosidad de la leche, la prueba de recuento bacteriano en placa y la prueba de reductasa.

El recuento bacteriano presentó un promedio de 2×10^6 UFC/ml, siendo esto una alta contaminación en las muestras.

La prueba de reductasa presentó un promedio de 3.5 horas TRAM mientras que de viscosidad fue de 4 grados centipoise.

Los resultados fueron variables con respecto a la de recuento bacteriano. La prueba de reductasa mostró en algunas muestras ser de buena calidad cuando en el recuento indicaba una alta cantidad de bacterias presentes, al igual que la viscosidad mostraba un mismo valor en diferentes muestras a pesar de tener diferencias elevadas entre ellas de unidades formadoras de colonias.

La prueba de viscosidad fue elevada para la mayoría de pruebas indicando un cambio en la viscosidad de la leche. Más sin embargo, también se encontraban muestras con baja viscosidad y alta cantidad de bacterias en el recuento bacteriano.

Este estudio indica que no hay relación alguna con estas pruebas en cuanto a la cantidad de bacterias que podrían afectar la calidad de la leche, ya que el coeficiente de regresión para viscosidad y recuento bacteriano fue de 0.25 y para viscosidad y reductasa fue de 0.11.

SUMMARY

The present study was done in the Cooperativa Integral de Producción de Productos Lácteos R.L., located in aldea el Zapote Zapote en el km. 53 carretera a Mataquescuintla. 50 samples of crude milk were collected to evaluate its quality, with three different tests: milk viscosity, plate count bacterial method and the test reductase.

The bacterial plate count presented an average of 2×10^6 CFU/ml, demonstrating a high level of contamination in the samples.

The reductase test presented an average of 3.5 hours Methylene blue reduction time, while de viscosity was of 4 grades centipoises.

The results differed from those of bacterial count. The reductase test had results of good quality in some samples when the same samples indicated a high level of bacterias in the bacterial count test. The same happened with viscosity showing a same value in different samples although they had differences between then in the bacterial plate count.

The viscosity test had high results in almost all samples indicating changes in milk viscosity. On the other hand there were samples with low results in viscosity and high amount of bacterias in the bacterial count.

This study indicates that there is no relation between the three tests as for the presence of bacterias that might affect the quality of milk, because the regression coefficient for viscosity and bacterial count was of 0.25 and for viscosity and reductase was of 0.11.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Alais, C. 1981. Ciencia de la leche, Principios de técnica lechera. México. Editorial Continental, S.A. 873 p.
2. Alais, C. 1985. Ciencia de la leche, Principios de técnica lechera. México. Editorial Reverté, S.A. 877 p.
3. Amiot, J.1991. Ciencia y Tecnología de la Leche. Zaragoza, ES, Acribia. Pg. 102.
4. Aranceta, J.; Serra, W. 2005. Leche, Lácteos y Salud. Madrid. Editorial Médica Panamericana S.A. 149 p.
5. Cabrera V, M; Villa M, J; Murillo M, G; Suárez G, L. s.f. 2006. Como obtener leche de buena calidad (en línea). Consultado 2 ene. 2009. Disponible en www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/2005113012633_CÓMO_OBTENER_LECHE_DE_BUENA_CALIDAD.pdf -
6. Determinación de características fisicoquímicas y microbiológicas en leche cruda, pasteurizada y UHT. s.f. (en línea). Consultado 8 ene. 2009. Disponible en www.geocities.com/jpardo16/pausteri.html - 29k -
7. Hazard T, S. 1997. Calidad de leche (en línea). Consultado 8 ene. 2009. Disponible en www.inia.cl/quilamapu/inproleche/articulosd/Calidad%20de%20leche.pdf
8. Hernández Rodríguez, M., et al. 1999. Tratado de Nutrición. Madrid. Ediciones Díaz de Santos, S.A. 1465 p.

9. Infoleche. 2007. Leche cruda: como se determina su calidad microbiológica (en línea). Consultado 2 ene. 2009. Disponible en www.infoleche.com/nota.php?ID=157 - 24k –
10. MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación GT). 2002. Acuerdo gubernativo No.147-2002 15 mayo 2002. Numero 14 s.p
11. Microbiología alimentaria: detección de bacterias con significado higiénico-sanitario. 1989. Ministerio de sanidad y consumo. Madrid, ES, Artes gráficas iberoamericanas S.A. 385 p.
12. Ministerio de Economía, GT. Comisión Guatemalteca de Normas. 1984. Leche y productos lácteos, toma de muestras. Guatemala, El Ministerio.1-9 p.
13. QuimiNet. 2008. Viscosímetros rotacionales (tipo Brookfield) (en línea). Consultado 21 ene. 2009. Disponible en www.quiminet.com.mx/pr8/Viscos%EDmetros%2Brotacionales%... - 114k –
14. Revilla, A. 1982. Tecnología de la leche, procesamiento, manufactura y análisis. San José, CR, CIDIA. 400p.

XI. ANEXOS

Tabla 1. Resultados Prueba de viscosidad

Sumatoria de Prueba de Viscosidad	196.2 grados centipoise
Promedio de Prueba de Viscosidad	4 grados centipoise

Tabla 2. Resultados Recuento Bacteriano en Placa

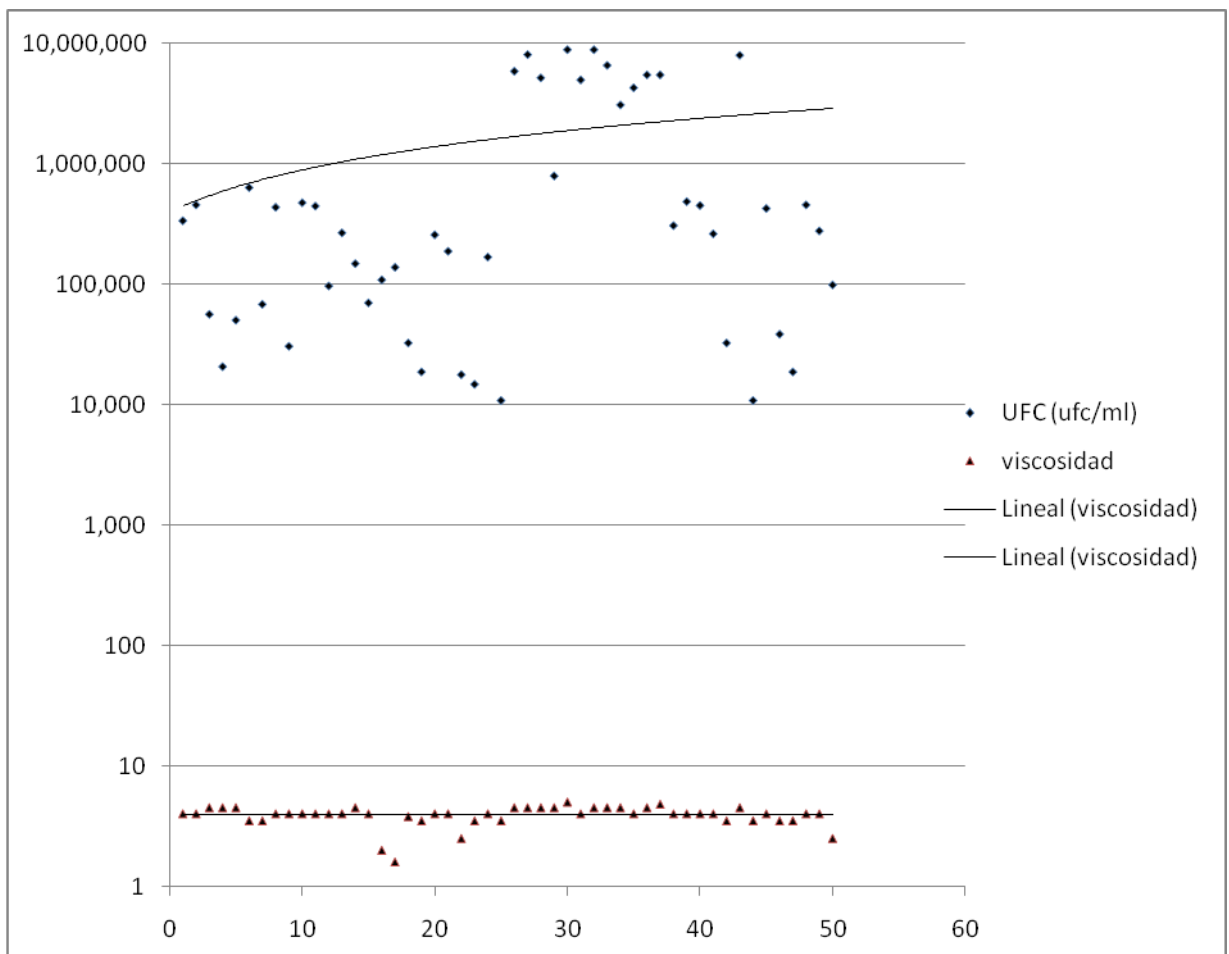
Sumatoria de UFC	83,286,000 UFC/ml
Promedio de UFC	1,665,720 UFC/ml ($2 \cdot 10^6$ UFC/ml)

Tabla 3. Resultados Prueba de Reductasa

Sumatoria Prueba de Reductasa	180.5 hrs. TRAM
Promedio Prueba de Reductasa	3.5 hrs. TRAM

GRÁFICA No. 1

RELACIÓN ENTRE VISCOSIDAD Y UNIDADES FORMADORAS DE COLONIA EN LECHE FLUIDA DE VACA



GRÁFICA No. 2

RELACIÓN ENTRE VISCOSIDAD Y PRUEBA DE REDUCTASA EN LECHE FLUIDA DE VACA

