

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

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE PASTEURIZACIÓN DE
LECHES FLUIDAS ENTERAS NACIONALES POR MEDIO DE LA
PRUEBA FOSFATASA ALCALINA, QUE SE DISTRIBUYEN EN LOS
EXPENDIOS DE LA CIUDAD DE GUATEMALA**

JESSICA MARIA PACAS DE BARRIOS

MEDICO VETERINARIO

GUATEMALA, MAYO DE 2003

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE PASTEURIZACION DE LECHEs FLUIDAS
ENTERAS NACIONALES POR MEDIO DE LA PRUEBA FOSFATASA
ALCALINA, QUE SE DISTRIBUYEN EN LOS EXPENDIOS DE LA CIUDAD DE
GUATEMALA.**

TESIS

Presentada a la honorable Junta directiva de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la
Universidad de San Carlos de Guatemala

POR

JESSICA MARIA PACAS DE BARRIOS

AL CONFERIRSELE EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO

GUATEMALA, MAYO 2003

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

DECANO:	Dr. MARIO E. LLERENA QUAN
SECRETARIO:	Dra. BEATRIZ SANTIZO
VOCAL PRIMERO:	Lic. CARLOS SAAVEDRA V.
VOCAL SEGUNDO:	Dr. FREDY R. GONZÁLEZ
VOCAL TERCERO:	Lic. EDUARDO SPIEGELER
VOCAL CUARTO:	Br. JUAN PABLO NÁJERA
VOCAL QUINTO:	Br. LUZ FRANCISCA GARCÍA

ASESORES:	Dr. WILLSON VALDEZ MELGAR
	Dr. JAIME ROLANDO MÉNDEZ
	Dra. VIRGINIA DE CORZO

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el presente trabajo de tesis titulado:

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE PASTEURIZACIÓN DE LECHES FLUIDAS ENTERAS NACIONALES POR MEDIO DE LA PRUEBA FOSFATASA ALCALINA, QUE SE DISTRIBUYEN EN LOS EXPENDIOS DE LA CIUDAD DE GUATEMALA.

COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE

MEDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

A DIOS:

A MI ESPOSO:

Cèsar Augusto Barrios Ralòn
Por su amor y apoyo.

A MIS PADRES:

Manuel Antonio Pacas E.
Gloria esperanza de Pacas

A MIS HERMANOS:

Wanda, Tony y Luis

A MIS ABUELITOS:

Carlitos (+), Mama Panchita,
Mama Rosita y Papameme (+)

A MIS SUEGROS:

Mario Barrios
Julieta de Barrios

A MIS CUÑADOS:

Mario Estuardo, Fabiola

Karsten, Leonore

Juan Carlos y Claudia

A MIS SOBRINOS:

Katherine, Nicolle,
Andreita, Carlitos, Maria Cristina,
Ana Lucia.

A MIS AMIGOS

AGRADECIMIENTOS

A mi esposo César Augusto por estar conmigo y apoyarme en todo momento y

Por su comprensión.

A mis padres por su apoyo y cariño.

A mi hermanos por su ayuda

A mis asesores

Al departamento de Salud Pública de Facultad de Medicina Veterinaria

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A todas las personas que colaboraron en la elaboración de esta Tesis

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	10
III.	OBJETIVOS	11
	3.1 OBJETIVO GENERAL:	11
	3.2 OBJETIVO ESPECIFICO:	11
IV.	REVISION DE LITERATURA	12
	4.1 LA LECHE	12
	4.1.2 COMPOSICION FÍSICOQUÍMICA DE LA LECHE	12
	4.1.2.1 EL AGUA	13
	4.1.2.2 LA GRASA	13
	4.1.2.3 LA PROTEINA	13
	4.1.2.4 LOS CARBOHIDRATOS	13
	4.1.2.5 MINERALES	14
	4.1.2.6 ENZIMAS	14
	4.1.2.7 VITAMINAS	15
	4.2 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LA LECHE	15
	4.3 PASTEURIZACIÓN	16
	4.3.1 HISTORIA	16
	4.3.2 DEFINICION	16
	4.3.3 OBJETIVO	16
	4.3.4 METODOS DE PASTEURIZACION	17
	4.3.4.1 LA PASTEURIZACIÓN BAJA (63 °C durante 30 minutos)	17
	4.3.4.2 LA PASTEURIZACIÓN ALTA Y RÁPIDA (72 °C durante 15 segundos)	18
	4.3.4.3 LA PASTEURIZACIÓN ALTA EN CAPA MUY FINA	18
	4.3.5 CARACTERISTICAS DE EL PROCESO DE PASTEURIZACION	18
	4.3.6 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PASTEURIZACION	18
	4.3.7 CONTROL DE LA LECHE PASTEURIZADA	19
	4.4 PRUEBA DE LA FOSFATASA	19
	4.4.1 LACTO-ZYMA	20
	4.5 NORMATIVAS	21
	4.5.1 ESPECIFICACIONES:	21
	4.5.1.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES	21
	4.5.1.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS:	22
	4.5.1.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS:	22
	4.5.2 LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS DETERMINACION DE LA FOSFATASA METODO RAPIDO DE SCHARER COGUANOR NGO	
	34046h13	23

V.	<i>MATERIALES Y MÉTODOS</i>	24
5.1	RECURSO HUMANO	24
5.2	RECURSOS BIOLÓGICOS	24
5.3	RECURSOS DE LABORATORIO	24
5.4	RECURSOS DE CAMPO	24
5.5	CENTROS DE REFERENCIA	17
5.6	DISEÑO DEL ESTUDIO	25
5.7	UNIVERSO DE ESTUDIO	25
5.8	RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA	25
5.9	LABORATORIO:	25
5.10	ESTANDARIZACION DE LA PRUEBA	26
5.11	ANALISIS DE DATOS	27
	FINANCIAMIENTO	27
VI.	<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i>	27
VII.	<i>CONCLUSIONES</i>	29
VIII.	<i>RECOMENDACIONES</i>	30
IX.	<i>RESUMEN</i>	31
X.	<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	32
XI.	<i>ANEXOS</i>	35

I. INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los productos naturales más valiosos para la humanidad por su elevado valor nutritivo que constituye un alimento básico especialmente para la niñez. Sin embargo la leche también es un excelente medio para el desarrollo de muchas bacterias, ya que la leche contiene microorganismos que han entrado al canal de la ubre por el orificio de la misma y son arrastrados mecánicamente, durante el ordeño de la vaca así sigue contaminándola durante su manejo y procesamiento.

La mayoría de los países disponen de normativas en las que se especifican las condiciones sanitarias que deben cumplir los productores de la leche así como también los procesadores de la leche, estas normas para el control de calidad están emitidas por la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR), del Ministerio de Economía.

Es importante que las plantas procesadoras de leche estén realizando una buena pasteurización para poder destruir gérmenes patógenos y saprofitos que se encuentran presentes en la leche, que pueden provocar enfermedades a los consumidores como: Brucelosis, Tuberculosis, Fiebre Tifoidea, Paratifoidea, gastroenteritis, Difteria, virosis, Hepatitis Infecciosa, Salmonelosis.

Para asegurar la salud del consumidor, la leche tiene que ser obtenida de vacas sanas y procesarse en condiciones higiénicas sanitarias. Se han desarrollado en la actualidad un gran número de pruebas para evaluar la calidad de la leche como también la de sus derivados.

Un control indirecto de una correcta pasteurización es realizado por medio de la prueba de la fosfatasa que indica si la temperatura de la pasteurización fue la indicada o no, ya que la enzima de fosfatasa es sensible al calor. Esta es una prueba cualitativa que se utiliza especialmente para la supervisión *in-situ* de plantas pasteurizadoras de leche y lugares de expendio. Este estudio evaluará por medio de la prueba de fosfatasa la calidad de pasteurización de seis marcas de leche fluida que se distribuyen en la capital de Guatemala.

II. HIPÓTESIS

- Las leches fluidas que se consumen en la ciudad de Guatemala están eficazmente pasteurizadas.

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

- Establecer la calidad de la pasteurización de las leches fluidas que se consumen en la ciudad de Guatemala.

3.2 OBJETIVO ESPECIFICO:

- Determinar mediante la prueba de fosfatasa alcalina la eficacia del proceso de pasteurización de las leches fluidas que se consumen en la ciudad de Guatemala.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1 LA LECHE

Es un líquido segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los mamíferos tras el nacimiento de la cría, cuyo fin es servir de alimento y proveer protección inmunológica a la cría. (1,3,18)

La leche es uno de los productos naturales más antiguo y valioso para la alimentación humana, ya que es un alimento muy complejo que cubre todas las necesidades nutritivas del ser humano. (13, 18)

4.1.2 COMPOSICION FISICOQUIMICA DE LA LECHE

Hay muchos factores que pueden afectar la composición de la leche tal como variaciones de la raza, el estado de lactancia, el manejo, composición del alimento, estado nutricional, edad, salud de la ubre, enfermedades en general y época del año. (3, 15)

La leche se considera un líquido blanco, opaco, dos veces más viscoso que el agua, a veces puede presentar coloración amarilla, con sabor dulce y reacción iónica (pH) cerca de la neutralidad. (1,5,18)

Propiedades físico-químicos :

-Densidad a 15 C° 1,039 a 1,034

-Calor específico 0,93

-Punto de congelación -0,55 C°

-pH 6 A 6.5 (10, 12)

4.1.2.1 EL AGUA

Es el componente principal de la leche, conteniendo aproximadamente del 88% al 90%, siendo su función principal la de actuar como disolvente de los demás componentes. (3,18)

4.1.2.2 LA GRASA

Este es uno de los componentes mas variados, oscila entre 3,2 y 6 %, esto se debe principalmente a la diferentes raza, alimentación, alojamiento y características individuales de cada vaca. La grasa se encuentra en forma de glóbulos grasos de forma esférica. Su principal función es energética y es de importancia económica ya que esta se vende con base a la cantidad de grasa. (3,15, 18) La grasa sirve como medio de transporte de las vitaminas liposolubles A, D, E y K. (3,15)

4.1.2.3 LA PROTEINA

Estas dependen fundamentalmente de la alimentación de la vaca, que oscila entre el 3 y 3,6 %. Los componentes principales son los aminoácidos. Las proteínas se clasifican en Caseína que representa el 80% de las proteínas, además es importante porque participa en muchos procesos tecnológicos, por ejemplo la producción de quesos. Albúminas y globulina con un 20% en la proporción total de las proteínas, la proporción de la albúmina es aproximadamente de 16-18% y la globulina de 2-4%. (3,15, 18)

4.1.2.4 LOS CARBOHIDRATOS

El de la leche es la lactosa que es un disacárido compuesto de glucosa y galactosa. La lactosa representa cerca de la mitad de los sólidos no grasos y contribuye al valor energético de la leche como aproximadamente el 30% de calorías. Una de sus funciones más importante es su utilización como un sustrato de fermentación, también como ingrediente de varios alimentos para niños. Algunas personas padecen intolerancia a la lactosa por no tener la enzima lactasa y no pueden digerir la lactosa. (3,15,18)

4.1.2.5 MINERALES

Todos los minerales esenciales para la dieta humana están presentes en la leche como: Sodio y Cloro (necesarios para la regulación de la presión osmótica, forman parte de los jugos gástricos como el ácido clorhídrico), Calcio (importante para el proceso de coagulación de la sangre), Fósforo (forma parte del esqueleto y es necesario para el metabolismo de los hidratos de carbono), Hierro (se encuentra presente en la hemoglobina, médula ósea, riñones, hígado y bazo. Su falta ocasiona anemia), Potasio (mantenimiento de la presión osmótica, formación de huesos, mantenimiento, balance acuoso), Magnesio, Zinc, Cobre, Manganeseo, Yodo, Fluoruro, Selenio, Cobalto, Cromo, Molibdeno, Níquel, Sílice, Vanadio y Arsénico. (5,18)

4.1.2.6 ENZIMAS

Podemos encontrar las siguientes:

- a) Peroxidasa: esta fue la primera descubierta en la leche y prueba el grado de calentamiento al que ha sido sometida la leche.
- b) Catalasa: El contenido de leucocitos o bacterias en la leche eleva el contenido de catalasa, por lo que su presencia indica el grado de higiene o de alteración de la leche.
- c) Fosfatasa alcalina: Esta se inactiva por la pasteurización y por ello se le usa como base para la prueba de evaluación de la pasteurización rápida de la leche. Los microorganismos generalmente presentes en la leche producen fosfatasa y pueden influir en los resultados de la prueba de una leche bien pasteurizada que ha sido almacenada por varios días.
- d) Lipasa: si la membrana de los ácidos grasos esta alterada descompone la grasa de la leche y de los productos lácteos modificando en sabor y el aroma.
- e) Proteasa: esta puede provocar la putrefacción y alteración del sabor.
- f) Lactosa: es importante para que se realice la fermentación láctica y la fermentación alcohólica de los derivados de la leche ácida. (18)

4.1.2.7 VITAMINAS

Vitaminas liposolubles: A, D, E, y K.

La vitamina A, se encuentra absorbida en los glóbulos de la grasa, es importante en la lucha contra las infecciones y enfermedades de los ojos. La vitamina D, cura el reblandecimiento de los huesos favoreciendo la absorción y depósito de calcio en los mismos. La vitamina E, evita la rancidez de la leche y la carencia de esta provoca esterilidad pasajera en las hembras. La vitamina K, su carencia provoca hemorragias. (10)

Vitaminas hidrosolubles: Vitamina B, PP, C y H.

La vitamina B (tiamina), su carencia provoca fatiga, debilidad, calambres, vómito, diarreas; La vitamina PP (antipelagrosa), su carencia produce la citada enfermedad; La vitamina C (ácido ascórbico), su carencia produce la enfermedad escorbuto; La vitamina H (biotina), forma parte de varias enzimas. (10)

4.2 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LA LECHE

La pasteurización es una medida necesaria de seguridad; no destruye todas las bacterias pero sí aquellas que causan algunas enfermedades al humano como: Difteria, Tuberculosis, Tifoidea, Brucelosis, Paratifoidea, Gastroenteritis, Virosis, Hepatitis Infecciosa, Escarlatina, Estomatitis, Salmonelosis, Fiebre Q y otras enfermedades. (15)

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son un problema para salud pública, por lo que se toman varias medidas sanitarias desde la inspección del hato, salud de la ubre, enfriamiento correcto de la leche, manejo cuidadoso, transporte, almacenamiento de la leche, la pasteurización y conservación en los expendios.

La pasteurización somete a la leche a un calentamiento en condiciones de temperatura y tiempo que asegure la destrucción de la microflora patógena y la casi totalidad de la flora no patógena; por lo que es importante que la pasteurización este realizada correctamente para evitar todo tipo de contaminación que pueda provocar alguna enfermedad. (12,16)

4.3 PASTEURIZACIÓN

4.3.1 HISTORIA

La primera experiencia registrada en la preservación de los alimentos por empleo del calor, fue conocida desde el año 1765, cuando Spallanzani conservó extracto de carne en frascos sellados a temperaturas de ebullición por una hora. (4,5,13,15)

La aplicación del calor conocida hoy por pasteurización, fue introducida por el químico francés Louis Pasteur, en el año de 1864, luego de sus experiencias obtenidas en la preservación de vinos.

El procedimiento de Pasteur, o sea el clásico de la pasteurización, consiste en el calentamiento del producto a 60 °C, durante media hora, por 5 a 7 días consecutivos. (4, 5,13,15)

4.3.2 DEFINICION

La leche pasteurizada se somete a un proceso térmico específico y por un tiempo determinado, que asegura la destrucción de gérmenes patógenos y la reducción de flora banal, sin modificar sensiblemente su naturaleza fisico-química, ni sus características biológicas y cualidades nutritivas. (4,6,10,11,15)

4.3.3 OBJETIVO

El poder destruir en totalidad los gérmenes patógenos y saprofitos presentes que perjudican la calidad y capacidad de la conservación de la leche. Si bien antes de la extinción de la tuberculosis vacuna y de la brucelosis (Alemania) el fin principal de la pasteurización de la leche era la destrucción de los gérmenes patógenos, al lograr la desaparición de estas enfermedades ha pasado a ocupar en primer plano la conservación de la leche. (12,14,15)

La pasteurización no corrige los defectos de la leche; solamente ayuda a conservar sus propiedades naturales mediante la destrucción del 90 al 99% de los microorganismos y

la desactivación de varias enzimas, lo que representa es un aumento de vida comercial del producto. (15)

La temperatura de pasteurización esta íntimamente relacionada con el tiempo de exposición y ambas están determinadas por la temperatura y tiempo necesarios para la destrucción de los microorganismos patógenos más resistentes.

En el caso de la leche, originalmente se tomó como base la destrucción del *Mycobacterium tuberculosis* que requiere de 60 °C de temperatura por espacio de 15 a 20 minutos, sin embargo en la práctica exigen 61°C de temperatura durante 30 minutos, con el objeto de contar con un margen de seguridad. En la actualidad existen varias combinaciones de temperatura y tiempo de exposición según el método de pasteurización, basados en la destrucción de la *Coxiella burnetii* que es una Rickettsia un poco más resistente que el *M. tuberculosis*. (14,15)

4.3.4 METODOS DE PASTEURIZACION

Se distinguen tres tipos de pasteurización y a pesar de que algunos métodos se aparten del método de Pasteur también se les denomina, impropriamente, métodos de pasteurización; en algunos casos, aunque siguen el método Pasteur, llevan el nombre del que ha modificado el proceso, u otro nombre. (10,18)

4.3.4.1 LA PASTEURIZACIÓN BAJA (63 °C durante 30 minutos)

También es conocida como pasteurización lenta. Esta se ha empleado en América, es un tratamiento suave que da origen a pocas modificaciones; en particular el color y el sabor permanecen invariables y la separación de la crema no se retrasa. Este procedimiento exige una instalación de capacidad voluminosa y puede provocar la multiplicación de las bacterias termófilas. Solamente pueden tratarse leches con escasa carga bacteriana porque tiene un efecto germicida del 95%. Por otro lado hay que evitar la formación de espuma ya que esta favorece la supervivencia de los gérmenes termorresistentes. (1,2,10,15,18)

4.3.4.2 LA PASTEURIZACIÓN ALTA Y RÁPIDA (72 °C durante 15 segundos)

Es la más utilizada, y ha sustituido a la antigua pasteurización alta en la que la leche se calentaba a unos 85 °C durante un tiempo variable, en aparatos abiertos. A este tipo de pasteurización se le designa corrientemente con las iniciales H.T.S.T. (high temperature, short time) y en español TATC (temperatura alta y tiempo corto). La eficiencia germicida de este método está cerca del 99.5%. Este método provoca pocas alteraciones importantes y ligeras precipitaciones en las sales de la leche. Se inactiva la enzima fosfatasa alcalina. (1,2,10,15, 18)

4.3.4.3 LA PASTEURIZACIÓN ALTA EN CAPA MUY FINA

Este método fue ideado por Stassano por lo que es llamado stassanización. Es un procedimiento eficaz, la leche se extiende en una capa de menos de 1mm de espesor y se calienta hasta 75-78 °C durante un segundo. Los riesgos y obturación del aparato son grandes cuando se utilizan leches ligeramente ácidas. (1,15)

4.3.5 CARACTERÍSTICAS DE EL PROCESO DE PASTEURIZACION

Los procesos de pasteurización de la leche deben reunir esencialmente los siguientes requisitos:

- El efecto germicida (el porcentaje de gérmenes destruidos) debe ser superior al 99%, y en el caso de los gérmenes patógenos del 100%.
- La leche se ha de tratar moderadamente para que no se produzcan alteraciones considerables de las sustancias nutritivas, de las sustancias biocatalizadoras, ni de las características organolépticas.
- La rentabilidad del procedimiento ha de ser elevada y los costos en la utilización de equipo deben ser bajos.

4.3.6 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PASTEURIZACION

El efecto germicida como las transformaciones fisicoquímicas de características nutritivas y organolépticas que experimenta la leche en este proceso dependen de los siguientes factores:

- Temperatura y duración del calentamiento (relación temperatura-tiempo).

- Tipo y cantidad inicial de gérmenes.
- Acidez de la leche.
- Régimen de flujo de la leche y velocidad con la cual se transmite el calor en los aparatos. (18)

4.3.7 CONTROL DE LA LECHE PASTEURIZADA

El control de la pasteurización ha dado lugar a numerosas investigaciones. Los primeros reglamentos se fundamentaban en los trabajos de Guittonneau, Mocquot, Eyrard, y se modificaron en 1955; Posteriormente se ha estudiado nuevos métodos.

Desde el punto de vista bacteriológico normalmente se exige no más de 10,000 colonias en el computo bacterial en agar por centímetro cúbico y no más de 10 colonias de coliformes en el computo en agar selectivo por centímetro cúbico. (15)

También se investigan los gérmenes productores de indol mediante la reacción de Erlich-Kovacs, la leche pasteurizada envasada debe dar una reacción negativa; la presencia de *Escherichia coli* es importante ya que se toma como un índice de contaminación de la leche, asimismo enterobacter de origen humano.

Existe un control indirecto para determinar el grado de calentamiento de la leche, este se hace con la prueba de la FOSFATASA, esta prueba debe aplicarse en todos los procesos de pasteurización. (1, 15)

4.4 PRUEBA DE LA FOSFATASA

La fosfatasa es una enzima que cataliza la hidrólisis a los esteres glicerofosfóricos. La leche contiene dos fosfatasas ácida y alcalina siendo ésta la más interesante por su sensibilidad al calor, por esta propiedad se convierte en un indicador de elección para comprobar que el tratamiento térmico de la leche ha sido adecuado. (1,2,14,17)

La prueba de la fosfatasa desarrollada por Kay y Graham está basada en el hecho de que la enzima natural fosfatasa esta siempre presente en la leche cruda, pero es destruida a la temperatura necesaria para una pasteurización eficiente. La ausencia de la fosfatasa es un índice de que la leche ha sido pasteurizada en una forma adecuada, mientras que su presencia denota calentamiento insuficiente o contaminación con la leche cruda. (9, 17)

La resistencia al calor de esta enzima es ligeramente superior a la de las bacterias patógenas que pueden existir en la leche como el *M. tuberculosis var. bovis*.(12, 17)

La leche cuando esta cruda contiene fosfatasa, a la cual se le añade un sustrato sobre la cual reacciona la enzima. La cantidad de fenol liberado se estima añadiendo un reactivo que vira a azul en presencia del fenol. Se utilizan colores patrón para interpretar los resultados de la reacción es un procedimiento simple que informa exactamente el tratamiento de calor que ha recibido la leche. (14)

Este procedimiento es utilizado especialmente en USA, Dinamarca, Gran Bretaña para comprobar el calentamiento de la leche durante 30 minutos a 61 °C; o durante 15 segundos a 71.5 °C. (17)

4.4.1 LACTO-ZYMA

Es una prueba cualitativa para la detección de fosfatasa en leche, crema y mantequilla, se utiliza especialmente para la supervisión ambulante de plantas de pasteurizadoras de la leche.

La leche no pasteurizada contiene la enzima fosfatasa, la cual al incubarse con un sustrato de fenilfosfato, lo descompone, liberando el fenol. La cantidad de fenol libre producido, se valora semi-cuantitativamente con el reactivo desarrollado de color LACTO-ZYMA II, con producción de un color azul. Esta es la forma estable del reactivo cualitativo para fosfatasa de Scherer. Al añadir estos reactivos a la muestra de la leche dan una reacción de color la cual puede ser comparada con las pruebas de control y en la tabla de

colores localizando el color más cercano o igual por simple inspección visual, lo cual es de gran valor en la supervisión ambulante de plantas pasteurizadoras de leche.

La leche cruda, saliva y sudor contienen fosfatasa, por lo que puede ser causante de interferencias.

La prueba LACTO-ZYMA puede detectar una diferencia de 2 °C en una pasteurización alta y en una baja un 1 °C; también detecta fácilmente 0.3% de leche cruda añadida a la leche pasteurizada. (9)

4.5 NORMATIVAS

Para la leche de vaca, pasteurizada, homogeneizada o no, existen normas de control de calidad emitidas por la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR), del Ministerio de Economía las cuales concuerdan con las normas del ICAITI .

El objeto es establecer los tipos y definir las características y requisitos que debe cumplir la leche de vaca, pasteurizada, homogeneizada o no.(7)

4.5.1 ESPECIFICACIONES:

4.5.1.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

La leche de vaca, pasteurizada, homogeneizada o no, deberá estar limpia, libre de calostro, conservadores, antibióticos, colorantes, materia extraña y sabores u olores objetables o extraños; no deberá contener sustancias agregadas sean o no componentes normales de la misma, con excepción de lo establecido en el numeral 6.4 de la presente norma. (6.4 enriquecimiento con vitaminas A y D).(7)

4.5.1.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS:

La leche íntegra de vaca, pasteurizada y homogeneizada; fortificada o no (leche tipo 1). La leche íntegra de vaca, pasteurizada; fortificada o no. (leche tipo 2).

CARACTERÍSTICAS	TIPO 1	TIPO2
Contenido de grasa láctea en % en masa	≥3.0	≥3.0
Proteínas(Nx6.38) en % en masa mínimo	3.2	3.2
Sólidos lácteos totales, % en masa mínimo	11.5	11.5
Sólidos lácteos no grasos, % masa mínimo	-	-
Acidez expresada como ácido láctico en %	0.18	0.18
En masa máximo		
Punto de congelación, en grados Celsius	debajo de -0.530	debajo de -0.530
Ensayo de fosfatasa, en microorganismos / ml, (máximo)	1	1
Separación de líquidos, a las 48 h.	No hay separación visible de crema.	Hay separación visible de crema.
Impurezas macroscópicas (sedimento)	0.2 mg	0.2 mg

4.5.1.3 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS:

La leche de vaca, pasteurizada, en cualesquiera de sus tipos, no deberá contener microorganismos en numero mayor a lo especificado en el cuadro siguiente.(7)

Microorganismos	n	c	m	M
Recuento total de bacterias / ml.	5	2	20,000	50,000
Coliformes / ml.	5	2	10	30

n = Numero de muestras que debe analizarse.

c = Numero de muestras que se permite que tengan un recuento mayor que m pero no mayor de M.

m = Recuento máximo recomendado.

M = Recuento máximo permitido. (7)

4.5.2 LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS DETERMINACION DE LA FOSFATASA METODO RAPIDO DE SCHARER COGUANOR NGO 34046h13

Esta norma tiene como objeto establecer el método para determinar la eficiencia del proceso de calentamiento a que ha sido sometida la leche de vaca y los productos lácteos pasteurizados. Asimismo para comprobar la contaminación de la leche pasteurizada con leche cruda.

Este método se basa en la capacidad que tiene la fosfatasa alcalina de la leche, enzima sensible al calor, de liberar fenol de los ésteres fenil-fosfóricos. Cuando se calienta la leche o los productos lácteos, esta enzima se inactiva progresivamente.

Si la pasteurización no ha sido completa, en temperatura o tiempo, o cuando se ha agregado leche cruda a la leche pasteurizada, la cantidad de enzima activa puede ser determinada por la medición colorimétrica del fenol liberado. (8)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 RECURSO HUMANO

- Investigador
- Tres asesores
- Personal técnico

5.2 RECURSOS BIOLÓGICOS

- Muestras de leche fluída entera pasteurizada nacional.

5.3 RECURSOS DE LABORATORIO

- Reactivo Lacto-zyma I
- Reactivo Lacto-zyma II
- Pipetas de 1-5-10 ml
- Cubre bocas
- Cronómetro
- Tubos de ensayo
- Baño María o estufa
- Agua destilada
- Tabla de interpretación
- Tapones de caucho
- Báscula
- Incubadora
- Papel de tarar
- Refrigeradora
- Fichas de identificación
- Hielo seco
- Termómetro
- Beaker

5.4 RECURSOS DE CAMPO

- Vehículo

- Combustible y lubricantes.
- Hielera

5.5 CENTROS DE REFERENCIA

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Biblioteca de Ministerio de Economía COGUANOR.
- Internet.

5.6 DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio descriptivo de corte transversal donde se evaluó la calidad de la pasteurización de la leche de las cinco diferentes marcas comerciales que existen en el mercado nacional. Para lo cual se realizó un muestreo aleatorio según la norma COGUANOR 34046h1. (apéndice 1). Para lo cual se tomaron 5 muestras por cada marca comercial de diferentes lotes y en días alternos hasta completar la totalidad de las muestras.

5.7 UNIVERSO DE ESTUDIO

Cinco marcas de leche fluida comercial.

5.8 RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

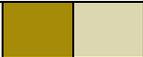
Se visitaron diferentes supermercados o expendios de la ciudad de Guatemala que vendían leche fluida pasteurizada. Se compraron muestras de 1 litro de leche de diferentes marcas y lotes. Cada muestra de leche se transportó en un compartimento térmico con hielo, con su debida ficha de identificación, (anexo 1) al laboratorio de Salud Pública Veterinaria en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia donde se realizó la prueba de LACTO-ZYMA.

5.9 LABORATORIO:

- A) Se utilizaron dos tubos de ensayo identificados el primero como tubo PROBLEMA (1) y el segundo como tubo CONTROL (2)
- B) Se le agregó a cada tubo 10 ml de agua destilada a una temperatura de 37-39 °C.

- C) A cada tubo se les agregó 250mg del reactivo LACTO-ZYMA I (No. 610-A) (sal de sodio de Fenilfosfato y buffer alcalino).
- D) Se homogenizó la muestra.
- E) Al tubo problema (1) se le agregó 1ml de la leche por analizar y se homogenizó.
- F) Al tubo control (2) se le agregó 1ml de la leche por analizar, previamente calentada a una temperatura de 85°C en la cual la fosfatasa ha sido previamente destruída.
- G) Se Incubó la mezcla de ambos tubos en un baño María a 45°C durante 10 minutos.
- H) Se le agregaron 250mg del segundo reactivo LACTO-ZYMA II (No. 610B) reactivo desarrollador de color. Al tubo PROBLEMA (1) como al tubo CONTROL (2).
- I) Se dejaron en reposo durante 10 minutos y luego se agitaron.
- J) A los 3 ó 5 minutos se compararon los colores de los tubos con la tabla de interpretación.

TABLA DE INTERPRETACION DE RESULTADOS

Valoración	Color
Negativo	Café rojizo a gris 
Débilmente positivo	Ligeramente azul 
Fuertemente positivo	Azul intenso 

- K) Los resultados obtenidos se anotaron en la ficha elaborada para el efecto (anexo 2).

5.10 ESTANDARIZACION DE LA PRUEBA

Para tener la certeza de que la prueba utilizada es confiable y sensible se procedió de la manera siguiente:

- 1- Se tomaron 10 ml de una leche pasteurizada, agregándosele 30 ul de leche cruda la cual contiene fosfatasa. El resultado fue una coloración ligeramente azul, su valoración en la tabla de interpretación de resultados es: débilmente positiva.
- 2- Se tomaron 250 ml de leche cruda y se llevó a la temperatura de pasteurización reduciendo el tiempo en tres segundos el resultado fue débilmente positivo.

- 3- Se tomaron 250 ml de leche cruda, se llevó al tiempo de pasteurización reduciendo la temperatura en 3 grados centígrados, el resultado fue débilmente positivo.

5.11 ANALISIS DE DATOS

Se estableció la proporción de las muestras de leche que se expenden en la ciudad de Guatemala y que están adecuadamente pasteurizada. Los resultados se presentan en cuadros.

FINANCIAMIENTO

Esta investigación fue financiada por el autor y el Laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Descripción	Costo (Q.)
Muestras de leche	300.00
Kit de reactivo	1200.00
Materiales de laboratorio	300.00
Gasolina	150.00
Imprevistos 5%	97.00
TOTAL:	2047.00

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la calidad de la pasteurización de leche por medio de la prueba de fosfatasa alcalina de cinco marcas comerciales de leches fluidas enteras nacionales, que se distribuyen en los expendios de la ciudad capital.

Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron los siguientes

CUADRO DE RESULTADOS

MARCA DE LECHE	NUMERO DE MUESTRAS	NEGATIVO A FOSFATASA
A	10	100 %
B	10	100 %
C	10	100 %
D	10	100 %
E	10	100 %

En el cuadro anterior se observan los resultados de cada marca de leche fluida entera analizada, observando que el 100% de las leches, sí cumplen con un adecuado sistema de pasteurización.

Una pasteurización adecuada incluye dos factores importantes: temperatura y tiempo. Si esta se realiza correctamente, habrá ausencia de la enzima fosfatasa ya que esta es sensible al calor por lo tanto es indicadora de un correcto tratamiento térmico garantizando la destrucción de bacterias patógenas.

Los resultados indican que en las leches pasteurizadas por estas plantas pasteurizadoras nacionales si cumplen con la temperatura y tiempo necesarios para producir leche fluida pasteurizada la cual garantiza la eliminación del *M. tuberculosis* y otras bacterias patógenas, lo cual hace de estas leches un producto inocuo para la población que las consume.

También se verificó la fecha de producción y la de vencimiento de las diferentes muestras de leches analizadas, no encontrándose en los resultados obtenidos presencia de la fosfatasa alcalina.

V11. CONCLUSIONES

- El 100% de las leches fluidas enteras nacionales sí cumplen con el proceso de pasteurización adecuado.
- No existe diferencia alguna en los resultados de la prueba de fosfatasa con relación de la fecha de pasteurización ni vencimiento de la leche.
- Solamente existen 5 marcas comerciales de leche fluida entera nacionales en la ciudad capital.

VIII. RECOMENDACIONES

- Utilizar la prueba de fosfatasa alcalina (Lactozyma) para monitoreos rápidos y constantes para las leches fluidas enteras, ya que es una prueba con especificidad, sensibilidad y rapidez.
- Que las autoridades encargadas de vigilar la inocuidad de las leches, establezcan la incorporación de esta prueba a los planes HACCP en la industria láctea nacional para verificar entre otras la calidad de la pasteurización.

IX. RESUMEN

El presente estudio tuvo como fin evaluar la calidad de pasteurización de las leches fluidas enteras nacionales que se expenden en la ciudad capital por medio de la prueba de fosfatasa alcalina.

Para este estudio, fueron analizadas cinco marcas de leche, las cuales fueron identificadas con las letras A, B, C, D, E respectivamente. Para lo cual se tomaron aleatoriamente 10 muestras por cada marca de leche de diferentes lotes los cuales se obtuvieron de expendios autorizados en la ciudad capital de Guatemala. las muestras fueron transportadas en refrigeración al laboratorio de Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia donde se realizó la prueba de fosfatasa alcalina.

Los resultados obtenidos por medio de la prueba de fosfatasa alcalina indican que el 100 % de las muestras fueron negativas a fosfatasa alcalina lo que evidencia que si se está realizando un buen proceso de pasteurización en las plantas procesadoras.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. ALAIS, Ch. 1986. Ciencia de la leche: principios de técnica lecheras. Trad. Por Antonio Lacasa.G. 6 ed. México, Editorial Continental. p 31-37, 428-432.
2. AMIOT, J. 1991. Ciencia y Tecnología de la leche. Trad. por Rosa Oria Almudi. Zaragoza, España, Editorial Acribia. p. 39, 195-205.
3. COMPOSICION DE los alimentos. 2002. Consultado 13 julio. 2002. (en línea).
Disponible en: www.infoagro.com/admentor/admentorredir.asp?id=95&way=ban
4. ENCICLOPEDIA MICROSOFT®ENCARTA®. 1998. E.E.U.U, Microsoft Corporación.
5. GALVEZ GARCIA, O.E. 1963. Control de Leches Pasteurizadas. Tesis. Med.Vet. y Zoot. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. p. 10-17.
6. GUATEMALA. MINISTERIO DE ECONOMIA. 1975. Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) NGO 34046 h1. Leche y Productos Lacteos. Toma de Muestra. 18 p.
7. ----- . 1980 (a). Comisión Guatemalteca de Normas (COUGUANOR) NGO 34041 Leche de Vaca Pasteurizada, Homogeneizada o no. 8 p.
8. ----- . 1980 (b). Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) NGO 34046h13. Leche y productos Lácteos. Determinación de la Fosfatasa. Método rápido de Scharer. 8 p.
9. LACTO-ZYMA. Equipo de reactivos para la detección de Fosfatasa en leche, Crema y mantequilla. s.f. México. HYCEL. 2 p.

10. LA LECHE y sus derivados: Introducción. 2001. Consultado 13 julio 2002. (en línea)
Disponible en:
<http://www.pmministries.com/ceninvestiga/lecheyderivadosintroduccion>.
11. LECHE PASTEURIZADA entera: Aroma y sabor. 2002. Consultado 13 julio 2002.
(revista en línea). Disponible en:
<http://www.revista.consumer.es/web/es/19991101/Nº27Noviembre1999>
12. LERCHE, M. 1969. Inspección Veterinaria de la Leche. Trad. por Jaime Escobar.
España, Acribia. 375 p.
13. LINARES PORTILLO, L. 1990. Determinación de la concentración de sustancias reductoras de proteínas (Ferrocianuro de Potasio, mg/100ml.) como un indicador de Adulteración con sólidos relicuados de leche en polvo en la leche fluida pasteurizada y homogeneizada de dos industrias lácteas de la ciudad de Guatemala. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 67p.
14. PELCZAR, M. 1982. Microbiología. Trad. por Antonio Capellar y Jorge Tay. 4ed.
México, Continental. 803p.
15. REVILLA, A. 1982. Tecnología de la leche procesamiento, manufactura y análisis.
San José, Costa Rica, IICA. 399p.
16. SANCHEZ LEMUS, E. 1998. Evaluación fisicoquímica y bacteriológica de la leche Fresca producida en el Parcelamiento Cuyuta Municipio de Masagua, Departamento de Escuintla. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad De San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia 39p.

17. SCHÖENER, W. 1959. Manual Practico de Análisis de Leche. Trad. por José Santiago. Zaragoza, España, Acribia. 252 p.

18. SPREER, E. 1991. Lactologia Industrial. Trad. por Oscar Dignoes. 6ed. Zaragoza, España, Acribia. 617p.

XI. ANEXOS

ANEXO 1

FICHA DE IDENTIFICACIÓN

FECHA DE RECOLECCIÓN: _____ REGISTRO: _____

MARCA: _____ LOTE: _____

NÚMERO DE PRUEBA: _____

PRESENTACIÓN: _____

FECHA DE PASTEURIZACION: _____

FECHA DE VENCIMIENTO: _____

PRUEBA: _____

