

## ANÁLISIS BACTERIOLOGICO Y FISICO QUIMICO DE LECHES PASTEURIZADAS EN EL DISTRITO ESPECIAL DE BOGOTA

Hernán Morales, A., DMVZ, M.Sc.\*

Judith Figueroa de Almansa, Lic. Microb. M.Sc.\*\*

Luis Carlos Villamil, J., DMV, M.Sc. Ph.D\*\*\*

Luis Guillermo Mahecha, A., DMVZ\*\*\*\*

### RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio físico-químico y microbiológico de la leche pasteurizada de consumo en Bogotá. Se muestrearon treinta y tres plantas procesadoras, las cuales se chequearon en dos ocasiones diferentes para un total de 75 muestras. El análisis físico-químico se realizó para: densidad, volumen, peso, grasa, acidez, almidón, fosfatasa y peroxidasa. El análisis bacteriológico incluyó recuento de mesófilos aerobios, coliformes por el método del NMP (3 x 3) y recuento utilizando dos medios diferentes, se incluyó además el análisis de *Staphylococcus* sp. por recuento de superficie. Los análisis físico-químicos, indicaron que un 22.6% de las leches presentan una baja densidad, el 82,66% no cumplieron con el volumen anunciado por el procesador. El porcentaje de grasa fue bajo, en promedio del 2.7%. El 17.3% de las muestras mostraron alta acidez, indicando contaminación bacteriana. El 17.3% de las muestras fueron sobrecalentadas. Solamente el 8%

de las muestras cumplió con las normas oficiales para recuento total; el 40% mostraron contaminación con microorganismos coliformes; el 10.6% del total permitió el aislamiento de *E. coli*; se halló *Staphylococcus* sp. en el 38% de las muestras por lo cual llamamos la atención sobre esta situación.

### INTRODUCCION

La leche es un alimento básico en la dieta diaria especialmente para la población infantil. Por esta razón los Gobiernos han dictado normas que regulan las características físico-químicas y microbiológicas que debe cumplir el producto terminado antes de llegar al consumidor. Las entidades dedicadas al mercadeo de la leche y sus derivados deben cumplir con las normas oficiales tanto de funcionamiento como de proceso y transporte para así garantizar un producto terminado de excelente calidad. Sin embargo, en ocasiones no se cumple con lo estipulado en la reglamentación y los precios no se compadecen con las características del producto.

En razón a las consultas diarias sobre diversos aspectos de la leche pasteurizada de consumo en Bogotá, se planeó el presente estudio en el cual se muestrearon 33 marcas con licencia de distribución. Este muestreo se realizó en dos épocas diferentes buscando con ello correlacionar posibles diferencias.

---

Profesor Asociado, Fac. de Med. Vet. y de Zoot. Universidad Nat. de Colombia.

Profesor Asistente, Fac. de Med. Vet. y de Zoot. U. Nat. de Col.

Profesor Asistente, Fac. de Med. Vet. y de Zoot. U. Nat. de Col.

Profesor Asociado, Fac. de Med. Vet. y de Zoot. U. Nat. de Col.

Es necesario llamar la atención sobre el hecho de que la leche constituye un excelente medio de cultivo para el desarrollo tanto de gérmenes banales como micro-organismos potencialmente patógenos y debido a que en nuestro medio su manejo no se hace en condiciones ideales se requiere de controles estrictos de laboratorio utilizando para ello técnicas estandarizadas que permitan establecer un consenso en los criterios de interpretación de los resultados entre los diferentes laboratorios.

#### REVISION DE LITERATURA:

El sistema de elección en nuestro medio para pasteurizar la leche cruda, es el denominado Pasteurización rápida (71-74°C por 15-20), debido a la calidad de leche que se produce en nuestros hatos y las condiciones de manejo de la misma hasta ser colocada en la planta procesadora.

Este sistema de pasteurización tiene un efecto germicida de hasta un 99.5%. Entre las modificaciones químicas, cabe citar la

coagulación de escasas cantidades de albúmina y globulina, así como la precipitación igualmente reducida de las sales. El índice Soxhlet-Hankel (SH) ó acidez potencial, baja poco por la liberación de CO<sub>2</sub>. Las vitaminas sufren pequeñas modificaciones, pero la fosfatasa alcalina es inactivada (9).

Las características físico químicas que debe tener la leche pasteurizada según la Secretaría de Salud Pública de Bogotá, D.E., se indican abajo (5,10).

Incontec define la leche entera pasteurizada como aquella a la cual se le ha destruido mediante el empleo de tratamientos físico-químicos, la totalidad de la flora patógena y la casi totalidad de su flora banal sin destruir sus características físicas, químicas y biológicas (4).

Las características físicoquímicas que debe tener la leche entera pasteurizada según el Instituto Colombiano de Normas Técnicas son:

Disposiciones de la Secretaría de Salud Pública de Bogotá.

Leche Higienizada entera

#### a) FISIOQUIMICAS

- Densidad: a 15/15 °C	1.0300 - 1.0330
- Materia grasa: mínimo	3.0% m/m.
- Extracto seco total: mínimo	11.3% m/m.
- Extracto seco desengrasado: mínimo	8.3% m/m.
- Sedimento (Impurezas macroscópicas): en grado máximo de escala de Impurezas de 0.5 mg/500 cm <sup>3</sup> norma o disco.	
- Acides expresada como ácido láctico	0.14 a 0.19%
- Índice crioscópico	-0.54° C ± 0.01° C ó
- Índice de refracción: mínimo	N <sub>D</sub> <sup>20</sup> 1.3420

#### b) CONDICIONES ESPECIALES

- Prueba de fosfatasa para leche pasteurizada. Negativa
- Prueba de Peroxidasa para leche pasteurizada. Positiva
- Tiempo de reducción del azul de metileno (ensayo de reductasa) mínimo 7 horas
- Prueba de alcohol: no se coagulará por la adición de un volumen igual de alcohol de 68% en peso a 75% en volumen
- Ausencia de sustancias tales como adulterantes, preservativos, sustancias tóxicas y residuos de drogas o medicamentos. Para residuos de plaguicidas se tendrán en cuenta normas oficiales de carácter nacional o en su defecto de las normas internacionales FAO, OMS, y otras adoptadas por el Ministerio de Salud.

Requisitos Icontec	Mínimos	Máximos
—Densidad a 20°C (gr/ml).....	1.027	1.032
—Materia grasa (gr/ml).....	3.0	
—Sólidos totales (GR/ml).....	11.2	
—Sólidos no grasos (gr/ml).....	8.2	
—Acidez expresada como ácido láctico.....		
—Acidez expresada como ácido láctico (gr/100ml).....	0.14	0.20
— Índice crioscópico.....		-0.540
—Impurezas microscópicas (grado de escala de impurezas).....		Grado 1
—Fosfatasa.....	Negativa	
—Formol.....	Negativo	
—Almidón y harinas.....	Negativo	
—Carbonatos y bicarbonatos.....	Negativo	
—Recuento en placa de petri: no deberá exceder de 100.000 colonias por c.c. en más de una muestra, de una serie de cuatro muestras tomadas una diaria, durante 4 días consecutivos en la planta.		
—Recuento de coliformes: no podrá exceder de 10 en más de una muestra, de una serie de cuatro muestras, una diaria durante cuatro días consecutivos en la planta.		
—Escherichiae coli: Negativa en 0.1 ml.		

#### **Análisis de leche:**

##### **Análisis físico-químico.**

##### **Acidez**

La leche tiene una acidez natural característica que puede verse aumentada a causa del desarrollo de microorganismos. Con éste análisis se mide la acidez adquirida, que resulta principalmente del ácido láctico producido por los microorganismos sobre los componentes de la leche, constituyéndose en un procedimiento excelente para investigar sus alteraciones. (2,3).

##### **Densidad:**

La densidad normal de la leche fluctúa entre 1.030 y 1.033, gm/litro, teniendo esa constante se puede conocer en forma aproximada si se ha adicionado agua a la misma (6).

##### **Grasa**

El porcentaje de materia grasa en la leche determina su precio, además de contener vitaminas como la A,D,E y K, la grasa confiere suavidad a la leche.

##### **Adulteraciones:**

Las principales adulteraciones, que en nuestro medio se practican son: descrem e,

aguado, neutralización, espesantes y preservativos.

##### **Fosfatasa:**

Esta enzima normal en leche cruda, sufre una inactivación, progresiva por la acción del calor. La inactivación completa se produce, con un calentamiento apenas inferior al tiempo y temperatura que se requiere en la pasteurización y superior en la temperatura al necesario para destruir los microorganismos patógenos.

Por éstas características, la prueba de la fosfatasa es el método químico para determinar la eficacia de la pasteurización y guarda una relación directa con la temperatura de proceso (8).

##### **Peroxidasas:**

Es una enzima de las deshidrogenasas que descomponen el peróxido de hidrógeno, liberando el oxígeno activo capaz de combinarse con sustancias oxidantes (guayacol); se inactiva completamente por calentamiento 82°C durante 20 segundos o a 75°C durante 19 minutos, por estas características se emplea su evaluación para estimar el sobrecalentamiento de la leche pasteurizada. (7).

### **Análisis bacteriológico:**

Recuento total. Como control bacteriológico a la leche pasteurizada se le determina el número total de bacterias aerobias mesófilas mediante un recuento viable en placa (11).

### **Recuento de coliformes:**

Como Índice de contaminación, se determina el número de bacterias coliformes por ml., de leche pasteurizada. Las muestras no deben contener *Escherichia coli* de origen fecal (11).

### **Recuento de *Staphylococcus* sp:**

El recuento de éstos microorganismos dan el índice de contaminación por el manejo del producto.

### **MATERIALES Y METODOS:**

Se tomaron muestras de 33 pasteurizadoras que suministran leche de consumo en Bogotá.

En el primer muestreo se procesaron 53 bolsas de leches tomadas de los camiones y en el segundo 22 procedentes de expendios, para un total de 75 muestras. Los análisis realizados fueron en la parte físico-química, densidad por el densímetro 15/15, volumen comparado con lo anunciado por el procesador, peso, grasa por el método de Gerber, acidez por el método de Dornic, convertido a ácido láctico, determinación de féculas mediante Lugol, Fosfatasa y peroxidasa determinando con ello el tratamiento térmico de acuerdo a las técnicas del "mercotest fosfatasa" y la prueba de Guayacol respectivamente.

Los análisis bacteriológicos realizados fueron:

- a) Recuento de mesófilos aerobios por el método del emparedado.
- b) Recuento de coliformes por dos métodos, el número más probable (NMP), utilizando caldo billis verde brillante con tubo de Durham, en series de 3 X 3, y el recuento viable en placa empleando 2 agares diferentes, agar desoxicolato lactosa y agar violeta cristal rojo neutro

billis. A partir de los tubos sospechosos de NMP se hizo la confirmación de *E. coli* de origen fecal por el método de Mackenzie.

- c) Recuento de *Staphylococcus* sp. por el método de superficie con inóculos de 0.1/ml. por placa, en agar Balrd Parker.

El análisis estadístico se efectuó mediante el programa "PANACEA" de la Universidad de Reading Inglaterra. (1).

### **RESULTADOS**

Los análisis físico-químicos indican que las leches muestreadas en un 90.2% no se ajustan a los valores de densidad permisibles (a 15/15) de 1.030 a 1.033 indicando que la leche sufre un proceso de aguado (Fig. 1.).

En un caso se presentó una densidad de 1.037 lo que indicó la posible adición de un soluto diferente a la fécula. En cuanto al volumen se detectaron faltantes en el 82.66% de las muestras, llegando hasta valores de 140 cc., por bolsas de 750 cc. Solamente en 8 ocasiones el volumen se encontró ligeramente por encima de lo anunciado. Los valores de peso obtenidos se emplearon para determinar la densidad por fórmula concordando con los datos obtenidos por Lactodensímetro. El porcentaje de grasa se halló bajo, siendo el promedio de 2.7%. Solamente en 17 casos se obtuvo el 3% exigido (Fig. 2.).

La acidez se encontró alta en el 24% de las muestras, se asocia este valor a un alto grado de contaminación y por lo tanto deficiente calidad higiénica. Estos valores de porcentaje de acidez fueron más altos en el segundo muestreo, quizás porque éste no se hizo directamente del camión repartidor como en el primer caso, sino que se obtuvo en los expendios. Este aumento en la acidez llegó hasta 29.1° D de ácido láctico (Fig. 3).

En cuanto a la evaluación del proceso de pasteurización se encontró un sobrecalentamiento en 17.3% de las leches muestreadas, ninguna reveló que el proceso térmico de pasteurización no hubiera alcanzado la temperatura requerida.

No se detectó fécula en ninguna de las muestras.

Produced on DD/MM/YY at 11:26  
DENSIIDAD  
VERDADERA

FREQUENCY HISTOGRAM

DATASET I FCHES FIELD 19

No conditions in effect.  
SEARCH COVERS CASES 1 TO 75

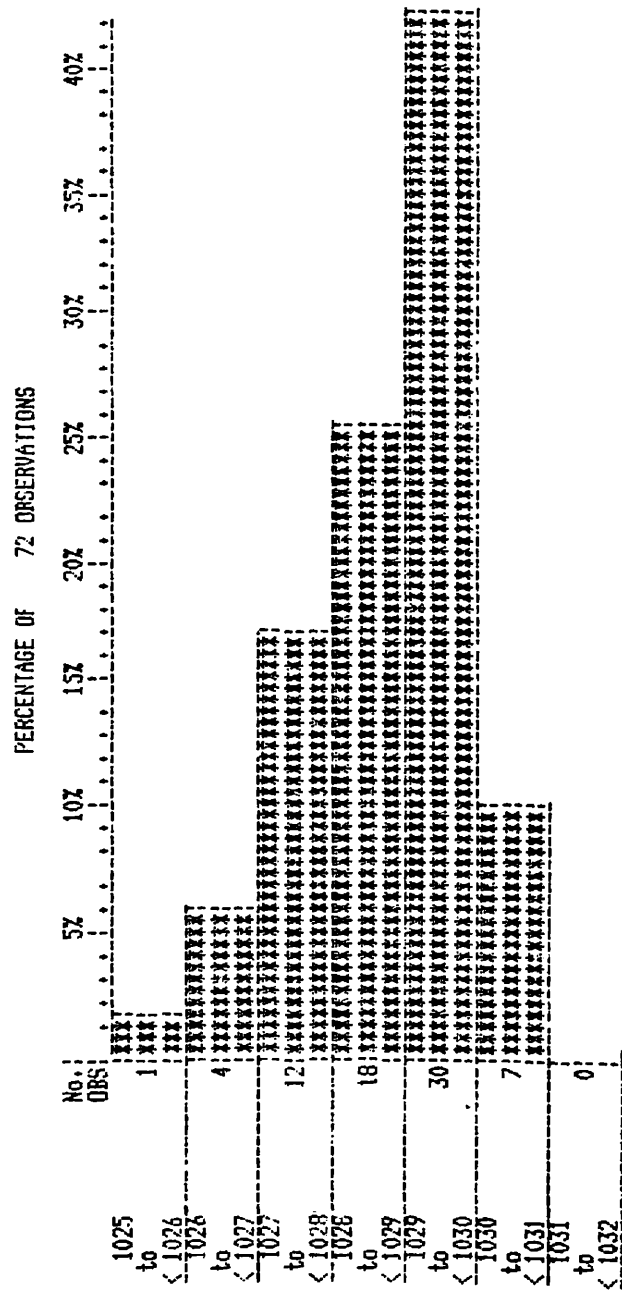


Figura 1: VALORES DE DENSIDAD TOMADOS CON LACTODENSIMETRO (15/15) PERMISIBLE DE 1.030 a 1.033.

**FREQUENCY HISTOGRAM**  
 Produced on 10/04/77 at 11:35  
**DATASET LECHEFS FIELD J1 GRASA**  
**%**

No conditions in effect,  
 SEARCH COVERS CASES 1 TO 75

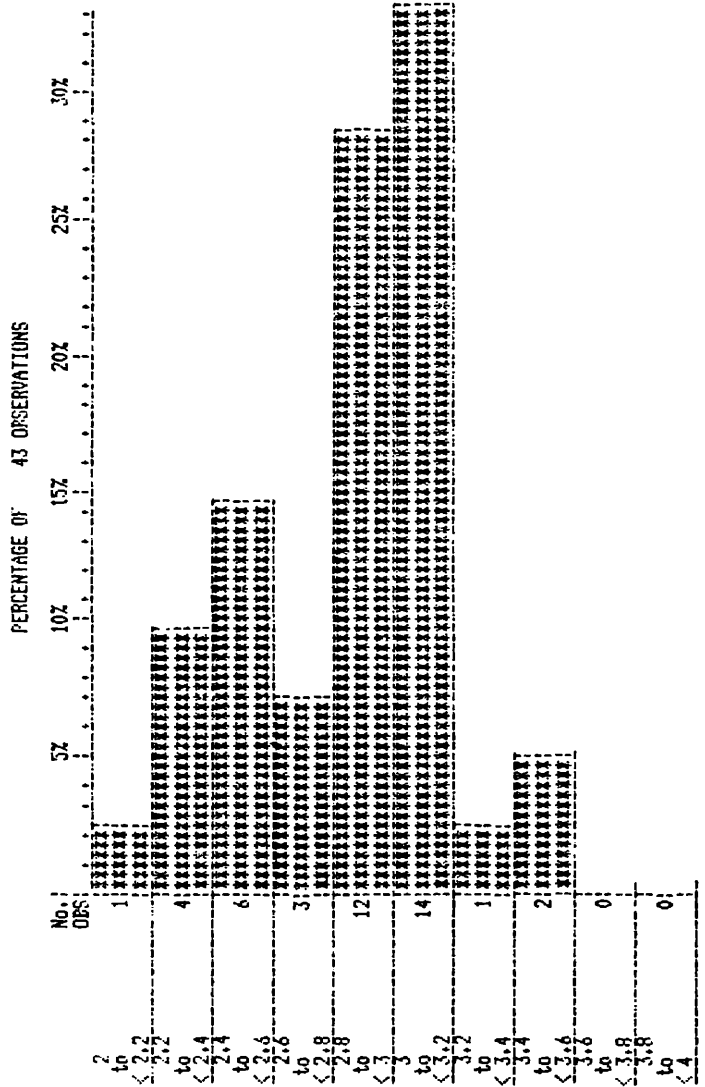


Figura 2: GRASA EN % POR MUESTRA DE LECHE. NUMERO REQUERIDO 3%

FREQUENCY HISTOGRAM

DATASET LECHES FTEL D 12 ACIDEZ  
 Produced on DD/MM/YY of 91:32  
 Z

No conditions in effect.

SEARCH COVERS CASES 1 TO 75

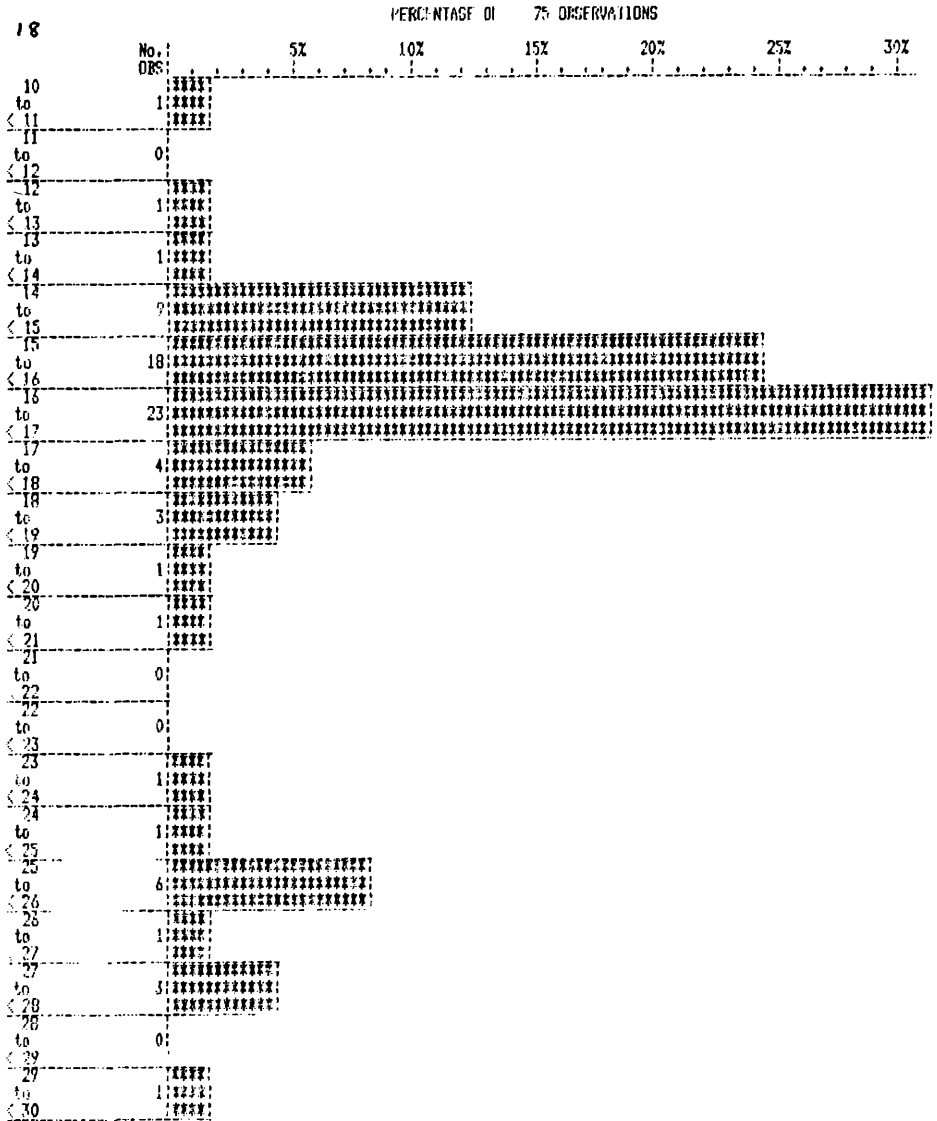


Figura 3: ACIDEZ EXPRESADA COMO ACIDO LACTICO (GRADOS DORNIC). RANGO PERMISIBLE 14-19

FREQUENCY HISTOGRAM

Produced on DD/MM/YY at T2:37  
 REC MESOF  
 LOG \10

DATASET LICHS FIELD 21

No Conditions in effect.  
 SEARCH COVERS CASES TO 75

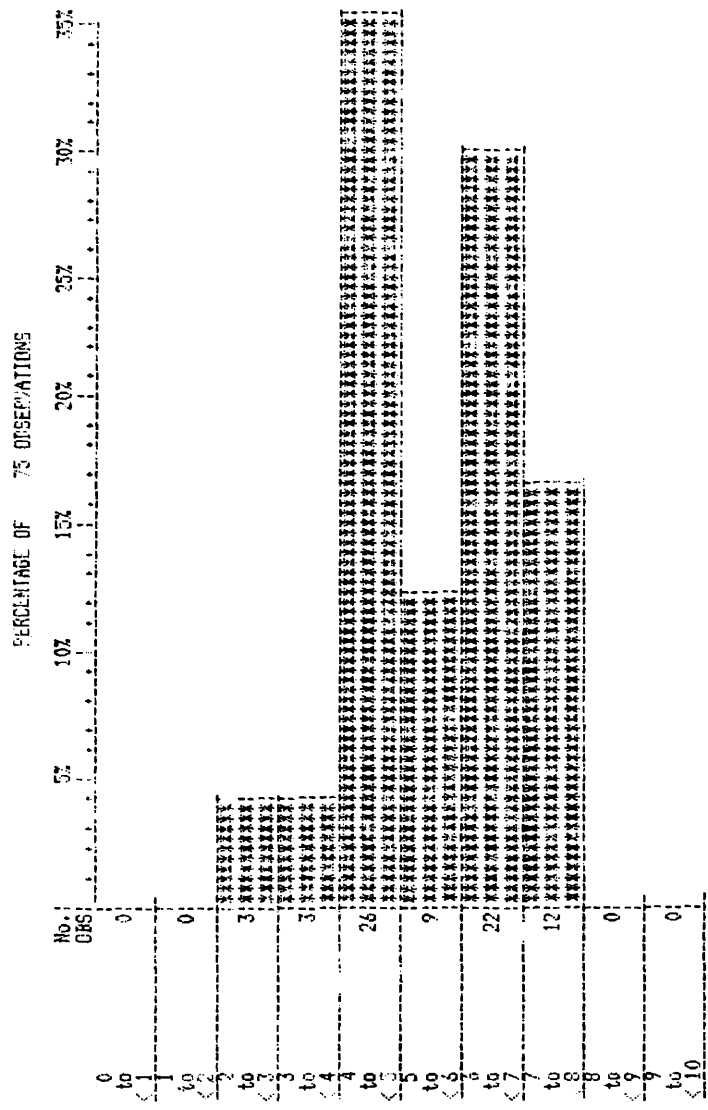


Figura 4: RECUENTO DE BACTERIAS MESOFILAS AEROBIAS EXPRESADO COMO LOG/10. VALOR MAXIMO ACEPTABLE  $10^4$  U.F.C./ml.





FREQUENCY HISTOGRAM

DATASET LECHES

FIELD

3

Produced on 10/04/97 at 20:36  
COLIFORMES  
PLACA

No conditions in effect.

SEARCH COVERS CASES: 1 TO 75

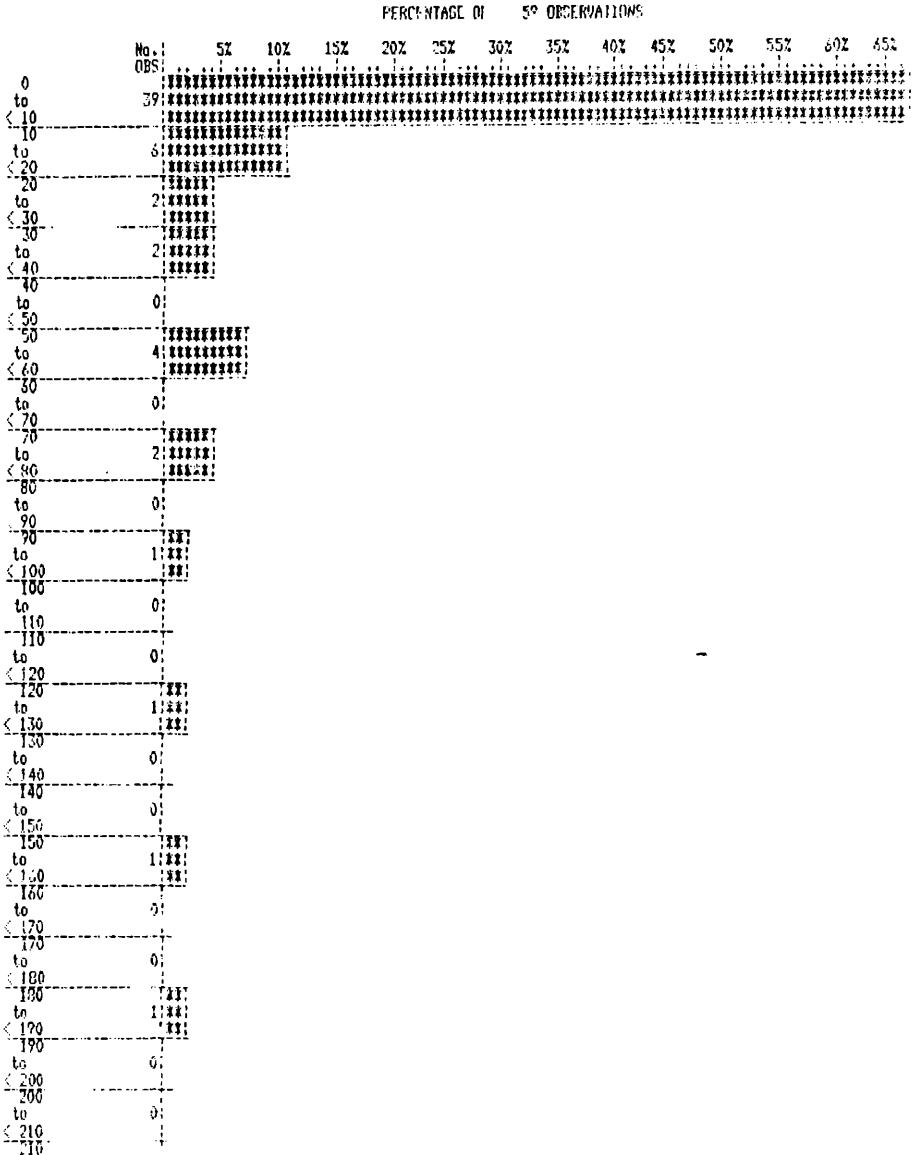


Figura 6: RECUENTO DE COLIFORMES EN PLACA EMPLEANDO AGAR VIOLETA CRISTAL ROJO NEUTRO BILIS (UFC/ml). MAXIMO PERMITIDO 10 UFC/ml.

FREQUENCY HISTOGRAM  
 Produced on DD/MM/YY at 11:20  
**RECUENTO STAPHYLOC**

**DATASET LECMFS FIELD 6**

No conditions in effect.  
 SEARCH COVERS CASES 1 TO 75

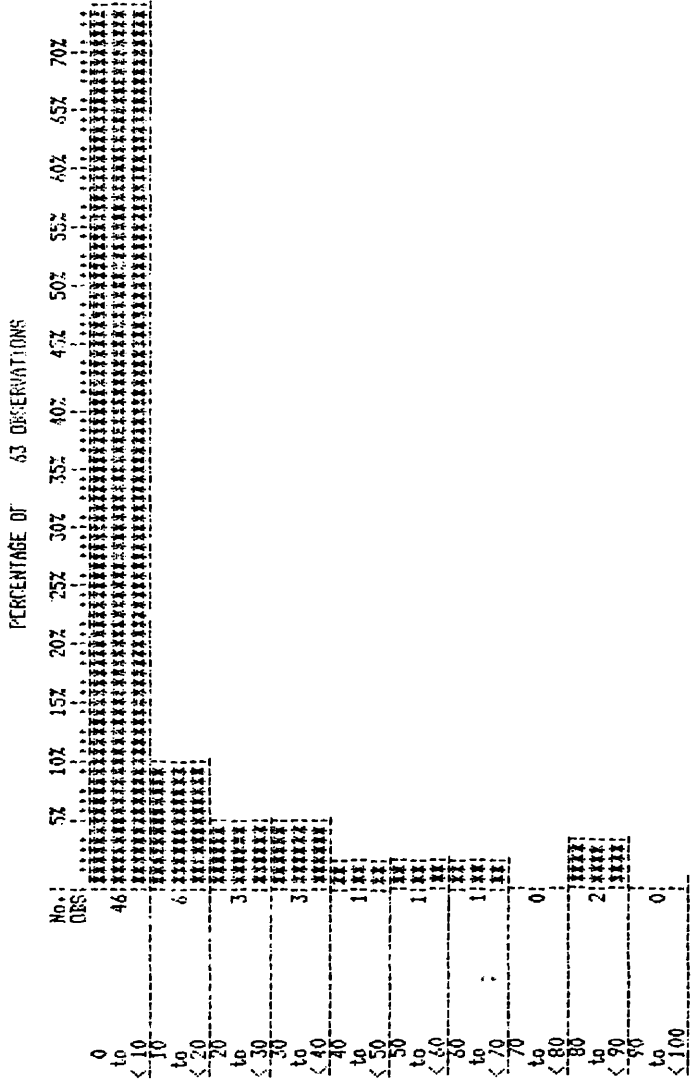


Figura 7: RECUENTO DE STAPHYLOCOCCUS sp, EN AGAR BAIRD PARKER POR SUPERFICIE. UFC/ml.

En cuanto al análisis bacteriológico el recuento de mesófilos aerobios varió entre  $1 \times 10^2$  y  $1 \times 10^7$ , no cumpliendo con las normas de un máximo de  $10^4$  UFC/ml., sólo un 8% de las muestras estuvo de acuerdo a las normas. (Fig. 4).

En cuanto a coliformes se admite un recuento viable en placa hasta 10 coliformes/ml. Un 40% de leches muestreadas presentaron recuentos mayores, en 7 casos  $> 30 \times 10^1$  UFC/ml., lo que indica un mal proceso o recontaminación de la muestra o mal almacenamiento (Figs. 5 y 6).

No se presentó diferencia significativa con el empleo de los agares desoxicolato y violeta cristal rojo neutro bills.)

Los coliformes mediante NMP no pudieron ser correlacionados con los recuentos viables en placa. De otro lado, no existe en nuestro país una reglamentación del número de coliformes permitido mediante el método, aunque sí se recomienda el NMP para la determinación de coliformes.

En un 10.6% de las muestras se confirmó *Escherichia coli* de origen fecal, no permitido en alimentos.

Se halló *Staphylococcus sp* en un 38.6% de las muestras (Fig. 7).

#### DISCUSION:

Al observar detenidamente los resultados hallados se encontró una deficiente calidad físico-química y microbiológica.

En cuanto al primer caso, un número elevado de muestras no cumplió con la norma existente sobre densidad, encontrándose valores por debajo de lo normal; recuento inicial de leche cruda muy alto, solamente en un caso se halló una muestra con una densidad alta lo que podría llevar a pensar en una doble adulteración o sea aguado y adición de un soluto. La acidez fué alta para un producto de esta naturaleza, debido quizás a un prolongado almacenamiento o a un desarrollo microbiano acelerado o a deficiencia en la pasteurización, aunque aparentemente hay contradicción sobre este hecho pues en un 17.3% de las muestras se encontró sobrecalentamiento.

Si se analizan los resultados microbiológicos se observa que las leches tampoco cumplieron con las normas. Situación que se agrava por la presencia de gérmenes indicadores de mala higiene como *E. coli* y *Staphylococcus sp*. Es de anotar que el *Staphylococcus* debe ser incluido como germen indicador de higiene en nuestro medio por su hallazgo en este tipo de alimento. No se halló diferencia significativa entre los medios para recuentos de coliformes en placa. No se pudo correlacionar el N.M.P. con el recuento viable en placas siendo conveniente tratar de unificar métodos de recuento, aunque creemos que es más real el método viable en placa, pues el NMP está diseñado para muestras con una densidad muy baja de microorganismos, situación que no encontramos en el presente trabajo. Es preocupante lo relacionado con el volumen pues la mayoría de las muestras estuvieron por debajo del anunciado por el procesador lo que implica una "sangría" impresionante para el consumidor que paga por algo que no le venden.

#### SUMMARY

A bacteriological and chemical study was carried out in order to know the conditions of the pasteurized milk distributed and consumed in Bogotá. Thirty three plants were sampled. The chemical analysis included determination of density, volume, weight, fat, acidity, starch, phosphatase and peroxidase.

The bacteriological analysis included total count, coliforms, most probable number and *Staphylococcus sp*.

Results: 90.2% of the samples presented low density and did not agree with the official regulations; 82.66% showed less milk than the announced by the plant. The fat average was low 2.7%. Twenty four per cent of samples were acid because of the high bacterial content. The 17% of the milk examined showed evidence of overheating. Only 8% of the samples agreed with the official regulations; 40% were contaminated with the official regulations; 40% were contaminated with coliforms and 10.6% were positive to *E. coli* from fecal origin. The implications and recommendation of these findings were presented.

## BIBLIOGRAFIA

1. ARMITAGE, P. *Statistical Methods In Medical Research*. Oxford, Blacks Well Scientific publications. 1971.
2. BRITISH STANDARDS INSTITUTIONS, *Methods for the Chemical Analysis of milk*. British standards. London 1968.
3. FAO, Equipo Regional de Fomento y Capacitación en lechería para la América Latina. *Manual de métodos de análisis químicos*. Santiago, Chile. 1980.
4. Instituto Colombiano de Normas Técnicas. *Leche entera pasteurizada*. No. 506. INCONTEC. Bogotá. Colombia. 1974.
5. LOPEZ, A.E., DE POLANIA, L.N., ACOSTA, C.E., SANCHEZ, M., FAJARDO, S. AVENDARO, A. MAHECHA, G., MORALES, H. *Análisis físico-químicos y microbiológicos de leches*. Instituto Nacional de Salud, Servicio de Salud de Bogotá, D.E., Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Bogotá. 1982.
6. BICHOLLS, M.H., COVACEVIDS, FAO. *Curso regional de capacitación y demostración en Industrias lecheras en Chile*. 1968.
7. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. *Organización Mundial de la Salud. Higiene de leche, higiene de la producción, la elaboración y distribución de la leche*. FAO/OMS. 1968.
8. OVERBY, A.J. *Chemical and Bacteriological Methods for the Examination of Milk*. 4 ed. Copenague. 1976.
9. ROMERO, M.J.A. *Lactología Industrial*. Acribia Zaragoza. España. 1973.
10. Secretaría de Salud Pública de Bogotá. D.E. Decreto No. 2437 de Bogotá. Colombia. 1983.
10. Secretaría de Salud Pública de Bogotá. D.E. Resolución No. 0339 de Bogotá. Colombia. 1978.
11. SURA ZYNSKI, A., H. MORALES., G. MAHECHA, R. SANDINO, A. CACERES., D. SCHVEDER. *Calidad y control de leche cruda y pasteurizada*. Proyecto, Gobierno de Colombia. FAO Y CIDA (Canadá). Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. ICTA. 1976.

