

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria y  
Zootecnia**

**“CALIDAD HIGIÉNICA DE LA LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN  
LOS PUESTOS AMBULATORIOS DEL DISTRITO DE TACNA”**

**TESIS**

**Presentada por:**

**Bachiller Cinthia Alina Figueroa Morales**

**Para optar el título profesional de:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**Tacna – Perú**

**2012**

**UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**  
**Y ZOOTECNIA**

**“CALIDAD HIGIÉNICA DE LA LECHE CRUDA COMERCIALIZADA EN**  
**LOS PUESTOS AMBULATORIOS DEL DISTRITO DE TACNA”**

Tesis sustentada y aprobada el 30 de noviembre del 2012 jurado calificador integrado por;

**Presidente:**

  
MSC. JUAN NICANOR CASTRO CANCINO

**Secretario:**

  
MVZ. CESARIO SEBASTIÁN CRUZ ANCHAPURI

**Vocal:**

  
MSC. LUIS ADOLFO RAMOS MAMANI

**Asesor:**

  
DR. CECILIO MAURO HURTADO QUISPE

## DEDICATORIA

Dedico esta tesis en primer lugar a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

De igual forma, dedico esta tesis a mis padres Ángel Figueroa Armas y Alina Morales de Figueroa, quienes son lo más importante en mi vida y han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles de mi vida.

A Jorge Luis Figueroa, a pesar de nuestra distancia, siento que estás conmigo siempre, sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí, te amo hermanito.

A mis abuelos Oscar y Teresa quienes todo el tiempo me dieron ánimos durante este arduo camino para convertirme en una profesional.

A Rosita Farfán, por la confianza y el apoyo brindado, gracias por compartir momentos de alegría y tristeza y demostrarme que siempre podré contar contigo, eres una gran amiga.

A Janys Portocarrero, a quien quiero como una hermana, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuesta a escucharme y ayudarme en cualquier momento.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día mas.

A mi familia que con sus consejos han sabido guiarme para culminar mi carrera profesional.

A mis profesores Cecilio Hurtado, Cesario Cruz, César Cáceda, Edwin Obando, gracias por su tiempo, por su apoyo así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

A mis amigos Janys, Brenda, Rosita, Angelo por su gran apoyo moral y sus consejos los quiero.

## INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	
Introducción	01
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1. Descripción del problema	03
1.2. Justificación	08
1.3. Objetivos	10
1.4. Hipótesis	10
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
2.1. Antecedentes del estudio	11
2.2. Base teórica	13
CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS	
3.1. Materiales	31
3.1.1. Ubicación geográfica y temporal	31
3.1.2. Unidad de estudio	32
3.1.3. Material que se utilizó	32
3.1.4. Método	34
3.1.4.1. Tipo de estudio	34

3.1.4.2. Método de la investigación	34
3.4.1.3. Metodología de la investigación	35
3.4.1.4 Procedimiento	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	
4.1. Carga microbiana de la leche cruda bovina mediante el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales.	39
4.2. Carga microbiana de la leche cruda bovina mediante el recuento de bacterias coliformes totales.	42
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	45
CAPÍTULO VI. CONCLUSIÓN	50
CAPÍTULO VII. RECOMENDACIÓN	52
REFERENCIA BIBLIOGRAFICA	53

## INDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Composición de la leche según la especie	15
<b>Tabla 2.</b> Requisitos microbiológicos de la leche de vaca	16
<b>Tabla 3.</b> Recuento de bacterias aerobios mesófilas totales que se comercializa en los puestos ambulatorios – Tacna	40
<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de bacterias aerobias mesófilas por puesto ambulatorio	41
<b>Tabla 5.</b> Recuento de coliformes totales que se comercializa en los puestos ambulatorios – Tacna	43
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje de bacterias coliformes totales por puesto ambulatorio	44

## RESUMEN

El presente estudio de investigación se desarrolló en los puestos ambulatorios de los cinco mercados del distrito de Tacna, entre los meses de marzo - julio del 2012. El objetivo fue determinar la carga microbiana de la leche bovina, mediante el recuento de bacterias aerobios mesófilas y el recuento de bacterias coliformes totales. Se recolectaron 80 muestras de leche cruda bovina al azar y se utilizó un medio de cultivo rápido, placa Petrifilm 3M para bacterias coliformes totales y placa Petrifilm 3M para bacterias aerobias mesófilas totales. La toma de muestra de leche cruda se realizó entre las 5 horas – 9 horas, en promedio de 250 a 300 ml de leche cruda por cada muestra. Según la Norma Técnica Peruana (NTP 202.183.1998) se admite  $1 \times 10^6$  de unidades formadoras de colonias por mililitro para bacterias aerobias mesófilas totales; y  $1 \times 10^3$  unidades formadoras de colonias por mililitro para coliformes totales. Cuyo resultado es el siguiente: el 12,50% de las muestras de leche fresca analizadas presentaron valores que sobrepasaron el rango permitido, fluctuando estos valores entre  $10 \times 10^5$  a  $20 \times 10^5$  ufc/ml y el 91,25% de las muestras analizadas para coliformes totales presentaron valores que sobrepasaron el rango permitidos, entre  $20 \times 10^3$  a  $29 \times 10^4$  ufc/ml. Por lo que se puede concluir que la leche fresca que se expende en los puestos ambulatorios de estos mercados es de deficiente calidad higiénica.



## INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en los puestos ambulatorios aledaños a los mercados del cercado de Tacna con la finalidad de evaluar la calidad higiénica de la leche.

La leche es el único material producido por la naturaleza para funcionar exclusivamente como fuente de alimento, ya que constituye una fuente nutritiva, no superada por ningún otro conocido por el ser humano. La confirmación de esta imagen nutritiva está en el uso extensivo que tiene la leche y sus derivados, como parte de la dieta diaria en los países altamente desarrollados. Jay (1994).

Los objetivos del presente estudio fue determinar la carga microbiana de la leche bovina mediante el recuento de bacterias aerobias mesofilas totales y el recuento de bacterias coliformes totales; el método utilizado para evaluar la contaminación microbiológica fue el “uso de placas Petrifilm 3M específicos para recuento de bacterias aerobias mesofilas totales y bacterias coliformes totales”.

Los resultados microbiológicos obtenidos en nuestro trabajo sobrepasaron en un 12,50% para el recuento de bacterias aerobias mesofilas y en un 91,25% para el recuento de bacterias coliformes totales.

La leche que se expende en los puestos ambulatorios de los mercados del cercado de Tacna están expuestas a cualquier contaminación ambiental ya que no conservan la leche a temperaturas adecuadas que eviten el crecimiento bacteriano, así mismo las vendedoras no tienen buenas prácticas de higiene al vender la leche, ya que reciben el dinero con la misma mano que despachan la leche, contribuyendo así a una contaminación cruzada del producto, también se pudo observar la presencia de trapos utilizados para la limpieza de los utensilios, en contacto con la leche (litreras, bordes del porongo) los cuales tienen un contenido elevado de microorganismos porque no son de primer uso.

Por esta razón los límites permitidos por la Norma Técnica Peruana (NTP 202.183.1998) indican que la leche del cercado de Tacna no es apta para el consumo humano, porque este tipo de bacterias afectan a su consumidor produciendo enfermedades gastrointestinales.

# **CAPÍTULO I**

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.**

Por ser la leche un producto biológico rico en glúcidos, grasas, proteínas, minerales, vitaminas y oligoelementos y por poseer un pH óptimo (cercano a la neutralidad), se constituye en un medio adecuado para la multiplicación de la mayoría de las bacterias contaminantes.

Recogida asépticamente y procedente de un animal sano, siempre contiene células provenientes de la sangre y de la glándula mamaria, además de los diversos microorganismos que habitan normalmente en el canal del pezón. Vernam y Sutherland (1994).

El planteamiento del problema de nuestro trabajo es saber el grado de contaminación que tiene la leche del cercado de Tacna, evaluando de esta manera su calidad e inocuidad mediante el método de placa petrifilm 3M contrastando los resultados con los valores que dicta la Norma Técnica Peruana 202.183.1998 para velar por la salud pública de sus consumidores.

La leche es un producto biológico obtenido de los animales y, por lo tanto, plantea problemas de origen en su contaminación ya que a la salida de la glándula mamaria, este producto trae presente microorganismos, por tal razón resulta de vital importancia las buenas prácticas de manejo en cada uno de sus procesos Pinzón, (2004).

Consumir leche cruda en una ciudad como Tacna implica riesgos para la salud, debido a que el producto en estas condiciones puede estar contaminado o adulterado.

Cuando la leche es adulterada con agua, se corre el riesgo de que el agua utilizada no sea potable, contribuyendo a aumentar de esta forma la contaminación. La adulteración con agua se facilita ya que se mezcla muy bien con la leche, complicando su reconocimiento. También es frecuente la adulteración de la leche con sustancias alcalinas.

Este procedimiento se utiliza cuando la leche se mantiene al medio ambiente, favoreciendo el crecimiento bacteriano. Al ocurrir el crecimiento bacteriano, la leche tiende a descomponerse rápidamente; para evitar este inconveniente, el vendedor recurre a métodos que le sirvan para disminuir la acidez. Nasanovsky, (1997).

Dentro de los métodos se encuentran la adición de agua o de sustancias químicas como carbonatos, soda cáustica o bicarbonatos. De esa forma se disminuye la acidez, pero la contaminación bacteriana continúa.

Al hervir la leche, algunas bacterias se destruyen pero otras permanecen y, frecuentemente, son las más patógenas.

En caso de poseer una alta contaminación generada por la mala manipulación, por mantenerla al medio ambiente o provenir de animales enfermos, se pueden producir enfermedades tales como tuberculosis, brucelosis, listeriosis, colibacilosis u otras enfermedades especialmente gastrointestinales Alais, (1986).

En los casos anteriores los microorganismos responsables pueden ser excretados con la leche de los animales infectados. La leche cruda puede contener peligros adicionales debido a la contaminación por bacterias patógenas, procedentes de fuentes externas o del medio ambiente.

Los diferentes microorganismos alcanzan la leche por dos vías principales: La vía mamaria y el medio externo Pinzón, (2004).

La vía Mamaria:

Los microorganismos que pueden alcanzar la ubre, igualmente pueden llegar a contaminar la leche antes o después del ordeño. Estos microorganismos pueden alcanzar la leche por vía mamaria ascendente o mamaria descendente.

Por vía ascendente lo hacen bacterias que se adhieren a la piel de la ubre y posterior al ordeño entran a través del esfínter del pezón (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, coliformes).

La vía descendente o hematológica la utilizan los microorganismos que pueden causar enfermedad sistémica o tienen la propiedad de movilizarse por la sangre y a través de los capilares mamaros llegar a infectar la ubre (*Salmonella*, *Brucella*, *Mycobacterium tuberculosis*) Pinzón, (2004).

El medio externo:

La contaminación de la leche puede ocurrir una vez que ésta ha sido extraída de la glándula mamaria. Los utensilios, tanques de almacenamiento, transportes e incluso el personal que manipula la leche, son fuentes de contaminación de microorganismos que utilizan esta vía, que en algunos casos son las más abundantes, causantes de grandes pérdidas en la calidad del producto Pinzón, (2004).

## **1.2. JUSTIFICACIÓN.**

La distribución de la leche cruda afecta la salud de los consumidores por ser un alimento de alto riesgo, ya que no puede cumplir con las condiciones adecuadas de conservación, procesamiento y expendio exigidas, que garanticen el consumo de un producto seguro a la población.

Con referencia a la salud pública, son claros los riesgos que trae el consumo de leche cruda, lo cual sumado a la inexistencia de mecanismos de control puede traer problemas de salud en la población. Pinzón, (2004).



Existe un grupo de bacterias que contaminan la leche, entre ellos los coliformes; formadoras de esporas, bacterias psicrótrofas, ácido láctico.

Los resultados permitirá tomar decisiones por parte de las autoridades con la finalidad de corregir la comercialización de leche contaminada, para garantizar la salud pública Alais, (1986).

El presente estudio podrá ser parte de los antecedentes bibliográficos científicos, para fines de consulta académico y de investigación, y ser utilizado por productores, estudiantes y profesionales involucrados en la protección de salud pública, y contribuir en la toma de decisiones por las autoridades involucradas en el control de alimentos Digesa y otros.

### **1.3. OBJETIVOS.**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la calidad higiénica de la leche bovina comercializada en los puestos ambulatorios del distrito de Tacna.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la carga microbiana de la leche bovina mediante el recuento de bacterias aerobios mesófilas, que se comercializa en los puestos ambulatorios del distrito de Tacna.
- Determinar la carga microbiana de la leche bovina mediante el recuento de bacterias coliformes totales, que se comercializa en los puestos ambulatorios del distrito de Tacna.

### **1.4. HIPÓTESIS**

#### **Hipótesis**

La contaminación microbiológica de la leche cruda en los puestos ambulatorios del distrito de Tacna por bacterias aerobias mesófilas totales es menor a  $1 \times 10^6$  ufc/ml y el de coliformes totales es menor a  $1 \times 10^3$  ufc/ml.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO.**

En Argentina, se reportó que el 31% de los análisis para el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales, fueron no aptos para el consumo humano, según la normativa argentina. Revelli y *col.* (2004).

En Popayan – Colombia, se reportó que el recuento total de bacterias aerobias mesófilas el 30% fueron no aptos (>700 000 ufc/ml) para el consumo según normativa colombiana. Pinzón (2006).

En la zona metropolitana de Morelia – México, se reportó que los resultados de los análisis bacteriológicos tanto para BMA (Bacterias Mesófilas Aerobias) y OC (Organismos Coliformes). Morelia tiene la más alta carga cercana al 69.35% (50 000 000 ufc/ml) y la más inferior se presenta en Uruétaro con el 30.65% (35 206 500 ufc/ml). Arrieta, (2011).

En Chile, se reportó un recuento de bacterias aerobias mesófilas totales con un rango de  $1.8 \times 10^3$  –  $9.1 \times 10^7$  ufc/ ml. Carrillo y col., (2004)

En Morelia Michoacan – Mexico, se reportó que el recuento de bacterias aerobias mesófilas fueron el 64.28% ( $13 \times 10^6$  ufc/ml) y para coliformes el 35% ( $5 \times 10^6$  ufc/ml). Chávez, (2012)

En Tacna – Perú, se reportó que para el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales un promedio de  $25 \times 10^4$  ufc/ml y para coliformes un promedio de  $6 \times 10^3$  ufc/ml. Calizaya, (2010).

## **2.2. BASE TEÓRICA.**

### **Leche**

Se puede definir a la leche como el líquido que segregan las glándulas mamarias de hembras sanas; esto es desde el punto de vista fisiológico, pues si se quiere un concepto desde el punto de vista comercial, se puede definir como el producto del ordeño higiénico efectuado en hembras de ganado lechero bien alimentado y en buen estado de salud, no debiendo contener calostro Amiot, (1995).

El Ministerio de Agricultura (2005) define a la leche, como un alimento primordial segregado por las glándulas mamarias de los mamíferos con la finalidad de nutrir las crías en su primera fase de vida.

También se puede definir como producto íntegro no alterado ni adulterado y sin calostros (primera leche de la vaca después del parto), del ordeño higiénico, regular y completo de las hembras mamíferas sanas y bien alimentadas. La leche se puede considerar el alimento más completo que existe.

La composición química de la leche de diferentes especies de animales es semejante, pero no igual. Todas ellas contienen los tres principios inmediatos: glúcidos, lípidos y prótidos, así como vitaminas y sales minerales.

Todos estos compuestos en perfecto equilibrio se van a romper si tiene lugar un crecimiento bacteriano. Haciendo una comparación entre leche de vaca, cabra y oveja y considerando a la de vaca como patrón, el contenido en azúcar (lactosa) es semejante en las tres especies; sin embargo, la leche de oveja posee el doble de grasas y de proteínas y la de cabra, es sólo un poco más rica en estos dos nutrientes que la de vaca.

**Tabla 1.** Composición de la leche según la especie (en %)

<b>Especie</b>	<b>Grasa</b>	<b>Proteína</b>	<b>Sólidos Totales</b>
Humana	3,75	1,63	12,57
Vacuna	3,70	3,50	12,80
Búfalo de agua	7,45	3,78	16,77
Cebú	4,97	3,18	13,45
Caprina	4,25	3,52	13,00
Ovina	7,90	5,23	19,29
Asnal	1,10	1,60	9,60
Caballar	1,70	2,10	10,50
Camélida	4,10	3,40	12,80
Reno	12,46	10,30	36,70

Fuente: Miralles de la Torre - A. Madrid (2005)

### **Norma Técnica Oficial de la leche en Perú**

Según Norma Técnica Peruana, INDECOPI.NTP 202.183.1998, define los distintos tipos de leche:

Leche: Es el producto íntegro de la secreción mamaria normal sin adición ni sustracción alguna y que ha sido obtenida mediante el ordeño.

Leche cruda entera: Es el producto íntegro no alterado ni adulterado del ordeño higiénico, regular y completo de vacas sanas y bien alimentadas, sin calostro y exento de color, olor, sabor y consistencia anormales y que no ha sido sometido a procesamiento o tratamiento alguno.

**Tabla 2.** Requisitos microbiológicos de la leche de vaca

<b>REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DE LA LECHE DE VACA</b>	
Conteo de células somáticas	Máx. 500 000 unidades por ml
Numeración de microorganismos mesófilos, aerobios y facultativos viables, por ml.	Máx. 1 000 000 ufc
Numeración de coliformes, por ml	Máx. 1 000 ufc

Fuente: NTP 202.183.1998

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



La leche como producto natural analizada contiene microorganismos, que deben ser estudiados por su utilidad y otros por la capacidad de alterar la composición y características organolépticas de la leche y derivados lácteos o por ser agentes causales de enfermedad en los consumidores en ella pueden encontrarse microorganismos de los diferentes grupos: bacterias, hongos (mohos y levaduras) y virus Juárez, (1985).

### **Calidad higiénica y microbiológica de la leche cruda**

La calidad higiénica esta relacionada con el contenido de bacterias y organismos patógenos en la leche y con la presencia de residuos de medicamentos que pueden afectar la salud humana.

En general, la leche es una sustancia que se contamina fácilmente, tanto al transportador como al industrial y al distribuidor, les corresponde conservarla y manipularla adecuadamente. Sólo en esta forma es posible entregar un producto inocuo.

## **Contaminantes de la leche**

La calidad de la leche puede determinarse por la existencia de diversos tipos de contaminantes.

A estos, los podemos dividir en dos grupos contaminantes químicos y contaminantes biológicos.

### **Contaminantes químicos**

Los que más frecuentemente son posibles de hallar en la leche derivan del medio que rodean a la leche en el mecanismo desde la ordeña a su proceso industrial. Es posible encontrar insecticidas (DDT, aldrin, dieldrin, heptacloruro, fenol), herbicidas, fungicidas, sustancias higienizantes (cloro, peróxido de hidrógeno, sustancias amoniacaes, etc.) y algunos antibióticos (penicilina, estreptomicina, clortetraciclina, etc.). Inco, (1990).

### **Contaminantes Biológicos**

Existe la posibilidad de que la leche sea presa de un gran número de agentes microbianos desde el momento de su producción, dependiendo en gran medida de las prácticas de higiene y sanidad observadas en el manipuleo durante la producción, transporte, proceso y venta. Inco, (1990).

Se pueden detectar en la leche los siguientes organismos:

**a. Bacterias:**

Pueden ser, según su morfología cocos (esféricos), bacilos (cilíndricos) y espirilos (en forma de espiral). Además se presentan agrupados como diplococos (2 cocos); estreptococos (cocos en cadena), estafilococos (unidos en forma irregular y en forma de racimos), tétradas (en grupos de cuatro).

**Bacterias que comúnmente contaminan la leche:**

- Coliformes.
- Formadoras de esporas.
- Bacterias psicrotrofas.
- Ácido láctico.

**b. Mohos:**

Presentan el aspecto de una masa algodonosa, filamentosa. Generalmente se nutren o tienen preferencia por la familia de los azúcares Alais, (1979).

### **Actividades contaminantes de los microorganismos:**

Los microorganismos, especialmente las bacterias y los hongos realizan distintas y complejas acciones químicas, en los que participan variados números de enzimas; es así que podemos hallar bacterias que se alimentan básicamente de las proteínas (actividad proteolítica), sobre las grasas (actividad lipolítica), o azúcares (actividad sacarolítica).

En la proteólisis, la acción de las enzimas proteolíticas y proteinazas provoca lo que se llama “coagulación dulce” de la leche, caracterizada por la formación de compuestos de reacción, en especial aminos, a la vez que se producen desprendimientos gaseosos dando a la leche un olor desagradable.

Las bacterias que más frecuentemente provocan esta coagulación son: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas viscosas*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus liquefaciens*.

Al actuar sobre las proteínas, la degradan dando compuestos como péptidos, aminoácidos, amino.

En la sacarólisis (actividad bioquímica sobre el azúcar de la leche) la lactosa se desarrolla en glucosa y galactosa, para luego por fermentación, producir ácido láctico Nieto, (1998).

Se produce también una coagulación que, a diferencia de la proteolítica, es de naturaleza ácida, provocando un cierto olor agradable por la formación de algunos gases como el diacetilo.

En los microorganismos responsables de coagulación ácida tenemos: *Streptococcus lactis* y *Streptococcus cremoris*, que forman fundamentalmente ácido láctico; en cambio la *Leuconostoc citrovarum*, aparte de ácido láctico forma otros compuestos tales como acetoina y diacetilo (que proceden del ácido cítrico presente en la leche).

Otro tipo de bacterias sacarolíticas son: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentis*, *Microbacterium lacticum*, *Micrococcus luteus*, y otros.

Por último, en las lipólisis, distintas bacterias y hongos provocan la descomposición de la grasa degradándola a glicerina y ácidos grasos.

Entre los microorganismos que inducen la lipólisis son: *Pseudomonas fluorescens*, *Achromobacter lipolyticum* los hongos *Candida lipolítica* (es una levadura) y *Penicillium sp.*

Otros tipos de bacterias pueden producir gases, como las coliformes y el *Clostridium butyricum*, que es una bacteria anaeróbica, cuyo efecto puede observarse en la maduración del queso al cual le ocasiona hinchamiento.

*Enterobacter aerogenes* provoca compuestos gomosos. Por último, las *Pseudomonas ichthyosmia* provoca un típico olor y sabor a pescado debido a la formación de trimetilamina que se genera por el ataque a la Lecitina. (Nieto, 1998).

### **c. Fuentes de contaminación externa:**

Los orígenes de la contaminación externa hay que buscarlos en el momento del ordeño, el medio ambiente, la limpieza del animal, limpieza y salud del personal que trabaja, limpieza de maquinas, equipos y utensilios utilizados y en la calidad del agua Sagarpa,(2005).

Es así como el aire por ejemplo, puede transportar bacterias del suelo en donde puede haber excrementos (que contaminan con bacterias tales como *Escherichia* y la *Salmonella*), restos de alimentos, pajas, etc. Por otro lado, si el animal no está limpio, es común encontrar en él diversas partículas contaminantes.

Si no se hace una limpieza profunda de maquinarias y utensilios que se usan en el proceso de la leche, es fácil tener contaminación, especialmente en ciertos ángulos y rugosidades de la misma, pues ahí es donde más fácilmente se desarrollan los microorganismos. Sagarpa, (2005).

También debería de controlarse la calidad del agua utilizada en las plantas de proceso, pues deben tener una baja cuenta microbiana y pocos cloruros, pues estos causan problemas en la elaboración de mantequilla y quesos. Sagarpa,(2005).

### **Recolección y conservación de la leche**

La leche, por ser un producto muy perecedero, fácilmente contaminable y muy sensible a altas temperaturas, sugiere especiales consideraciones en su recolección, transporte y fundamentalmente en el aspecto higiénico.

Una leche recién ordeñada (de vaca sana) sólo tiene una contaminación que puede variar entre 300 y 1500 bacterias por mililitro y es a partir de la ordeña cuando aumenta el recuento microbiano; a pesar de aumentar la presencia de los microorganismos, éstos no se desarrollan durante las primeras horas que siguen al ordeño, pues la leche fresca tiene un cierto poder bacteriostático que inhibe el desarrollo en ese lapso, dependiendo de la temperatura; así por ejemplo una leche muy limpia (1000 gérmenes por mililitro) a 20°C inhibe el desarrollo bacteriano de



10 a 15 horas, pero con leches muy contaminadas en las mismas condiciones puede no durar más que 2 o 3 horas. Pelayo,(1980).

De ahí la importancia de ciertos cuidados, desde el momento del ordeño, hasta la industrialización, teniendo en cuenta que hay microorganismos llamados psicrófilos que se desarrollan a bajas temperaturas preferentemente entre 2 y 15°C y los termófilos que crecen por arriba de los 40°C.

Teniendo en cuenta esto, y considerando que la temperatura de producción de la leche es de aproximadamente 37°C, se deduce que el mejor método para mantener por más tiempo la leche fresca es enfriarla y hacerlo a temperaturas inferiores a 10°C en las dos primeras horas y mantenerla en lo posible a estas temperaturas bajas hasta el momento de su tratamiento industrial. Pelayo,(1980).

Después de recibida, la leche es sometida a una serie de tratamientos que dependerán del destino final de la misma.

- **Enfriamiento:**

La leche, luego de su recepción, debe ser enfriada a temperaturas de alrededor de 4°C y almacenada a esta temperatura. Cabe mencionar que la leche que se utilizará para la elaboración de quesos, conviene enfriarla a alrededor de 10°C, pues temperaturas más bajas afectan el caseinato de calcio que es fundamental para producir quesos Nasanovsky y *col* (1997).

- **Tratamiento térmico (pasteurización)**

Cualquiera que sea el destino de la leche, debe ser sometida a un tratamiento térmico.

El objeto de este tratamiento es, en primer lugar, destruir los microorganismos que puedan ser causantes de enfermedades para el consumidor y en segundo término, disminuir el número de aquellos agentes microbianos que puedan afectar la calidad de la leche y sus productos.

Se puede conceptualizar la pasteurización como el tratamiento térmico por debajo del punto de ebullición y en tiempo mínimo, que permite destruir la mayoría de los agentes microbianos patógenos.

Se han estudiado distintas combinaciones de temperatura y tiempo para pasteurizar pero finalmente se han reducido a dos: pasteurización lenta o discontinua y pasteurización rápida o continua Nieto, (1998).

#### **Pasteurización lenta (LTLT):**

La pasteurización lenta (LTLT low temperature low time) consiste en calentar la leche a temperaturas entre 62 y 64°C y mantenerla a esta temperatura durante 30 minutos. Luego de los 30 minutos, la leche es enfriada a temperaturas entre 4 y 10°C según la conveniencia. El uso de esta técnica es adecuada para procesar cantidades pequeñas de leche hasta aproximadamente 2000 litros diarios, de lo contrario no se aconseja Nieto, (1998).

### **Pasteurización rápida (HTST):**

Llamada también pasteurización continua o bien (HTST High Temperature short time), se realiza en un intercambiador de calor de placas, este tratamiento consiste en aplicar a la leche una temperatura de 72–73°C en un tiempo de 15 a 20 segundos.

Las ventajas de la pasteurización HTST respecto a la LTLT son las siguientes:

- a) Procesar en forma continua grandes cantidades de leche.
- b) La automatización del proceso asegura una mejor pasteurización.
- c) Por ser de sistema cerrado se evitan contaminaciones.
- d) Rapidez del proceso.

En cuanto a las desventajas se pueden nombrar:

- a) No puede adaptarse al procesamiento de pequeñas cantidades.
- b) Las gomas que acoplan las placas son demasiado frágiles.
- c) Y es difícil el drenaje completo de la maquina Sánchez, (1992).

## **Determinación de la calidad microbiológica en la leche cruda**

Para el análisis de la leche cruda existen diferentes métodos que permiten medir de manera indirecta o directa su calidad sanitaria Pinzón,(2006).

### **- Método indirecto**

Se fundamenta en la modificación de algunas propiedades por parte de los microorganismos. Dentro de este grupo están la determinación del sedimento (lacto filtración), temperatura, pH, acidez titulable, lacto fermentación y las pruebas de reducción de colorantes (azul de metileno, resazurina) Pinzón,(2006).

### **- Recuento Estándar en Placa (REP): (Método directo)**

También conocido como recuento de aerobias mesófilas, es el análisis directo mayormente empleado para determinar la calidad microbiológica de la leche y otros alimentos.

El método consiste en hacer diluciones de la muestra y sembrar en placas de Petri con PCA (agar cuenta colonia); luego de 24 a 48 horas de incubación a  $37 \pm$  se cuentan las colonias observadas las cuales permiten obtener el número de unidades formadoras de colonias por mililitro o gramo de muestra (ufc/ml o ufc/g).

Los resultados obtenidos siempre son inferiores a los reportados con el recuento directo, ya que aquí solo intervienen microorganismos vivos capaces de formar colonias, además una colonia puede estar originada por uno o más de una unidad formadora de colonias Pinzón,(2006).

- **Coliformes Totales, Coliformes Fecales, Número más Probable (NMP):**

Su determinación puede hacerse en placas con agar rojo bilis cristal violeta (coliformes totales) o en tubos con caldo verde brillante (Brila), donde se puede observar la acumulación de gas.

Su presencia indica una deficiencia en la calidad higiénica de la leche Pinzón,(2006).

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. MATERIALES.**

##### **3.1.1. UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y TEMPORAL.**

El trabajo de investigación se realizó en la ciudad de Tacna en cinco mercados urbanos y las muestras se procesaron en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, entre los meses de marzo - julio del 2012.

La ciudad de Tacna se ubica entre las coordenadas geográficas de 16° 58´ y 18° 20´ de latitud sur, 69° 28´ y 71° 02´ de longitud oeste. Con una temperatura promedio de 12,5 a 23,4°C, una humedad de 72 a 80% y a una altitud de 562 msnm.

### **3.1.2. UNIDAD DE ESTUDIO.**

Para el presente estudio de investigación se utilizó como unidad de estudio la "Leche" fresca que se expende en los mercados de la ciudad de Tacna.

### **3.1.3. MATERIAL QUE SE UTILIZO.**

#### **Material de campo.**

Leche fresca de vaca

Bolsa de polietileno de primer uso.

Cooler

#### **Material de laboratorio.**

Autoclaves

Balanza analítica

Estufa de incubación a 37° C.

Mechero Bunsen

Refrigeradora



**Materiales de vidrio.**

Balones de vidrio de 100, 250, 500 ml.

Matraces de 500 ml.

Pipetas de 1, 5 y 10 ml.

Probetas de 25 y 50 ml.

Tubos de ensayo 13 X 100 mm.

**Medios de cultivo.**

Agua Peptonada Tamponada.

Petrifilm para bacterias mesófilas totales.

Petrifilm para bacterias coliformes totales

**Otros materiales.**

Asa de Kolle.

Bagueta.

Espátula.

Gradillas.

Papel de filtro.

### **Reactivos.**

Alcohol etílico de 70°.

Alcohol yodado.

Agua destilada.

## **3.2. MÉTODOS.**

### **3.2.1. TIPO DE ESTUDIO.**

Es de tipo descriptivo, porque no se manipulan variables, ni se utilizó ningún factor externo que cambie los resultados reales que se obtuvieron de las muestras recogidas.

### **3.2.2. MÉTODO DE LA DE INVESTIGACIÓN.**

La evaluación de la contaminación microbiológica por bacterias aerobias mesófilas totales se realizó mediante el método, “Recuento de aerobios en placa Petrifilm”, cuya información se recogió en número de ufc/ml.

Para la evaluación de la contaminación microbiológica por bacterias coliformes totales se realizó el método “Recuento de coliformes en placa Petrifilm”, cuya información se recogió en número de ufc/ml

### **3.2.3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.**

#### **PROCEDIMIENTO.**

##### **Muestreo**

Para determinar la contaminación microbiológica de la leche cruda, en el momento de la comercialización al consumidor, se tomaron muestras en cinco mercados del distrito de Tacna los cuales fueron: Mercado Central, Mercado dos de Mayo, Mercado Leoncio Prado, Mercado Grau, Mercado Bolognesi y se tomaron aleatoriamente 80 muestras de leche cruda.

##### **Toma de Muestra**

La zona urbana de Tacna, tiene cinco mercados, en las cuales existen varios puntos de ubicación de los comercializadores de leche cruda de las cuales se tomaran al azar.

Para recolectar las muestras de leche cruda se tomaron directamente de los cántaros o porongos que en forma minoritaria se vende a los consumidores, las muestras se tomaron en bolsas de polietileno de primer uso, en horas diferentes, para este caso, entre las 5:00 horas – 8:00 horas, en promedio de 250 a 300 ml de leche cruda por muestra.

### **Procesamiento en laboratorio.**

El análisis bacteriológico se realizó en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, utilizando Petrifilm 3M específicos para recuento de bacterias aerobios mesófilas totales, y Petrifilm 3M para el recuento de coliformes totales, la técnica consistió en:

- Hacer una dilución de 1:10 de la muestra.
- En un matraz de 200 ml se colocó 90 ml de agua peptonada, previamente esterilizada.
- Se pipeteó 10 ml de la leche muestreada y que se encontraba en una bolsa de polietileno de primer uso.
- Se mezcló y homogenizo la muestra
- Se tuvo en espera dos tubos de ensayo, con diluyente estéril de agua de peptona al 0.1%, cada uno de ellos con 9 ml se solución
- Una vez homogenizada la primera solución en el matraz se pipeteó 1 ml de esta y se colocó en uno de los tubos de ensayo, obteniendo de esta manera nuestra dilución  $10^{-2}$

- De la dilución  $10^{-2}$  se pipeteó 1 ml el cual se colocó en el siguiente tubo de ensayo, obteniendo de esta manera nuestra dilución  $10^{-3}$
- Esta dilución  $10^{-3}$  fue la se sembró en la placa petrifilm para recuento de aerobios mesófilas totales y para coliformes totales, inoculando 1 ml de esta.
- Se colocó la placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Se levantó la película superior.
- Con la pipeta de vidrio (10 ml), perpendicular a la placa petrifilm, se colocó 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Se liberó la película superior dejando que cubra la dilución. No se deslizó hacia abajo.
- Con el lado rugoso hacia abajo, se colocó el dispersor o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Se presionó suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No se giró ni deslizó el dispersor.

- Se levantó el dispersor o esparcidor. Se esperó por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y procedió a la inoculación.
- Se Incubó las placas cara arriba en grupos de no más de 20 Petrifilm.
- Al cabo de 24 horas de incubación se tomó lectura de dichas placas Petrifilm tanto para el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales como para las coliformes totales, la contabilización fue total de todas las colonias existentes en cada placa sin discriminarlas por el tamaño o forma de estas.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS**

**4.1** Carga microbiana de la leche cruda bovina mediante el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales que se comercializan en los puestos ambulatorios del distrito de Tacna.

En la tabla 3. Ofrecemos los resultados de la carga microbiana de la leche expendida en los puestos ambulatorios de los cinco mercados del cercado de Tacna. En la leche que se expende en el Mercado Leoncio Prado se observa un máximo  $20 \times 10^5$  ufc/ml unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml); Mercado dos de Mayo se obtuvo como resultado  $10 \times 10^5$  ufc/ml como máximo; en el Mercado Bolognesi,  $11 \times 10^5$  ufc/ml como máximo; en el Mercado Central,  $14 \times 10^5$  ufc/ml como máximo y en el Mercado Grau,  $98 \times 10^4$  ufc/ml como máximo.

De los resultados encontrados en los mercados del distrito de Tacna 12,50 % supera los valores de la Norma Técnica Peruana, por lo tanto, la leche se considero no apta para el consumo humano.

**Tabla 3.** Recuento de bacterias aerobios mesófilas totales que se comercializa en los puestos ambulatorios - Tacna

RECUESTO DE BACTERIAS AEROBIOS MESOFILAS														
Mercado Leoncio Prado			Mercado dos de mayo			Mercado Bolognesi			Mercado Central			Mercado Grau		
Nº	Código	Ufc/ml	Nº	Código	Ufc/ml	Nº	Código	Ufc/ml	Nº	Código	Ufc/ml	Nº	código	Ufc/ml
1	<b>MLP1</b>	<b>20 x 10<sup>5</sup></b>	17	MDM1	17 x 10 <sup>4</sup>	33	MB1	63 x 10 <sup>4</sup>	<b>49</b>	<b>MC1</b>	<b>12 x 10<sup>5</sup></b>	65	MG1	43 x 10 <sup>4</sup>
2	MLP2	25 x 10 <sup>4</sup>	18	MDM2	46 x 10 <sup>4</sup>	34	MB2	91 x 10 <sup>4</sup>	50	MC2	72 x 10 <sup>4</sup>	66	MG2	98 x 10 <sup>4</sup>
3	MLP3	78 x 10 <sup>4</sup>	19	MDM3	74 x 10 <sup>4</sup>	35	MB3	36 x 10 <sup>4</sup>	<b>51</b>	<b>MC3</b>	<b>14 x 10<sup>5</sup></b>	67	MG3	59 x 10 <sup>4</sup>
<b>4</b>	<b>MLP4</b>	<b>13 x 10<sup>5</sup></b>	<b>20</b>	<b>MDM4</b>	<b>10 x 10<sup>5</sup></b>	<b>36</b>	<b>MB4</b>	<b>11x 10<sup>5</sup></b>	52	MC4	51 x 10 <sup>4</sup>	68	MG4	37 x 10 <sup>4</sup>
5	MLP5	64 x 10 <sup>4</sup>	21	MDM5	77 x 10 <sup>3</sup>	37	MB5	40 x 10 <sup>4</sup>	53	MC5	55 x 10 <sup>4</sup>	69	MG5	98 x 10 <sup>4</sup>
<b>6</b>	<b>MLP6</b>	<b>12 x 10<sup>5</sup></b>	22	MDM6	58 x 10 <sup>4</sup>	38	MB6	42 x 10 <sup>4</sup>	54	MC6	27 x 10 <sup>4</sup>	70	MG6	17 x 10 <sup>4</sup>
7	<b>MLP7</b>	<b>12 x 10<sup>5</sup></b>	23	MDM7	56 x 10 <sup>4</sup>	39	MB7	21x 10 <sup>4</sup>	55	MC7	17 x 10 <sup>4</sup>	71	MG7	37 x 10 <sup>4</sup>
8	MLP8	58 x 10 <sup>4</sup>	24	MDM8	31 x 10 <sup>4</sup>	40	MB8	89 x 10 <sup>4</sup>	56	MC8	91 x 10 <sup>4</sup>	72	MG8	98 x 10 <sup>4</sup>
9	MLP9	96 x 10 <sup>4</sup>	25	MDM9	18 x 10 <sup>4</sup>	41	MB9	63 x 10 <sup>4</sup>	57	MC9	21 x 10 <sup>4</sup>	73	MG9	26 x 10 <sup>4</sup>
10	MLP10	43 x 10 <sup>3</sup>	26	MDM10	58 x 10 <sup>3</sup>	42	MB10	68 x 10 <sup>4</sup>	58	MC10	96 x 10 <sup>3</sup>	74	MG10	76 x 10 <sup>3</sup>
11	MLP11	15 x 10 <sup>4</sup>	27	MDM11	19 x 10 <sup>4</sup>	<b>43</b>	<b>MB11</b>	<b>10 x 10<sup>5</sup></b>	59	MC11	24 x 10 <sup>4</sup>	75	MG11	15 x 10 <sup>4</sup>
12	MLP12	39 x 10 <sup>4</sup>	28	MDM12	18 x 10 <sup>4</sup>	44	MB12	31 x 10 <sup>4</sup>	60	MC12	12 x 10 <sup>4</sup>	76	MG12	38 x 10 <sup>4</sup>
13	MLP13	64 x 10 <sup>4</sup>	29	MDM13	3 x 10 <sup>4</sup>	<b>45</b>	<b>MB13</b>	<b>11 x 10<sup>5</sup></b>	61	MC13	11 x 10 <sup>4</sup>	77	MG13	68 x 10 <sup>3</sup>
14	MLP14	95 x 10 <sup>4</sup>	30	MDM14	77 x 10 <sup>4</sup>	46	MB14	27 x 10 <sup>3</sup>	62	MC14	67 x 10 <sup>4</sup>	78	MG14	28 x 10 <sup>4</sup>
15	MLP15	62 x 10 <sup>4</sup>	31	MDM15	18 x 10 <sup>4</sup>	47	MB15	48 x 10 <sup>4</sup>	63	MC15	86 x 10 <sup>4</sup>	79	MG15	17 x 10 <sup>4</sup>
16	MLP16	98 x 10 <sup>3</sup>	32	MDM16	13 x 10 <sup>4</sup>	48	MB16	25 x 10 <sup>4</sup>	64	MC16	46 x 10 <sup>4</sup>	80	MG16	19 x 10 <sup>4</sup>

Fuente: elaboración propia



**Tabla 4. Porcentaje de bacterias aerobias mesófilas por puesto ambulatorio**

<b>Porcentaje de bacterias aerobias mesófilas por puesto ambulatorio</b>					
<b>Mercado</b>	<b>Nº</b>	<b>Positivo</b>	<b>%</b>	<b>Negativo</b>	<b>%</b>
Leoncio prado	16	4	5 %	12	25 %
Dos de Mayo	16	1	1,25 %	15	28,75 %
Bolognesi	16	3	3,75 %	13	16,25 %
Central	16	2	2,5 %	14	7,5 %
Grau	16	0	0 %	16	10 %
<b>Total</b>	<b>80</b>		<b>12,50 %</b>		<b>87,50 %</b>

Fuente: elaboración propia

En la tabla 4. se observa los porcentajes de bacterias aerobias mesófilas totales, encontradas en los puestos ambulatórios de los cinco mercados del distrito de Tacna. Se puede visualizar que en el mercado Leoncio Prado fue el de mayor número de muestras contaminadas (4:16) con el 5 %, seguido del mercado Bolognesi (3:16) con el 3,75 %, y el que no muestra contaminación alguna es el mercado Grau con 0%, también se observa el porcentaje general de contaminación de la leche, siendo de 12.50% de muestras positivas, los que sobrepasan el límite permisible para el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales según la norma técnica peruana.

#### 4.2. Carga microbiana de la leche cruda bovina mediante el recuento de coliformes totales que se comercializan en los puestos ambulatorios del distrito de Tacna.

En la tabla 5. se observa los resultados de la carga microbiana de la leche en el recuento de bacterias coliformes en los cinco mercados de la zona urbana así, en el Mercado Leoncio Prado se obtuvo como resultado  $29 \times 10^4$  unidades formadoras de colonias por mililitro (ufc/ml); en el Mercado dos de Mayo,  $24 \times 10^4$  ufc/ml como máximo; en el mercado Bolognesi,  $22 \times 10^4$  ufc/ml como máximo; en el Mercado Central,  $18 \times 10^4$  ufc/ml y en el Mercado Grau,  $24 \times 10^4$  ufc/ml como máximo.

De los resultados encontrados en los puestos ambulatorios de los cinco mercados del distrito de Tacna el 91,25 % supera los valores de la Norma Técnica Peruana por lo que la leche se considera no apta para el consumo humano.

**Tabla 5.** Recuento de coliformes totales que se comercializa en los puestos ambulatorios - Tacna

RECUESTO DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES														
Mercado Leoncio Prado			Mercado dos de mayo			Mercado Bolognesi			Mercado Central			Mercado Grau		
Nº	Código	ufc/ml	Nº	Código	ufc/ml	Nº	Código	ufc/ml	Nº	Código	ufc/ml	Nº	Código	ufc/ml
1	MLP1	29 x 10 <sup>4</sup>	17	MDM1	9 x 10 <sup>3</sup>	33	MB1	3 x 10 <sup>3</sup>	49	MC1	15 x 10 <sup>4</sup>	65	MG1	16 x 10 <sup>4</sup>
2	MLP2	14 x 10 <sup>3</sup>	18	MDM2	14 x 10 <sup>4</sup>	34	MB2	19 x 10 <sup>4</sup>	50	MC2	18 x 10 <sup>4</sup>	66	MG2	11 x 10 <sup>4</sup>
3	MLP3	11 x 10 <sup>4</sup>	19	MDM3	10 x 10 <sup>4</sup>	35	MB3	36 x 10 <sup>3</sup>	51	MC3	0	67	MG3	36 x 10 <sup>3</sup>
4	MLP4	21 x 10 <sup>4</sup>	20	MDM4	65 x 10 <sup>3</sup>	36	MB4	16 x 10 <sup>4</sup>	52	MC4	17 x 10 <sup>4</sup>	68	MG4	69 x 10 <sup>3</sup>
5	MLP5	55 x 10 <sup>3</sup>	21	MDM5	14 x 10 <sup>3</sup>	37	MB5	97 x 10 <sup>3</sup>	53	MC5	17 x 10 <sup>4</sup>	69	MG5	10 x 10 <sup>4</sup>
6	MLP6	69 x 10 <sup>3</sup>	22	MDM6	19 x 10 <sup>4</sup>	38	MB6	59 x 10 <sup>3</sup>	54	MC6	13 x 10 <sup>3</sup>	70	MG6	31 x 10 <sup>3</sup>
7	MLP7	58 x 10 <sup>3</sup>	23	MDM7	10 x 10 <sup>4</sup>	39	MB7	53 x 10 <sup>3</sup>	55	MC7	39 x 10 <sup>3</sup>	71	MG7	0
8	MLP8	44 x 10 <sup>3</sup>	24	MDM8	62 x 10 <sup>3</sup>	40	MB8	22 x 10 <sup>4</sup>	56	MC8	97 x 10 <sup>3</sup>	72	MG8	24 x 10 <sup>4</sup>
9	MLP9	0	25	MDM9	42 x 10 <sup>3</sup>	41	MB9	15 x 10 <sup>4</sup>	57	MC9	28 x 10 <sup>3</sup>	73	MG9	3 x 10 <sup>3</sup>
10	MLP10	0	26	MDM10	32 x 10 <sup>3</sup>	42	MB10	65 x 10 <sup>3</sup>	58	MC10	0	74	MG10	9 x 10 <sup>3</sup>
11	MLP11	12 x 10 <sup>3</sup>	27	MDM11	22 x 10 <sup>3</sup>	43	MB11	0	59	MC11	0	75	MG11	14 x 10 <sup>3</sup>
12	MLP12	82 x 10 <sup>3</sup>	28	MDM12	9 x 10 <sup>3</sup>	44	MB12	51 x 10 <sup>3</sup>	60	MC12	26 x 10 <sup>3</sup>	76	MG12	8 x 10 <sup>3</sup>
13	MLP13	15 x 10 <sup>4</sup>	29	MDM13	13 x 10 <sup>4</sup>	45	MB13	2 x 10 <sup>3</sup>	61	MC13	5 x 10 <sup>3</sup>	77	MG13	38 x 10 <sup>3</sup>
14	MLP14	28 x 10 <sup>3</sup>	30	MDM14	24 x 10 <sup>4</sup>	46	MB14	5 x 10 <sup>3</sup>	62	MC14	27 x 10 <sup>3</sup>	78	MG14	4 x 10 <sup>3</sup>
15	MLP15	10 x 10 <sup>4</sup>	31	MDM15	12 x 10 <sup>3</sup>	47	MB15	14 x 10 <sup>4</sup>	63	MC15	15 x 10 <sup>3</sup>	79	MG15	18 x 10 <sup>3</sup>
16	MLP16	1 x 10 <sup>3</sup>	32	MDM16	5 x 10 <sup>3</sup>	48	MB16	31 x 10 <sup>3</sup>	64	MC16	78 x 10 <sup>3</sup>	80	MG16	1 x 10 <sup>3</sup>

Fuente: elaboración propia

**Tabla 6. Porcentaje de bacterias coliformes totales por puestos ambulatorios**

<b>Porcentaje de bacterias coliformes totales por puesto ambulatorio</b>					
<b>Mercado</b>	<b>Nº</b>	<b>Positivo</b>	<b>%</b>	<b>Negativo</b>	<b>%</b>
Leoncio prado	16	13	25 %	3	5 %
Dos de Mayo	16	16	30 %	0	0 %
Bolognesi	16	15	18,75 %	1	1,25 %
Central	16	13	8,75 %	3	1,25 %
Grau	16	14	8,75 %	2	1,25 %
<b>Total</b>	<b>80</b>		<b>91,25 %</b>		<b>8,75 %</b>

Fuente: elaboración propia

En la tabla 6. se observa los porcentajes de bacterias coliformes totales encontradas en los puestos ambulatorios de los cinco mercados del distrito de Tacna que fueron muestreados. Se puede visualizar que el mercado dos de Mayo tuvo mayor número de muestras contaminadas (24:16) con 30%, seguido del mercado Leoncio Prado con un número de muestras de (20:16) con 25 % y el porcentaje general de contaminación de la leche es de 91,25% de muestras positivas, que sobrepasan el límite permisible para el recuento de bacterias coliformes totales según la norma técnica peruana, lo que nos dice que la leche se considera como no apta para el consumo humano.

## **CAPÍTULO V**

### **DISCUSIÓN**

Al realizar el recuento en placa Petrifilm 3M específico para bacterias aerobias mesofilas totales y bacterias coliformes totales de la leche del cercado de Tacna se obtuvo estos resultados: El 12,50% para bacterias aerobias mesofilas totales y el 91,25% para bacterias coliformes totales sobrepasaron los límites permisibles por la Norma Técnica Peruana 202.183.1998 siendo, de este modo, no apto para el consumo humano por el alto grado de contaminación.

Estudios realizados en Argentina, reportaron que el 31% del recuento de bacterias aerobias mesófilas totales fueron no aptos para el consumo humano, según la Norma Técnica Argentina ( $1 \times 10^5$  ufc/ml). Revelli y *col.* (2004). En Popayan – Colombia, se reportó el 30% para el recuento total de bacterias aerobias mesófilas no aptos para el consumo humano, según la Norma Técnica Colombiana ( $7 \times 10^5$  ufc/ml). Pinzon,(2006). En la zona metropolitana de Morelia – México se reportó que los resultados

tanto para BMA (Bacterias Mesófilas Aerobias) y OC (Organismos Coliformes) tuvieron una elevada carga microbiana, correspondiente a 69.35% ( $50 \times 10^6$  ufc/ml) y la inferior se presentó en Uruétaro con el 30,65% ( $35 \times 10^6$  ufc/ml) siendo la leche no apta para el consumo, según Norma Técnica Mexicana ( $1 \times 10^6$  ufc/ml). Arrieta,(2011). En Morelia Michoacan – Mexico, se reportó el recuento de bacterias aerobias mesófilas el 64,28% ( $13 \times 10^6$  ufc/ml) y para coliformes el 35% ( $5 \times 10^6$  ufc/ml) siendo no apta para el consumo, según Norma Técnica Mexicana ( $1 \times 10^6$  ufc/ml) para bacterias aerobias mesofilas totales y ( $1 \times 10^2$  ufc/ml) para bacterias coliformes totales. Chávez, (2012). Se reportó para Chile el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales el  $9,1 \times 10^7$  ufc/ ml. Y para coliformes un rango el  $11 \times 10^3$  ufc/ml. Siendo la leche no apta para el consumo, según Norma Técnica Chilena ( $5 \times 10^5$  ufc/ml). Carrillo y col., (2004). En Tacna – Perú, se obtuvo para el recuento de bacterias aerobias mesófilas totales un promedio de  $25 \times 10^4$  ufc/ml y para el recuento de coliformes un promedio de  $6 \times 10^3$  ufc/ml, siendo no apto para el consumo por el alto contenido de coliformes totales, según Norma Técnica Peruana ( $1 \times 10^6$  ufc/ml) para bacterias aerobias mesofilas y ( $1 \times 10^3$ ) para bacterias coliformes totales. Calizaya (2010).

Del análisis de los resultados reportados por los diferentes autores coinciden que la leche no es apto para el consumo humano, corroborando con los resultados de nuestro estudio que la leche no es apta para el consumo según la Norma Técnica Peruana 202.183.1998 el valor máximo permisible para el recuento de aerobios mesófilos es de  $1 \times 10^6$  ufc/ml, observando los resultados obtenidos se puede observar que estos valores se encuentran dentro del límite aceptable para este producto.

Estas diferencias de resultados encontrados por otros investigadores, y comparativamente con los resultados obtenidos en nuestro estudio pueden deberse a diferentes factores como la temperatura a la que está expuesta la leche, el tiempo de permanencia del producto en los mercados (promedio de 3 a 4 horas), el manejo inadecuado de la leche en la obtención y la recepción; lo mismo puede decirse del transporte y de la propia comercialización, en la que se pudo notar que muchas veces los comerciantes de este producto tienen contacto con sus manos; los utensilios que se usan para este producto.

Todos estos factores pueden favorecer el crecimiento bacteriano y la contaminación de la leche, el cual puede llegar al consumidor con una alta carga bacteriana, que puede ocasionar enfermedades gastrointestinales, por razones que dentro de las bacterias aerobias mesófilas totales y coliformes totales se encuentran un gran número de agentes patógenos como *Salmonella spp*, *Shigella spp*; *E. coli*, etc. que pueden causar diferentes enfermedades que incapacita temporalmente o incluso producir la muerte en individuos inmunosuprimidos; asimismo el tiempo de vida útil de este producto se vería muy reducida, es por ellos la importancia de conocer la calidad e inocuidad de la leche, para una buena salud pública.

Según la Norma Técnica Peruana 202.183.1998 para el recuento de bacterias coliformes totales admite valores de  $1 \times 10^3$  ufc/ml; en el desarrollo del presente trabajo de investigación, 91,25% de las muestras analizadas sobrepasaron los límites permisibles, en consecuencia no son aptas para el consumo humano. Estos valores encontrados son similares a los obtenidos por otros autores como Calizaya,(2010), Carrillo y col, (2004), Chávez,(2012).



Las bacterias coliformes en la leche nos indica que el producto tiene bacterias que viven en el enteron como *Salmonella* y *E. coli* o que pueda haberse introducido otras líquidos, como por ejemplo agua de acequias o ríos que pueda permitir a los comerciantes incrementar el volumen de este producto y obtener más ganancias, sin tener en cuenta el posible riesgo microbiológico que puede representar la leche por la presencia de estos microorganismos.

## 5.1. CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

### Toma de decisión.

Se rechaza la hipótesis nula porque los valores sometidos a la prueba de chi - cuadrada dieron un nivel de significancia mayor a 0,05 por lo tanto las bacterias aerobias mesofilas totales y coliformes totales no están dentro del limite permisible que es para bacteria aerobias mesofilas totales  $1 \times 10^6$  ufc/ml y para bacterias coliformes totales  $1 \times 10^3$  ufc/ml.

El resultado en el siguiente trabajo de investigación es de  $20 \times 10^5$  ufc/ml y para bacterias coliformes totales  $29 \times 10^4$  ufc/ml.

## **CAPÍTULO VI**

### **CONCLUSIONES**

1. La calidad higiénica de la leche bovina comercializada en los puestos ambulatorios del distrito de Tacna, fue no apta para el consumo humano por la elevada carga microbiana,
2. La carga microbiana de bacterias aerobias mesofilas de la leche en los distintos puestos ambulatorios del distrito de Tacna fue 12,50% no apta para el consumo humano, porque sobrepasa el límite permisible por la Norma Técnica Peruana ( $1 \times 10^6$  ufc/ml).
3. Los resultados de la carga microbiana de la leche en el recuento de bacterias coliformes en los distintos puestos ambulatorios del distrito de Tacna sobrepasa los límites permitidos por la Norma técnica Peruana ( $1 \times 10^3$  ufc/ml) en un 91,25% siendo la leche no apta para el consumo.

El recuento realizado en la leche del distrito de Tacna tanto para bacterias aerobias mesofilas totales como para coliformes totales es inapto ya que el producto analizado tiene un 91,25% de contaminación y que su consumo ocasionaría enfermedades gastrointestinales a sus consumidores atentando contra la salud publica.

## **CAPÍTULO VII**

### **RECOMENDACIONES.**

1. Se recomienda realizar análisis microbiológicos en los materiales de uso de transporte de leche.
  
2. Se recomienda realizar análisis microbiológico de los equipos y materiales utilizados en el ordeño.
  
3. Se recomienda realizar programas de capacitación sobre limpieza e higiene del proceso de ordeño y transporte de la leche a las personas que expenden este producto.
  
4. Que la toma de muestra se realice al inicio de la venta y otra del mismo vendedor casi al final de su venta, para conocer como es que se incrementa la carga microbiana con el tiempo y temperatura ambiental.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. ALAIS CH. (1986). Ciencia de la leche. Trad. por Antonio Lacasa G. 6 ed. México. Continental.
2. AMIOT J. (1995). Ciencia y Tecnología de la leche. Editorial Acriba, S: A Zaragoza España
3. ARRIETA M. L. (2011). Evaluación microbiológica de la leche y los productos lácteos producidos en cuatro expendios de la zona metropolitana de Morelia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tesis para obtener el título de médico veterinario zootecnista.
4. CALIZAYA (2010); Influencia del uso de las aguas residuales en la producción lechera del sector Copare – La Yarada, Tacna – 2010.
5. CARRILLO L.B. GONZÁLEZ M.M. SCHÖBITZ T, R. MOLINA CL. BRITO C.C. (2004). Niveles de contaminación microbiológica en equipos de recepción y almacenamiento de leche, en centros de acopio de la provincia de Valdivia. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Escuela de Ingeniería en Alimentos. Universidad Austral de Chile.
6. DEMETER,K.(1999).Lactobacteriología. Editorial Acribia. Zaragoza. España.

7. CHAVEZ (2012); Estudio exploratorio del efecto de la adición del Nopal (*opuntía – ficus – indica*) a la leche cruda sobre las cuentas bacterianas mesofilas aerobias y coliformes.
8. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2000. Bartra Felix, Percy García, Myriam Guillermina. Definición de la leche (en línea). Consultado 18 ene. 2012. Disponible en <http://www.fao.org/ag/agL/agll/rla128/leche/unas10/unas10-45.htm>
9. FUNDACIÓN PARA LA INNOVACIÓN AGRARIA. (2000). Elaboración de productos con leche de vaca. Ministerio de Agricultura. Santiago, Chile.
10. GARCÉS R., BRITO C., CABELLO, M., ORELLANA A., BRANDL. E. Y LÓPEZ J.L. (2005). Determinación de la calidad microbiológica de la leche cruda y del queso artesanal elaborado en una cooperativa de campesinas en una zona del centro-sur de Chile. Revista de tecnología e higiene de los alimentos 366: 62-69.
11. INCO (1990). Reporte especial sobre quesos. Revista del Consumidor. No 159, mayo de 1990. México
12. JAY JM. Microbiología moderna de los alimentos. 3ed Acribia. Zaragoza, España; (1994).
13. JUAREZ, M. (1985). Composición y factores de variabilidad de la leche. Revista alimentación, equipo y tecnología.

14. LADEULINA, F. F. (2002). HACCP y Análisis de Riesgos como objetivos de la inocuidad de los Alimentos. Centro Nacional de Higiene de los Alimentos. Congreso Panamericano de Ciencias veterinarias.
15. LERCHE; M. (1999). Inspeccion Veterinaria de la Leche. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
16. MAGARIÑOS H. (2000). Contaminación de la leche. En: Producción higiénica de la leche cruda. Una guía para la pequeña y mediana empresa. 1ª ed. Guatemala,
17. MINAG (Ministerio de Agricultura) 2007 (en línea). Consultado 28 set. 2008. Disponible en:  
[http://www.portalagrario.gob.pe/seg\\_alimentaria/seg\\_cap4tml](http://www.portalagrario.gob.pe/seg_alimentaria/seg_cap4tml)
18. MINISTERIO DE AGRICULTURA (2005). Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. Dirección general de promoción agraria. Dirección de crianzas
19. NASANOVSKY, GARIJO M. R., KIMMICH, R. C, Haro A. Lechería. 1997. instituto de nutrición y tecnología de los alimentos. Universidad de Granada 2004.
20. NIETO G.I. (1998). "Rendimiento del queso Oaxaca. Efecto de la acidez y la materia grasa de la leche". Tesis profesional. Ingeniería Agroindustrial, UACH. Chapingo. México

21. NORMA TECNICA PERUANA (202.183.1998). Leche y productos lácteos. Leche cruda, recuento de bacterias y coliformes. Métodos de la película rehidratable seca. Placa para recuento de aerobios petrifilm y placa para recuento de coliformes petrifilm.
22. OIE. (2004).Informe de la Tercera Reunión del grupo de Trabajo de la OIE sobre Seguridad Sanitaria de los Alimentos derivados de la Producción Animal. Paris. Francia.
23. OPS/OMS. (2001). Guía de Sistemas de vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos y la investigación de Brotes. Buenos Aires. 70p.
24. PELAYO A. (1980). Leche refrigerada vs leche enfriada. Industrias lácteas
25. PINZON F. (2006). Determinación del índice de bacterias mesófilas aerobias presentes en la leche cruda versus leche pasteurizada que se comercializan en la zona urbana de la ciudad de Popayan. Universidad Nacional abierta y a distancia Facultad de Ciencias Agrarias y Zootecnia. Popayán 2006
26. PINZON F.(2004). Montaje de una Planta piloto para la producción y comercialización de leche pasteurizada en empaque biodegradable en la meseta de Popayán. Trabajo para optar el título de Tecnólogo en Producción Animal.UNAD.2004.



27. REVELLI G.R. SBODIO O.A. TERCERO E.J. (2004). Recuento de bacterias totales en leche cruda de tambos que caracterizan la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. Revista Argentina de Microbiología (2004) 36: 145-149. ISSN 0325-7541
28. SAGARPA/SIAP. (2005). Boletín Leche, julio-diciembre 2005
29. SANCHEZ, C. (1992). Recopilación de esquemas tecnológicos básicos de elaboración de quesos. Folleto del curso "Tecnología de procesamiento de leche, carne y cueros en ovinos, caprinos y bovinos". ISBN980-318-0363.
30. VERNAM A. H. Y SUTHERLAND J. P. (1994) Leche y productos lácteos. Editorial Acribia S.A Zaragoza España.