

Capítulo 2

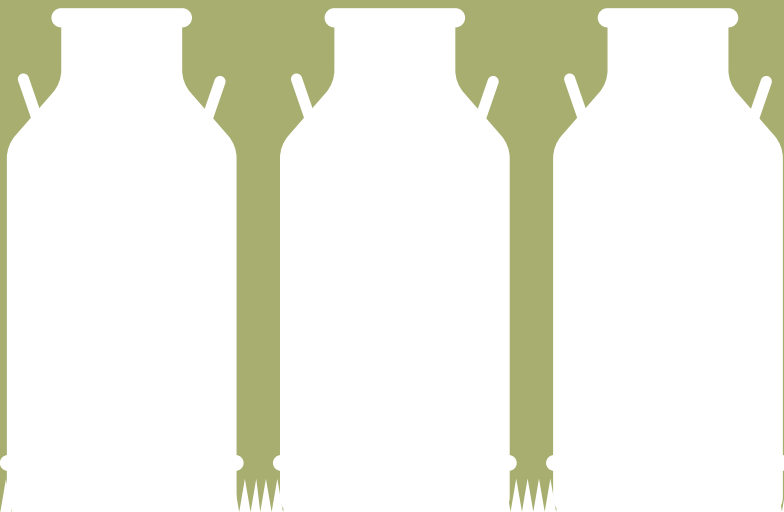
Procedimientos operativos estándar

Los procedimientos operativos estándar (POE) son documentos que describen prácticas y métodos estandarizados para realizar una tarea. Los POE recopilados en este manual presentan los pasos para hacer pruebas rápidas de evaluación de la calidad de la leche cruda.

La persona encargada de ejecutar los POE debe leerlos cuidadosamente y seguir al pie de la letra las indicaciones, para que luego realice pruebas de ensayo y error. Por ningún motivo deberá utilizar muestras reales antes de haber practicado varias veces la ejecución del POE.

Si al realizar la lectura de los POE surgen inquietudes o preguntas derivadas del proceso descrito, se recomienda consultar con un extensionista o personal técnico entrenado y con experiencia en el desarrollo de las pruebas.

El siguiente manual está dividido en dos partes. Primero encontrará información para realizar correctamente las tomas de muestras en tanques de enfriamiento, cantinas y animales, así como la utilidad de cada una de estas muestras. En la segunda parte se describen los pasos de realización de los POE de pruebas de calidad de leche. Cada POE incluye una contextualización de la prueba, definiciones importantes, listas de reactivos, materiales y equipos necesarios, así como guías de interpretación de resultados.





Procedimientos
operativos
estándar para
toma de muestras



POE n.º 1. Toma de muestras de leche cruda en cantina

Objetivo. Determinar el proceso de toma de muestras de leche cruda en cantinas.

Alcance. Este procedimiento aplica para las muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad de los asociados, o muestras de seguimiento individual.

Contextualización. El análisis de calidad de la leche cruda es fundamental para tomar decisiones sobre buenas prácticas de producción y permite conocer la calidad del producto, sus dividendos y rentabilidad.

Los resultados del análisis de las muestras de leche dependen de la rigurosidad de la toma de muestras. Este POE brinda información y elementos para que este proceso sea exitoso y contribuya a la producción de leche de calidad.

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar el desarrollo del proceso.
- Contar con los implementos de toma de muestra limpios y desinfectados.

Fotos: Mónica Páramo

Proceso de colecta y toma

Materiales:

Véase el anexo n.º 1 de la guía.



1. Identifique el número de cantinas de las cuales se tomarán las muestras.



2. Homogeneice la leche contenida en cada una de las cantinas antes de realizar el muestreo, procure que no se forme espuma en la parte superior.



3. Después de homogeneizar la leche, tome una muestra representativa (dos cucharadas) de cada cantina y deposítela en un recipiente. Repita este proceso por cada cantina que componga la muestra.



4. Mezcle la leche colectada en el recipiente que contiene la muestra de cada una de las cantinas seleccionadas. Recuerde evitar la formación de espuma.



5. Tome la muestra asegurándose de que el frasco es abierto solo en el momento de toma de la muestra de leche. Tape el frasco y homogeneice la leche.



6. Asegúrese de que el frasco está bien cerrado y sin fugas. Marque el frasco con la identificación asignada.

Transporte: si las muestras hacen parte de una ruta delimitada por la asociación, el conductor de la ruta debe transportar las muestras evitando que se derramen, calienten o batan en exceso.

Una correcta toma de muestra:

- Refleja las características composicionales de la leche.
- Refleja las características de manipulación de la leche durante y después del ordeño.
- Asegura que los resultados reflejen las características de calidad de leche.
- Ayuda a que los resultados sean confiables.
- Es un indicador de las buenas prácticas en la finca.

POE n.º 2. Toma de muestras de cultivo bacteriológico de leche

Objetivo. Establecer de manera clara el proceso de toma de muestras de leche para realizar cultivos bacteriológicos en caso de mastitis.

Alcance. Este procedimiento aplica para las muestras de leche que serán analizadas por un laboratorio especializado con el fin de determinar el agente causante de mastitis.

Contextualización. Este POE describe los pasos para la toma de muestras de leche para realizar cultivos bacteriológicos cuando haya sospechas de mastitis. Este proceso debe realizarse con el acompañamiento de un médico veterinario para determinar cuál es la causa de la mastitis y cómo tratarla.

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar el desarrollo del proceso.
- Tener los implementos de toma de la muestra limpios y desinfectados.
- Contar con guantes desechables de látex.

Fotos: Mónica Páramo

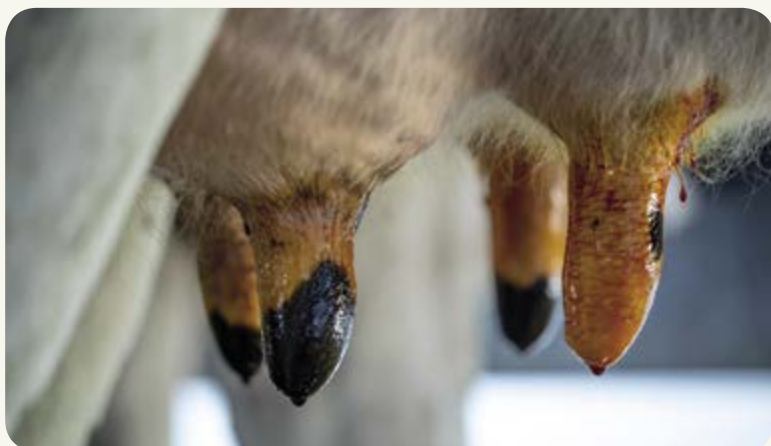
Proceso de colecta y toma de muestras

Materiales:

Véase el anexo n.º 1 de la guía.



1. Observe cuidadosamente si las ubres están inflamadas o enrojecidas.



2. Palpe e inspeccione los cuartos, determine si están calientes. Compare distintos cuartos. Determine cuál de los cuartos requiere muestreo, puede ser uno o los cuatro.



3. Realice el despunte tradicional, descarte los tres primeros chorros.



4. Desinfecte los cuartos elegidos para la muestra de manera separada, asegurándose de mantenerlos en la solución de yodo de 20 a 30 segundos.



5. Seque cada uno de los cuartos desinfectados con un papel toalla nuevo y verifique que el pezón esté seco y vuelva a desinfectar la punta con un algodón humedecido con alcohol antiséptico, use un algodón nuevo por cada pezón.



6. Tome la muestra asegurándose de que el frasco es abierto solo en el momento de toma. La leche debe caer directamente sobre el tarro. Ordeñe cinco veces.



7. Cierre el frasco de toma de muestra, márkelo de manera tal que le permita identificar el cuarto muestreado y la vaca. Refrigerere y envíe al laboratorio inmediatamente.

Una toma de muestra correcta: asegura que los resultados aporten a un correcto diagnóstico de la mastitis.

Recuerde que es necesario que todo el proceso se lleve a cabo en máximas condiciones de asepsia. Las condiciones del ambiente pueden contaminar la muestra, lo cual resulta en un diagnóstico errado. Tenga presente que los resultados siempre deben ser revisados con un médico veterinario.



POE n.º 3. Toma de muestras de leche cruda en tanque

Objetivo. Establecer de manera clara el proceso de toma de muestras de leche cruda en tanque.

Alcance. Este procedimiento aplica para las muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad de los asociados, o muestras de seguimiento individual.

Contextualización. Este POE ofrece los pasos de toma de muestra de leche cruda en tanque para que sea exitosa y refleje la calidad de la leche producida.

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar la toma de la muestra.
- Tener los implementos de toma limpios y desinfectados.

Fotos: Mónica Páramo

Proceso de colecta y toma de muestras

Materiales:

Véase el anexo n.º 1 de la guía.



1. Encienda el agitador del tanque de enfriamiento de 5 a 10 minutos antes de la toma de muestra.



2. Colecte de la parte media del tanque una muestra representativa de leche, evite tomar espuma. Nunca tome la muestra de la llave del agitador.



3. Tome la muestra asegurándose de que el frasco es abierto solo en el momento de toma de la muestra. Tape el frasco y homogeneice la leche.



4. Identifique cada una de las muestras colectadas teniendo en cuenta que esta identificación brinde toda la información relevante de la muestra.



5. Conserve las muestras en nevera o cava en un rango de temperatura entre 2 y 6 °C, hasta su análisis. Si la muestra será enviada a un laboratorio especializado, asegúrese de ubicar la muestra de manera que no se derrame. Ubique las pilas refrigerantes o el hielo alrededor de la cava de transporte rodeando la muestra.

Una toma de muestra correcta:

- Refleja las características composicionales de la leche.
- Refleja las características de manipulación de la leche durante el transporte de la leche al lugar de acopio.
- Asegura que los resultados reflejen las características de calidad de leche.
- Ayuda a que los resultados sean confiables.
- Es un indicador de las buenas prácticas en las asociaciones.





Procedimientos
operativos estándar
para pruebas rápidas
de laboratorio



POE n.º 4. Prueba de alcohol

Objetivo. Determinar la calidad de la leche que ingresa a la asociación por medio de la prueba de alcohol.

Alcance. Este procedimiento se utiliza para contar con muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad en una asociación. Permite identificar la calidad de la leche de cada asociado o hacer muestras de seguimiento individual.

Contextualización. La prueba de alcohol es usada para la detección de leches ácidas, producto de la actividad de bacterias. Es un indicador clave de la calidad de la leche cruda. La evaluación de esta prueba se fundamenta en la relación directa entre la cantidad de ácido producido por el crecimiento de las bacterias en la leche, que es inverso a su pH.

A mayor acidez la estabilidad de la proteína disminuye y se produce la coagulación cuando se mezcla en partes iguales con alcohol etílico al 72%. Si se identifican coágulos o partículas de leche, esta se clasifica como positiva a la prueba de alcohol, es decir que no es apta para su comercialización.

Definiciones

Proteína: es una sustancia química compleja que se encuentra en la leche y otros alimentos. El principal componente de la proteína de la leche es la caseína, que es un nutriente importante y relevante en su industrialización debido a que aumenta el rendimiento del queso y mejora el sabor de la leche.

Abreviaturas

mL: mililitro (unidad para medir volumen)

°C: grados Celsius (unidad de temperatura)

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra.

Materiales y equipos

- Equipos: pipeta, micropipeta (elemento para medir volumen)
- Materiales de laboratorio: gradilla o soporte para tubo de ensayo, tubos de ensayo
- Soluciones de laboratorio: alcohol al 72 %
- Tubos de ensayo o caja de petri



1. Disponga de todos los elementos necesarios en el mesón del laboratorio o área destinada para el procesamiento de las muestras.



2. Agregue 2 mL de muestra de leche a la caja de Petri o tubo de ensayo.



3. Mezcle con 2 mL de alcohol al 72 % o etílico.



4. Mezcle suavemente el alcohol con la leche con movimientos circulares. Si realiza el proceso en tubo de ensayo asegúrese que está bien tapado.



5. Observe el grumo en la leche o las partículas pegadas en las paredes de la caja de Petri o tubo de ensayo.
Prueba positiva: pueden verse grumos o partículas pegadas en las paredes de la caja de Petri o tubo de ensayo. Esto quiere decir que la leche no es apta para comercialización.



6. Prueba negativa: no hay muestras visibles de grumos o partículas pegadas en las paredes del tubo de ensayo. Esto quiere decir que la leche es apta para comercialización.

POE n.º 5. Pruebas organolépticas

Objetivo. Determinar la calidad de la leche que ingresa a la asociación por medio de la prueba organoléptica sensitiva.

Alcance. Este procedimiento se utiliza para contar con las muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad en una asociación. Permite identificar la calidad de la leche de cada asociado o hacer muestras de seguimiento individual.

Contextualización. Las pruebas organolépticas detectan rápidamente leche de baja calidad en el punto de recolección o en el acopio de leche. El clasificador o persona que realice esta prueba debe tener bien desarrollado el sentido de la vista, el olfato y el gusto, así como también debe tener experiencia en la identificación sensible de características de la leche.

Abreviaturas

mL: mililitro (unidad para medir el volumen)

°C: grados Celsius (unidad para medir la temperatura)

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra ni hervirla.

Descripción

Para realizar la prueba no es necesario un equipamiento de laboratorio. Se recomienda realizarla en una zona con buena iluminación y alejada de aromas fuertes como gasolina, alcohol o similares.

Materiales y equipos

- Equipos: no son necesarios
- Materiales de laboratorio: no son necesarios
- Soluciones de laboratorio: no son necesarios

Fotos: Franklin Barrios

1. Apariencia de la leche



El color de la leche debe ser ligeramente blanco cremoso. Un color diferente puede indicar que la leche es inadecuada para el procesamiento.

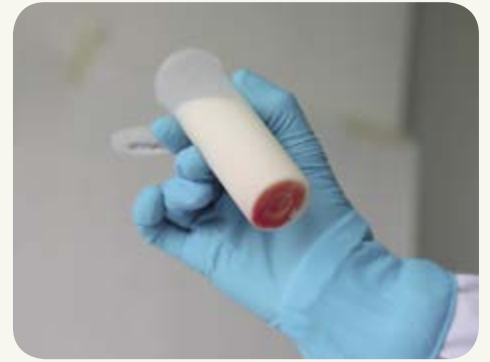
Para juzgar la apariencia de la leche, retire la tapa del recipiente contenedor y observe la apariencia de la superficie y la tapa. Tenga en cuenta cualquier anomalía como color amarillo, rosado o azulado de la leche, suciedad y partículas visibles, cambios de viscosidad, etc.



a) La suciedad e impurezas visibles pueden indicar que la leche se produce en condiciones antihigiénicas.



b) La leche amarilla puede indicar pus o calostro.



c) La leche rojiza podría indicar que hay sangre en la leche.



d) Un color azul fino y una apariencia delgada y acuosa pueden indicar agua añadida o descremada (remoción de grasa).



e) Los coágulos grandes pueden indicar leche agria o leche de mastitis.



f) Los coágulos pequeños o granos blancos pueden indicar leche con harina o leche descremada en polvo.

2. Olores y sabores



Un mal olor o sabor de la leche puede ser causado por el crecimiento de bacterias, por reacciones químicas o por otros sabores absorbidos por la leche. Evaluar la leche por su sabor y olor requiere una experiencia considerable que solo puede ser adquirida por la práctica.

a) Los ácidos son fácilmente detectados por el olfato y el gusto. El olor es causado por el crecimiento de bacterias productoras de ácido láctico.

b) Los olores rancios y amargos son causados por la lipólisis (deterioro) de la grasa.

c) Otros olores a medicamentos, desinfectantes, jabones, ajo, cebolla.

Interpretación: teniendo en cuenta que estas pruebas dependen de la evaluación sensorial de la persona que las realiza, el criterio de aceptación o rechazo depende del concepto del evaluador.

POE n.º 6. Determinación de Índice de refracción

Objetivo. Comprobar, mediante el uso de un refractómetro, la pureza de la leche teniendo en cuenta que ciertos aditivos como el agua alteran la refracción de la luz.

Alcance. Este procedimiento se utiliza para contar con las muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad en una asociación. Permite identificar la calidad de la leche de cada asociado o hacer muestras de seguimiento individual.

Contextualización. El índice de refracción es una propiedad aditiva de la leche. El aumento del índice de refracción en la leche es la suma de los aumentos debidos a cada uno de sus componentes. Esto significa que entre más sustancias se adicionen a la leche mayor será el índice de refracción.

Definiciones

Refractómetro: instrumento óptico preciso que basa su funcionamiento en el análisis de la refracción de la luz.

Índice de refracción: propiedad óptica de la leche caracterizada por los componentes que posee.

Abreviaturas

mL: mililitro (unidad para medir el volumen)

°C: grados Celsius (unidad para medir la temperatura)

Condiciones generales

- Contar con los materiales necesarios para la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra.
- Realizar el análisis a la temperatura indicada por el refractómetro (si lo requiere).

Materiales y equipos

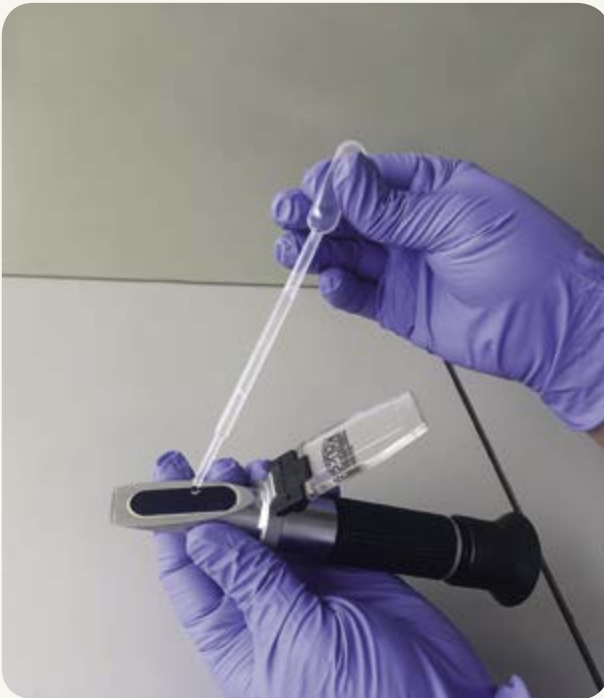
- Equipos: refractómetro lácteo
- Materiales de laboratorio: pipeta, micropipeta o pipeta Pasteur
- Soluciones de laboratorio: alcohol al 70 %



1. Disponga de todos los elementos necesarios en el mesón del laboratorio o área destinada para el procesamiento de las muestras.



2. Tome 2 mL de agua destilada con la pipeta Pasteur.



3. Levante el cubreobjetos y dispense una gota de agua en el prisma del refractómetro, luego baje el cubreobjetos y espere hasta verificar que la muestra se haya extendido por el área del prisma.



4. Enfoque el lente y lea por el ocular los resultados.



5. Si la línea azul coincide con el 0 de la escala, calibre el refractómetro girando el tornillo de la parte superior hasta que la línea coincida con el 0.



6. Limpie el prisma del refractómetro con alcohol al 70% y un paño suave.



7. Mezcle la muestra antes de abrirla y tome la alícuota necesaria.



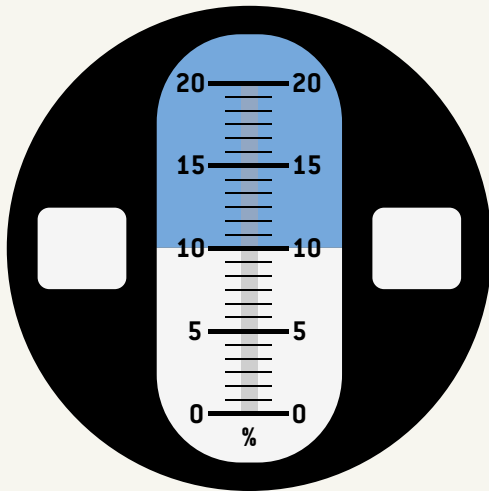
8. Tome aproximadamente 2 mL de muestra de leche con la pipeta Pasteur.



9. Levante el cubreobjetos y adicione una gota de la muestra en el prisma del refractómetro, nuevamente desplace el cubreobjetos hacia abajo.



10. Espere hasta verificar que la muestra se ha extendido por el área del prisma



11. Enfoque el lente y lea por el ocular los resultados.



12. Finalmente, limpie el prisma del refractómetro con alcohol al 70% y un paño suave.

Interpretación: Esta prueba es útil para la cadena de valor láctea pues ayuda a inferir la concentración composicional de la leche en los procesos de evaporación, ultrafiltración y ósmosis inversa (Gómez, 2010). Asimismo, ayuda a valorar la autenticidad de la materia grasa, cuyo índice de refracción fluctúa entre 1,3440 y 1,3485; cuando existe alteración en alguno de los componentes de la leche, el valor del índice de refracción cambia y se debe decidir si se realizan otras pruebas para determinar si hay alguna alteración de la leche.

POE n.º 7. Densidad con lactodensímetro

Objetivo. Determinar la densidad de la leche que ingresa a la asociación por medio del lactodensímetro.

Alcance. Este procedimiento se utiliza para contar con muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad en una asociación. Permite identificar la calidad de la leche de cada asociado o hacer muestras de seguimiento individual.

Contextualización. La densidad es una variable que determina la relación que hay entre la masa y el volumen de una sustancia. La densidad de la leche está directamente relacionada con la cantidad de grasa, sólidos no grasos y agua que contenga (Gaviria, 2007). De acuerdo con el Decreto 616 de 2006, la densidad de la leche cruda debe estar entre 1,030 g/mL y 1,033 g/mL, cuando se mide a una temperatura de 15 °C.

Para determinar la densidad es importante medir la temperatura de la muestra pues afecta la medición de esta variable. Más adelante, en el apartado “Notas”, encontrará las claves para hacer la corrección de la densidad en función de la temperatura de la muestra.

Abreviaturas

°C: grados Celsius (unidad de temperatura)

g/mL: gramos por mililitro (unidad de densidad)

g: gramo (unidad de masa)

mL: mililitro (unidad para medir volumen)

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra.
- El análisis debe realizarse a 15 °C. Cuando se realizan mediciones a temperaturas mayores, la densidad será menor y a menores temperaturas la densidad será mayor.

Materiales y equipos

- Equipos: lactodensímetro y termómetro
- Materiales de laboratorio: probeta graduada de 250 mL
- Soluciones de laboratorio: ninguna



1. Disponga de todos los elementos, materiales y equipos necesarios en el mesón del laboratorio o área destinada para el procesamiento de las muestras.



2. Vierta la leche en la probeta, evite la formación de espuma en la parte superior.



3. Introduzca el densímetro en la probeta y haga un ligero movimiento de rotación con los dedos pulgar e índice.



4. Espere que el instrumento se estabilice y haga las lecturas de temperatura y densidad en las respectivas escalas del densímetro.



5. Tenga en cuenta que en la parte superior del densímetro está la escala de temperatura y en la parte inferior la escala de densidad.

Los resultados se expresan en densidad relativa o su equivalente en grados Quevenne, por ejemplo, 1,0295 corresponde a 29,5, mientras 1,0351 corresponde a 35,1.

Notas: La prueba debe realizarse a 15 °C, de lo contrario tendrá que corregir la lectura de los resultados dados sobre la densidad, de acuerdo con la siguiente indicación:

- Si la temperatura de la leche es *mayor* a 15 °C, sume 0,0002 a la lectura del lactodensímetro por cada grado mayor de temperatura.

Ejemplo: si la lectura es de 1,0305 a 20 °C, la corrección será igual a 1,0315 a 15 °C.

Densidad = 1,0305 + 0,0010 (la temperatura de la leche subió 5 grados)

- Si la temperatura de la leche es *menor* a 15 °C, reste 0,0002 a la lectura del lactodensímetro por cada grado menor de temperatura.

Ejemplo: si la lectura es de 1,0305 a 10 °C, la corrección será igual a 1,0295 a 15 °C

Densidad = 1,0305 - 0,0010 (la temperatura de la leche bajó 5 grados)

Interpretación. Todas las muestras que presenten valores fuera de los descritos en el Decreto 616 de 2006 (1,030 g/mL y 1,033 g/mL) deben ser reexaminadas, si los resultados se confirman, al estar estos fuera del rango establecido se debe considerar adulteración de la leche y es recomendable hacer más pruebas por parte de un laboratorio especializado.

POE n.º 8. Tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM)

Objetivo. Determinar la calidad higiénica de la leche que ingresa a la asociación por medio de la prueba de azul de metileno.

Alcance. La calidad higiénica de la leche se refiere a la carga microbiológica de esta antes de ser sometida a algún proceso de industrialización. Esta determinación es usada por los sistemas de pago al productor como criterio asociado al valor de la leche.

El contenido microbiológico afecta la calidad, vida útil e inocuidad de la leche al momento de ser procesada, así como sus subproductos [Gunasekera, et al., 2000]. En general, la calidad higiénica se mide en unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/mL).

Definiciones

Prueba de reductasa (Tiempo de reducción de azul de metileno, TRAM): esta prueba se basa en el cambio de color que sufre el azul de metileno mezclado con la leche cruda. El tiempo que requiere este cambio depende del número de bacterias, del consumo de oxígeno por parte de estas y de la multiplicación de dichas bacterias. Esta prueba mide indirectamente la actividad de los microorganismos y su concentración, y permite clasificar de manera fácil la calidad higiénica de la leche.

Abreviaturas

°C: grados Celsius (unidad de temperatura)

mL: mililitro (unidad para medir volumen)

UFC/mL: unidades formadoras de colonia por unidad de volumen encontradas en una muestra

Condiciones generales

- Contar con los equipos, herramientas y materiales necesarios antes de iniciar la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra.

Fotos: Mónica Páramo



Materiales y equipos

- Equipos: micropipeta, termómetro, baño María
- Materiales de laboratorio: tubos de ensayo, gradilla o soporte para tubos, pipeta o micropipeta
- Soluciones de laboratorio: solución de trabajo de azul de metileno y solución madre de azul de metileno



1. Preparación de tubos control:

- Tome aproximadamente 50 mL de leche pasteurizada o que presuma de buena calidad y llévela a hervor.
- Posteriormente enfríela a 6 °C.
- Agregue 10 mL de leche hervida a un tubo de ensayo y márkelo como control n.º 1



- En un nuevo tubo adicione 10 mL de la leche hervida anteriormente.
- Adicione 1 mL de solución de trabajo de azul de metileno y marque el tubo como control n.º 2.



2. Tape los tubos usando la tapa del tubo o Vinipel y mezcle por inmersión o dando vueltas al tubo lentamente, tenga cuidado de no regar la muestra en el proceso.



3. Análisis de muestras

- Identifique las muestras que serán analizadas, tome una porción de 10 mL de cada una y sívalas en cada tubo de ensayo.
Nota: si son tres muestras, debería tener en este punto tres tubos con muestras y dos tubos con controles.
- Adicione 1 mL de solución de trabajo de azul de metileno y marque el tubo con la identificación de cada muestra, mezcle por inmersión o dando vueltas al tubo lentamente, tenga cuidado de no regar la muestra en el proceso.



4. Incube las muestras en el baño María precalentado a 37 °C. Proteja los tubos de ensayo de la luz directa, incluya los dos frascos de control preparados en el paso anterior.



5. Lectura:

- Identifique la pérdida de la coloración azul de las muestras. Use como guía los dos frascos de control que preparó. El monitoreo de cambio de color debe hacerse cada 30 minutos y hasta por 8 horas.
- Registre el tiempo de pérdida de coloración (TRAM) en la planilla (tabla 2) e indique el tiempo en el cual la muestra cambió a blanco.



- La prueba termina cuando la leche pierde la coloración del azul de metileno.

Recuerde:

- El menor tiempo de pérdida de coloración azul indica que la leche es de menor calidad.
- El mayor tiempo de pérdida de coloración azul indica que la leche es de mayor calidad.

Interpretación. Teniendo en cuenta que la clave para la interpretación de esta prueba es el tiempo, registre los datos solicitados por la tabla 2, esto le ayudará a realizar una correcta interpretación de los resultados (tabla 3).

Tabla 2. Planilla de captura de resultados de prueba TRAM

Prueba de reductasa Tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM) Fecha de realización: _____ Prueba n.º _____								
N.º de frasco	Nombre de productor	Hora de llegada	Resultado de prueba TRAM		Resultados de calidad			Observaciones
			Hora de inicio de reacción	Tiempo de duración (horas)	Buena (> 4 horas)	Regular (entre 3,5 y 4 horas)	Mala (< 3,5 horas)	
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								

Fuente: Posas (2013)

Tabla 3. Ejemplo de uso de tabla de captura de resultados TRAM

Prueba de reductasa Tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM) Fecha de realización: _ 2020 - 12 - 28 _ Prueba n.º _ 01 _								
N.º de frasco	Nombre de productor	Hora de llegada	Resultado de prueba TRAM		Resultados de calidad			Observaciones
			Hora de inicio de reacción	Tiempo de duración (horas)	Buena (> 4 horas)	Regular (entre 3,5 y 4 horas)	Mala (< 3,5 horas)	
1	Pepito Pérez	5:40 a. m.	6:10 a. m.	1,0			x	Mala
2	Clarita Rosas	5:40 a. m.	6:10 a. m.	5,0	x			Buena
3	Pedro Fuentes	5:40 a. m.	6:10 a. m.	3,5		x		Regular
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								

Fuente: Posas (2013)

POE n.º 9. Acidez titulable

Objetivo. Determinar la calidad higiénica de la leche que ingresa a la asociación a partir de la determinación de la acidez titulable.

Alcance. Este procedimiento se utiliza para contar con muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad en una asociación. Permite identificar la calidad de la leche de cada asociado o hacer muestras de seguimiento individual.

Contextualización. La leche fresca tiene una acidez titulable equivalente a entre 13 a 20 mL de NaOH 0.1 N/100 mL (0,12 - 0,18 % de ácido láctico) debido a su contenido de anhídrido carbónico, proteínas y algunos iones como fosfatos, citrato, entre otros.

Normalmente la leche no contiene ácido láctico, sin embargo, por acción bacteriana, la lactosa sufre un proceso de fermentación formando ácido láctico y otros componentes que aumentan la acidez titulable. De allí que esta prueba ofrezca información valiosa sobre la calidad higiénica del producto.

La determinación de la acidez titulable es una prueba fisicoquímica de control de calidad de la leche, la cual es determinada por medio de una reacción entre un titulante alcalino y los constituyentes ácidos de la leche hasta que ocurre la neutralización. La prueba usa fenolftaleína como indicador del punto de equivalencia.

Definiciones

Acidez: en alimentos el grado de acidez indica el contenido de ácidos libres. Se determina mediante una valoración (volumétrica) con un reactivo básico. El resultado se expresa como el porcentaje del ácido predominante en el material. En leches se expresa como porcentaje de ácido láctico.

Titulación: procedimiento cuantitativo analítico por el cual se puede determinar una cantidad desconocida de una sustancia particular, mediante la adición de un reactivo estándar que reacciona con ella en proporción definida y conocida.

Abreviaturas

g: gramo (unidad de masa)

L: litro (unidad para medir volumen)

mL: mililitro (unidad para medir volumen)

N: normal

NaOH: hidróxido de sodio

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra.

Materiales y equipos

- Equipos: soporte de bureta, pipeta o micropipeta
- Materiales de laboratorio: probeta, Erlenmeyer, bureta
- Soluciones de laboratorio: solución de hidróxido de sodio (NaOH 1N), fenolftaleína 1 %, agua destilada o de botellón



1. Prepare los materiales y reactivos necesarios en el laboratorio o área destinada para el procesamiento de las muestras.



2. Mida 20 mL de la leche en una probeta y luego vierta a un Erlenmeyer.



3. Diluya la leche agregando dos veces su volumen con agua destilada, es decir si agrega 20 mL de leche, deberá agregar 40 mL de agua. $20 \text{ mL} \times 2 = 40 \text{ mL}$ de agua



4. Añada 1 mL de solución de fenoltaleína 1 %.



5. Valoración de titulación:

Deje caer gota a gota con ayuda de la bureta el hidróxido de sodio 0.1 N hasta la aparición de un color rosado muy tenue y que persista de 15 a 30 segundos.

Nota: Es importante hacer movimientos giratorios del Erlenmeyer durante la titulación [gota-gota]. Deje a un lado un Erlenmeyer solo con leche (muestra testigo) para ver el cambio de color, note que el color de la leche sin valorar [titular] es más blanco-amarillo y el de la valorada es blanco-rosado.



Expresión de los resultados:

La acidez en la muestra expresada como ácido láctico se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez (g/l) (ácido láctico)} = (V \times N \times 0,090) / M \times 100$$

Donde:

V = volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gastado en la titulación de la muestra, en mililitros (mL)

N = Normalidad de la solución de hidróxido de sodio

M = Volumen de la muestra, en mililitros (mL)

0,090 = Equivalente del ácido láctico

Interpretación. La acidez inaceptable de una muestra se identifica cuando los valores de porcentaje de ácido láctico están por debajo de 0,12 % o por encima de 0,18 %. Cuando los valores son inferiores al 0,12 % se debe sospechar de problemas de composición o adulteración, cuando los valores están por encima de 0,18 % la leche se clasifica como ácida y debe sospecharse de problemas higiénicos o de síndrome de leche anormal [Organización de las Naciones Unidas de la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2013].

POE n.º 10. Células somáticas

Objetivo. Determinar la calidad sanitaria (células somáticas) de la leche que ingresa a la asociación por medio de la prueba de California para mastitis (CMT).

Alcance. Este procedimiento se utiliza para contar con muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad en una asociación. Permite identificar la calidad de la leche de cada asociado o hacer muestras de seguimiento individual.

Contextualización. La aplicación de esta prueba permite inferir el conteo de células somáticas a partir de cuartos de vacas lactantes, como parte del proceso de diagnóstico de mastitis en la finca o en muestras de leche para control de calidad.

El principio de la aplicación y utilidad de la prueba CMT se fundamenta en el incremento en el número de leucocitos o células de defensa de la vaca que aparecen cuando hay mastitis (inflamación de la glándula mamaria). La membrana celular de los leucocitos está formada principalmente por lípidos (grasa), lo cual es clave en la reacción con el reactivo de CMT, que en presencia de estas células genera aglutinaciones. En general, la calidad sanitaria se mide en células somáticas por mililitro (CS/mL) (Bradley, 2002).

Definiciones

Reactivo CMT: está constituido por alquil aril, sulfato de sodio 3 % y púrpura de bromocresol, es usado como indicador de recuento de células somáticas en leche cruda.

pH: coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.

Abreviaturas

CMT: prueba de California para mastitis

g: gramo (unidad de masa)

L: litro (unidad para medir volumen)

mL: mililitro (unidad para medir volumen)

Condiciones generales

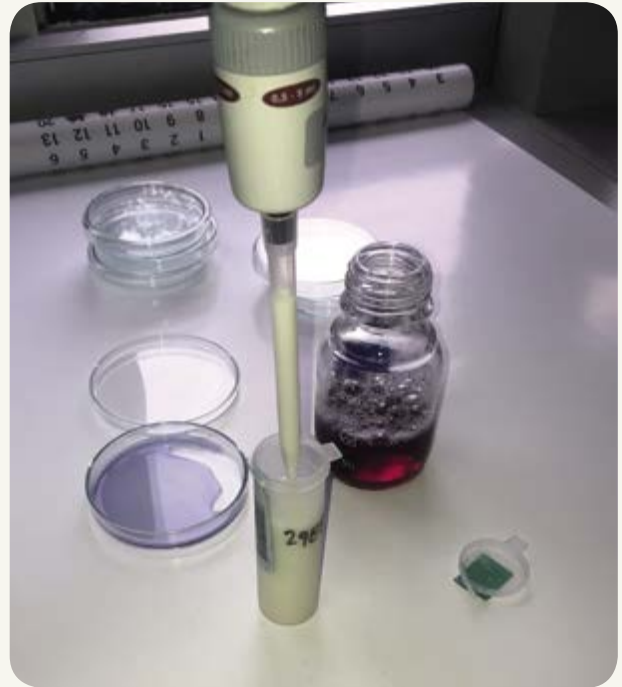
- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra.

Materiales y equipos

- Equipos: pipeta o micropipeta
- Materiales de laboratorio: probeta, Erlenmeyer, paleta de CMT o cajas de Petri de vidrio
- Soluciones de laboratorio: reactivo de CMT (listo para usar)



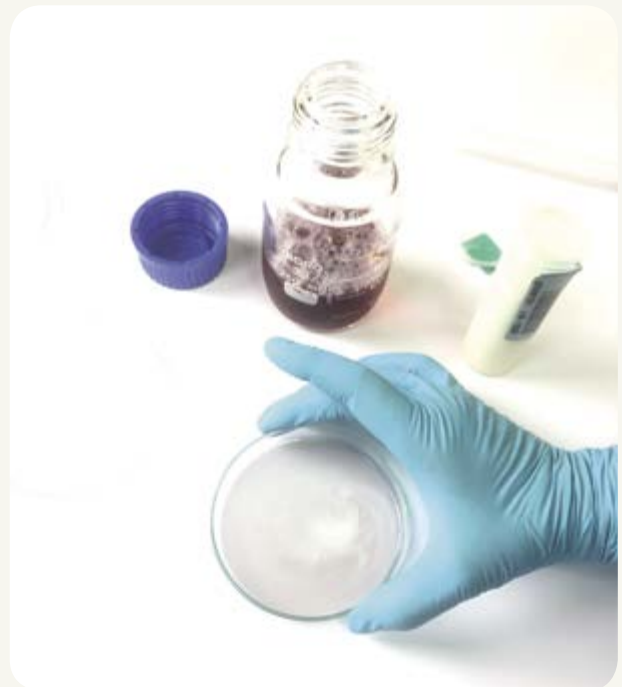
1. Disponga de los siguientes materiales y reactivos necesarios en el laboratorio o área destinada.



2. La proporción de reactivo CMT y leche debe ser igual (1:1), si va a usar 1 mL de reactivo CMT, debe usar 1 mL de leche.
Aquí recomendamos esta proporción: mida 5 mL de reactivo CMT y deposite en la caja de Petri o paleta.

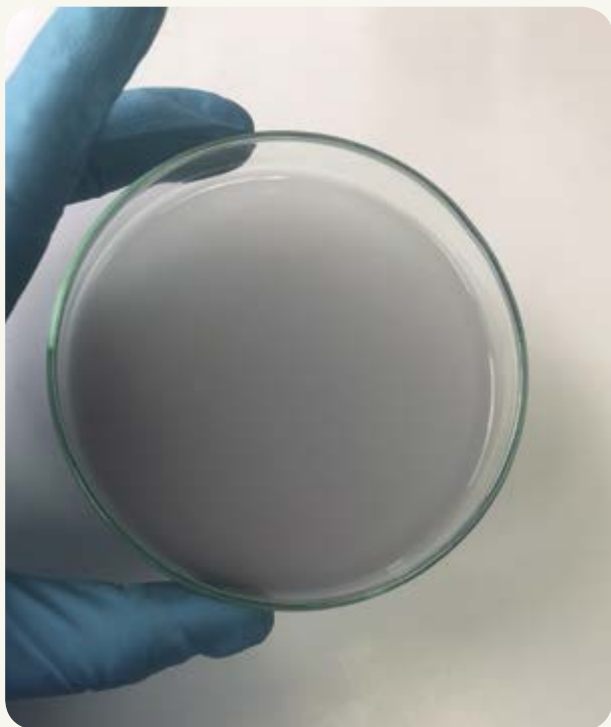


3. Mida 5 mL de la leche que será analizada y viértala en la caja de Petri o paleta que ya contiene el reactivo CMT.



4. Mezcle el reactivo y la leche suavemente hasta que se vea una mezcla homogénea

Evaluación de los resultados



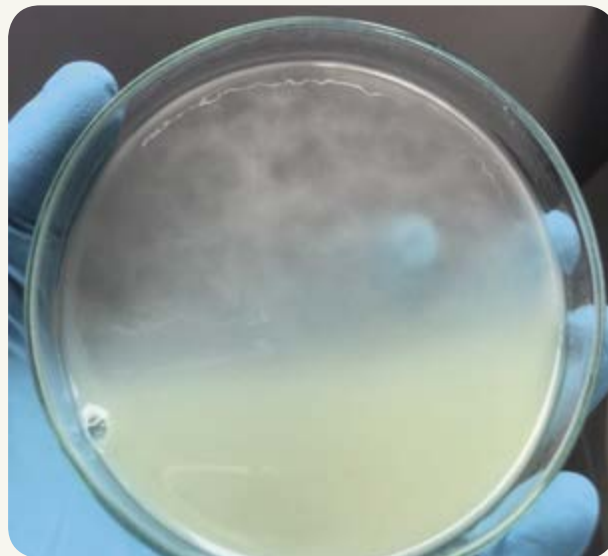
a. Muestras sin formación ni presencia de grumos, viscosidad o natas. Esto se interpreta como un resultado *negativo* para mastitis.

Recuerde que la mezcla entre reactivo CMT y leche debe verse fluida, y conservar la textura y movimiento normal de la leche.



b. Muestras con un ligero espesamiento de la mezcla. Esta reacción se denomina “trazas”, pues parece desvanecerse con la rotación continua de la mezcla.

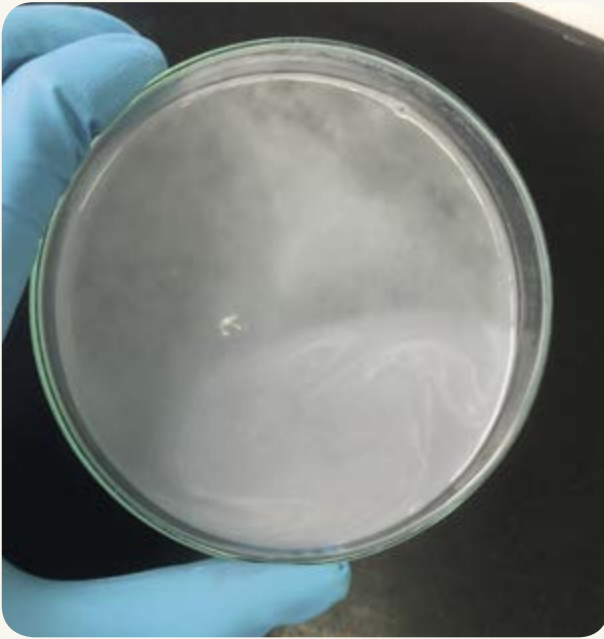
En este caso es necesario que el asociado revise sus vacas para confirmar si hay casos de mastitis clínica o subclínica.



c. Muestras con un difuso espesamiento, más densas. Pueden notarse pequeñas natas pegadas a la superficie de la caja o paleta, pero estas no tienden a formar gel.

Este resultado se interpreta como nivel 1 = positivo débil [infectado].

Recuerde que, si la paleta o caja se rota por más de 20 segundos, el espesamiento puede desaparecer.



d. Muestras con un claro espesamiento, más densas. Hay evidencia de natas pegadas a la superficie de la caja o paleta con grumos y ligera tendencia a formar gel.

Esto se interpreta como nivel 2 = positivo evidente (infectado).

Recuerde que mientras la mezcla se agita en la caja o paleta, esta se mueve hacia el centro, exponiendo el fondo del borde externo.



e. Muestras con espesamiento inmediato, densas, natas pegadas a la superficie de la caja o paleta con grumos grandes y fuerte tendencia a formar gel.

Esto se interpreta como nivel 3 = positivo fuerte (infectado).

Recuerde que en este tipo de muestras se nota una elevación (como un huevo frito). Esta elevación central permanece incluso después de detener el movimiento.



f. La interpretación de los niveles de la prueba de California para mastitis (CMT) está relacionada con el promedio del recuento de células somáticas (CS/mL).

En la tabla 4 de interpretación se muestra una equivalencia del recuento aproximado.

Recuerde que una reacción de T (trazas) o más indica que hay mastitis subclínica en el cuarto de la vaca (Bruckmaier et al., 2004).

Tabla 4. Interpretación de la prueba CMT

Grado de CMT	Rango de células somáticas	Interpretación
N (negativo)	0 - 200 000 CS/mL	Vacas sin mastitis
T (traza)	200 000 - 400 000 CS/mL	Mastitis subclínica
1	400 000 - 800 000 CS/mL	Mastitis subclínica
2	800 000 - 2 000 000 CS/mL	Mastitis clínica
3	Más de 2 000 000 CS/mL	Mastitis clínica

POE n.º 11. Punto crioscópico (agua en leche)

Objetivo. Determinar la calidad de la leche que ingresa a la asociación a partir de la determinación del punto crioscópico.

Alcance. Este procedimiento se utiliza para contar con muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad en una asociación. Permite identificar la calidad de la leche de cada asociado o hacer muestras de seguimiento individual.

Contextualización. El punto crioscópico es una prueba que permite identificar el punto de congelación de la leche. La alteración de los valores típicos de este indicador permite detectar la presencia de agua agregada. De acuerdo con el Decreto 616 de 2006, los valores de punto de congelación normales de la leche deben estar entre 0,530 a 0,550 °C.

Definiciones

Punto de congelación: es la disminución de la temperatura del punto de congelación que experimenta la leche respecto a la del disolvente puro, en este caso la comparación se hace con el agua. La magnitud del descenso crioscópico (ΔT_c) viene dada por la diferencia de temperaturas de congelación del disolvente puro (agua) y de la disolución (leche).

Abreviaturas

- °C: grados Celsius (unidad de temperatura)
- g: gramo (unidad de masa)
- mL: mililitro (unidad para medir volumen)
- s: segundos (unidad de tiempo)

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra.

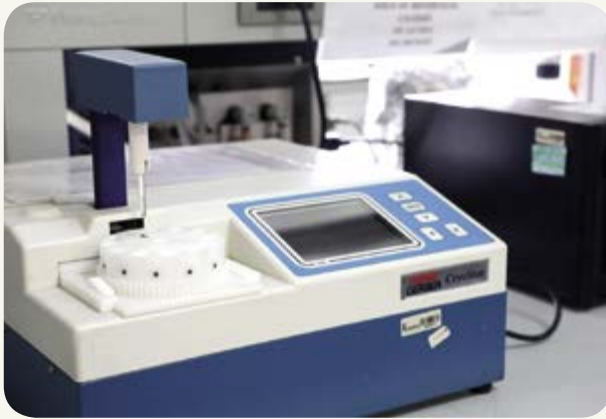
Materiales y equipos

- Equipos: pipeta o micropipeta, crioscopio
- Materiales de laboratorio: probeta, Erlenmeyer
- Soluciones de laboratorio: soluciones control [solución patrón A -0,000; solución patrón B -0,557]

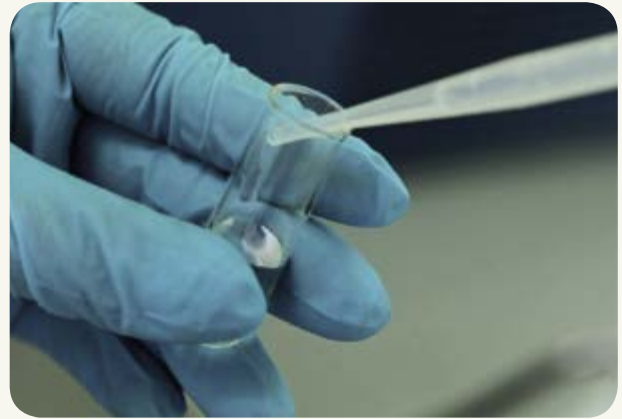
Fotos: Andrea Navarrete



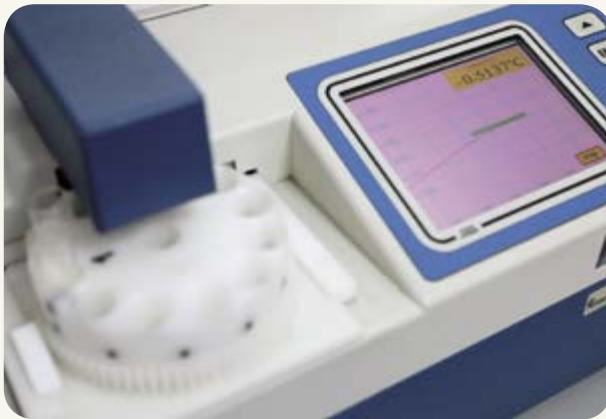
1. Mida 10 mL de la leche en un Erlenmeyer. Lea las instrucciones de operación del equipo (crioscopio) antes de su operación.



2. Encienda el crioscopio donde va a determinar el punto de congelamiento de la leche.



3. Agregue la solución refrigerante con ayuda de la pipeta o jeringa a las celdas, hasta el indicador mostrado, marcado como una línea roja o amarilla en el tubo.



4. Espere que baje la temperatura hasta 6 °C o 7 °C, este proceso puede tardar de 10 a 15 minutos dependiendo del equipo utilizado.



5. Use las soluciones patrón antes de iniciar los análisis de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Verifique que los valores de los controles coincidan con lo informado en el equipo.



6. Ponga las muestras en los viales proporcionados con el equipo. La temperatura de la muestra debe ser 15 °C. Luego de verificar esta temperatura puede iniciar la medición.



7. Los resultados se determinan directamente desde el crioscopio y se expresan en grados Celsius (°C). Recuerde que los valores normales son 0,530 a 0,550 °C.

POE n.º 12. Residuos de medicamentos veterinarios en leche cruda

Objetivo. Determinar si la leche que será comercializada contiene residuos de medicamentos veterinarios que afecten su calidad composicional.

Alcance. Este procedimiento se utiliza para contar con muestras de leche cruda que serán analizadas para el control de pago por calidad en una asociación. Permite identificar la calidad de la leche de cada asociado o hacer muestras de seguimiento individual.

Contextualización. Determinar si la leche contiene residuos de medicamentos veterinarios es más que importante para las asociaciones de productores, ya que en muchos casos este criterio define la aceptación de la leche por parte de las industrias.

De acuerdo con el Decreto 616 del 2006, emitido por el Ministerio de Salud y Protección Social, la leche cruda no debe contener residuos de medicamentos veterinarios. Por esta razón es muy importante controlar que en el proceso productivo se cumpla con los tiempos de retiro de colecta de leche de acuerdo con el medicamento usado.

En el mercado existe una gran variedad de pruebas rápidas para la determinación de residuos de antibióticos. A continuación, aportamos algunos pasos para el manejo correcto de estas pruebas.

Definiciones

Kit de análisis de antibióticos: conjunto de elementos para hacer análisis de presencia de antibióticos en la leche, que varía en función de la casa comercial que lo provee.

Medicamento veterinario: sustancias químicas usadas para tratar una enfermedad diagnosticada por un profesional de la medicina veterinaria.

Tiempo de retiro: tiempo en el cual el animal en tratamiento retiene los medicamentos en su organismo y estos son detectables en la leche. Los tiempos de retiro están especificados en cada medicamento y deben cumplirse siempre para evitar la contaminación en la leche comercializada.

Abreviaturas

°C: grados Celsius (unidad de temperatura)

g: gramo (unidad de masa)

mL: mililitro (unidad para medir volumen)

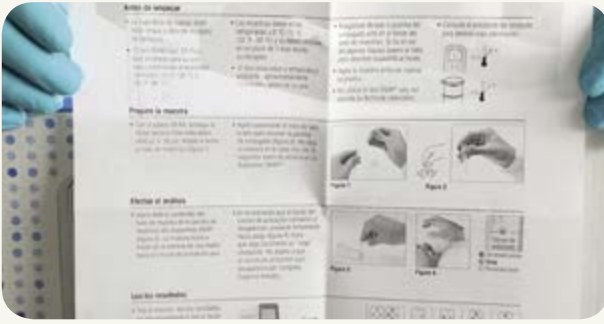
s: segundos (unidad de tiempo)

Condiciones generales

- Contar con el equipamiento necesario antes de iniciar la prueba.
- Identificar adecuadamente la muestra de leche antes de almacenarla.
- Analizar la muestra máximo 12 horas después de la toma.
- Mantener la muestra refrigerada entre 2 y 6 °C antes del análisis.
- No congelar la muestra.
- No cocinar la muestra.

Materiales y equipos

- Equipos: kit de análisis de antibióticos con sus instrucciones de uso
- Materiales de laboratorio: probeta, Erlenmeyer, pipeta, agua destilada
- Soluciones de laboratorio: ninguna



1. Lea cuidadosamente las instrucciones de manejo del kit. Por lo general el vendedor le puede dar una inducción del uso.



2. Una vez tenga claro el uso del kit, documente el paso a paso para el desarrollo de la prueba. Use como modelo los POE aquí propuestos, recuerde que el documento debe contener:

- Objetivo
- Alcance
- Contextualización
- Definiciones
- Abreviaturas
- Condiciones generales
- Descripción de los pasos
- Materiales y equipos que serán usados



3. Disponga de todos los materiales que usará para la prueba antes de empezar. Si requiere algún equipo especial, como incubadora, baño María o lector, verifique que esté en correcto funcionamiento.



4. Siga todos los pasos descritos en el POE, preste especial atención a los volúmenes de leche determinados por el kit (si estos son requeridos) o tenga en cuenta el manejo y posición de las tiras que componen el kit.

Estos cuidados son indispensables para asegurar los resultados. También respete los tiempos de análisis descritos por el kit. Por ejemplo, si este indica incubar por 1 hora, disponga de un cronómetro con alarma para verificar que los tiempos se cumplan.



5. Todos los kits tienen elementos de control de calidad del proceso. En algunos casos son una solución especial, una tira usada como control o un paso específico. Asegúrese de usar un control cada vez que realice una medición.



6. Los kits tienen un documento que indica cómo se deben interpretar los resultados, siga al pie de la letra esas indicaciones.

Esté atento a cambios de color, aparición de líneas o puntos en lugares especificados por el kit.

