



Gonzalo Aleu | Marcelo Rosmini | Gabriel Sequeira
Ana Zogbi | Juan Pablo Vico
Sabina Saavedra | Inés Sánchez

GUÍA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN INDUSTRIAS DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

PROTRI

Programa de Promoción de la Transferencia de los Resultados de la
Investigación y Comunicación Pública de la Ciencia, convocatoria 2015.

Secretaría de
CIENCIA y TECNOLOGÍA

Ministerio de INDUSTRIA,
COMERCIO, MINERÍA y DESARROLLO
CIENTÍFICO TECNOLÓGICO

 GOBIERNO DE LA
PROVINCIA DE
CORDOBA

Guía para el aseguramiento de la calidad en industrias de alimentos de origen animal / Gonzalo Aleu ... [et al.]. - 1a ed . - Córdoba : Báez Ediciones, 2018.

188 p. ; 30 x 21 cm.

ISBN 978-987-1498-73-4

1. Calidad. 2. Industria Alimentaria. I. Aleu, Gonzalo

CDD 353.997

Copyright © 2018 by Aleu, Gonzalo; Rosmini, Marcelo; Sequeira, Gabriel; Zogbi, Ana; Vico, Juan Pablo; Saavedra, Sabina; Sánchez, Inés.

Está prohibida la reproducción total o parcial de esta obra por cualquier método: fotográfico, fotocopia, mecánico, reprográfico, óptico, magnético o electrónico, sin la autorización expresa y por escrito de los propietarios del copyright.

IMPRESO EN LA ARGENTINA – *PRINTED IN ARGENTINA*

Todos los derechos reservados – Queda hecho el depósito que prevé la ley 11.723

GUÍA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN INDUSTRIAS DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Resumen

La presente Guía centra su atención en el aseguramiento de la calidad en la industrialización de los derivados de origen animal, dirigido especialmente al equipo de gestión de la calidad de dichas empresas. Las plantas procesadoras de productos y subproductos de origen animal cuentan con una infraestructura de procesamiento relevante, con un creciente mercado de consumo de este tipo de productos tanto a nivel regional, nacional e internacional. En dicho marco se hace necesario que las plantas de procesamiento de alimentos se integren a sistemas de calidad acordes a la demanda interna y externa.

Esta guía surge desde la experiencia profesional del equipo de trabajo, tanto desde la investigación como del trabajo a campo.

En el primer capítulo se delinean los aspectos básicos de la seguridad alimentaria en general, y en especial en la industrialización de productos de origen animal, bajo el concepto de cadena agroalimentaria. En el segundo capítulo aborda los conceptos de calidad poniendo énfasis en los aspectos: nutricional, tecnológicos, organolépticos e higiénico-sanitarios de los alimentos. El tercer capítulo se focaliza en el análisis del agua para su uso en la industria alimentaria. El cuarto capítulo aborda el análisis de la carne y los productos cárnicos. En el quinto capítulo se hace referencia al control de calidad y análisis fisicoquímico del huevo y los ovoproductos. En el sexto capítulo se presentan las técnicas de control de calidad de la leche y los productos lácteos. En el séptimo capítulo trata sobre el análisis de pescados y productos de origen acuático. El octavo capítulo aborda el control genérico de diversos parámetros en la industria alimentaria. Finalmente el noveno capítulo realiza una aproximación a las tareas de documentación, verificación y validación.

Se plantea en el presente trabajo, intervenir en la etapa industrial de elaboración de productos y subproductos de origen animal a los efectos de que la implementación de la presente guía sirva como un aporte al área de control de calidad de productos de origen animal.

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia y Tecnología del Gobierno de la Provincia de Córdoba, por habernos confiado fondos del Programa PROTRI, sin el cual no se podría haber financiado este proyecto.

A las plantas industrializadoras de productos de origen animal y a los productores de la cadena agroalimentaria por sus aportes. A la Universidad Católica de Córdoba por el apoyo brindado. A los docentes y alumnos de las cátedras Bromatología y Tecnología e Inspección de los Alimentos de la carrera de Medicina Veterinaria y Tecnología de Carnes de la Licenciatura en Tecnología de los Alimentos de dicha casa de estudios, por sus aportes y trabajo de campo.

Al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentos, de la Provincia de Córdoba por sus aportes a la idea original del trabajo.

A María Soledad Viera, por los aportes sobre edición y formato.

GLOSARIO

Alimento: toda sustancia o mezcla de sustancias naturales o elaboradas que ingeridas por el hombre aporten a su organismo los materiales y la energía necesarios para el desarrollo de sus procesos biológicos.

Auditoría: Proceso sistemático e independiente para determinar si las actividades y sus resultados se corresponden con los planes previstos, si se aplican eficazmente y si es adecuado para alcanzar los objetivos.

Buenas prácticas de manufacturas-BPM: Son los procedimientos necesarios para lograr alimentos inocuos, saludables y sanos. Son sinónimos las Buenas Prácticas de Fabricación y Elaboración.

Canal: Se entiende por canal, res o carcasa al animal mamífero de elaboración permitida en establecimientos habilitados, después de sacrificado, sangrado, desollado, extirpada la cabeza, extremidades a nivel del carpo y tarso, cola y mamas y eviscerado. En el caso del porcino puede conservar la cabeza y extremidades.

Carne: Se entiende como la parte comestible de los músculos de los bovinos, ovinos, porcinos y caprinos declarados aptos para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial antes y después de la faena.

Cadena agroalimentaria: Sucesión continua de actividades que atraviesa un alimento llevada a cabo por agentes económicos, desde la producción primaria con la producción de piensos para animales hasta la venta o suministro de alimentos al consumidor final.

Conformidad: cumplimiento con los requisitos especificados.

Criterio microbiológico: La aceptabilidad de un proceso, producto o lote de alimentos basándose en la ausencia o presencia o el número de microorganismos y/o la investigación de sus toxinas por unidad de masa, volumen o área.

Desinfección: Es el conjunto de procedimientos empleados para destruir los microorganismos que quedan en una superficie que se encuentra física y químicamente limpia.

Establecimiento Elaborador de Alimentos: ámbito que comprende el local y el área hasta el cerco perimetral que lo rodea, en el cual se llevan a cabo un conjunto de operaciones y procesos con la finalidad de obtener un alimentos elaborado, así como el almacenamiento y transporte de alimentos y/o materia primas.

Huevo: óvulo de la gallina (*Gallus gallus*) completamente evolucionado, fecundado o no, con sus correspondientes reservas de sustancias nutritivas y su revestimiento calcáreo

Inocuidad: es la condición o propiedad que posee un alimento que lo hace apto para el consumo, es decir, es incapaz de producir enfermedad o lesión alguna en quien lo consuma.

Inspección: actividades tales como medir, examinar, ensayar o comparar una o más características de una entidad, y comparar los resultados con los requisitos especificados con el fin de determinar si se obtiene la conformidad para cada una de esas características.

Leche: producto íntegro y fresco del ordeño completo de una o varias vacas, sanas, bien alimentadas y en reposo, exento de calostro y que cumpla con los caracteres físicos y bacteriológicos que se establecen.

Limpieza: extracción de restos de materia prima, productos elaborados y otras sustancias indeseables de instalaciones, utensilios y equipos, para ser depositados en sitios donde no perjudi-

quen el proceso de elaboración y donde puedan ser tratados, para su posterior eliminación sin afectar el medio ambiente.

Microorganismo: seres vivos microscópicos que incluyen virus, bacterias, levaduras y mohos.

Manejo Integral de Plagas- MIP: conjunto de acciones tendientes a prevenir el ingreso y la instalación de plagas y otros animales indeseables a los establecimientos elaboradores, que puedan implicar un peligro de contaminación para los alimentos.

Muestra: el conjunto formado por uno o más elementos (o partes de un producto) seleccionados por distintos medios en una población (o en una cantidad importante de producto o lote).

No conformidad: no satisfacción de un requisito especificado. La definición se aplica a la desviación o ausencia de una o varias características relativas a la calidad, o de uno o varios elementos respecto de los requisitos especificados.

Pepsina: Enzima digestiva que se segrega en el estómago y que hidroliza las proteínas.

Procedimientos Operativos Estandarizados de Sanitización: describen sistemáticamente las tareas de saneamiento que se aplican antes, durante y después de las operaciones de elaboración.

Peligro: Agente biológico, químico o físico presente en el alimento, o bien la condición en que éste se halla, que puede causar un efecto adverso para la salud.

Prevalencia: Número de individuos enfermos sobre una población expuesta.

Riesgo: Estimación de la probabilidad de ocurrencia de un peligro.

Sanitización: Reducción de microorganismos a niveles seguros desde el punto de vista de la salud pública.

Sistema APPCC/HACCP: Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos. Permite identificar, evaluar y controlar peligros significativos para garantizar la inocuidad de los alimentos. Por sus siglas en inglés se lo suele nombrar como HACCP.

Trazabilidad: capacidad para seguir el movimiento de un alimento a través de etapa(s) especificada(s) de la producción, transformación y distribución.

Validación: es una evaluación previa a una operación y su papel es demostrar que con una medida de control individual, o una combinación de éstas, se tiene la capacidad de lograr el nivel de control previsto.

Verificación: es una evaluación que se realiza durante una operación y después de ella, y su papel es demostrar que se ha logrado efectivamente el nivel de control previsto.

Vigilancia y/o Monitoreo: es un procedimiento que permite detectar cualquier falla y/o desviación en las medidas de control.

Zoonosis: enfermedad transmitida desde los animales al hombre.

CAPÍTULO 6

**Análisis leche y
productos lácteos.**

***Zogbi, Ana Paola y
Vico, Juan Pablo***

6

ANÁLISIS DE LECHE Y DERIVADOS.

El CAA, define como leche sin calificativo alguno, al producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados y sin aditivos de ninguna especie (CAA, Art. 554).

Las determinaciones que se realizan comúnmente en el análisis químico de la leche, permiten comprobar si sus valores responden a los característicos de composición genuina, poner al descubierto alteraciones y adulteraciones o fraudes e indicar (entre ciertos límites) el estado de conservación, direccionamiento de la leche de diferente calidad para la elaboración de productos, control sanitario.

Un examen rutinario incluye frecuentemente las determinaciones de densidad, grasa, sólidos totales, acidez, descenso crioscópico, estimación del grado de contaminación (ensayos de azul de metileno o resarzurina).

La necesidad de analizar un gran número de muestras en las industrias lácteas, ha contribuido al desarrollo de métodos automáticos rápidos. Algunos equipos como INFRA RED-MILK ANALYSER-IRMA®, EkoMilk® y el FOSS MILKO SCAN®, que se utilizan para la determinación de la grasa, las proteínas y la lactosa, pueden analizar hasta 300 muestras por hora.

6.1. TOMA DE MUESTRAS ISO 707:2008

La obtención de una muestra de leche que sea lo más representativa posible en la determinación de su composición es de suma importancia para la validez de los resultados, así como que sea conservada correctamente hasta su análisis y que mantenga sus características originales.

El personal debe estar capacitado para que esta operación sea correcta, que deberá lavar manos y antebrazos antes de la toma de muestras y secar con papel descartable, contar con indumentaria adecuada y limpia para evitar la contaminación de la misma.

El muestreo para análisis microbiológico debe realizarse en primer lugar en forma aséptica cuando se recogen en forma separada las muestras para análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales.

En el caso del análisis sensorial, el sabor de las muestras no debe ser afectado por el uso de equipamiento de toma de muestras o manipulación durante la toma de muestras.

Los recipientes deben estar limpios y secos, deben ser de un material impermeable a los líquidos, grasas, preferentemente opaco y que el material impida la penetración de aire, que sea insoluble y no absorbente y tener cierre hermético. Cuando se toma la muestra evitar las corrientes de aire, fumar o hablar mientras esté el frasco abierto. No tomar muestras de la parte superior del recipiente que contiene la leche cruda, ni tampoco de la manguera del camión, ni del tanque de frío.

Para productos lácteos líquidos (leche cruda, pasteurizada y esterilizada), la mezcla se realizará trasvasando la muestra repetidas veces de un recipiente a otro con agitadores manuales o émbolos y en los casos de grandes cantidades la agitación será por medios mecánicos. Si se toma la muestra del camión cisterna, antes de proceder a la descarga de la leche cruda, se deberá homogeneizar mediante un agitador para evitar tomar muestras de la fase grasa de la leche que se separa generalmente durante el transporte.

Generalmente se utilizan utensilios de acero inoxidable (cucharones) para recoger la muestra que deben ser de superficies lisas y libres de grietas, con esquinas redondeadas. Debe extraer la muestra introduciendo el cucharón como mínimo 15-20 cm por debajo del nivel de leche. Existen

muestreadores automáticos y semiautomáticos que constan de una bomba peristáltica que deriva una alícuota de la leche que circula por la tubería de carga de leche.

Una vez obtenida la muestra se deposita en un recipiente adecuado que deben ser rotulados con un marcador indeleble, es importante que la tinta o la composición del producto sean inodora. Se puede poner en una gradilla porta-envases, para que la muestra no se derrame durante el transporte. Se deben mantener las muestras refrigeradas hasta la llegada al laboratorio, las muestras no deben congelarse.

Tabla 50: Elementos para toma de muestra en productos lácteos

INSTRUMENTAL	EQUIPAMIENTO	REACTIVOS
Gradillas para frascos recolectores	Conservadora	Alcohol antiséptico (alcohol etílico al 70 %)
Recipientes estériles de 50 ml (polipropileno) 2 por cada muestreo		
Agitador manual de acero inoxidable		
Cucharón o bastón para las tomas de muestras tamaño acorde al recipiente a muestrear	Termómetro 0° a 50° C	Solución de hipoclorito de sodio al 4 %
Papel absorbente desechable		
Geles Refrigerantes	Linterna	Conservantes (ver Tabla 51)
Marcador de tinta indeleble		

6.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA (ISO 707:2008 AOAC 925.21:1990)

La leche es un producto perecedero que se altera fácilmente. Por ello hay que realizar el análisis lo más rápido posible desde la llegada de la muestra al laboratorio. De no ser así, debe añadirse a la leche algún conservante y mantener las muestras a baja temperatura hasta la realización de las determinaciones pertinentes.

La muestra debe estar completamente homogénea con una buena dilución de la materia grasa. En el caso que no es así, hay que prepararla previamente al análisis, llevándola a una temperatura aproximada a 20 °C, agitándola suavemente para evitar la formación de espuma o el batido de la materia grasa. Si resulta difícil la homogeneización de la materia grasa, debe calentarse la leche hasta 35- 40 °C, mezclando y reincorporando a la muestra la grasa adherida a las paredes del recipiente. Después debe de enfriarse hasta alcanzar la temperatura ambiente (alrededor de los 20 °C). Si se separa grasa líquida o se observa la presencia de partículas blandas adheridas a las paredes del recipiente, el análisis resultará incorrecto.

6.3 CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS (ISO 707:2008)

Cuando los análisis no se realicen inmediatamente se puede adicionar una sustancia conservante, siempre y cuando no afecte a los análisis. Si se utiliza una sustancia conservante, debe indicarse su naturaleza y cantidad utilizada en la etiqueta del recipiente.

No deben añadirse conservantes en las muestras destinadas a examen microbiológico y sensorial. Los principales conservantes y conservantes recomendadas para leche cruda se presentan en el cuadro 1

Tabla 51: Conservantes utilizados y dosis recomendadas

RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS			
Conservante	Dosis	Temperatura	Tiempo
Azidiol	0,3 ml/100 ml	0 a 8 °C	Hasta 72 hs
Bronopol	No > 0,05 g/100ml	0 a 8 °C	72 hs (Fil 148 A, 1995)
Dicromato de Potasio	No > 0,2 g/100 ml	6 a 12 °C	72 hs (Fil 148 A, 1995)
Azida Sódica	0,024 g/litro	0 a 8 °C	48 hs (Fil 148 A, 1995)

6.4. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

6.4.1. Densidad (AOAC 925.22, 1990)

La densidad se determina utilizando lactodensímetros con el requisito de que la leche se encuentre a 15 °C para compararlo con el peso específico del agua a la misma temperatura. Cuando las cifras de densidad no coinciden con las cifras establecidas puede significar indicio de adulteración (aguado o desnatado).

Tabla 52: Alteraciones en la leche fluida

MODIFICACIONES DE LA DENSIDAD DE LA LECHE	
Aguado	Agregar agua o crema disminuye la densidad por ser menor a la de la leche
Desnatado	Eleva la densidad por retirar una sustancia con menor densidad a la leche
Conservante	Bicromato de potasio incrementa la densidad en 0,0007 por gramo añadido
Ordeño	Mayor al inicio por la menor cantidad de grasa, al final se invierte
Temperatura	Altas temperaturas disminuyen la densidad

La leche es una sustancia compleja por lo que su densidad depende de la suma de todos sus componentes, recordar que el agua tiene una densidad de 1,0, la materia grasa 0,93, los sólidos no grasos 1,62 y el suero blanco 1,036. La densidad de la leche de vaca varía habitualmente entre 1,028 y 1,040 considerando como valor medio 1,031. La leche de otras especies presenta los siguientes valores: Cabra (1,030-1,034) oveja (1,029-1,035). Los valores de la densidad pueden ser afectados por diferentes factores:

Tabla 53: Elementos para evaluación de leche fluida

INSTRUMENTAL
Lactodensímetro de Quevenne con divisiones de medio en medio grado
Lactodensímetros provistos de termómetros
Termómetro digital
Probeta de diámetro suficiente para que el lactodensímetro no toque las paredes.

El lactodensímetro de Quevenne, cuyo vástago con escala graduada comprende valores entre 15 y 40 que corresponden a las milésimas de densidad por encima de la unidad, es decir, que el número 32 del lactodensímetro indica la densidad de 1,032. El instrumento está calibrado a 15 °C y a esa temperatura, por lo tanto, el número leído representa la densidad de la leche, a temperaturas diferentes debe recurrirse a tablas especiales de corrección. Cuando la discrepancia con respecto a 15 °C no es mucha (no más de ± 5 °C), se puede obtener la corrección sumando o restando 0,0002 a la densidad hallada, o bien 0,2 grados leídos en el lactodensímetro, por cada grado de temperatura respectivamente superior o inferior a 15 °C.

PROCEDIMIENTO:

1. Atemperar la muestra de leche entre 10 y 20 °C.
2. Verter en la probeta, ligeramente inclinada para evitar la formación de espuma.
3. Llenar al menos hasta un nivel tal que el volumen restante sea claramente inferior al del depósito del lactodensímetro, de tal forma que al introducir éste se provoque un desbordamiento de la leche que se recogerá en un platillo, eliminando así la superficie de la leche, los indicios de la espuma que pudieran dificultar la lectura.
4. Efectuar la lectura que indica la parte superior del menisco, es decir, los grados correspondientes a la raya inmediatamente superior a la parte más alta del menisco.
5. Registrar el resultado.
El peso específico de una muestra no se puede determinar antes de haber transcurrido tres horas después de su ordeño.

INTERPRETACIÓN:

El peso específico de la leche se determinará siempre a 15°C. Si la lectura se hubiese realizado a temperatura diferente de 15°C, pero siempre incluida entre 10 y 20 °C, el peso específico deberá corregirse sumando o restando 0,2 a los grados Quevenne leídos por cada grado centígrado que supere a 15°C, o descienda por debajo de esta última temperatura respectivamente. El grado Quevenne representa la diferencia entre el peso específico y la unidad, multiplicando el resultado por 1000.

La densidad de la leche de vaca varía habitualmente entre los valores 1,028 y 1,040 considerando como valor medio 1,031.

$D_{15} = DT + 0,0002 (T-15)$

Donde:

D15: densidad de la muestra a 15°C.

DT: densidad obtenida con el densímetro.

T: temperatura de la muestra durante la determinación.



Figura 27: Uso de Lactodensímetro

6.4.2. Acidez (AOAC 947.05, 1990)

Normalmente la leche fresca carece de ácido láctico en el momento de ser ordeñada, debiéndose su acidez total al ácido cítrico (único ácido presente en la leche), al anhídrido carbónico, a ciertas sales, sobre todo fosfatos y a los grupos ácidos de las sustancias albuminoideas.

La leche de vaca presenta un pH comprendido entre 6,6 y 6,8, siendo la acidez debida a una suma de tres reacciones fundamentales y a una cuarta de carácter eventual:

Tabla 54: Relación Acidez, Causa y Condición

CAUSA DE ACIDEZ	CONDICIÓN
Proveniente de la caseína	Natural
Debida a las sustancias minerales y a la presencia de ácidos orgánicos	Natural
Reacciones secundarias debidas a los fosfatos presentes en la leche	Natural
Ácido láctico y a otros ácidos procedentes de la degradación microbiana de la lactosa en las leches en proceso de alteración	Defecto higiénico sanitario

En general, la determinación de la acidez de la leche es una medida indirecta de calidad sanitaria. Este análisis es aplicado de forma habitual a la leche cruda, como así también a la leche tratada térmicamente. El primer caso, reviste particular importancia económica, puesto que la tendencia a nivel mundial es fijar el precio de la compra de leche a los productores por su calidad, valorando no solo el volumen o masa de leche, sino también la calidad fisicoquímica y sanitaria de la misma.

La reacción de la leche recién ordeñada suele ser ligeramente alcalina, anfótera o ligeramente ácida. Sin embargo, por la acción de la temperatura, de los fermentos (bacterias lácticas preferentemente) y de microorganismos que la suelen invadir, se acidifica rápidamente por fermentación de la lactosa y su conversión en ácido láctico.

Es interesante la determinación de la acidez de la leche ya que nos sirve como primer medio para determinar su calidad.

Tabla 55: Elementos para medición de acidez.

INSTRUMENTAL	
Bureta	Fenolftaleína al 1 %
Matraz Erlenmeyer 100-250 ml	Solución de Dornic (Hidróxido de Sodio 0,1 N)
Pipeta de 10 ml	

Podemos determinar la acidez, por la valoración de la cantidad total de ácido presente en la leche (acidez total), mediante su neutralización por un álcali conocido en presencia de un indicador cromático (fenolftaleína).

PROCEDIMIENTO:

1. Agitar la muestra de leche (T° ambiente)
2. Tomar 10 ml y colocar en un matraz Erlenmeyer
3. Agregar 4 o 5 gotas de la solución de fenolftaleína al 1 %
4. Llenar la Bureta con la solución de Dornic
5. Valorar dejando caer gota a gota sobre la leche (se debe agitar vigorosamente) hasta que ésta tome color rosa permanente

INTERPRETACIÓN:

Cada 0,1 ml de solución Dornic equivale a 1 grado Dornic (°D), y 1 ml corresponderá a 10 grados Dornic. Hacer la lectura de la bureta y sabiendo que cada 0,1 ml de solución Dornic neutraliza 1 mg de ácido láctico, hallar la cantidad de éste en los 10 ml de leche.

Tabla 56: Interpretación resultados acidez en °Dornic.

MUESTRA	RESULTADO
Leche de buena calidad	Entre 16 – 20 ° D
Leches ácidas	> 20 ° D
Leches calostrales o leches alteradas	> 22 ° D
Leches patológicas o aguadas	< 16 ° D

6.4.3. Determinación de Conservantes y adulterantes

Como se mencionó anteriormente el CAA define la leche natural como el producto íntegro, no alterado ni adulterado, y sin calostros del ordeño higiénico, regular, completo e interrumpido de las hembras mamíferas, domesticas sanas y bien alimentadas. Sin embargo, existen muchas formas de alterar la leche, con el fin de obtener un mayor rendimiento económico, como la adición de agua, desnatado, las cuales suelen ir unidas a la adicción de sustancias para encubrir el fraude.

También pueden añadirse sustancias conservantes que retardan la alteración de la leche o neutralizantes, que la inhiban.

Detección de conservantes agua oxigenada mediante el método con yoduro potásico.

Tabla 57: Elementos para la detección de conservantes.

INSTRUMENTAL	REACTIVOS
Tubos de ensayo con tapa	Solución de yoduro potásico al 25% (m/v)
Pipeta de 10 ml	
Gotero	

PROCEDIMIENTO:

1. Colocar en un tubo de ensayo 10 ml de leche.
2. Añadir 10 gotas de solución de yoduro potásico y colocar tapa.
3. Mezclar

INTERPRETACIÓN:

Si existe agua oxigenada la leche toma un color rojizo, debido al I₂ desprendido.

La reacción se puede hacer más sensible añadiendo almidón soluble, que el yodo tinte de azul.

NOTA: La prueba es sensible a un nivel del 0,03% de agua oxigenada de 100 volúmenes en la leche. Con la adición de almidón soluble se consigue una sensibilidad del 0,015%.

Detección de otras sustancias añadidas (Almidón y féculas)

La adición de almidón y féculas se realiza con fines fraudulentos para aumentar la cantidad de materia seca de la leche y/o disimular un posible aguado.

Tabla 58: Elementos para detección de almidón o féculas

INSTRUMENTAL	REACTIVOS
Tubos de ensayo con tapa	Solución de iodo (1g Iodo + 2 g Ioduro de potasio en 100 ml de agua destilada)
Pipetas de 1 y 10 ml	

PROCEDIMIENTO:

1. Colocar 10 ml de la leche a examinar en un tubo de ensayo.
2. Añadir 1 ml de la solución de iodo y colocar tapa.
3. Agitar y observar la coloración de la mezcla.

INTERPRETACIÓN:

Si la leche no tiene almidones o féculas toma un color amarillento. En caso de contenerlos adquiere un color más o menos azulado, dependiendo de la cantidad y calidad de estos.

6.4.4. Materia Grasa

La materia grasa puede ser determinada por el método volumétrico, en el que se mide la grasa después de separarla de los demás componentes, o por el método gravimétrico, en el cual se extrae la grasa con disolventes y se pesa. Este último puede realizarse por método discontinuo o Rose-Gottlieb o continua hasta agotamiento por método Soxhlet.

6.4.5. Método Volumétrico (GERBER) ISO 2446:2008

El método de Gerber es aplicable a la leche natural, pasterizada y esterilizada. Esto se basa en que el ácido sulfúrico al 90 % disuelve todos los componentes de la leche, excepto la grasa, en presencia del alcohol amílico puro (densidad 0,809-0,813 a 20 °C). Con el calor y la fuerza centrífuga la grasa se separa en una capa refringente y transparente. El alcohol amílico, ayuda a romper la emulsión de las grasas y previene la carbonización de las mismas.

Tabla 59: Elementos para determinación de Gerber

INSTRUMENTAL	EQUIPAMIENTO	REACTIVOS
Butirómetro de Gerber	Baño María	Ácido sulfúrico para Gerber (Densidad 1,813- 1,817 a 20 °C)
Tapón de goma		
Empujadores	Centrífuga de Gerber	Alcohol Amílico puro (densidad 0,809-0,813 a 20 °C)
Pipetas de 20, 10 y 1 ml		
Guantes		

PROCEDIMIENTO:

1. Colocar 10 ml de ácido sulfúrico en el butirómetro, evitando mojar las paredes internas del cuello.
2. Luego agregar 11 ml de leche con la pipeta aforada, en ángulo de 45 ° con la pared interna del butirómetro, de manera que no se mezcle con el ácido y se forme una capa de leche por encima del ácido. Añadir 1 ml de Alcohol amílico.
3. Se deben observar 3 capas superpuestas (alcohol, leche y ácido).
4. Cerrar el butirómetro con el tapón de goma y agitar hasta que la mezcla quede homogénea y oscura.
5. Proteger las manos con guantes por la reacción exotérmica.
6. Introducir el butirómetro (con el tapón hacia abajo) en Baño María a 65°C ±2 durante 5 minutos. Toda la columna grasa debe estar sumergida.
7. Retirar el butirómetro, secar e introducir en la centrífuga de Gerber, con los tapones hacia el fondo del tubo de la centrífuga y la parte graduada hacia el centro.
8. Mantener durante 5 minutos a 2000 r.p.m.
9. Retirar de la centrífuga con el tapón hacia abajo y llevar a Baño María a 65°C ±2 durante (la columna grasa debe estar sumergida).
10. Secar y hacer la lectura, manteniendo el butirómetro vertical.
11. Se lee el espesor de la capa acumulada en la parte superior calibrada del butirómetro. Se lee a la altura del menisco superior de la columna de grasa (el ajuste del tapón ayuda a coincidir la capa de grasa con la escala).

INTERPRETACIÓN:

La diferencia entre los dos puntos de lectura da directamente el % de grasa contenida en la leche. Si en la interfase existen partículas insolubles o si la columna de grasa está turbia no es válido el resultado.

6.4.6. Método Gravimétrico (ROSE-GOTTLIEB) ISO 1211:2010 NORMA FIL -1: 2010

Es un método poco usado en la actualidad pero se considera un método de referencia, donde el contenido de materia grasa se determina gravimétricamente, por extracción en una solución alcohólica-amoniaca del tipo de leche que se trate, mediante éter etílico y éter de petróleo, evaporación de los disolventes y pesado del residuo, según el principio del método de Röse-Gottlieb.

Es aplicable para leche, leche semidescremada, leche en polvo; leche condensada azucarada y sin azucarar; lacto suero, crema y crema batida.

Tabla 60: Elementos para método gravimétrico Rose-Gottlieb

INSTRUMENTAL	EQUIPAMIENTO	REACTIVOS
Probetas o matraces de extracción	Balanza analítica	Solución de hidróxido de amonio al 25 % (Densidad 0,91 a 20 °C)
Tapones de vidrio esmerilados o corcho		Alcohol etílico 96 (V/V) (o en su defecto alcohol)
Matraces de paredes delgadas y base plana de 150 a 250 ml	Estufa de desecación ventilada (102 °C ± 2 °C)	Eter etílico (exento de peróxidos)
		Eter de petróleo (puntos de ebullición entre 30 °C y 60 °C)
		Disolvente mixto* (50% éter dietílico/ 50% éter de petróleo)

Nota: *preparar poco tiempo antes de utilizarlo.

PROCEDIMIENTO:

1. Secar el matraz en la estufa durante un intervalo de media hora, dejar que se enfríe y pesar con la aproximación de 0,1 mg.
2. Invertir tres veces el recipiente contenedor de la muestra y pesar inmediatamente en el aparato de extracción
3. Nota: Peso de las muestras según el tipo de producto, (Tabla 3) para leche entera de 10 a 11 gramos de la muestra bien mezclada.
4. Añadir 1,5 ml de la solución de hidróxido de amonio 25 % y mezclar convenientemente.
5. Añadir 10 ml de alcohol etílico y agitar suavemente, pero de modo homogéneo, manteniendo abierto el aparato de extracción.
6. Adicionar 25 ml de éter etílico, cerrar el aparato y agitarlo vigorosamente invirtiéndolo varias veces, durante un minuto.
Nota: Si es necesario, enfriar el aparato con agua corriente.
7. Quitar el tapón cuidadosamente y añadir 25 mililitros de éter de petróleo para enjuagar el tapón y el interior del cuello del aparato, dejando que los líquidos de los enjuagues penetren en el último.
8. Cerrarlo, volviendo a colocar el tapón y agitarlo e invertirlo.
9. Dejar el aparato en reposo hasta que la capa líquida superior esté completamente limpia y claramente separada de la fase acuosa.
Nota: Podrá efectuarse igualmente la separación mediante el uso de una centrifuga a 500-600 rpm durante 5 minutos.
10. Se repite una segunda vez la extracción del residuo acuoso con otros 15 ml de éter dietílico y éter de petróleo siguiendo la metodología usada anteriormente.

11. A continuación se reúnen las fases orgánicas, se destilan los solventes (incluso el etanol) y se seca el residuo que queda en el matraz por 1 hora a $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
12. Se enfría en desecador y se pesa con precisión $\pm 1\text{ mg}$ hasta peso constante.
13. Quitar el tapón y enjuagarlo, así como también el interior del cuello del aparato con algunos mililitros de la mezcla del disolvente.
14. Al mismo tiempo que se determina el contenido en grasa de la muestra, efectuar el blanco con 10 ml de agua destilada en lugar de la muestra.
15. Si el resultado del ensayo en blanco excede 0,5 miligramos habrá que comprobar los reactivos y aquel o aquellos que resulten impuros deberán sustituirse o purificarse.

Tabla 61: Pesos recomendados de muestra según el tipo de producto

PRODUCTO LÁCTEO	PESO EN GRAMOS
Leche entera, leche desnatada	10-11
Leche entera en polvo	1-1,1
Leche descremada en polvo	1,5-1,6
Crema	2-3
Leche condensada azucarada	3-3,5
Leche condensada sin azúcar	4-5

Fórmula	Donde:
$G [\%] = [(m_2 - m_1) 100] / M$	m1: masa en gramos del matraz
	m2: masa en gramos del matraz con grasa tras secado
	M: peso de la muestra en gramos

6.4.7. Determinación Materias Nitrogenadas de la leche

El método de referencia utilizado universalmente es el método de Kjeldahl, que determina el contenido de nitrógeno, calculándose después el contenido de proteínas

Determinación del Nitrógeno Total ISO 8968-2:2001- FIL 20-2:2001

Una cantidad de leche se digiere con ácido sulfúrico concentrado, sulfato de potasio y catalizador para conseguir la destrucción de la materia orgánica (se le puede añadir agua oxigenada para acelerar la reacción). La proteína se desintegra y el nitrógeno forma $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Esta solución se alcaliniza con hidróxido de sodio, así se libera amoníaco que se destila mediante vapor recogiéndose en una solución de ácido bórico con indicador, que se valora con una solución de ácido de normalidad conocida y a partir del volumen de ácido gastado se calcula el porcentaje de nitrógeno que contiene la leche.

Tabla 62: Elementos para determinación de Nitrógeno Total.

EQUIPAMIENTO	REACTIVOS
Balanza analítica	Tabletas de catalizador: 3,5 g sulfato de potasio 0,105 g sulfato de cobre (II) pentahidratado y 0,105 g de dióxido de titanio
Bloque de digestión de 20 unidades	Ácido sulfúrico al menos de 98 %, D (20 °C) = 1,84 g/ml
Equipo automático de destilación y valoración	Agente antiespumante: emulsión acuosa silicona al 30 % (m/m)
INSTRUMENTAL	Solución de hidróxido de sodio: 40 g/100 ml agua destilada
Tubos de digestión	Agua oxigenada al 30 %
	Solución valorada de ácido clorhídrico 0,1 N
Dosificadores de 10 y 5 ml	Sacarosa con contenido en nitrógeno no superior al 0,002 %
Solución de ácido bórico c/ indicador: Disolver 100 g ácido bórico en 1 L agua destilada. Añadir 5 ml hidróxido de sodio (4 %) y la solución indicadora (100 ml de solución de verde bromocresol (100 mg/100 ml metanol) y 70 ml solución rojo metilo (100 mg/100 ml metanol))	

PROCEDIMIENTO:

1. Digestión: colocar dos tabletas de catalizador (7 g de sulfato de potasio) en tubo de digestión y pesar 2 g de leche, previamente calentada a 38 °C ± 1 °C y bien agitada, añadir 10 ml de ácido sulfúrico, 5 ml de agua oxigenada, dos o tres gotas de antiespumante y agitar suavemente el tubo para mezclar el contenido. Digerir a 420 °C durante 30 a 40 minutos hasta que las muestras tengan un color azul transparente. Dejar enfriar unos 15 minutos y añadir 50 ml de agua destilada. Efectuar un ensayo en blanco según el procedimiento descrito anteriormente, añadiendo en lugar de la muestra de leche 2 ml de agua y 0,25 de sacarosa.
2. Destilación: destilar en el equipo automático, siguiendo las indicaciones y reactivos adecuados y valorar con ácido clorhídrico 0,1 N.

CÁLCULOS:

$$NT [\%] = \frac{(V_m - V_b) \cdot 0,14}{\text{Cantidad de muestra (g)}}$$

V_m: ml de ácido gastado en la muestra
 V_b: ml de ácido gastado en el blanco
 NT: nitrógeno total

El contenido en proteínas totales o proteína bruta en el caso de la leche, expresado en % (g/100 g) se obtiene multiplicando el contenido de nitrógeno total por el factor 6,38.

$$\% NT \cdot 6,38 = \% PB$$

Determinación del Nitrógeno no proteico NNP (Norma Fil 20B: 1993)

En una cantidad de leche se precipitan las proteínas con ácido tricloroacético, de modo que la concentración final de ácido en la mezcla sea alrededor del 12 %. Se filtra y se separan las proteí-

nas precipitadas quedando en el filtrado en nitrógeno no proteico. Sobre el filtrado se determina la cantidad de nitrógeno siguiendo el método Kjeldahl.

Tabla 63: Elementos para determinación de Nitrógeno no proteico

INSTRUMENTAL	REACTIVOS
Matraz aforado de 100 ml	Solución de ácido tricloroacético al 15 % (peso/volumen)
Pipetas de 10 y 20 ml	
Embudos filtrantes de 75 mm de diámetro	
Papel de filtro de 15 mm de diámetro, Whatman n1 o equivalente	Ácido clorhídrico 0,01 solución valorada
Matraz Erlenmeyer	

PROCEDIMIENTO:

Pipetear 10 ml de leche, calentada a $38\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y bien agitada, en un matraz aforado de peso conocido y pesar, añadir 40 ml de la solución de ácido tricloroacético al 15 % y volver a pesar. Mezclar el contenido y dejar en reposo durante 5 minutos. Filtrar el contenido y dejar en reposo durante 5 minutos. Filtrar el contenido, si el filtrado no es transparente y exento de partículas repetir el procedimiento de precipitación y filtración.

Agitar el filtrado, tomar 20 ml en un vaso de precipitado de 50 ml y pesar. Pasar el contenido a un tubo de digestión y pesar el vaso vacío. Realizar la determinación del nitrógeno mediante el método de Kjeldahl descrito en 7.1.

Para la valoración del destilado utilizar la solución de ácido clorhídrico 0,01 N.

CÁLCULOS:

$$\text{NNP} = \frac{1,4007 \cdot N \cdot (V_m - V_b)}{P_f \cdot P_m (P_t - 0,065 P_m)}$$

V_m: ml de ácido gastado en la muestra
V_b: ml de ácido gastado en el blanco
N: Normalidad exacta del ácido
P_f = peso (g) de los 20 ml filtrado
P_m = Peso (g) de la muestra
P_T = Peso (g) de la muestra mas los 40 ml de tricloroacético

6.4.9. Pruebas de estabilidad al Calor: Prueba del alcohol

Al añadir una cierta cantidad de alcohol etílico a la leche se produce una deshidratación de algunos coloides hidrófilos, con lo que puede llegar a producirse desnaturalización y pérdida del equilibrio seguida de floculación. Esto normalmente ocurre cuando se llega a cierto grado de alcohol en la mezcla final, por debajo del cual las leches estables no floculan.

Tabla 64: Elementos para determinación de estabilidad térmica

INSTRUMENTAL	REACTIVOS
Tubos de ensayo con tapa	Alcohol etílico 96°C
Pipetas de 1 y 10 ml	

PROCEDIMIENTO:

1. Colocar 10 ml de la leche a examinar en un tubo de ensayo.
2. Añadir 1 ml de alcohol.
3. Agitar y observar la coloración de la mezcla.

INTERPRETACIÓN:

Si no se observan coágulos adheridos a la pared del tubo indica que la leche va ser estable al tratamiento que se corresponde con la graduación del alcohol utilizado.

6.4.9. Prueba de estabilidad al calor (Prueba de la ebullición)

Tabla 65: Elementos para prueba de ebullición

INSTRUMENTAL	EQUIPAMIENTO
Tubos de ensayo con tapa	Mechero Bunsen
Broche de madera	

PROCEDIMIENTO:

1. Colocar 10 ml de la leche a examinar en un tubo de ensayo y colocar tapa.
2. Sostener con broche de madera
3. Someterla a calentamiento hasta ebullición (agitar constantemente).
4. Observar si la leche coagula.

INTERPRETACIÓN:

La prueba es positiva si se observan partículas coaguladas. Es negativa si no hay alteración
La leche coagula a los 12 grados S.H. y pH 5,89 - 27° D.

6.4.10. Prueba de la fosfatasa alcalina (Prueba de Aschaffenburg y Muellen)

La fosfatasa alcalina es una enzima presente en la leche cruda y progresivamente inactivada por calentamiento a temperaturas superiores a 60°C. Las temperaturas normales de pasteurización baja y alta de la leche la inactivan. Por ello debe estar ausente en una leche correctamente pas-

terizada. La ausencia de esta enzima termolábil a la salida de la leche del pasteurizador permite asegurar que la pasterización ha sido efectuada a una temperatura suficientemente alta para asegurar la destrucción de los gérmenes patógenos, normalmente destruidos por la pasterización. Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta enzima se inactiva con la pasterización baja (tratamiento LTLT, *Baja temperatura Largo Tiempo*) y no con el tratamiento de pasterización alta (HTST, *Alta temperatura Corto Tiempo*, min 71,7°C durante 15 segundos) que se debe aplicar a la leche pasterizada destinada a consumo humano.

La actividad de la fosfatasa alcalina se determina por la acción hidrolítica de dicho enzima sobre un sustrato sintético que da una coloración a la muestra de leche. Se utiliza un kit colorimétrico cualitativo que nos pone en evidencia la presencia de la enzima.

Tabla 66: Elementos para determinación de fosfatasa alcalina

INSTRUMENTAL	EQUIPAMIENTO	REACTIVO
Tubo de ensayo 10 ml	Baño María	Kit de determinación de Fosfatasa alcalina en leche LACTOGNOST® Tableta I y II + Reactivo III
Pipeta graduada	Mechero/ Microondas	
Mortero		
Varilla de vidrio	Opcional: estufa a 37°C	
Cucharita		

PROCEDIMIENTO:

1. Hervir 5 ml de leche cruda para preparar un control.
2. Poner en dos tubos de ensayo P (muestra problema) y C (control) 10 ml de agua destilada.
3. Adicionar a cada uno de ellos una tableta de Lactognost® I y II, previamente machacarlas en un mortero, por separado (por ser difícil de disolver en el agua).
4. Remover con una varilla de vidrio para facilitar la disolución.
5. Pipetear 1 ml de leche en cada uno de los tubos según corresponda el tipo de muestra e introducir en el baño o estufa a 37°C durante 1 hora.
6. Posteriormente añadir a cada tubo una cucharadita del reactivo Lactognost® III y homogeneizar.
7. Leer el color a los 10 minutos.

INTERPRETACIÓN:

La existencia de color azul indicará presencia de actividad de la fosfatasa alcalina. La ausencia de fosfatasa indica claramente una correcta pasterización baja. La presencia de fosfatasa en una leche que se presupone pasterizada indica que la leche no ha sido sometida a un tratamiento correcto de pasterización baja, o que la leche o los productos lácteos se hayan contaminado posteriormente con una partida de leche no pasterizada.

6.4.11. Determinación de la actividad Peroxidasa (Prueba de Storchs)

La actividad de la enzima peroxidasa en la leche se utiliza para el control de la pasterización. La enzima peroxidasa se mantiene activa tras el proceso de pasterización baja (LTLT) de la leche,

poniéndose en evidencia su actividad por la aparición de un color azul tras la reacción. Sin embargo, cuando el método de pasteurización aplicado a la leche es de mayor temperatura (pasteurización alta, HTST) se destruye la enzima, no apareciendo color en los 30 segundos siguientes al desarrollo de la reacción.

El método es cualitativo y se basa en poner en evidencia la presencia de la enzima mediante el desarrollo de una reacción colorimétrica. La enzima peroxidasa presente en la leche descompone el peróxido de hidrógeno. El oxígeno atómico liberado oxida la 1,4 difenildiamina, incolora, que se convierte en indofenol púrpura, dando una coloración azulada que es proporcional a la concentración de la enzima en la leche.

Tabla 67: Elementos para determinación de la actividad peroxidasa

INSTRUMENTAL	EQUIPAMIENTO	REACTIVOS
Tubos de ensayo	Baño María	Solución de 1,4 fenilendiamina: disolver 2g de fenilendiamina (C ₆ H ₈ N ₂) en agua a 50°C y diluir a 100 ml
Frasco marrón oscuro 100ml		
Tapón de vidrio		Solución de peróxido de hidrógeno: diluir 9 ml de peróxido de hidrógeno al 30% en agua hasta 100 ml. Añadir 1 ml/litro de solución de ácido sulfúrico concentrado, como estabilizador.
Gotero		
Pipetas de 5 ml		

Nota: *Conservar en frasco marrón oscuro con tapón de vidrio y almacenar en un lugar fresco y al abrigo de la luz, hasta dos días, dado a que forma sedimento. **Estable un mes en frasco marrón oscuro con gotero, en un lugar fresco y al abrigo de la luz.

PROCEDIMIENTO

1. Introducir 5 ml de leche en un tubo de ensayo.
2. Añadir 5 ml de la solución de 1,4 fenilendiamina.
3. Añadir dos gotas de la solución de peróxido de hidrógeno.
4. Observar la coloración dentro de los 30 segundos siguientes.

Tabla 68: Interpretación reacción de la peroxidasa.

COLOR EN LOS 30"	REACCIÓN	INTERPRETACIÓN
Azul	+	Peroxidasa activa en la leche
Sin color	-	Peroxidasa inactivada por calentamiento
Azul después de los 30"	No específica	Repetir prueba

6.4.12. Determinación de Antibióticos en Leche

Para el tratamiento de las mastitis y otros procesos infecciosos se administran a los animales un amplio rango de medicamentos con efecto bactericida, como la penicilina G, ampicilina, tetraciclinas y sulfamidas. Estas sustancias antimicrobianas pueden llegar a la leche por los tratamientos que se aplican vía intramamaria, a través de alimentos medicamentosos y por el uso inadecuado de medicamentos administrados intramuscularmente. La presencia de residuos de sustancias antibacterianas en la leche plantea problemas sanitarios por dos razones, una por constituir un riesgo sanitario para el consumidor, pudiendo aparecer los siguientes efectos: reacciones alérgicas en personas sensibles, reacciones de carcinogenicidad si la exposición es prolongada, y desarrollo de microorganismos resistentes a los antibióticos. Por otro lado es un problema tecnológico al interferir en el crecimiento de los cultivos iniciadores utilizados en la preparación de productos lácteos como el queso y las leches fermentadas.

Para la determinación de antibióticos en leche se utilizan kits de detección semi-cuantitativos basados en técnicas microbiológicas, que permite detectar la presencia de sustancias antibacterianas en leche cuando se encuentran en concentraciones superiores a los Límites Máximos Residuales (LMR). El principio de esta técnica se basa en añadir una muestra de leche a un agar que contiene un indicador de pH y esporas de *Bacillus steraothermophilus var. cardiolactis*. El medio de cultivo es inicialmente púrpura, y tras el crecimiento de los microorganismos, durante un periodo de incubación y en presencia de la leche, se producen cambios en el medio que van acompañados de la producción de ácido y de una disminución del pH. Como respuesta a este cambio del pH el indicador vira de púrpura a amarillo poniendo en evidencia el crecimiento del microorganismo y la ausencia de sustancias antibacterianas. Si por el contrario el medio se mantiene púrpura tras la incubación, sospecharemos de la presencia de antibióticos que inhibirían el crecimiento de los microorganismos presentes en el agar.

Tabla 69: Elementos para detección de antibióticos en leche

INSTRUMENTAL	EQUIPAMIENTO	REACTIVO
Pipeta Kit 100 µl	Estufa o Baño María a 64°C	Kit de detección de antibióticos en leche CHR Hansen® (500145 Copan Test P&S)
Tubo de ensayo		

PROCEDIMIENTO:

1. Tomar una muestra de leche de un volumen de 100 µl con la pipeta del kit y adicionar en uno de los tubos preparados para el ensayo.
Nota: Tener la precaución de utilizar una pipeta nueva para cada muestra.
2. Colocar el tubo en una estufa o baño maría s $64 \pm 1^\circ\text{C}$ e incubar.
3. Leer los resultados en el cambio de color del medio de cultivo cuando ha transcurrido el tiempo de incubación (3 horas).
4. Las muestras deben ser ensayadas paralelamente con un control positivo constituido por una solución patrón de penicilina con una concentración de 0.004 µg/ml (0.0067 UI/ml), y con otro control negativo que será leche desnatada en polvo sin sustancias antimicrobianas.

Tabla 70: Interpretación de técnica de detección de antibióticos

CONTROL POSITIVO (0.004 mg DE PENICILINA/ml)	CONTROL NEGATIVO	COLOR DE LA MUESTRA PROBLEMA	INTERPRETACIÓN
Púrpura	Amarillo	Púrpura	Presencia de sustancias antimicrobianas en la leche por encima de los LMR*
Púrpura	Amarillo	Amarillo	Ausencia de sustancias antimicrobianas
Púrpura	Amarillo	Púrpura irregular	Presencia de sustancias antimicrobianas en concentraciones bajas
Púrpura	Púrpura	Púrpura	Ensayo mal realizado por ausencia de esporas viables del <i>Bacillus stearothermophilus var. cardiolactis</i>

Nota: *En el caso de que la muestra de positiva habría que decomisar la partida de leche y no autorizar su destino para consumo humano, procediendo a completar el análisis con un estudio que nos permita cuantificar e identificar las sustancias antimicrobianas presentes en la leche.

Tabla 71: Requisitos y métodos de análisis oficiales de análisis.

REQUISITO	VALORES ACEPTADOS	MÉTODOS DE ANÁLISIS
Densidad a 15 °C	1,028 a 1,034	AOAC 16th Ed.925.22
Materia grasa	Mínimo 3,0 g/100 cm ³	FIL 1C:1987
Extracto Seco No graso	Mínimo 8,2g/100g	FIL 21 B:1987
Acidez (g ácido láctico/100cm ³)	0,14 a 0,18 (g de ácido láctico/10 cm ³)	FIL 108B:1991
Descenso crioscópico	Máximo – 0,512 C (equivalente a °C – 0,530 °H)	FIL 108B:19991
Proteínas Totales (N x 6,38)	Mínimo 2,9 g/ 100g	FIL 20B: 1993

Fuente: Adaptado de CAA- Art. 555.

6.4.13. Programas de muestreo para leches y derivados.

Para los productos lácteos la aplicación de criterios microbiológicos suelen ser clasificados según su vida útil, en productos perecederos o “frescos”, (tales como leche, crema, leches aromatizadas o saborizadas, bebidas fabricadas a partir de leche desnatada, leches fermentas y queso fresco) y en productos relativamente estables con vida útil más prolongada (tales como: mantecas, quesos madurados, productos lácteos deshidratados, helados, leche evaporada, leche esterilizada líquida –UHT).

Para los productos perecederos o “frescos” por lo general los criterios microbiológicos se utilizan para establecer la aceptación o rechazo, sometidos a análisis periódicamente. Los atributos microbiológicos más utilizados son el recuento total en placa (RAP) y el de Coliformes.

El artículo 556tris del C.A.A, establece que las leches de cualquier especie que respondan a lo establecido en los artículos 554 y 555 según corresponda y que no hayan sido consideradas no aptas por aplicación del artículo 556, y que hayan sido sometidas o no a filtración simple y/o enfriamiento y/o calentamiento a una temperatura no superior a 40°C o tratamiento de efecto equivalente, deberán responder a los siguientes parámetros de calidad higiénica:

Tabla 72: Planes de muestreo para leches y derivados

ARTÍCULO DEL C.A.A.	PRODUCTO	PARÁMETRO	CRITERIO	METODOLOGÍA OFICIAL
Capítulo VIII Artículo 556tris Revisado 2014	Leche	Recuento total a 30°C (UFC/cm ³)	<20000/cm ³	FIL 100B: 1991
	Leche de cabra	Recuento total a 30°C (UFC/cm ³)	<50000/cm ³	ISO 4833:2003
Capítulo VIII Artículo 557 Revisado 2014	Leche cruda certificada	Recuento mesófilas totales (UFC/cm ³)	<10000/cm ³	
		Patógenos, <i>Escherichia coli</i>	Ausencia 1cm ³	
		Coliformes	<10/cm ³	Recuento en placa en Agar-Violeta-Rojo-Bilis.
Capítulo VIII Artículo 558 Revisado 2014	Leche Entera Pasteurizada	Recuento total en placa 30°C (UFC mesófilas/cm ³)	<50000/cm ³ <100000/cm ³	
		Abril-Setiembre Octubre-Marzo		
		<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1cm ³	
		Coliformes	<50/cm ³	Recuento en placa en Agar-Violeta-Rojo-Bilis.

Capítulo VIII Artículo 559 Revisado 2014	Leche Entera Seleccionada Pasteurizada	Recuento total en placa 30°C (UFC mesófilas/cm ³) Abril-Setiembre Octubre-Marzo	<25000/cm ³ <35000/cm ³	Recuento en placa en Agar-Violeta-Rojo-Bilis.
		<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1cm ³	
		<i>Coliformes</i>	<10/cm ³	
Capítulo VIII Artículo 559bis Revisado 2014	Leche Entera Certificada Pasteurizada	Recuento total en placa 30°C (UFC mesófilas/cm ³)	<5000/cm ³	Recuento en placa en Agar-Violeta-Rojo-Bilis.
		Coliformes	Ausencia en 1cm ³	
Capítulo VIII Artículo 585	Crema de Leche pasteurizada	Coliformes totales/g	n = 5 c = 2 m = 10 M = 100	FIL 73A : 1985
		Coliformes/ g (45°C)	n = 5 c = 2 m	APHA 1992, Cap. 24
		Estafilococos coag. Positiva/g.	n = 5 c = 1 m=10 M=100	FIL 145: 1990
		Aerobios Mesófilos / g	n = 5 c = 2 m = 10000 M = 100000	FIL 100B: 1991
Capítulo VIII Artículo 585 C.A.A	Crema de leche esterilizada y/o UAT	Aerobios Mesófilos/g luego de 7 días de incubación a 35°C.	n = 5 c = 0 m = 100	FIL 100B: 1991

Fuente: Adaptado de CAA.

Productos lácteos relativamente estables: Leche ultra alta temperatura (UAT-UHT), Leche entera esterilizada, Leche Reconstituida, Leche en Polvo, quesos duros.

Recomendaciones generales para la toma de muestra.

Para leches en polvo, de ser posible remitir paquetes cerrados, para leches en polvo a granel tomar de ser posible la muestra en el punto más cercano al centro del envase, teniendo de separar primero con una paleta estéril la leche superficial y luego con cuchara estéril tomar la muestra. Para el envío de las muestras y a los fines de evitar su deterioro por efecto de la luz, los frascos deberán ser opacos, o en su defecto protegerlo con varias capas papel metalizado.

Para los quesos existen tres técnicas de muestreo:

Corte de un sector: para la toma de muestra se deben realizar dos cortes radiales desde el centro del queso con cuchillo afilado estéril. Esta técnica se emplea para quesos Edam, Gouda, algunos quesos blandos y semiduros donde no pueda utilizarse un sacabocados.

Sacabocados: Insertar el sacabocados estéril de forma oblicua hacia el centro del queso una o varias veces en un punto a una distancia no menor de 10-20 cm del borde. A partir de los cilindros obtenidos por el sacabocados cortar una porción cuya distancia a la corteza no sea inferior a 2cm, el resto del cilindro es lo que se remite como muestra.

Quesos enteros o partes sustanciales del mismo: es el método más utilizado para quesos frescos, quesos blandos, quesos pequeños, o porciones de quesos fundidos y quesos blandos envasados. En estos casos, se corta un trozo del queso (no desmenuzar ni comprimir), se coloca en un recipiente estéril, y se remite al laboratorio refrigerado.

Tabla 73: Planes de muestreo y criterios microbiológicos para leches.

ARTÍCULO DEL C.A.A.	PRODUCTO	PARÁMETRO	PLAN/ CATEGORÍA	CRITERIO
Capítulo VIII Artículo 559tris Revisado 2014	Leche Ultrapasteurizada	Recuento de mesófilos totales/ cm ³	3 clases. Categoría 3	n=5 c=2 m=10 M=10
		Recuento de Coliformes a 30°C/cm ³	3 clases. Categoría 6	n=5 c=2 m<3 M=10
		Recuento de Coliformes a 45°C/cm ³	3 clases. Categoría 6	n=5 c=1 m<3 M=10
Capítulo VIII Artículo 560bis Revisado 2014	Leche UAT (entera/ semidescremada/ descremada)	Recuento de mesófilos totales/ cm ³	2 clases. Categoría 10	n=5 c=0 m=100
Capítulo VIII Artículo 561 Revisado 2014	Leche entera esterilizada	Recuento de mesófilos totales/ cm ³	—	<10/cm ³
Capítulo VIII Artículo 563 Revisado 2014	Leche Reconstituida	Recuento de mesófilos totales/ cm ³	—	<10000/cm ³

Capítulo VIII Artículo 570 y 570bis Revisado 2014 GMC N° 082/93	Leches en Polvo	Recuento de mesófilos totales UFC/g	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=30000 M= 100000
		Coliformes a 30°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=10 M= 100
		Coliformes a 45°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m<3 M= 10
		Estafilococos coag. pos./g	3 clases. Categoría 8	n=5 c=1 m=10 M= 100
		Salmonella spp	2 clases. Categoría 11	n=10, c=0, m=Ausencia en 25gr
Capítulo VIII GMC N° 071/93	Crema de Leche Pasteurizada	Recuento de mesófilos totales UFC/g	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=10.000 M=100.000
		Coliformes a 30°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=10 M=100
		Coliformes a 45°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m<3 M= 10
		Estafilococos coag. pos./g	3 clases. Categoría 8	n=5 c=1 m=10 M=100
	Crema de Leche Esterilizada o UHT (luego de incubación a 35°C por 7 días)	Aerobios mesófilos/g1	2 clases. Categoría 10	n=5 c=0 m=100

Planes de muestreos y criterios microbiológicos para Quesos: de Baja Humedad (Parmesano, Reggianito, Romano, Sardo, Provolone/Provoletta, Sbrinz); de Mediana Humedad (Edam, Dambo, Colonia o Fontina, Gruyere, Emmenthal, Holandita, Cheddar, Tybo, Tilsit, Fymbo, Tafi, Tandil, Muzarela barra, Azul o tipo Gorgonzola) y de Alta Humedad (Queso crema, blanco, fundido, cremoso. Cuartirolo, Mascarpone, Muzarela, Brie, Camembert, Neufchatel.)

Tabla 74: Planes de muestreo y criterios microbiológicos para Quesos

ARTÍCULO DEL C.A.A	PRODUCTO	PARÁMETRO	PLAN/ CATEGORÍA	CRITERIO
Artículo 605	Quesos de baja humedad (humedad < 36%)	Coliformes a 30°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=200 M=1000
		Coliformes a 45°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=100 M=500
		Estafilococos coag. pos./g	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=100 M=1000
		<i>Salmonella spp</i>	2 clases. Categoría 10	n=5 c=0 m=Ausencia en 25gr
Artículo 605	Quesos de mediana humedad (36% <Humedad< 46%)	Coliformes a 30°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=1000 M=5000
		Coliformes a 45°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=100 M=500
		Estafilococos coag. pos./g	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=100 M=1000
		<i>Salmonella spp</i>	2 clases. Categoría 10	n=5 c=0 m=Ausencia en 25gr
		<i>Listeria monocytogenes</i>	2 clases. Categoría 10	n=5 c=0 m=Ausencia en 25gr
Artículo 605	Quesos de alta humedad (46% < Humedad < 55%)	Coliformes a 30°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=5000 M=10000
		Coliformes a 45°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=1000 M=5000
		Estafilococos coag. pos./g	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=100 M=1000
		<i>Salmonella spp</i>	2 clases. Categoría 10	n=5 c=0 m=Ausencia en 25gr
		<i>Listeria monocytogenes</i>	2 clases. Categoría 10	n=5 c=0 m=Ausencia en 25gr

Artículo 605	Queso Rallado	Coliformes a 30°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=10000 M=100000
		Coliformes a 45°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=1000 M=5000
		Estafilococos coag. pos./g	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=100 M=1000
		Hongos y Levaduras/g	2 clases. Categoría 2	n=5 c=0 m=Ausencia en 25gr
		<i>Salmonella spp</i>	2 clases. Categoría 10	n=5 c=0 m=Ausencia en 25gr
Artículo 605	Quesos Fundidos	Coliformes a 30°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=10 M=100
		Coliformes a 45°C (UFC/g)	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=< 3 M=10
		Estafilococos coag. pos./g	3 clases. Categoría 5	n=5 c=2 m=100 M=1000

Fuente: Adaptado de CAA.

Leches Fermentadas. Son los productos, adicionados o no de otras sustancias alimenticias, obtenidos por coagulación y disminución del pH de la leche o leche reconstituida, adicionada o no de otros productos lácteos, por fermentación láctica mediante la acción de cultivos de microorganismos específicos. Dentro de esta definición, el C.A.A en el artículo 576 incluye al yogurt, kéfir y leche cultivada.

Tabla 75: Planes de muestreo y criterios microbiológicos leche fermentada

ARTICULO DEL CAA	PRODUCTO	PARÁMETRO	PLAN/ CATEGORÍA	CRITERIO
Artículo 576.	Yogurt; yogurt con frutas; leches cultivadas; yogurt saborizado; kefir	Coliformes/g 30°C	3 clases Categoría 4	n = 5 c = 2 m = 10 M = 100
		Coliformes/g 45°C	3 clases Categoría 4	n = 5 c = 2 m m<3 M=10
		Hongos y levaduras	3 clases Categoría 2	n = 5 c = 2 m = 50 M = 200

Fuente: Adaptado de CAA.

LISTADO DE ABREVIATURAS

a*:	Coordenada rojo-verde.
AOAC:	<i>Association of Official Analytical Chemists.</i>
ANMAT:	Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica
b*:	Coordenada amarillo-azul.
BPM/BPF:	Buenas Prácticas de Manufacturas/Fabricación
BRC:	<i>British Retail Consortium</i>
C*:	Croma.
°C:	Grados centígrados.
CAA:	Código Alimentario Argentino
CC:	Condición corporal.
CIE:	Comisión internacional de iluminación.
CONAL:	Comisión Nacional de Alimentos.
CRA:	Capacidad de retención de agua.
DE:	Diferencia de color.
DE:	Desvío estándar.
DFD:	Carnes oscura, firmes y secas.
EG:	Espesor de grasa dorsal.
EL:	Espesor de lomo.
ETAs:	Enfermedades transmitidas por los alimentos
EUREPGAP:	<i>Euro-Retailer Produce Working Group Good Agriculture Practices</i>
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación
FDA:	Administración de Alimentos y Medicamentos de EEUU
H*:	Tono.
ICMSF:	Comisión Internacional para Especificaciones Microbiológicas en Alimentos.
IFS:	<i>International Featured Standards</i>
INAL:	Instituto Nacional de Alimentos.
ISO:	<i>International Organization for Standardization</i>
Kg:	Kilogramo.
L*:	Luminosidad.
n:	Tamaño muestral.
OMS:	Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud
pH: Potencial de hidrógeno.
POES: Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento
PSE: Carnes pálidas, blandas y exudativas.
PIT: Perfil Isquiotarsiano.
SENASA: Servicio Nacional de Seguridad y Calidad Agroalimentaria.
UFC: Unidad Formadora de Colonias

BIBLIOGRAFÍA

Aleu, G., Sequeira, G., Milanesio, R., Sánchez, I., Wenzel, E. (2015). Guía para la implementación de buenas prácticas de manufactura en la producción de carne de cerdo y derivados tendientes a eliminar el riesgo de presencia de *Thichinella spiralis*. 1a Ed. EDUCC, Córdoba.

Aleu, G. (2010) Determinación de los aspectos tecnológicos y nutricionales de la carne de llama (*Lama glama*). [Tesis de maestría]

ANMAT (2017). Muestreo de Alimentos. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/portafolio_educativo/pdf/cap11.pdf última consulta 29/12/2017).

APHA (1992). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Cap. 24.

AOAC- Association of Official Analytical Chemists (1990) *Fluorimetric Method for determination of Histamina*, 15th Edition, 1990, p. 977.93.

Buxadé Carbó, C. La gallina ponedora: sistemas de explotación y técnicas de producción. Ed. Mundi-Prensa, 2000.

Codex Alimentarius (2017). Código internacional recomendado de prácticas. Principios generales de higiene de los alimentos. Disponible en: www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/others/docs/CAC-RCP1-1969.pdf (última consulta 29/12/2017).

European Quality Formación (2017). Sistema de Gestión de la Inocuidad de Alimentos. Disponible en: [http://www.formanube.com/contenidos/unidades/1/170_5 %20Sistema%20de%20Gestion%20de%20la%20Inocuidad%20de%20los%20Alimentos.pdf](http://www.formanube.com/contenidos/unidades/1/170_5%20Sistema%20de%20Gestion%20de%20la%20Inocuidad%20de%20los%20Alimentos.pdf)

Código Alimentario Argentino (2017): <http://www.anmat.gov.ar> (última consulta 29/12/2017).

FAO (2017). Principios y directrices para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos relativos a los alimentos. Directriz CAC/GL 21-1997. Revisada 2013. Disponible en: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/es/>

FAO (2017). Directrices generales sobre muestreo. Directriz CAC/GL 50-2004. Disponible en: file:///C:/Users/gonzalo/Downloads/CXG_050s.pdf.

Fellows, P (2000). *Food Processing Technology: Principles and Practice*. 2 Ed. CRC, England.

Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Fernández-López, J. A. (1997). *Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat*. *Food Chemistry*, 59, 345–353.

Fernández-López, J., Yelo, A., Sendra, E., Sayas-Barbera, E., Navarro, C., & Pérez-Álvarez, J. A. (2006). Shelf-life of ostrich liver stored under different packaging conditions. *Journal of Food Protection*, 69, 1920–1927.

Guerrero, I; Rosmini, M.R., Armenta, R.E. (2009) *Tecnología de productos de origen acuático*. México, Limusa.

Hui, Y.H; Guerrero, I; Rosmini, M.R. (2006) *Ciencia y Tecnología de Carnes*. México, Limusa.

ICMSF (2002) *Microorganisms in Foods 7. Microbiological Testing in Food Safety Management*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.

ISO 7218:2007: <https://www.iso.org/standard/36534.html> (última consulta 29/12/2017).

ISO 9000:2015: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9000:ed-4:v1:es> (última consulta 29/12/2017).

ISO 9001:2015 Sistema de Gestión de la calidad. Requisitos. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9001:ed-5:v1:es> (última consulta 29/12/2017).

Inovo (2017) Caracterización comercial de ovoproductos líquidos y cocidos. Asociación Española de la Industrialización de Ovoproductos. <http://www.inovo.es> (última consulta 29/12/2017).

IPCVA (2017). Nomenclador de Cortes Vacunos. Disponible en <http://www.ipcva.com.ar/nomenclador2015/>. (última consulta 29/12/2017).

Ley 24.127 (1992) Premio Nacional de Calidad. <https://pnc.argentinagob.ar/normativa> (última consulta 29/12/2017).

Mazzone, G., Vignola, G., Giammarco, M., Manetta, A., Lambertini, L. *Effects of loading methods on rabbit welfare and meat quality*. Teramo - Italia : Elsevier Ltd., 2010. págs. 33 - 39. Vol. 85 (2010). doi:10.1016/j.meatsci.2009.11.019.

Ministerio de Economía y Producción (2017). *Reglamento de Inspección de Productos, Subproductos y Derivados de Origen Animal*. Decreto 4238/68. Argentina: s.n. <https://www.senasa.gov.ar> (última consulta 29/12/2017).

OPS-OMS (2017) Historia del Sistema HACCC. Disponible en: <http://www.paho.org/hq/index>. (última consulta 29/12/2017).

Pérez Alvarez, J.A.; Fernández López, J. & Sayas Barberá, E. (2007) Industrialización de Productos de Origen Animal. 3e. Elche (España), Gráficas Limencop S.L., Universidad Miguel Hernández. Vol I y Vol II.

Pérez-Harguindeguy, G. & Ballesteros, F. (2017). Consumo responsable de productos de la pesca y la acuicultura Coordinación de Pesca. Dirección de Fiscalización de Productos de Origen Animal (DFPOA) Dirección Nacional de Fiscalización Agroalimentaria (DNFA) SENASA.

Periago-Castón, M.J. (2017) Higiene, inspección y control de huevos de consumo. Universidad de Murcia.

RAE (2017) Diccionario de la Real Academia Española. <http://dle.rae.es/?id=6nVpk8P|6nXVL1Z> (última consulta 29/12/2017).

Rosmini, M.R., Perlo, F., Pérez-Álvarez, J. A., Pagan-Moreno, M.J., Gago-Gago, M.A., López-Santoveña, F., Aranda-Catalá, V. (1996). TBA test by extractive method applied to pate. *Meat Science*, 42, 103–110.

SIRVETA OPS/OMS (2017) Sistema de información para la vigilancia de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Disponible en: www.panalimentos.org/sirveta/e/report_eta01.asp.

ÍNDICE

Resumen	1
Agradecimientos	1
Glosario	3
Capítulo 1: Aspectos Básicos de la Seguridad Alimentaria.	5
Capítulo 2: Calidad, Conceptos, Competencias, Microbiología.	35
Capítulo 3: Análisis de Agua de Red.	51
Capítulo 4: Análisis de Carne y Productos Cárnicos.	58
Capítulo 5: Análisis de Huevo y Ovoproductos.	103
Capítulo 6: Análisis de Leche y Derivados.	117
Capítulo 7: Análisis de Productos de la Origen Acuícola.	143
Capítulo 8: Control de Calidad y Análisis Genéricos.	159
Capítulo 9: Documentación, Verificación y Validación.	165
Bibliografía	183

PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN Y COMUNICACIÓN PÚBLICA DE LA CIENCIA (PROTRI)

El Programa PROTRI de la Secretaría de Ciencia y Tecnología del Gobierno de la Provincia de Córdoba, procura identificar los resultados, experiencias o saberes transferibles generados por los grupos de investigación de las universidades, empresas o centros de ciencia y tecnología cordobeses, para promover el intercambio fructífero con otras áreas del sector social y productivo provincial, potencialmente usuarios de nuevos conocimientos y mejores prácticas, persiguiendo una mejora en la calidad de vida y un aumento de las oportunidades territoriales.

El Programa financia: ciclos de capacitación o asesoramiento, documentos de divulgación científica, guías/manuales de buenas prácticas, infografías impresas, cuadernos de experimentos, infografías digitales y videos cortos. Para postular a un subsidio, cada equipo de investigación formula su proyecto a partir de una demanda, de un compromiso específico previamente acordado con algún sector social, científico, educativo o productivo, que será finalmente el receptor de la transferencia.

Dirección de Promoción de Actividades Científicas
Subsecretaría de Promoción Científica