



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FISICOQUÍMICA DE LA  
LECHE CRUDA DE VACA EXPENDIDOS EN LOS MERCADOS  
DE LA CIUDAD DE PUNO**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. KATIA JUANA LARICO MAMANI**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO – PERÚ**

**2024**



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA DE VACA EXPENDIDOS EN LOS MERCADOS DE LA CI

AUTOR

KATIA JUANA LARICO MAMANI

RECUENTO DE PALABRAS

20856 Words

RECUENTO DE CARACTERES

109549 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

102 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.3MB

FECHA DE ENTREGA

Jan 17, 2024 9:52 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jan 17, 2024 9:53 AM GMT-5

● 18% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 18% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 10% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)



Bigo. M.Sc. Eva Laura Chauca  
DOCENTE PRINCIPAL D.E. FCCBR - UNA  
CÓDIGO N° 906



## DEDICATORIA

A mi amado papá Wilfredo a quien agradezco por su cariño, valores y esfuerzo; y, aunque no este físicamente, valoro infinitamente sus enseñanzas.

A Yeny, mi Mamá, por su amor y paciencia que siempre me impulsa a continuar y por su constante apoyo en mi formación.

A mi Abuelo Silvestre por su afecto.

A mis hermanos Raul y Deycy por su apoyo permanente.

A mi sobrino Denzel por haber complementado nuestro hogar y brindarnos alegría.

**Katia Juana Larico Mamani**



## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano y a la Facultad de Ciencias Biológicas por la formación profesional.

A mi asesora M.Sc. Eva Laura Chauca De Meza, por su colaboración, apoyo, sugerencias y paciencia, durante el proceso de la ejecución de tesis.

A mis jurados D.Sc. Dante Joni Choquehuanca Panclas, Mg. Ciria Ivonne Trigos Rondon, M.Sc. Isabel Eveling Castillo Coaquira, por sus sugerencias y hacer posible la culminación del trabajo de investigación.

A mi tío Edgar por su apoyo y cariño incondicional.

A mi tía Lucy por su soporte emocional.

A Wonder por darme su amor incondicional y a quien echo de menos.

A mis estimadas Amigas Jessica y Milen, por su amistad y por su apoyo.

A mis amigos y amigas: Cesar, Uwer, William, Fisher, Yaqui, Cynthia, Edith, shommer y a todos los que formaron parte de mi formación universitaria.

**Katia Juana Larico Mamani**



# ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN ..... 12**

**ABSTRACT..... 13**

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

**1.1. OBJETIVO GENERAL ..... 15**

**1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 15**

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

**2.1. ANTECEDENTES..... 16**

**2.2. MARCO TEÓRICO ..... 20**

2.2.1. Leche cruda..... 20

2.2.2. Calidad nutritiva de la leche ..... 20

2.2.3. Composición de la leche ..... 21

2.2.4. Calidad microbiológica..... 24

2.2.5 Contaminación de la leche que afectan a la calidad ..... 30

2.2.6. Calidad higiénica de la leche ..... 33

2.2.7. Bacterias indicadoras de la calidad sanitaria y higiénica de la leche ..... 34

2.2.8. Calidad fisicoquímica de la leche ..... 35



2.2.9. pH .....	36
2.2.10. Densidad .....	37
2.2.11. Acidez titulable .....	37
2.2.12. Sólidos grasos .....	38
2.2.13. Sólidos totales .....	38

### **CAPITULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

<b>3.1. ÁREA DE ESTUDIO .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA .....</b>	<b>39</b>
<b>3.3. TIPO DE ESTUDIO .....</b>	<b>40</b>
<b>3.4. METODOLOGÍA.....</b>	<b>41</b>
3.4.1 Métodos Microbiológicos .....	41
3.4.2. Metodos Fisicoquimicos .....	44
<b>3.5. MÉTODO ESTADÍSTICO .....</b>	<b>46</b>
<b>3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>46</b>

### **CAPÍTULO IV**

#### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

<b>4.1. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE CRUDA DE VACA EXPENDIDO EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO, MEDIANTE EL RECuento BACTERIANO MESÓFILOS VIABLES Y <i>ESCHERICHIA COLI</i>.....</b>	<b>48</b>
<b>4.2. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA VACA EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO, MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE PH, ACIDEZ, DENSIDAD TITULABLE, SOLIDOS GRASOS Y SOLIDOS TOTALES. ....</b>	<b>54</b>



<b>4.3. ESTABLECER LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA DE VACA QUE SE EXPENDEN EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO. ....</b>	<b>63</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>72</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>73</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>74</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>80</b>

**ÁREA:** Ciencias Biomédicas

**SUB LÍNEA DE INVESTIGACION:** Diagnóstico y Epidemiología

**FECHA DE SUSTENTACIÓN:** 19/01/2024



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Frecuencia del contenido de mesófilos viables en la leche cruda de vaca en la ciudad de Puno (enero- marzo del 2023). .....	64
<b>Figura 2.</b> Frecuencia del contenido de Numero más probable (NMP/g) de Escherichia coli en la leche cruda de vaca en la ciudad de Puno (enero- marzo del 2023). .....	64
<b>Figura 3.</b> Frecuencia de la determinación de pH (H+). .....	67
<b>Figura 4.</b> Frecuencia de la determinación de acidez (g/100). .....	68
<b>Figura 5.</b> Frecuencia de la determinación de densidad titulable (g/ml).....	68
<b>Figura 6.</b> Frecuencia de la determinación de sólidos grados (g/100g). .....	69
<b>Figura 7.</b> Frecuencia de la determinación de sólidos totales (g/100g). .....	69
<b>Figura 8.</b> Muestra de la leche cruda de vaca y los vendedores de la ciudad de Puno. ..	95
<b>Figura 9.</b> Transporte y muestras de la leche cruda colectado de los tres mercados de la ciudad de Puno en contenedor gel pack. ....	95
<b>Figura 10.</b> Preparación de medios de cultivo.....	96
<b>Figura 11.</b> Procedimiento de plaqueo y lectura de recuento mesófilos viables en placa. ....	96
<b>Figura 12.</b> Preparacion de ensayo de presuncion para Escherichia coli en caldo Lactosado. ....	96
<b>Figura 13.</b> Preparación y Ensayo de confirmación de Escherichia coli en caldo verde brillante bilis.....	97
<b>Figura 14.</b> Escherichia coli en agar selectivo Eosina Azul de Metileno (EMB). .....	97
<b>Figura 15.</b> Determinación de la densidad. ....	98
<b>Figura 16.</b> Determinación de la acidez titulable. ....	98
<b>Figura 17.</b> Determinación de la grasa. ....	99



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición de la leche. ....	22
<b>Tabla 2.</b> Mercados para toma y número de muestras de los mercados de la ciudad de puno. ....	40
<b>Tabla 3.</b> Promedios de los recuentos bacterianos de mesófilos viables y numero más probable (nmp/g) de <i>escherichia coli</i> en la leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de puno (enero-marzo del 2023). ....	48
<b>Tabla 4.</b> Promedios de los parámetros fisicoquímicos en la leche cruda de vaca que se expenden en los mercados de la ciudad de puno (enero - marzo del 2023)...	54
<b>Tabla 5.</b> Frecuencia de mesófilos viables y nmp/g de <i>e. coli</i> en los mercados de la ciudad de puno (enero-marzo del 2023). ....	63
<b>Tabla 6.</b> Frecuencia de la calidad fisicoquímica del ph, acidez y densidad de la leche cruda de vaca expendido en los mercados de la ciudad de puno (enero-marzo del 2023).....	66
<b>Tabla 7.</b> Frecuencia de la calidad fisicoquímica de los sólidos grasos y solidos totales de la leche cruda de vaca expendido en los mercados de la ciudad de puno (enero - marzo del 2023). ....	67
<b>Tabla 8.</b> Especificaciones sanitarias microbiologicas.....	80
<b>Tabla 9.</b> Especificaciones técnicas fisicoquímicas. ....	80
<b>Tabla 10.</b> Promedio del recuento de bacterias mesófilos viables en muestras de leche cruda de vaca en los mercados: central, bellavista y unión y dignidad de la ciudad de puno.....	81
<b>Tabla 11.</b> Promedios del número más probable (nmp/g) de <i>e. coli</i> en muestras de leche cruda de vaca en los mercados: central, bellavista y unión y dignidad de la ciudad de puno.....	83



<b>Tabla 12.</b> Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en ph en muestras de leche cruda de vaca en los mercados: central, bellavista y unión y dignidad de la ciudad de puno.....	85
<b>Tabla 13.</b> Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en acidez en muestras de leche cruda de vaca en los mercados: central, bellavista y unión y dignidad de la ciudad de puno.....	87
<b>Tabla 14.</b> Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en densidad en muestras de leche cruda de vaca en los mercados: central, bellavista y unión y dignidad de la ciudad de puno....	89
<b>Tabla 15.</b> Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en solidos grasos en muestras de leche cruda de vaca en los mercados: central, bellavista y unión y dignidad de la ciudad de puno.....	91
<b>Tabla 16.</b> Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en solidos totales en muestras de leche cruda de vaca en los mercados: central, bellavista y unión y dignidad de la ciudad de puno.....	93
<b>Tabla 17.</b> Numero mas probable para coliformes ( <i>escherichia coli</i> ).....	94



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

NMP: Número más probable.

mg/l: Miligramos por litro.

pH: Potencial de hidrogeniones.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

%: Porcentaje.

UFC/g: unidades formadoras de colonia por gramo de muestra.

NTP: Norma técnica peruana.

DIGESA: Dirección General de Salud Ambiental.

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.



## RESUMEN

El estudio de calidad de la leche cruda de vaca fue realizado en los mercados de la ciudad de Puno, durante los meses de Enero a Marzo del 2023, con los siguientes objetivos: a) Determinar la calidad microbiológica de la leche cruda de vaca en los mercados de la ciudad de Puno, mediante el recuento bacteriano mesófilos viables y *Escherichia coli*; b) Evaluar la calidad fisicoquímica de la leche cruda vaca en los mercados de la ciudad de Puno, mediante la determinación de pH, acidez, densidad titulable, solidos grasos y solidos totales; y c) Establecer la calidad microbiológica y fisicoquímica de la leche cruda de vaca que se expenden en los tres mercados de la ciudad de Puno. La Metodología consistió en: procesar 30 muestras y 2 repeticiones, para la calidad microbiológica, se aplicó el método microbiológico establecido por DIGESA 2021 – *Codex alimentarius* – OMS, en la determinación de bacterias mesófilas viables y *Escherichia coli*; y, para las características fisicoquímicas, se utilizaron los parámetros de MINAGRI – DS N° 007-2017. El método estadístico utilizado fue: descriptiva e inferencial a través de (promedios) frecuencias y T de student. Se obtuvieron los siguientes resultados: El contenido microbiológico de mesófilos viables fueron de: Los promedios para el recuento de mesófilos viables en leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno, fueron de:  $1.30 \times 10^4$  ufc/ml para el Mercado Bellavista; mercado Central  $3.22 \times 10^4$  ufc/ml y para el Mercado Unión y Dignidad  $2.64 \times 10^4$  ufc/ml la prueba T de student,  $P_m = 0,001$ , existe diferencia significativa y  $P_M = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) por lo que no existe diferencia significativa y para *Escherichia coli* 35.80 NMP Mercado Bellavista; 42.90 NMP Mercado Central, y 33.40 NMP Mercado Unión y Dignidad; Respecto de la prueba T de student, p de 1,000 ( $p > 0,05$ ) no existe diferencia significativa en los tres mercados de la ciudad de Puno. Los promedios para los parámetros fisicoquímicos en leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno, fueron: pH 6,54 Mercado Bellavista, 6,71 Mercado Central y Unión y dignidad 6.63, Para la prueba T de student sobre el  $P_m 0,850$  ( $p > 0,05$ ) y  $p_M = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa; Acidez 0.157 Mercado Bellavista, 0.161 Mercado Central y Unión y dignidad 1.155 prueba T de student  $P_m = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) y  $p_M$  de 0,996 ( $p > 0,05$ ), no hay diferencia significativa; Densidad 1.0286 Mercado Bellavista 1.02961 Mercado Central y Unión y Dignidad 1.029, la prueba T de student  $P_m = 0,024$  ( $p < 0,05$ ) demostró diferencia significativa y  $P_M = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa.; En solidos grasos: 3.188 Mercado Bellavista, 3.184 Mercado Central y Unión y Dignidad 3.197, la prueba T de student p de 0,745 ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa y Solidos totales 11.26 Mercado Bellavista, 11.35 Mercado Central y Unión y Dignidad 11.21, la prueba T de student valor p de 0,986 ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa. Se concluye que las leches analizadas procedentes de los mercados presentan buena calidad higiénico-sanitaria.

**Palabras Clave:** Calidad higiénica, *Escherichia coli*, industria lechera, Mesófilos viables, DIGESA y Parámetros fisicoquímicos.



## ABSTRACT

The study of raw cow's milk quality was made out in the markets of the city of Puno, during the months of January to March 2023, with the following objectives: First, determine the microbiological quality of raw cow's milk in the markets. markets of the city of Puno, by counting viable mesophilic bacteria and *Escherichia coli*; Second, evaluate the physicochemical quality of raw cow's milk in the markets of the city of Puno, by determining pH, acidity, titratable density, fat solids and total solids; and Third, establish the microbiological and physicochemical quality of the raw cow's milk sold in the three markets of the city of Puno. The Methodology consisted of: processing 30 samples and 2 repetitions, for microbiological quality, the microbiological method established by DIGESA 2021 - Codex alimentarius - WHO was applied in the determination of viable mesophilic bacteria and *Escherichia coli*; and, for the physicochemical characteristics, the parameters of MINAGRI – DS NO 007-2017 were used. The statistical method used was: descriptive and inferential statistics through (averages) frequencies and Student's T. The following results were obtained: The microbiological content of viable mesophiles was: The averages for the count of viable mesophiles in raw cow's milk sold in the markets of the city of Puno were:  $1.30 \times 10^4$  cfu/ml for the Bellavista Market; Central market  $3.22 \times 10^4$  cfu/ml and for the Unión y Dignidad Market  $2.64 \times 10^4$  cfu/ml the student's T test,  $P_m = 0.001$ , there is a significant difference and  $MP = 1.000$  ( $p > 0.05$ ) so it does not exist significant difference and for *Escherichia coli* 35.80 NMP Mercado Bellavista; 42.90 NMP Central Market, and 33.40 NMP Union and Dignity Market; Regarding the student's T test,  $p$  of 1.000 ( $p > 0.05$ ), there is no significant difference in the three markets of the city of Puno. The averages for the physicochemical parameters in raw cow's milk sold in the markets of the city of Puno were: pH 6.54 Mercado Bellavista, 6.71 Mercado Central and Unión y Dignidad 6.63, for the student's T test on  $P_m$  0.850 ( $p > 0.05$ ) and  $p_M = 1.000$  ( $p > 0.05$ ) there is no significant difference; Acidity 0.157 Bellavista Market, 0.161 Central Market and Union and dignity 1.155 student's T test  $P_m = 1.000$  ( $p > 0.05$ ) and  $p_M$  of 0.996 ( $p > 0.05$ ), there is no significant difference; Density 1.0286 Bellavista Market 1.02961 Central Market and Unión y Dignidad 1.029, the student's T test  $P_m = 0.024$  ( $p < 0.05$ ) showed a significant difference and  $PM = 1.000$  ( $p > 0.05$ ) there is no significant difference.; In fatty solids: 3.188 Mercado Bellavista, 3.184 Mercado Central and Unión y Dignidad 3.197, the student's T test  $p$  of 0.745 ( $p > 0.05$ ) there is no significant difference and Total Solids 11.26 Mercado Bellavista, 11.35 Mercado Central and Unión y Dignidad 11.21, student's T test  $p$  value of 0.986 ( $p > 0.05$ ) there is no significant difference. It is concluded that the milk analyzed from the markets has good hygienic-sanitary and physicochemical quality

**Keywords:** Hygienic quality, *Escherichia coli*, dairy industry, viable mesophiles, DIGESA and physicochemical parameters.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La leche de vaca es uno de los alimentos más completos para la alimentación del ser humano, especialmente para los niños, proporciona elementos esenciales como proteínas, lípidos, vitaminas; por ser fuente importante de energía, considerado como uno de los más completos para la nutrición (FAO., 2022). La producción de la leche fresca en el Perú ha ido en aumento, en los últimos 10 años, teniendo un crecimiento anual de 2.3%, cuya producción es de 1'959 229 toneladas, el consumo per cápita de es de 87.0 litros al año (MINAGRI, 2017). Lo cual posiciona a la leche como un producto de elemental consumo para la población, además que es materia prima para varios tipos de derivados lácteos. Por otro lado, si bien es un alimento nutritivo, también es un problema de inocuidad, pues es un medio ideal para el crecimiento microbiano y de fácil adulteración y/o descomposición alterando su calidad (Indecopi, 2021).

En la ciudad de Puno se observa la venta ambulatoria de la leche fresca a granel, generalmente por las tardes, cuya procedencia es de comunidades como Illpa, Chucuito, Paucarcolla, Ichu y Collacachi. La comercialización de este producto es al aire libre, en condiciones deficientes utilizando frascos de plásticos o bolsas de plástico de primer uso sometidas a factores ambientales como el polvo, la radiación solar y el humo del transporte lo que ocasionaría riesgo de contaminación, alteración, deterioro que afectaría a la salud del consumidor como, la presencia de EDAS/ETAS que son un problema de salud; hasta el 2019, se han notificado 202 431 episodios en el Perú y 2749 episodios en la región de Puno, debido al consumo de alimentos contaminados (MINSA, 2019).



La deficiente calidad de la leche cruda de vaca influye directamente en la producción de derivados lácteos, de ahí la importancia de que el producto cumpla con todas las características nutricionales, de higiene e inocuidad y sea beneficioso para la salud del consumidor. El presente estudio se planteó con el fin de determinar la calidad microbiológica y fisicoquímica de las leches frescas que se vende en forma ambulatoria en los mercados de la ciudad de Puno con el objetivo de conocer la calidad a fin de mejorar las condiciones de expendio, será en beneficio del consumidor y la población en general.

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la calidad microbiológica y fisicoquímica de la leche cruda de vaca, expendida en los mercados de la ciudad de Puno

### **1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la calidad microbiológica de la leche cruda de vaca en los mercados de la ciudad de Puno, mediante el recuento bacteriano mesófilos viables y *Escherichia coli*.
- Evaluar la calidad fisicoquímica de la leche cruda vaca en los mercados de la ciudad de Puno, mediante la determinación de pH, acidez, densidad titulable, sólidos grasos y sólidos totales.
- Establecer la calidad microbiológica y fisicoquímica de la leche cruda de vaca que se expenden en los tres mercados de la ciudad de Puno.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES

Vanegas & Martínez (2011) en Colombia señalan que, no se cumple con el manejo de buenas prácticas recomendadas, el 41% tienen condiciones aceptables para manipular un alimento y el 59% no cumplen con las condiciones aceptables, también cabe resaltar que la calidad físico-química encontrada en esta investigación arroja un 12.77% de sólidos totales. De similar importancia, Bonzano, (2012) en Trujillo- Perú, indica que los parámetros de acidez se encuentran dentro de los límites establecidos en la NTP (202.001-2010) para los tres grupos de establos evaluados; el recuento de mesófilos aerobios fue de  $1.78 \times 10^6$  UFC/ml para la media tecnología y  $277 \times 10^3$  UFC/ml para la alta tecnología. El promedio se encontró por encima del límite establecido por la NTP de máximo  $1 \times 10^3$  UFC/ml. El recuento de Mesófilos aerobios y *Escherichia coli* se encontraron dentro de los rangos establecidos en las normas nacionales e internacionales.

De igual importancia, Abril & Pilco (2013) en Ecuador, evaluaron la calidad físicoquímica y encontraron: grasa de 2.0 % a 6.8%; acidez 0.145% a 0.170%; sólidos totales 9.82% a 16.25% y densidad de 1.029 a 1034g/ml. Los parámetros físicoquímicos son establecidos por la NTE INEN 9: 2012; indicaron que de las 93 muestras analizadas el 49.47% estuvo dentro de los parámetros, mientras tanto el 50.53% presentó alteraciones lo cual indican que no es apta para el consumo humano. De igual relevancia, Botina & Ortiz (2013) en Colombia, evaluaron la calidad físicoquímica y sus resultados fueron los siguientes: grasa 3.74% que se encontró por encima de las normas locales; la densidad, sólidos totales y pH presentaron niveles normales dentro de los estándares



legales. Y para la evaluación microbiológica en el recuento de mesófilos viables el 60% de las muestras son inadecuadas para la norma técnica colombiana 616.

Cohaila (2013) en Tacna-Perú, determino que los valores fueron superiores a los permitidos por INDECOPI, dando como resultados para Microorganismos Aerobios Mesófilos Viables (92%). Así mismo, hubo presencia de *Escherichia coli* en el 100% de las muestras. De igual importancia, Frau et al., (2013) en Argentina, indican en su estudio realizado que se obtuvieron los siguientes valores fisicoquímicos: grasa, 5.37%; sólidos totales (ST), 13.66%; acidez, 17.61°D; pH, 6.76; densidad, 1.031g/mL y en la evaluación microbiológica: aerobios mesófilos totales, 4.96 log ufc/mL por ello concluyen que se encontró deficiencias en la calidad microbiológica que se asocian al inadecuado manejo higiénico sanitario que recibe la leche cruda y que impacta desfavorablemente en su potencial industrialización.

Luigi et al., (2013) en Venezuela, indicaron que la evaluación de las muestras de leche pasteurizada analizadas, indicaron que 72,5% presentaron recuentos de bacterias aerobias mesófilos, por encima de los límites establecidos. Por otro lado, Fora (2015) en Tacna, señala en sus resultados que los aerobios mesófilos viables en un 62% no son aptos, superando los límites permisibles y respecto a los parámetros fisicoquímicos el pH y acidez el 100% aptas, la densidad el 80% no aptas, solidos totales 66% no aptas y grasa el 76% aptas.

Minaya et al., (2015) Puno-Perú, indicaron en el estudio que realizaron en siete cuencas lecheras de la ciudad de puno, que fueron; Mañazo, Azángaro, Cabanillas, Acora, Ilave, Vilque y Ayaviri. La presencia de mesófilos en su mayoría fue encontrada dentro de los parámetros establecidos a excepción de dos cuencas lecheras y en cuanto a *Escherichia Coli*, ninguna cuenca cumplió con las normas establecidas. Y los parámetros



fisicoquímicos que fueron analizados, en su mayoría se encontraron aceptables para la leche cruda de vaca según la NTP a excepción de la acidez. De igual importancia Luigi et al., (2017) en Venezuela, indicaron que, en el recuento de bacterias aerobias mesófilos, el 72,5% presentaron recuentos por encima de los límites establecidos, reflejando condiciones higiénico-sanitarias deficientes, al no cumplir con lo establecido en las normas vigentes en Venezuela.

Chacón (2017) en Ecuador, realizó el análisis fisicoquímico de leche bovina y determinó que los parámetros fisicoquímicos: grasa y densidad están dentro del rango determinado por la NTE-INEN y garantizan el consumo apto. Asimismo, Alonso et al., (2018) en Cuba, señalaron que los valores de densidad encontrados para las diferentes muestras estuvieron en el rango de: 1.029 – 1.030 g/mL a 18.60 °C de temperatura, la grasa obtuvo valores de 3.24 %, el rango mínimo que establece la Norma Cubana.

Inga (2017) en Ecuador, indica en sus resultados obtenidos en la densidad de la leche; fueron de 1,028g/cc, y 1,029 g/cc respectivamente y concluye que las marcas presentaron valores dentro de lo que establece la normativa NTE INEN 9:2015, que debe estar en un rango mínimo de densidad de 1,028 g/mL y como rango máximo de 1,033 a una temperatura de 15 °C De la misma forma, Acuña (2018) en Jaen-Peru, señala que, se identificó a detalle los análisis fisicoquímicos y microbiológicos que determinan la aceptación de la leche cruda.

Huayhua (2018) Cajamarca-Perú, señala que la leche cruda de vaca contiene Bacterias aerobias mesófilas viables y Coliformes Totales, así como también contiene un porcentaje bajo en las siguientes propiedades fisicoquímicas: un pH de 6.9% en relación al Mercado San Antonio y Mercado Central, considerándose una leche buena, apta para el consumo. Así como también, Miranda & Quezada (2018) en Trujillo-Perú evaluaron



las características fisicoquímicas de la leche fresca, los resultados que obtuvieron fueron comparados con los establecidos en la NTP. La caracterización fisicoquímica analizó la densidad, acidez, grasa y sólidos totales. Encontraron que en los establos 1 y 2 el contenido de grasa (3% y 29 % respectivamente) incumpliendo con los rangos establecidos en la NTP lo cual guardan relación con una menor concentración de sólidos totales y una baja densidad.

Acaro (2019) en Chulucanas-Perú, muestra que la calidad microbiológica de la leche cruda, según el recuento de aerobios mesófilos de los seis casos analizados, 5 corresponde a los límites de NTP, en la muestra 3 se encontró por encima de los indicadores y en los parámetros fisicoquímicos la acidez excede el límite superior permitido en NTP (202,001:2016), pero el valor de pH estuvo por debajo del límite normal. Por otro lado, los valores normales de densidad se encontraron dentro de los parámetros exigidos por la NTP, sin embargo, se encuentran por debajo del límite normal, lo que se relaciona con el bajo contenido de sólidos en la leche fresca que se comercializa en la ciudad. Asimismo, Banda & Chasquero (2019) en Jaen- Perú, estudiaron las características fisicoquímicas de la leche fresca en el distrito de Santa Rosa, Jaén; indican que, sí cumplen con el reglamento de la leche según el decreto supremo, para densidad 1.030g/ml: sólidos totales promedio de 11.77%, acidez el promedio 0.13%, el pH 6.9 de modo que cumplen con lo establecido según NTP 202. 001 2003.

Figuroa (2019), en Tacna-Perú realizó un estudio donde, se recolectó 80 muestras y la carga microbiana de bacterias aerobias mesófilas de la leche en los distintos puestos ambulatórios fue de 12,50%, no apta para el consumo humano, porque sobrepasa el límite permisible por la Norma Técnica Peruana. De igual relevancia, Gámez et al., (2019) en Colombia, evaluaron la calidad microbiológica y sanitaria de la leche, los resultados demostraron el recuento de mesófilos y células somáticas RCS/ml promedio 700.000/ml



de leche cruda, las muestras de leche estuvieron por encima de los valores máximos permisibles según la Norma Técnica Colombiana.

## **2.2. MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1. Leche cruda**

La leche es un producto lácteo, un líquido de composición compleja, blanco, opaco, de sabor dulce, con un pH casi neutro. Es uno de los alimentos más completos por su alto valor nutritivo. Se considera un alimento importante para los humanos, pues proporciona nutrientes esenciales, proteínas de alta calidad, energía dietética y grasas de alta calidad para la nutrición humana, principalmente para los niños (FAO, 2014).

La leche cruda es el producto obtenido de la secreción láctea de las vacas lecheras, está destinada al consumo y no debe contener ningún residuo o sedimento. Del mismo modo, debe ser insípido, libre de químicos (antibióticos y detergentes) y tener una acidez normal (FAO, 2010). La leche presenta tres fases, la primera es la emulsión de materia grasa bajo forma globular, la segunda es una suspensión de materias proteicas en un suero y la tercera solución verdadera que contiene, principalmente, lactosa y sales minerales (Laura & Meza, 2013).

### **2.2.2. Calidad nutritiva de la leche**

La calidad de la leche es muy importante en la industria láctea y un factor determinante en la comercialización. Por esta razón, la leche debe estar libre de residuos, color, olores inusuales y no debe ser alterada por crecimiento bacteriano. Del mismo modo, debe estar libre de químicos y tener una composición normal. Se deben realizar buenas prácticas de higiene a lo largo de la cadena láctea para obtener productos lácteos de alta calidad.



La duración de la leche puede ser extendida por varios días mediante métodos como la refrigeración (que es el factor más influyente en la calidad de la leche cruda) o a través de la fermentación. La pasteurización es un procedimiento en el que se aplica un tratamiento térmico para aumentar la vida útil de la leche y reducir la cantidad de posibles microorganismos patógenos a niveles que no constituyan un riesgo significativo para la salud. La leche se puede procesar en productos lácteos de alta calidad, concentrados, transportables y de larga duración, como la mantequilla y el queso (FAO, 2023).

La leche debe cumplir con los criterios establecidos en la normativa sanitaria nacional (Minagri, 2017). Así como también los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en la leche cruda para la inocuidad alimentaria. Los productos lácteos se contaminan por los siguientes factores: las malas prácticas de higiene, malas prácticas de manufactura, transporte, utensilios, la ubre de la vaca, etc. (FAO, 2010).

### **2.2.3. Composición de la leche**

La composición de la leche incluye vitaminas, minerales, proteínas contenidas en la caseína, proteínas solubles o séricas, así como sustancias nitrogenadas no proteicas y lactosa. La leche contribuye a la absorción dietética de nutrientes como magnesio, calcio, vitamina B12 y ácido pantoténico y riboflavina. Pueden cubrir los requerimientos de aminoácidos humanos y tienen una alta digestibilidad y valor biológico. Además de las funciones nutricionales, también se han descrito funciones potenciales como factores de crecimiento y reguladores. Los productos lácteos son muy importantes en la dieta infantil a nivel poblacional (FAO, 2020).

**Tabla 1.** Composición de la leche.

Composición de la leche	Porcentaje (%)
Agua	88%
Grasa	3.2%
Proteína	3% – 4%
Lactosa	4.7% – 5.2%
Minerales y vitaminas	0.72%

**Fuente:** (Quispe, 2014).

#### **a.- Agua**

El agua es un elemento muy importante que constituye un medio de soporte para sus componentes sólidos y gaseosos (Vanegas & Martínez, 2011). Aproximadamente el 88% de la leche es agua. El agua es la fase líquida de la leche, y existen otros componentes sólidos y gaseosos en varias formas de solución. Su función es actuar como disolvente de los demás componentes, el contenido total del agua influye en la textura (Abril & Pillco, 2013).

#### **b.- Grasa**

Son uno de los componentes más importantes de la leche debido a las propiedades físicas y organolépticas que se les atribuyen, así como a sus aspectos nutricionales y económicos. Los componentes básicos de la grasa son los ácidos grasos, y el 90% de la masa de glicéridos está formada por ácidos grasos (Vásquez, 2018).

#### **c.- Proteínas**

El nivel de proteínas presente en la leche está fundamentalmente influenciado por la dieta y la raza de la vaca, variando entre el 3 y el 4% de proteínas. Estas proteínas se



distribuyen en caseínas, proteínas solubles o seroproteínas, y sustancias nitrogenadas no proteicas. Estas son capaces de cubrir las necesidades de aminoácidos del hombre y presentan alta digestibilidad y valor biológico (Laura & Meza, 2013). La proteína de la leche más importante es la caseína, siendo la más abundante, teniendo como característica principales que no se encuentra en otros alimentos, a su vez está compuesta por tres tipos de caseína, la k-caseína, la  $\beta$ -caseína y la  $\alpha$ -caseína (Zamora, 2006).

#### **d.- Lactosa**

La lactosa es el único azúcar que se encuentra en la leche, es un disacárido formado por residuos de galactosa y glucosa que son sintetizadas por los mamíferos a nivel de glándulas mamarias. La lactosa se encuentra entre el 4.7 y 5.2% y actúa como fuente de energía, además se caracteriza por ser el menos variable (Alfaro & Hurtarte, 2014).

#### **e.- Sustancias Minerales**

La leche contiene aproximadamente un 1% de sal. Destacan el calcio y el fósforo. El calcio es un micronutriente interesante ya que participa en muchas funciones importantes debido a su alta biodisponibilidad y la falta de factores que inhiban su absorción en la leche. Los principales minerales en la leche son el sodio, calcio, cloro, potasio y fósforo, estos determinan en las fracciones cenizas y en pequeñas concentraciones también se encuentran cobre, hierro, yodo, zinc y manganeso (Bonzano, 2012).

#### **f.- Vitaminas**

Son una fuente importante de vitaminas para niños y adultos. Las vitaminas de la leche son moléculas orgánicas y tienen diferentes propiedades. Además de las sustancias



liposolubles A, D, E y K, también contiene complejo B y vitamina C. La leche contiene todas las vitaminas conocidas necesarias para el crecimiento (Gonzales, 2013).

#### **2.2.4. Calidad microbiológica**

Las propiedades microbiológicas se relacionan con la carga y tipo microbiano, el microbiota productor de enzimas termoestables y la microbiota inocua como resultado de las condiciones higiénicas observadas durante los procesos de ordeño, transporte y almacenamiento. Por otro lado, el manejo y sanidad del ganado, especialmente de las glándulas mamarias (Acaro, 2019).

La leche es un excelente caldo de cultivo para el desarrollo microbiano. Por lo tanto, es importante que las buenas prácticas y procedimientos de producción de leche sean monitoreados de cerca y en todo momento para asegurar que el producto no sea adulterado, y que se preserve la salud del consumidor. Los métodos habituales de recuento e identificación de microorganismos proporcionan información de calidad pero consumen mucho tiempo (Mendez & Osuna, 2007), Una alta carga de bacterias contaminantes en la leche disminuye la vida útil de los productos elaborados y desmejora la calidad organoléptica y nutricional (Frau et al., 2013).

**a. Bacterias comensales.** -Bacterias que son habitantes de la piel del pezón, del epitelio que recubre el canal del pezón, los ductos colectores o del orificio del pezón. En vacunos, son descritos frecuentemente *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* y ocasionalmente coliformes (Rosales & Garcia, 2017).



## - Mastitis

La mastitis es una enfermedad infecciosa más común en las vacas donde se presenta una inflamación de la glándula mamaria debido a la presencia de las bacterias que se multiplican al interior de la ubre y causan destrucción al tejido mamario y pérdida en el volumen de la producción de la leche a nivel mundial, altera la composición de la misma, genera pérdida de leche no producida, costos de reposición, gastos veterinarios y esta enfermedad también puede afectar en su sabor (Moreno et al., 2007). Las vacas enfermas de mastitis transmiten un gran número de microorganismos siendo las más comunes y con mayor frecuencia *Staphylococcus aureus*, *Streptococos*, y *Escherichia coli* (Andino & Castillo, 2010).

Otras enfermedades y contaminación ambiental: En situaciones de enfermedades sistémicas que localizan patógenos en la glándula mamaria o en los nódulos linfáticos mamaros, con la consiguiente excreción de estos microorganismos en la leche. Un ejemplo clásico de esto son las enfermedades bacterianas zoonóticas como la Tuberculosis Bovina y la Brucelosis. A pesar de que algunos países han logrado erradicar estas enfermedades, en otros, especialmente en vías de desarrollo, la presencia de estas enfermedades sigue siendo un significativo problema de salud pública. En contraste con estas dos enfermedades muy reguladas, muchos otros microorganismos están presentes en la leche de animales asintomáticos o es contaminada por fuentes ambientales, destacando: *Coxiella burnetti*, *Listeria spp*, *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis, *Campylobacter spp*, coliformes como *E. coli* y *Salmonella spp* entéricas (Rosales & Garcia, 2017).

**b. Bacterias lácticas:** Se refieren a un conjunto de bacterias pertenecientes a diversos géneros y ampliamente distribuidas en la naturaleza. Desempeñan un papel crucial en



la formación de textura y contribuyen al establecimiento de condiciones propicias para la elaboración de productos lácteos. Gracias a la acidificación generada por la fermentación de la lactosa, la leche puede coagularse mediante la coalescencia de las caseínas al alcanzar el pH isoelectrico, lo cual es altamente deseable en la producción de sus derivados. Los principales géneros de bacterias ácido lácticas son: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragonococcus*, *Alloiococcus* y *Bifidobacterium* (Pinzón, 2006).

Participan en la formación de la textura y facilitan la creación de condiciones específicas para la producción de ciertos productos lácteos. Gracias a la acidificación derivada de la fermentación de la lactosa, la leche puede coagularse mediante la coalescencia de las caseínas al alcanzar el pH isoelectrico, un proceso deseado en la fabricación de yogur y quesos. En la elaboración de crema y mantequilla, una leve acidificación contribuye a acelerar el proceso y aumentar el rendimiento. Algunas especies producen polisacáridos (gomas, mucina), que aumentan la viscosidad de la leche cambian su textura (*S. termophilus*, *Lb. bulgacricus*, *Lc. cremoris*) (Pinzón, 2006).

Contribuyen a la sensación de sabor y aroma, ya que durante su proceso metabólico de fermentación generan acetaldehído, diacetilo, acetoina, acetona, lactonas, ácidos volátiles, alcohol y gas. El aroma característico de la mantequilla, por ejemplo, se atribuye principalmente al diacetilo. En el caso del yogur, la acetoina juega un papel fundamental en su aroma, mientras que el ácido láctico aporta sabor a varios productos fermentados. Además, la producción de enzimas que intervienen en el afinado de los



quesos por degradación de las proteínas y las grasas afectan notablemente las características organolépticas de los mismos (Pinzón, 2006).

Ejercen efecto biopreservador manifestado en la prolongación de la vida útil de los productos elaborados con sus cultivos. Este efecto se lleva a cabo por varios mecanismos: a) ciertas especies producen bacteriocinas (*Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Enterococcus*) las cuales son proteínas que se comportan como antibióticos y que inhiben el crecimiento de bacterias relacionadas con estas; b) con la producción de ácido y descenso del pH se logra la inhibición de otras especies bacterianas y la conservación de los alimentos; c) el efecto biopreservador también se cumple gracias a la competencia por nutrientes que se da entre las diversas especies bacterianas (Pinzón, 2006).

Contribuyen positivamente a la salud de quienes los consumen, un fenómeno conocido como efecto probiótico. Este efecto puede expresarse de manera particular en la prevención y disminución de los síntomas asociados a episodios de diarrea. Además se le han atribuido a las BAL, efecto preventivo de tumores, anticolesterolemico y modulador del sistema inmunológico (Pinzón, 2006).

**Micrococos:** Fermentadores débiles, forman parte de la flora inocua que contamina la leche cruda. Tienen poca actividad enzimática, por lo tanto, no son de mucha importancia como agentes de adulteración en la leche. Sin embargo, por ser la flora más abundante en leche cruda y tener cierta capacidad proteolítica pueden llegar a ser causante de alteraciones en leches pasteurizadas mal almacenadas (Pinzón, 2006).

**Estafilococos:** Estos microorganismos son anaerobios facultativos y exhiben una notable capacidad de fermentación. Desde la perspectiva sanitaria, son de considerable importancia, ya que pueden ocasionar mastitis y dar lugar a enfermedades o intoxicaciones en los seres humanos. *Staphylococcus aureus*, en particular, produce una



exotoxina que provoca trastornos intestinales severos en los humanos, y esta toxina es resistente al calor, lo que implica que no se destruye mediante la pasteurización. El *Staphylococcus epidermis* se ve implicado en algunos casos de mastitis, por lo cual puede llegar a contaminar la leche (Alais, 2003).

**Bacterias esporuladas:** Los *Bacillus* son bacterias aeróbicas que exhiben diversas actividades enzimáticas, incluyendo la capacidad de generar acidificación, coagulación y proteólisis. Por otro lado, los *Clostridium* son bacterias anaerobias estrictas y tienen la capacidad de producir gas. Algunas cepas de *Clostridium* pueden generar toxinas patógenas, como es el caso de *Clostridium botulinum*. Ambos géneros poseen una relevancia limitada en la leche cruda, ya que su crecimiento se ve inhibido por las bacterias lácticas. Cobran importancia en productos lácteos como en leche pasteurizadas, quesos fundidos, leches concentradas, quesos de pasta cocida (Alais, 2003).

**Otras bacterias Gram +** que pueden encontrarse en la leche son *Corynebacterium*, bacterias propionicas, *Brevibacterium* estos últimos se encuentran en las cortezas de algunos quesos madurados almacenados en condiciones húmedas (Alais, 2003).

### c. Bacterias Gram negativas

**Enterobacterias:** Pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, se desarrollan entre 10 y 40 °C, y La *Escherichia coli* inclusive a 44°C, resisten a los antibióticos, pueden suplantar a bacterias lácticas e invadir el medio. La mayoría están presentes en el intestino de los mamíferos, por contaminación de origen fecal pueden presentarse en el agua o leche. Muchas de éstas viven también en el suelo y agua. Tienen gran importancia en la higiene debido a la transmisión de enfermedades y en tecnología por la fermentación de azúcares, producen gas carbónico, hidrogeno y ácido, algunas especies elaboran sustancias viscosas o sabor desagradable (Quispe, 2010). Enterobacterias más comunes de la leche cruda:



*Escherichia coli, Enterobacter aerogenes, Klebsiella, Citrobacter, salmonella, shigella, proteus, serratia.*

**Pseudomonas:** Este género constituye más del 50% de la flora de bacterias Gram negativas presentes en la leche cruda. Desempeñan una función significativa en la preservación de productos lácteos, dado que, además de ser psicrófilas, varias especies exhiben una notable capacidad proteolítica y lipolítica. Se ha observado que ciertas enzimas producidas por estas bacterias pueden resistir temperaturas superiores a los 80 °C, lo que implica la posibilidad de provocar alteraciones incluso en productos elaborados con leche pasteurizada. (Alais, 2003).

**Acromobacteriaceae:** Este grupo de bacterias no fermentan la lactosa, no son proteolíticas ni patógenas, pero representan las bacterias psicrófilas que crecen en las leches conservadas a baja temperaturas, algunas pueden producir sustancias viscosas y pigmentos. Se han descritos los géneros *Flavobacterium, Alcaligenes* y *Achromobacter* (Alais, 2003).

**Bacterias gran negativas diversas:** Las Brucellas son bacterias patógenas para los animales y para el hombre, aunque poco frecuente, pueden llegar a causar cuadros de mastitis. Se destruyen con la pasteurización (Alais, 2003).

#### **d. Bacterias patógenas que afectan la calidad de la leche**

***Staphylococcus aureus:*** Es un tipo de coco, grampositivo y catalasa positiva, generalmente coagulasa positiva y no esporulado, de naturaleza mesófila, que se agrupa en racimos y forma colonias con pigmento dorado, ocasionalmente blanco. Su crecimiento requiere temperaturas comprendidas entre 30 y 37 °C, con un rango de pH de 4.2 a 9.3, siendo óptimo entre 7.0 y 7.5. Algunas especies de estafilococos tienen la capacidad de producir una familia de proteínas de bajo peso molecular sin glicosilación,



conocidas como enterotoxinas estafilocócicas (SE), que son termorresistentes. *Staphylococcus aureus* produce alrededor de 11 serotipos diferentes de SE, además de otras toxinas altamente virulentas para los mamíferos, entre las que se encuentran la toxina de síndrome de shock tóxico-1 y las toxinas exfoliativas (ETA y ETB). Estas enterotoxinas son causa de intoxicaciones alimentarias por la ingesta de productos contaminados, generalmente de origen cárnico y lácteo (Laura & Meza, 2013).

Son de gran importancia desde el punto de vista sanitario. Causan mastitis y pueden provocar enfermedades o intoxicaciones en los humanos. *Staphylococcus aureus* produce una exotoxina que causa fuertes trastornos intestinales en los humanos, la cual es termorresistente, por lo cual no es destruida con la pasteurización (China, 2017).

**Salmonella:** se caracteriza por ser un tipo de bacilos, gramnegativa, anaerobia facultativa, que no forma cápsulas ni esporas. Son organismos móviles capaces de producir ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S), fermentar glucosa para generar ácido y gas, prosperar utilizando citrato como única fuente de energía, descarboxilar y originar lisina, y no hidrolizar la urea. Son oxidasa negativos, no producen ureasa ni tienen metabolismo fermentativo y su tiempo de supervivencia en alimentos a temperatura ambiente es de varios días llegando a su límite (Laura & Meza, 2013).

Los cuadros clínicos la mayoría de las infecciones son consecuencia de la indigestión de productos alimentarios contaminados y las principales fuentes de infección en el ser humano son los huevo, productos lácteos y productos preparados sobre superficies, también ocasiona fiebres entéricas (Murray et al., 2017).

#### **2.2.5. Contaminación de la leche que afectan a la calidad**

**Contaminación.** –son agentes físicos, químicos y biológicos, extraña a la composición natural del producto (Laura & Meza, 2013).



Las principales fuentes de contaminación de leche son: en el establo (moscas, aire, agua, forraje, suelo, etc.) y utensilios, equipos, (baldes, tarros, filtros, etc.). La leche de la ubre de una vaca saludable contiene pocas bacterias, si la leche se manipula adecuadamente, no crecerá. Sin embargo, la contaminación de la leche del animal se produce durante el ordeño, especialmente por la parte exterior del pezón y la zona que lo rodea. Las bacterias también pueden ingresar a la leche a través del estiércol, el suelo y el agua. El número de contaminantes microbianos a lo largo de esta ruta es mucho menor con el ordeño mecánico que con el manual. Las dos fuentes de contaminación más importantes son probablemente las herramientas y las superficies que entran en contacto con la leche, como los cubos de las ordeñadoras, pero también los filtros, los recipientes, las tuberías y los circuitos de refrigeración (Cohaila, 2013).

### **Vías y/o factores de contaminación**

Las principales vías de contaminación de la leche son: la vía mamaria y el medio externo.

**a. Mamaria:** Los microorganismos que pueden llegar a la ubre también pueden propagar la leche antes y después del ordeño, la contaminación en las ubres es por vías: primero por vía ascendente a través del canal del pezón, (*Staphilococcus aureus*, *Streptococcus*, Coliformes) y descendente son microorganismos que logran producir padecimiento sistémico o poseen la pertenencia de movilizarse por la sangre y a través de los capilares mamaros llegar a infectar la ubre (*Salmonellas*, *tuberculosos*, *Mycobacterium* y *Brucellas*,) (Canches, 2017).

**b. Medio externo:** El contagio de la leche ocurre cuando ha sido sacada de la glándula mamífera. Los menesteres, tanques de almacenamiento, transportes e incluso el personal que maniobra la leche, son orígenes de contagio de microorganismos que



manipulan esta vía, que en algunos casos son las más abundantes, causantes de grandes pérdidas en la calidad del producto (Pinzón, 2006).

- c. Ordeñador:** Durante el proceso del ordeño puede existir la contaminación a partir del animal, como también en la ubre y los utensilios por lo cual se encontraría una fuente de contaminación, se debería tener cuidado sanitario antes del ordeño, las zonas deben estar limpias, evitando la acumulación del estiércol, para que pueda reducir el riesgo de infección de los animales y de la leche, el agua que se utiliza para limpiar la ubre del animal, utensilios, no deben contaminar a la leche (Minagri, 2017). El personal que emplea y manipula los productos, son una fuente de contaminación, consecuentemente portadoras de enfermedades, porque tienen contacto con la leche. A ese respecto, es fundamental que cada persona que labora, goce de buena salud y mantenga los hábitos de higiene personal, para así poder asegurar la calidad de la leche, cumplir con las normas establecidas y asegurar la salud del consumidor (Fuentes et al., 2013).
- d. Aire y polvo:** El aire es un medio de contaminación directa de microorganismos hacia el producto. El polvo del suelo es arrastrado por la superficie de este modo contamina el producto. Por ello se debe evitar que el polvo llegue al producto y prevenir contaminación (Quispe, 2014).
- e. Agua:** El agua es una fuente de microorganismos psicrófilos puesto que es utilizada para la limpieza de la ubre de la vaca, la higiene personal del ordeñador, utensilios y otros, por ello debe ser limpia de preferencia agua potable para así evitar contaminación y mejorar la calidad de la leche (Canches, 2017).
- f. Suelo:** El suelo tiene mayor fuente de contaminación por microorganismos termoduricos y termófilos, la materia que viene del suelo puede llegar a través de



diferentes factores como por ejemplo la ropa, aire, agua, utensilios que pueden alcanzar a la leche (Cárdenas & Murillo, 2018).

**g. Utensilios y transporte:** Los utensilios y el transporte que se usan son una fuente de microorganismos que contaminan a la leche, los valdes, las jarras son factores responsables de contaminación, por ello la limpieza de cada utensilio que se maneja debe estar debidamente desinfectada, el transporte inadecuado a temperaturas que no puede soportar la leche cruda crea una fermentación y desarrollan contaminación en la leche. Por lo que, la leche debe de mantenerse a temperaturas necesarias establecido por las Normas sanitarias (Chacón, 2017).

**h. Químicos:** Las sustancias más comunes en la leche se originan en el entorno de la leche, desde el ordeño hasta los procesos industriales. Es probable encontrar insecticidas, herbicidas, fungicidas, sustancias higienizantes y algunos antibióticos (Fora, 2015).

#### **2.2.6. Calidad higiénica de la leche**

En términos generales, la leche es susceptible a la contaminación, y tanto los transportadores, los industriales como los distribuidores tienen la responsabilidad de preservarla y manejarla de manera adecuada. Sólo en esta forma es posible entregar un producto inocuo (Figueroa, 2019).

Alcanzar la calidad higiénica de la leche requiere planificar e implementar una serie de actividades que ayuden a cumplir con los requisitos mínimos para la producción de leche apta para el consumo humano y para su correcto procesamiento en la elaboración de productos lácteos. Estos requisitos básicos incluyen lugares adecuados para el ordeño, equipos de ordeño, almacenamiento de equipos, capacitación y motivación del personal



a cargo de las operaciones de producción de leche y requisitos mínimos para los animales capaces de producir leche (Chacón, 2017).

### **2.2.7. Bacterias indicadoras de la calidad sanitaria y higiénica de la leche**

El recuento de bacterias Mesófilos es un indicador de la calidad sanitaria de los alimentos , Se utiliza para evaluar las condiciones de manipulación, monitorear si es adecuado el conjunto de procedimientos en las Buenas Prácticas de Manufactura y el estado de alteración y la *Escherichia coli* es un indicador de calidad higiénica, contaminación de alimentos, la higiene en el ordeño, la limpieza del personal ordeñador, el lavado de los equipos y utensilios que están en contacto con la leche y el enfriamiento (Minaya et al., 2015), como también la exposición de la leche en cuanto a la venta de este producto.

#### **Bacterias indicadoras de calidad sanitaria, mesófilos viables**

El microorganismo indicador de calidad higiénica es aerobios mesófilos, indican no solo la condición higiénica de la materia prima, sino también cómo fueron manipuladas durante la elaboración. Los aerobios mesófilos son un grupo de microorganismos que pueden crecer en presencia de oxígeno a temperaturas entre 20 °C y 45 °C, con una temperatura óptima entre 30 °C y 40 ° (Amazará et al., 2022).

La leche extraída de la ubre de vacas sanas es baja en bacterias y aporta hasta 1.000 UFC/ml. Sin embargo, durante el ordeño, la leche puede ser contaminada por los animales, especialmente el área fuera de la ubre y el ambiente circundante, el estiércol y el suelo, las camas en las que descansan los animales, el polvo, el aire, el agua y otras sustancias (Insectos) (Calderon & Pascual, 2000). Las dos fuentes de contaminación más importantes son probablemente los equipos y utensilios utilizados para extraer y recoger

la leche y las superficies que entran en contacto con la leche, incluidas las manos del ordeñador (Bedolla, 2007).

### **Bacteria indicadora de calidad higiénica, *Escherichia coli***

*Escherichia coli* es una bacteria en forma de bastón y gramnegativa que pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Se encuentra comúnmente en el intestino humano y en animales de sangre caliente, y se reconoce como un indicador de contaminación fecal. Aunque la mayoría de las cepas presentes en el intestino son beneficiosas como agentes patógenos gastrointestinales, algunas pueden ser perjudiciales. Este microorganismo se asocia a múltiples enfermedades, que incluyen gastroenteritis e infecciones extraintestinales (Lozano & Fransua, 2008). Las infecciones intestinales, asociados a la *Escherichia coli* está constituido por: enterotoxigénica (ETEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa, (EAEC) enterohemorrágica, (EHEC) productor de toxina shiga, en relación con la salud pública, esta cepa de *Escherichia coli* (O157:H7) es el serotipo EHEC más importante ligado a las enfermedades transmitidas por los alimentos, lo que se traduce en una alta incidencia de infecciones y muertes por EHEC cada año (ECTS), enteroinvasiva (EIEC) (Murray et al., 2017).

Los factores que contribuyen a la persistencia de la *Escherichia coli* en los sistemas alimentarios incluyen el control inadecuado de los parámetros de procesamiento como la temperatura de cocción, valor del pH, actividad del agua y almacenamiento de temperaturas elevadas que permiten el crecimiento de estas bacterias (FAO, 2012).

#### **2.2.8. Calidad fisicoquímica de la leche**

El estudio del comportamiento de los indicadores fisicoquímicos que componen la leche, los cambios que se producen en las glándulas mamarias durante la lactancia y su relación con los estándares de calidad del producto y las alteraciones metabólicas que



pueden afectarlos es de gran interés entre investigadores y productores. Está atrayendo cada vez más interés. Con el fin de evitar cambios indeseables en los indicadores de normalidad establecidos para los pagos a los productores, y para el cumplimiento de los altos requisitos de calidad de las materias primas que exige la industria láctea para mejorar el rendimiento de los productos (Alonso et al., 2018).

La calidad fisicoquímica corresponde a las propiedades organolépticas y al valor nutricional, debe estar en un nivel favorable que permita la conservación de diversas propiedades importantes en el proceso, como la estabilidad térmica, la calidad de almacenamiento, la coagulabilidad enzimática y la generación de ácido láctico. bacterias, etc (Bonzano, 2012).

La calidad fisicoquímica evalúa los cambios que ocurren cuando las bacterias crecen en la leche, lo que lleva a procesos transformadores y beneficiosos. Muchos componentes de la leche se pueden descomponer, pero los cambios más significativos se producen mediante la descomposición de la lactosa, las proteínas y las grasas

### **2.2.9. pH**

El pH es un indicador inmediato del estado de la leche. Describe la acidez real o natural de la leche cruda y varía de 6,6 a 6,8 para la leche regular debido a la presencia de caseína, sales minerales y especialmente el fosfato altamente ácido (Bonzano, 2012). El estado de lactancia también modifica el pH (Banda & Chasquero, 2019). Las fluctuaciones en el pH de la leche dependen de varios factores, especialmente los siguientes: Estado sanitario de las glándulas mamarias del vacuno. Cantidad de CO<sub>2</sub> disuelto en la leche. Causado por el desarrollo de microorganismos productores de ácido láctico o alcalinizantes. Sin embargo, en general, la leche presenta reacciones iónicas casi



neutras a valores de pH entre 6,6 y 6,8. Los valores inferiores a 6,5 o superiores a 6,9 se consideran anormales (Defaz & Pérez, 2013).

### **2.2.10. Densidad**

La densidad se define como la relación masa-volumen de un cuerpo, una constante física utilizada para comparar la masa de diferentes o las mismas sustancias bajo diferentes condiciones de temperatura. La densidad de la leche oscilará entre 1.0296 a 1.0340 g/cm<sup>3</sup>, según la Norma Técnica peruana, y a una temperatura de 15°C.

La densidad es una variable que determina la relación masa-volumen de una sustancia. Por tanto, la densidad se da en unidades de masa sobre volumen. La densidad de la leche está directamente relacionada con la cantidad de grasa, sólidos no grasos y agua contenida en la leche (Defaz & Pérez, 2013).

Esta prueba se mide usando un Lactodensímetro Quevenne. Los valores por debajo del estándar indican una posible adulteración, debido a la adición de agua, los valores por encima indican sólidos extraños al producto (Fora, 2015).

### **2.2.11. Acidez titulable**

La acidez natural se debe a varios factores, entre ellos la Acidez de caseínas anfóterica, minerales (fosfatos), ácidos orgánicos y reacciones secundarias de fosfato mientras la acidez, se debe a la formación de ácido láctico a partir de la lactosa por la intervención de bacterias contaminantes (Acaro, 2019).

Un alto grado de acidez de la leche indica un alto recuento microbiano, que puede ser fuente de contaminación en cualquier etapa desde el ordeño hasta el almacenamiento, sin descuidar la calidad bacteriológica del agua de lavado, también nos permite



comprender la cantidad de destrucción causada por los microorganismos lácticos (Revilla, 2019).

### **2.2.12. Sólidos grasos**

La grasa de la leche se encuentra en estado de suspensión formando miles de glóbulos de 3-4 micras de diámetro por término medio, variando de 1 - 25 micras. Desde un punto de vista práctico, los lípidos son fundamentales ya que le dan un valor nutricional, textura y las propiedades organolépticas, características de la leche y sus derivados (Chacón, 2017).

Las grasas tienen la forma de una emulsión que consta de pequeños glóbulos líquidos las mismas son rodeadas por una capa de fosfolípidos que evitan la formación de aglutinamientos, la grasa de la leche contiene principalmente ácidos grasos de cadena corta (cadenas menos de 8 átomos de carbono) que se forman en unidades de ácido acético derivadas de la fermentación ruminal (Quispe, 2014). Las modificaciones de la materia grasa no provocan grandes cambios en la estructura físico-química de la leche, pero son importantes porque causan la aparición de sabores desagradables (Rodríguez, 2016).

### **2.2.13. Sólidos totales**

El contenido total de materia seca en la leche se refiere específicamente al contenido de grasa, lactosa, proteínas y minerales, es decir, todos los componentes de la leche excepto el agua (Chacón, 2017).

El contenido aproximado de los sólidos totales se calcula a través de las fórmulas empíricas a partir de la densidad y el contenido de grasa. Existe una diferencia en la producción promedio de los sólidos totales entre razas lecheras, también varía con la fase de la lactancia siendo mayor al inicio y final de esta (Fora, 2015).



## CAPITULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. ÁREA DE ESTUDIO

El área para la investigación se realizó en la ciudad de Puno, está ubicada al extremo sur este del Perú, con las coordenadas  $13^{\circ}00'13''00''$  y  $17^{\circ}17'30''$  de latitud sur y los  $71^{\circ}06'57''$  y  $68^{\circ}48'46''$  de longitud oeste del meridiano de Greenwich; contando con una extensión territorial de 71 999,0 km<sup>2</sup> (6,0 por ciento del territorio nacional) (INEI, 2019).

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.

#### 3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

La población estudiada fueron tres mercados de la ciudad de Puno: Mercado Bellavista, Mercado Central y Mercado Unión Y Dignidad, de diferentes puntos de venta, de acuerdo a la siguiente tabla:

**Tabla 2.** Mercados para toma y número de muestras de los mercados de la ciudad de Puno.

Ciudad	Mercados de la ciudad de Puno	Número de muestras	Número de repeticiones	Total, de muestras analizadas
PUNO	Mercado Bellavista	5	2	10
	Mercado Central	5	2	10
	Mercado Unión y Dignidad	5	2	10
TOTAL	3 mercados de la ciudad de Puno, para el muestreo.	15	6	30 muestras de leche cruda de vaca.

**Fuente:** elaboración propia.

### 3.3. TIPO DE ESTUDIO

La presente investigación, se define como un estudio descriptivo, analítico y observacional, de este modo se recolecto datos: muestras de leche fresca de la ciudad de Puno y se realizó el análisis en el laboratorio de Microbiología de alimentos y control de calidad y finalmente se comparó con los resultados señalados con la Norma Técnica Peruana y DIGESA que ya fueron evaluadas según el Reglamento de leche y productos lácteos, Decreto Supremo N°007-2017-MINAGRI.



### **3.4. METODOLOGÍA**

Para la calidad microbiológica se aplicó el método microbiológico establecido por DIGESA 2021 – CODEX ALIMENTARIUS-OMS en la determinación de bacterias mesófilas viables y *Escherichia coli* y para las características fisicoquímicas MINAGRI-DS N° 007-2017 especificaciones técnicas y sanitarias de la leche y productos lácteos.

#### **3.4.1. Métodos microbiológicos**

##### **Toma de muestra**

Las muestras de leche cruda de vaca se obtuvieron de puestos de venta, aleatoriamente. Las muestras fueron debidamente rotuladas para su respectiva identificación de procedencia, luego fueron transportadas en un cooler con refrigerantes, de manera que, las muestras se mantengan en condiciones óptimas. Luego fueron transportadas al laboratorio de Microbiología de alimentos de la Universidad Nacional del Altiplano para realizar los análisis microbiológicos y fisicoquímicos. Se evaluaron las características microbiológicas y fisicoquímicas. Para así poder determinar la calidad de la leche cruda que se expende en los mercados de la ciudad de Puno. Del mismo modo se realizó la comparación con los parámetros establecidos en la NTP.

Método bacteriológico según el codex alimentarius – OMS.

##### **Recuento en placa para mesófilos viables**

##### **Serie de diluciones:**

Se procedió a homogenizar la leche cruda de vaca. Para las diluciones se procedió a verter 10ml de leche por 1 muestra y 90 ml de solución reguladora de peptona al 0.1%, luego se homogenizó la muestra, se obtuvo la dilución 1:10 y se obtuvo 1ml, se vertió



con un tubo 9ml de solución reguladora, la segunda dilución se obtuvo de la misma forma 1:100 y se continuó de la misma forma para las demás diluciones 1:1000 y 1:0000.

### **Método del recuento en placa para mesófilos viables**

**Fundamento:** El método se basa en la hipótesis de que las células microbianas que contienen la muestra de alimento mezclado en un medio de agar, forma cada una de ellas una colonia, el método permite determinar la carga microbiana en un gramo de alimento, las bacterias mesófilos viables indican las condiciones de manipulación, el estado de alteración y la calidad sanitaria del alimento (Laura, 2018).

Se rotularon todas las placas petri para la identificación de las muestras del recuento de bacterias mesófilos viables.

### **Procedimiento**

En las placas petri vacías y estériles se colocó 1ml de leche homogenizada, se vertió 15ml de agar plate count (APC) a una temperatura de 45°C, se procedió a mezclar la muestra de leche con el Agar sobre la mesa, cuidadosamente para evitar la formación de burbujas, realizando movimientos en forma de L en ambos sentidos para que pueda distribuirse en toda la placa petri. Se incubaron a 35°C por 72 horas.

### **Cálculos**

Se procedió a contar las colonias de cada una de las placas, que correspondían a cada dilución de la leche cruda de vaca, el número de colonias se multiplicaron por su dilución correspondiente, la sumatoria se dividió por el número de diluciones y como resultados nos dio el número total de bacterias por gramo de alimento, que representa el número de unidades formadoras de colonia (ufc).



## **Número más probable de *Escherichia Coli* (NMP).**

### **Fundamento-** Numero Mas Probable (NMP).

El número más probable (NMP) es la determinación de la densidad probable de bacterias coliformes fermentadoras de lactosa y productoras de gas, presenta el límite de confianza de 95 % para cada valor determinado, la presencia de estas bacterias en los alimentos es índice de contaminación fecal. Por ello el alimento no apto para consumo y elevada carga bacteriana excedería los límites permisibles lo cual indica mala calidad higiénica (Laura, 2018).

### **Prueba presuntiva**

En los tubos de ensayo se vertió 9 ml de caldo lactosado y se agregó los tubos durhan invertidos, luego se inoculo 1ml de cada una de las diluciones, los tubos inoculados se procedieron a homogenizar con mucho cuidado y se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.

Transcurrido el tiempo se procedió a realizar la lectura observando si hay (tubos +) con fermentación de la lactosa y producción de gas y en los que no se encontró la fermentación se incubaron nuevamente por 24 horas más.

### **Prueba confirmativa**

Luego se seleccionaron los tubos presuntamente positivos con fermentación de lactosa y producción de gas, se procedió a inocular con el asa de platino y se sembraron por el método de agotamiento en el medio selectivo Agar Eosin Methil Blue (EMB), se incubo a 37°C por 48 horas luego se procedió a realizar la lectura de las verde brillante, se procedió a la inoculación en los medios diferenciales que son triple sugar agar (TSI), lisina iron agar (LIA), citrato Simmons (CS) y caldo de peptona para indol. Los tubos



inoculados se incubaron durante 24 horas a 37°C, transcurrido el tiempo se realizó la lectura de las reacciones bioquímicas (Laura, 2018). Identificando *Escherichia coli* para lo cual se utilizó la tabla del honeywell de beybey' s of determinative bacteriology, los cultivos positivos para *E. coli* se calcularon utilizando la tabla del número más probable (NMP) o tabla de hospin.

### **3.4.2. Métodos fisicoquímicos**

#### **Determinación de pH:**

##### **Método (potenciométrico)**

Para la determinación el pH, se utilizó un pH-metro que midió la corriente eléctrica producida en la reacción, el cual medirá en una escala de 0 a 14 e indicara si es neutro, ácido o alcalino; lo que determino la calidad fisicoquímica de la leche de vaca.

#### **Determinación de acidez titulable:**

La acidez titulable se procedió de acuerdo a la (N.T.P 202.116, 2017). Método volumétrico.

La leche se homogenizo con mucho cuidado para evitar la espuma, luego se tomó 9ml de la leche cruda de vaca con una pipeta, se pasó a un matraz Erlenmeyer de 50 ml. Se agrego 3 gotas de fenolftaleína al 1 % y se agito la muestra y se tituló con la solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, dejando caer de forma lenta gota a gota hasta que tome un tono de color rosado mantenerse por 30 segundos. El resultado se expresa en grados Dornic (°D) , los valores normales según establecido en la norma técnica es de 0.13 a 0.17%.



Los grados °Dornic se multiplica por 9 a los ml utilizados de NaOH 0.1 N, el resultado se divide entre 10 y finalmente el cociente refleja la acidez titulable de la leche cruda de vaca en °Dornic (Acaro, 2019).

#### **Determinación de densidad:**

Para la determinación de la densidad se usó el (**Método lactodensímetro**) (N.T.P. 202.008).

Primero la leche se homogenizo para evitar la espuma, luego se tomó una probeta y con mucho cuidado se hecho la leche y se colocó el lactodensímetro en la probeta y se giró cuidadosamente, luego se esperó que se estabilice el instrumento para poder realizar la lectura de la densidad y también se hizo el control de la temperatura de cada muestra. Se realizo la corrección de la lectura de la densidad porque la temperatura no se encontraba dentro de los parámetros establecidos por las normas (15°C), sumándole 0.0002 por cada °C por encima de 15°C (Acaro, 2019).

$$\text{Densidad } \left( \frac{\text{g}}{\text{ml}} \right) = [(T1 - T2) * 0.0002] + L$$

T1= Temperatura del termómetro.

T2= Temperatura de lectura del lactodensímetro (15 °c).

L = Lectura de la densidad del lactodensímetro.

#### **Determinación de sólidos grasos:**

Para la determinación de la grasa se usó el (Método Gerber) (N.T.P 202.028). Primero se colocó 10ml de ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 90 %, al butirómetro de Gerber. Luego se tomó 11 ml de la muestra de leche cruda se colocó al butirómetro por las paredes para evitar reacciones, seguidamente se agregó 1ml de alcohol isoamílico. Se coloco un



tapón en la boca del butirómetro y se envolvió con un papel toalla, se agito cuidadosamente para que pueda mezclarse, seguidamente se colocó el butirómetro en la centrifuga por 5 minutos, finalmente se hizo la lectura de la grasa con la tabulación del butirómetro.

### **Determinación de sólidos totales:**

Para la determinación de los sólidos totales (N.T.P 202.118).

Después que se obtiene los valores de Densidad y Grasa, se procede a calcular el % de los sólidos totales, según la siguiente formula.

$$\text{Sólidos totales} = 1,2 \times G + 0,25 \times L$$

1.2= Es una constante.

G= Porcentaje de grasa en el butirómetro.

L = lectura del lactodensímetro

### **3.5. Método estadístico**

**Variable independiente:** Contenido microbiano de mesófilos viables, *Escherichia coli* y parámetros fisicoquímicos de la leche cruda.

**Variable dependiente:** Calidad microbiológica y parámetros fisicoquímicos en la leche cruda de vaca.

### **3.6. Análisis estadístico**

Se utilizo el Programa Excel para la tabulación de los resultados obtenidos y las dos repeticiones de cada muestra, que se realizó en el programa Excel, para facilitar el procedimiento de medidas de numero central (promedios), frecuencias y el Software estadístico y la prueba de *T de Student*.



Los datos se analizaron por estadística, mediante prueba de *t* de *student* utilizando el programa estadístico SPSS *Statistics* y el programa *jamovi* versión 2.2.21 con nivel de significancia de ( $p \leq 0.05$ ).

Pueba *t* de *student* de una sola muestra.

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$$

Donde:

t: t de t de student

$\bar{x}$ : media

$\mu$ : media poblacional

s: desviación estándar

n: número de muestra

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE CRUDA DE VACA EXPENDIDO EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO, MEDIANTE EL RECuento BACTERIANO MESÓFILOS VIABLES Y *Escherichia coli*

El análisis microbiológico de la leche cruda de vaca expendida en los mercados de la ciudad de Puno.

**Tabla 3.** Promedios de los recuentos bacterianos de mesófilos viables y Numero más probable (NMP/g) de *Escherichia coli* en la leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno (enero-marzo del 2023).

Mercados	Mesófilos viables UFC/ml		<i>Escherichia coli</i> NMP/ml	
	$\bar{X} m$	$\bar{X} M$	$\bar{X} m$	$\bar{X} M$
Bellavista	$1.30 \times 10^4$	0	35.80	0
Central	$3.22 \times 10^4$	0	42.90	0
Unión y Dignidad	$2.64 \times 10^4$	0	33.40	0
Total	$2.38 \times 10^4$	0	37,37	0

**Fuente:** elaboración propia

Donde:

m = mínimo permisible

M = máximo permisible

Tabla 3. Muestran los resultados promedios de los análisis microbiológicos realizados en leche cruda de vaca que se expende en piso, en cada uno de los mercados estudiados de la ciudad de Puno. Se determinó un promedio de  $1,30 \times 10^4$  UFC/ml de mesófilos viables, en las muestras del Mercado Bellavista; un promedio de  $3,22 \times 10^4$  UFC/ml en las muestras del Mercado Central, y un promedio de  $2,64 \times 10^4$  UFC/ml en las muestras del Mercado Unión y Dignidad. Se realizaron 2 repeticiones y 5 muestras por mercado; lo cual señala que las muestras de leche que se expenden en los mercados de la ciudad de Puno están en contenido microbiano de  $2,38 \times 10^4$  UFC/ml.

De las 2 repeticiones realizadas, para el mercado Bellavista se observa que el primer puesto presento el mayor promedio y el segundo puesto resultó con el menor promedio. En el Mercado Central el cuarto puesto presento mayor promedio y el menor promedio fue para el primer puesto, y para el Mercado Unión y Dignidad el menor promedio fue para el segundo puesto y el mayor promedio para el cuarto puesto (Anexo 3). A partir de ello podemos afirmar que, los puestos que presentan el menor promedio de recuento de mesófilos viables, tienen mayor cuidado en el proceso de extracción, transporte, manipulación y expendio de la leche; por otro lado, para los puestos que obtuvieron el mayor promedio se deduce que es, producto de la inadecuada manipulación desde la extracción de la leche hasta el momento del expendio, donde se adquiere microorganismos, esta diferencia se explica por qué al momento de la toma de muestras se pudo observar que las vendedoras usan recipientes como valdes rehusados, bidones y jarras.

La prueba t de student indica, que al comparar el promedio de recuento microbiano de mesófilos viables con el límite mínimo permisible hubo un valor p de  $< 0,001$ , y al compararlo con el límite máximo permisible hubo un valor p de  $1,000$  ( $p > 0,05$ ). De esta manera, se interpreta que, para la calidad microbiológica de la leche cruda de vaca



expandida en los mercados de la ciudad de Puno en piso, existe diferencia significativa; y no cumple con las Normas Técnicas de Calidad del producto acerca de la cantidad bacteriana de mesófilos viables (UFC/ml).

El recuento total de bacterias mesófilos viables establece la calidad sanitaria de la leche. Los resultados del presente estudio indican, que la leche cruda de vaca expandida en la Ciudad de Puno, tiene un contenido microbiano en el mínimo permisible. Estos resultados se explican por la procedencia de la leche, como Illpa, Chucuito, Paucarcolla, Ichu y Collacachi; pues, la distancia es corta a la ciudad de Puno y el tiempo de traslado es aproximadamente de 15 a 20 minutos por lo tanto el tiempo de transporte es mínimo y no permite la proliferación microbiana, lo que significa que, las leches han sido obtenidas en buenas condiciones sanitarias.

Los resultados, además, indican que existen adecuadas condiciones de manipulación pues los envases utilizados son apropiados para conservar la leche; por otro lado, si bien el expandido es en piso, se ha observado que suelen terminar su venta en corto tiempo, por la reducida cantidad de leche que comercializan, entre 6 a 8 litros, lo cual impide que haya proliferación microbiana. El expendio lo realizan personas que son pequeños productores.

En el presente estudio, se determinó en el límite mínimo, que el contenido microbiano está por debajo del límite permisible, al respecto, Acaro (2019) indica, que si la leche se encuentra por debajo de los límites establecidos por la norma técnica se debe a adecuadas condiciones y eficaz plan de prevención de mastitis. Las bacterias mesófilos viables son bacterias capaces de desarrollar en el rango de 30 – 37° C, un recuento bajo de mesófilos viables no indica ausencia o presencia de patógenos o sus toxinas, la



presencia de un recuento elevado no significa presencia de flora patógena pero determina una elevada contaminación de la materia prima (Laura & Meza, 2013).

Estudios similares, como el de Acaro (2019) en su análisis realizado en leche cruda en la ciudad de Chulucanas, indica que, en 4 puntos de venta, están por debajo del límite establecido por la NTP, resultado que comparó con los parámetros establecidos por la N.T.P. (202.001: 2016) y la R.M. 591-2008-MINSA, de ello, indica que estos reflejan buenas condiciones en los predios, almacenamiento y transporte de la leche.

A diferencia del presente estudio realizado, Fora (2015) en su investigación en leche cruda en la ciudad de Tacna, determinó para aerobios mesófilos viables el valor promedio de  $10,4 \times 10^4$  UFC/ml y  $20,6 \times 10^5$  UFC/ml, lo cual indica que, superaron el límite permisible de acuerdo a la R.M. 591-2008-MINSA y la N.T.P. 202.001.2010; además, menciona que existen tres fuentes de contaminación: al interior de la ubre, al exterior de la ubre y el equipo de ordeño, demás utensilios etc. Así mismo, Quispe (2014) en su estudio en leche cruda de vaca en Bolivia, señaló que en la época húmeda presenta mayor número de bacterias mesófilas con  $1,3 \times 10^5$  UFC/ml y en la época seca  $1,0 \times 10^5$  UFC/ml está dentro de los rangos establecidos por IBNORCA . Por otra parte, Minaya *et al.*, (2015) en su estudio en leche cruda, realizado en la región de Puno, reportó la presencia de mesófilos en su mayoría se encontró dentro de los parámetros establecidos a excepción de dos cuencas lecheras (Vilque y Ayaviri) lugares donde la calidad sanitaria de la leche presentó alto contenido bacteriano en mesófilos.

De acuerdo con los resultados mostrados en la presente investigación, se observa que este producto es de buena calidad sanitaria lo que indicaría que quienes son parte de proceso de producción, transporte y expendio tienen en cuenta las buenas prácticas de



manufactura, higiene en los utensilios, y respecto al cuidado de los vacunos, estos no presentarían mastitis, lo cual evidencia que es un producto de buena calidad.

Tabla 3. se muestran los resultados de los análisis microbiológicos número más probable (NMP) para *Escherichia coli* para el recuento la leche cruda de vaca que se expenden en piso en los mercados de la ciudad de Puno, se encontró un promedio de 35.80 NMP de *Escherichia coli* en las muestras del Mercado Bellavista; un promedio de 42,90 NMP en las muestras del Mercado Central, y un promedio de 33,40 NMP en las muestras del Mercado Unión y Dignidad. Se realizaron 2 repeticiones y 5 muestras por mercado, obteniendo un promedio general de 37,37 NMP de *Escherichia coli*.

De las 2 repeticiones realizadas, para el mercado Bellavista se observa que el segundo puesto presento el mayor promedio y el quinto puesto resultó con el menor promedio. En el Mercado Central el primer puesto presento mayor promedio y el menor promedio fue para el quinto puesto, y para el Mercado Unión y Dignidad el menor promedio fue para el segundo puesto y el mayor promedio para el primer puesto (Anexo 4). Los puestos con mayor promedio reflejan deficiencias higiénicas en la manipulación y conservación, ya que, *Escherichia coli* demuestra contaminación fecal, asumiendo que las vendedoras de este producto desconocen de las prácticas de higiene y manipulación del producto; por otro lado, para los que obtuvieron menor promedio, la explicación estaría en que estos expendedores se informan e interesan por las capacitaciones y evitan la contaminación del producto.

La prueba t de student, evidencia que al comparar el promedio de recuento bacteriano de *Escherichia coli* con el límite máximo permisible hubo un valor p de 1,000 ( $p > 0.05$ ). Esto indica que, la calidad microbiológica de la leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno en piso demuestra que no existe diferencia



significativa; de modo que, sí cumple con las Normas Técnicas de Calidad del producto en lo concerniente a *Escherichia coli* (NMP).

*Escherichia coli* es un indicador de calidad higiénica y es una especie patógena de gran riesgo, la presencia de este microorganismos en un alimento, indica contaminación directa o indirecta del origen fecal, demuestra contaminación de origen fecal, refleja deficiencias higiénicas en la elaboración, conservación y manipulación, en el expendio; por lo que, los resultados de la presencia de *Escherichia coli* en la investigación resultaron en el mínimo permisible, al respecto, averiguando con los expendedores de leche, éstos afirman que, tratan de mantener una buena higiene y manipulación en la leche, pero que no es suficiente, pues ésta se deteriora o se “corta” y ya no se puede vender. Lo que demuestra que, los expendedores tienen conocimiento respecto a la higiene y sanidad, ya que, se conoce que SENASA imparte charlas y capacitaciones a los productores de leche y lácteos y además realiza control integral de los animales. Lo que significa que en el estudio realizado se ha demostrado que no existe contaminación fecal.

A diferencia de nuestros resultados Minaya et al., (2015) en su estudio en leche cruda realizado en la región de Puno obtuvo el siguiente resultado, para *Escherichia Coli* ninguna cuenca cumplió con las normas establecidas encontrándose una leche de baja calidad higiénica, lo que indica que, hay malas prácticas de ordeño y condiciones ambientales precarias.

Los resultados obtenidos en la presente investigación para *Escherichia coli*, difieren al estudio de Cohaila (2013) quién en su investigación de leche cruda en Tacna indica que de los valores obtenidos para *Escherichia coli*, se encontró que ninguna muestra es apta ya que todas las muestras reportan presencia de la bacteria, indica por tanto que, no es apta para el consumo. Por otro lado, Canches (2017) indica que, para

*Escherichia coli* (UFC) no encontró ningún crecimiento en cultivo por lo cual, da la explicación de que podría estar relacionado a las lluvias, ya que, su investigación lo realizo en julio y agosto.

#### 4.2. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA VACA EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO, MEDIANTE LA DETERMINACIÓN DE PH, ACIDEZ, DENSIDAD TITULABLE, SOLIDOS GRASOS Y SOLIDOS TOTALES.

**Tabla 4.** Promedios de los parámetros fisicoquímicos en la leche cruda de vaca que se expenden en los mercados de la ciudad de Puno (Enero - Marzo del 2023).

Mercados	pH		Acidez		Densidad		Sólidos Grasos		Sólidos Totales	
	$\bar{X}_m$	$\bar{X}_M$	$\bar{X}_m$	$\bar{X}_M$						
Bellavista	6.54	0	0.157	0	1.0286	0	3.188	0	11.26	0
Central	6.71	0	0.161	0	1.02961	0	3.184	0	11.35	0
Unión y Dignidad	6.63	0	0.155	0	1.0291	0	3.197	0	11.21	0
Total	6.63	0	0.16	0	10291	0	3,19	0	11.27	0

Fuente: elaboración propia

Tabla 4. Muestran los resultados de la determinación fisicoquímica de la leche cruda de vaca que se expenden en piso en los mercados de la ciudad de Puno. En la determinación fisicoquímica de las muestras de leche cruda de vaca que se expenden en



piso en cada uno de los mercados de la ciudad de Puno, se encontró un promedio de 6,54 de pH en las muestras del Mercado Bellavista; un promedio de 6,71 de pH en las muestras del Mercado Central, y un promedio de 6,63 de pH en las muestras del Mercado Unión y Dignidad. Se realizaron 2 repeticiones y 5 muestras por mercado, obteniendo un promedio general 6,63 de pH.

De las 2 repeticiones realizadas, para el mercado Bellavista se observa que el quinto puesto presento el mayor promedio y el segundo puesto resultó con el menor promedio. En el Mercado Central el segundo puesto presento mayor promedio y el menor promedio fue para el quinto puesto, y para el Mercado Unión y Dignidad el menor promedio fue para el primer puesto y el mayor promedio para el quinto puesto (Anexo 5). Se muestra en la prueba t de student que al comparar el promedio de determinación de pH con el límite mínimo permisible hubo un valor p de 0,850 ( $p > 0,05$ ), y al compararlo con el límite máximo permisible hubo un valor p de 1,000 ( $p > 0,05$ ). De esto se infiere que, el pH de la leche cruda de vaca, que se expende en los mercados de la ciudad de Puno en piso, no hay diferencia significativa, de modo que, cumple con las Normas Técnicas de Calidad del producto en lo relacionado a pH.

El pH es un indicador inmediato del estado de la leche, el pH no es un valor constante, podría variar en la lactación y bajo la influencia de la alimentación (Alais, 2003). Los resultados obtenidos en la presente investigación son similares a los resultados de Armas (2017) en España, quién reportó que el promedio del pH estaba entre 6,5 y 6,8 e indica que los resultados obtenidos se encuentran dentro del intervalo. Asimismo, Vázquez (2018) en Nicaragua, preciso que en sus resultados las muestras analizadas presentan pH entre 6.63-6.69 este rango, indica que todas las muestras presentan un pH dentro del rango permisible que es entre 6.60-6.69; por su parte, Acaro (2019) determinó que el valor promedio del pH se encuentra dentro de los parámetros establecidos por la



NTP (202.001: 2016), indica que, a mayor acidez se reduce el pH, lo que indica la presencia de microorganismos. Lo que significa que en el estudio realizado se ha demostrado que contiene condiciones higiénicas.

Tabla 4. Muestran los resultados de la determinación fisicoquímica de las muestras de leche cruda de vaca que se expenden en piso en cada uno de los mercados de la ciudad de Puno, se encontró un promedio de 0,157 g/100g de acidez en las muestras del Mercado Bellavista; un promedio de 0,161 g/100g de acidez en las muestras del Mercado Central, y un promedio de 0,155 g/100g de acidez en las muestras del Mercado Unión y Dignidad. Se realizaron 2 repeticiones y 5 muestras por mercado, obteniendo un promedio general de 0,16 g/100g de acidez.

De las 2 repeticiones realizadas, para el mercado Bellavista se observa que el tercer puesto presentó el mayor promedio y el cuarto puesto resultó con el menor promedio. En el Mercado Central el primer puesto presentó mayor promedio y el menor promedio fue para el cuarto puesto, y para el Mercado Unión y Dignidad el menor promedio fue para el segundo puesto y el mayor promedio para el cuarto puesto (Anexo 6).

De acuerdo al t de student, al comparar el promedio de determinación de acidez con el límite mínimo permisible hubo un valor p de 1,000 ( $p > 0,05$ ), y al compararlo con el límite máximo permisible hubo un valor p de 0,996 ( $p > 0,05$ ). De lo que, se infiere que, para Acidez de la leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno en piso, no hay diferencia significativa, de modo que, cumple con las Normas Técnicas de Calidad del producto en lo relacionado a acidez.

Miranda & Quezada (2018) señalan que la acidez de la leche experimenta cambios a lo largo del tiempo, dependiendo de la gestión y cuidado desde el momento de su



ordeño. Niveles elevados de acidez pueden atribuirse a la ausencia de refrigeración adecuada ( $4^{\circ}\text{C}$ ) o al almacenamiento en recipientes inapropiados. Estos elementos generan condiciones propicias para el desarrollo bacteriano, incrementando la acidez de la leche, que suele ser inferior al 0,13 %. Esto podría deberse a mastitis en la leche, dilución del producto, o a la introducción y adulteración con agentes alcalinos neutralizantes como bicarbonatos, carbonato de calcio e hidróxido de magnesio. La acidez nos permite indicar la calidad higiénica, si se trata de una leche fresca, acidificada o adulterada; el control de la prueba fisicoquímica, sirve para determinar la frescura de la leche y los productos lácteos, algunas adulteraciones, para lo cual, es necesario tener presente los valores normales (Panaque, 2018). Lo que significa que, en el estudio realizado, ha demostrado que tiene condiciones higiénicas.

Respecto al presente estudio la acidez está dentro de los límites permisibles. Los resultados son similares a Calderón *et al.*, (2012) en Colombia, quienes al evaluar la acidez en leche cruda reportaron que la acidez promedio en las empresas ganaderas fue de 0,17% de ácido láctico. Este valor se encuentra dentro del rango (0,13-0,17% de ácido láctico) considerado como normal en Colombia (Min Protección, Decreto 616).

A diferencia del presente trabajo los resultados Acaro (2019) en Chulucanas reportó en sus resultados que la acidez está entre 0.17879 y 0.19450, también indica que los valores de acidez aumentan debido a la producción al ácido láctico en la leche; por otro lado, Abril & Pilco (2013) en Ecuador, reportaron la acidez desde 0,145% a 0,170% y determinaron que la acidez es uno de los indicadores de contaminación microbiana relacionada con la fermentación láctica de los azúcares de la leche, agregaron que, son factores de contaminación asociados a las malas prácticas de manejo productivo de este alimento. Asimismo, en sus resultados, Minaya *et al.*, (2015) en Puno, reporta que la acidez en su mayoría de las cuencas sobrepasa la NTP 201.001. 2003 e indica que, este



valor elevado que encontró en su estudio podría deberse al efecto temperatura ya que llega a los 20° C.

Tabla 4. Muestran los resultados de la determinación fisicoquímica de las muestras de leche cruda de vaca que se expenden en piso en cada uno de los mercados de la ciudad de Puno, se encontró un promedio de 1,0286 g/ml de densidad titulable en las muestras del Mercado Bellavista; un promedio de 1,02961 g/ml en las muestras del Mercado Central, y un promedio de 1,0291 g/ml en las muestras del Mercado Unión y Dignidad. Se realizaron 2 repeticiones y 5 muestras por mercado, obteniendo un promedio general de 1,0291 g/ml de densidad titulable (anexo E).

De las 2 repeticiones realizadas, para el mercado Bellavista se observa que el quinto puesto presento el mayor promedio y el segundo puesto resultó con el menor promedio. En el Mercado Central el segundo puesto presento mayor promedio y el menor promedio fue para el quinto puesto, y para el Mercado Unión y Dignidad el menor promedio fue para el primer puesto y el mayor promedio para el quinto puesto (Anexo 7).

Conforme al t de student, se aprecia en la tabla, al comparar el promedio de determinación de densidad titulable con el límite mínimo permisible hubo un valor p de 0,024 ( $p < 0,05$ ), y al compararlo con el límite máximo permisible hubo un valor p de 1,000 ( $p > 0,05$ ). Por lo cual, se infiere que la Densidad de la leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno en piso, demostró diferencia significativa, de modo que, no cumple Normas Técnicas de Calidad del producto en lo relacionado a densidad titulable.

En este estudio se constató que la densidad de la leche se encuentra por debajo del límite permisible. La densidad de la leche resulta de la combinación de las densidades de sus diversos componentes, tales como agua, grasas, proteínas, lactosa y minerales. Por lo



tanto, al identificar una densidad inferior al rango mínimo establecido en las Normas técnicas de calidad, inferimos que esto podría atribuirse a una baja concentración de proteínas y lactosa. Estos valores de densidad varían según la composición específica de la leche (Miranda & Quezada, 2018). Esto sugiere que el estudio llevado a cabo ha evidenciado la posibilidad de que la leche contenga adiciones de agua o presencia de sólidos extraños. Estudios similares Rodríguez (2017) En su estudio sobre leche en Cusco, los valores que obtuvo respecto a la densidad se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la NTP (202.001: 2016) este parámetro es importante porque nos indica el bajo contenido de la leche y se presume que podría ser alterado.

En su estudio realizado en Lambayeque, indica que cuando se adiciona agua a la leche el peso específico disminuye, si al contrario se extrae la grasa el peso específico aumenta (Panaque, 2018). Por otro lado, Fora (2015) en Tacna, indica que los valores por encima de los parámetros indican adición de sólidos extraños en la leche y los parámetros por debajo de los estándares indican adición de agua. Así mismo, los parámetros obtenidos de la densidad en la presente investigación fueron distintos a los obtenidos por (Inga, 2017) Machala-Ecuador reportó en sus resultados obtenidos fueron de 1,028g/cc, 1,028g/cc y 1,029 g/cc respectivamente, concluye que las marcas presentaron valores dentro de lo que establece la normativa NTE INEN 9:2015. Así mismo Vázquez (2018) en Nicaragua, encontró en sus resultados de Densidad que todas las muestras analizadas se encuentran dentro del parámetro establecido entre 1.029-1.033.

Tabla 4. Muestran los resultados de la determinación fisicoquímica de las muestras de leche cruda de vaca que se expenden en piso en cada uno de los mercados de la ciudad de Puno, se encontró un promedio de 3,188 g/100g de sólidos grasos en las muestras del Mercado Bellavista; un promedio de 3,184 g/100g en las muestras del Mercado Central, y un promedio de 3,197 g/100g en las muestras del Mercado Unión y



Dignidad. se realizó 2 repeticiones y 5 muestras por mercado, Obteniendo un promedio general de 3,19 g/100g de sólidos grasos.

De las 2 repeticiones realizadas, para el mercado Bellavista se observa que el tercer puesto presento el mayor promedio y el cuarto puesto resultó con el menor promedio. En el Mercado Central el quinto puesto presento mayor promedio y el menor promedio fue para el tercer puesto, y para el Mercado Unión y Dignidad el menor promedio fue para el primer puesto y el mayor promedio para el tercer puesto (Anexo 8).

De acuerdo a lo se aprecia en la prueba t de student, al comparar el promedio de determinación de sólidos grasos con el límite máximo permisible hubo un valor p de 0,745 ( $p > 0,05$ ). Por lo cual se infiere que los Sólidos grasos de la leche cruda de vaca, que se expende en los mercados de la ciudad de Puno en piso, no hay diferencia significativa de modo que cumple con las Normas Técnicas de Calidad del producto en lo relacionado a sólidos-grasos.

Miranda & Quezada (2018) subrayan la importancia crucial de la grasa en la leche, ya que determina tanto la calidad de la leche como la de sus productos derivados. La grasa es responsable de impartir a la leche su tono amarillento, atribuido a la presencia de caroteno o provitamina A, especialmente abundante en la mantequilla. Esta grasa se presenta emulsionada en la leche en forma de diminutos glóbulos o esferas microscópicas, cuyos tamaños pueden variar debido a diversos factores como la raza, el período de lactancia, la alimentación, entre otros. La cantidad de grasa que puede contener la leche varía según la raza, edad y estado nutricional de la vaca (Rodriguez, 2017). Así mismo, Panaque (2021) en Lambayeque, indica que la materia grasa es una de las más importantes y difundidas en todos los centros de producción y transformación de la leche. Permite asegurar que el contenido en grasa corresponde al mínimo legal 3.2% (leche destinada al



consumo directo) y además se puede descubrir una o más alteraciones (descremada, adición de leche descremada o agua).

Los resultados del presente estudio de grasa se encontraron dentro de lo establecido DS. N° 007-2017-MINAGRI (Mínimo 3.2%). Lo que significa posiblemente a factores climáticos, alimenticios, curva de lactancia, variación individual. En el parámetro de grasa obtenidos en la investigación fueron similares a los obtenidos por Banda & Chasquero (2019) en Jaén, reporto en su investigación de grasa fue de 3.65 % indica que está dentro del rango establecido Decreto Supremo N°007-2017-MINAGRI, Es uno de los componentes que determina la calidad de la leche fresca. Por otro lado, Fora (2015) en Tacna, encontró un valor de 3.36.

Tabla 4. Muestra los resultados de la determinación fisicoquímica de las muestras de leche cruda de vaca que se expenden en piso en cada uno de los mercados de la ciudad de Puno, se encontró un promedio de 11,26 g/100g de sólidos totales en las muestras del Mercado Bellavista; un promedio de 11,35 g/100g en las muestras del Mercado Central, y un promedio de 11,21 g/100g en las muestras del Mercado Unión y Dignidad. se realizó 2 repeticiones y 5 muestras por mercado, Obteniendo un promedio general de 11,273 g/100g de sólidos totales.

De las 2 repeticiones realizadas, para el mercado Bellavista se observa que el primer puesto presento el mayor promedio y el segundo puesto resultó con el menor promedio. En el Mercado Central el cuarto puesto presento mayor promedio y el menor promedio fue para el primer puesto, y para el Mercado Unión y Dignidad el menor promedio fue para el segundo puesto y el mayor promedio para el cuarto puesto (ANEXO 9).



Según la prueba t de student, al comparar el promedio de determinación de sólidos totales con el límite máximo permisible hubo un valor p de 0,986 ( $p > 0,05$ ). Por lo cual se infiere que los Sólidos totales de la leche cruda de vaca que se expenden en los mercados de la ciudad de Puno en piso, no hay diferencia significativa de modo que cumple con las Normas Técnicas de Calidad del producto en lo relacionado a sólidos totales.

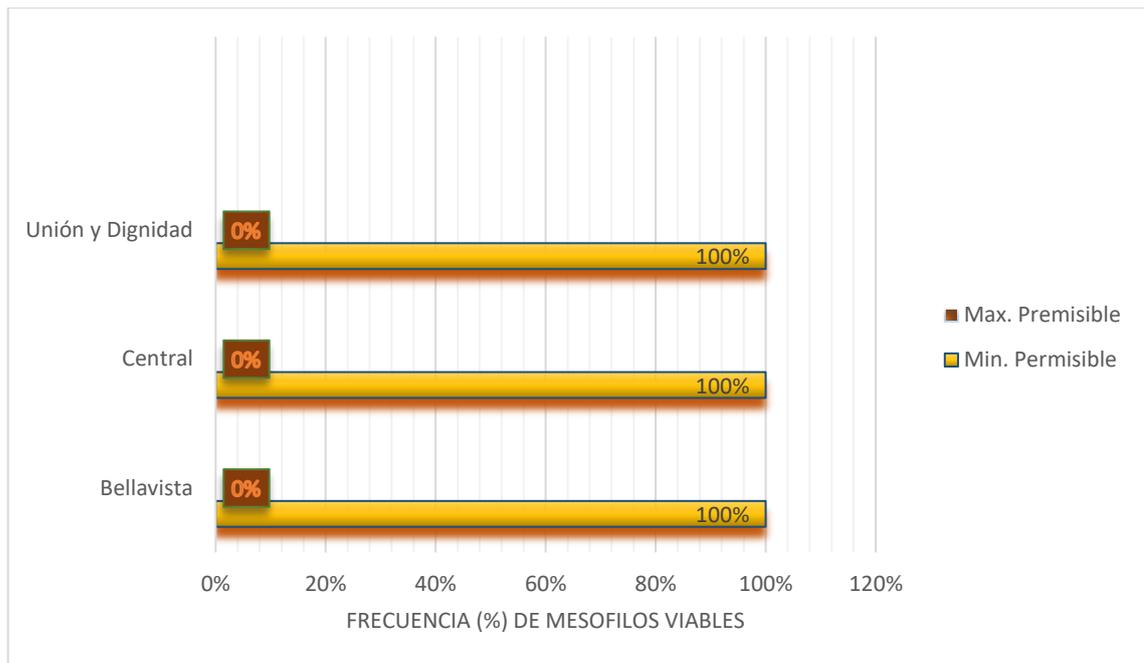
La Normativa peruana define los sólidos totales de la leche como la suma de la grasa, proteínas, lactosa y minerales. Por lo tanto, cualquier variación en estos componentes puede afectar el total de sólidos, siendo el porcentaje de grasa el factor más influyente en esta suma. La determinación del porcentaje de sólidos totales es crucial para identificar posibles adulteraciones por dilución en la leche. Los resultados obtenidos para los sólidos totales (extracto seco) en Lambayeque, según Panaque (2018), indican que abarcan todos los componentes de una muestra de leche, excepto el agua, siendo su contenido porcentual la suma de los contenidos porcentuales de grasa, proteínas, lactosa anhidra, sales minerales y oligoelementos. Esto implica que el estudio realizado ha demostrado la ausencia de adulteraciones. Los resultados obtenidos en el presente estudio son similares a Banda & chasquero (2019) en Jaén, reportó que el valor de sólidos totales el promedio fue de 11.77 % indica que está dentro de los parámetros establecidos por el D.S. N° 007-2017- MINAGRI. Por otro lado, Fora (2015) en Tacna, en su estudio encontró, sólidos totales 11.26 g/100g y indica que se encuentra dentro de los parámetros establecidos.

### 4.3. ESTABLECER LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FÍSICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA DE VACA QUE SE EXPENDEN EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO.

**Tabla 5.** Frecuencia de mesófilos viables y NMP/g de *E. coli* en los mercados de la ciudad de Puno (enero-marzo del 2023).

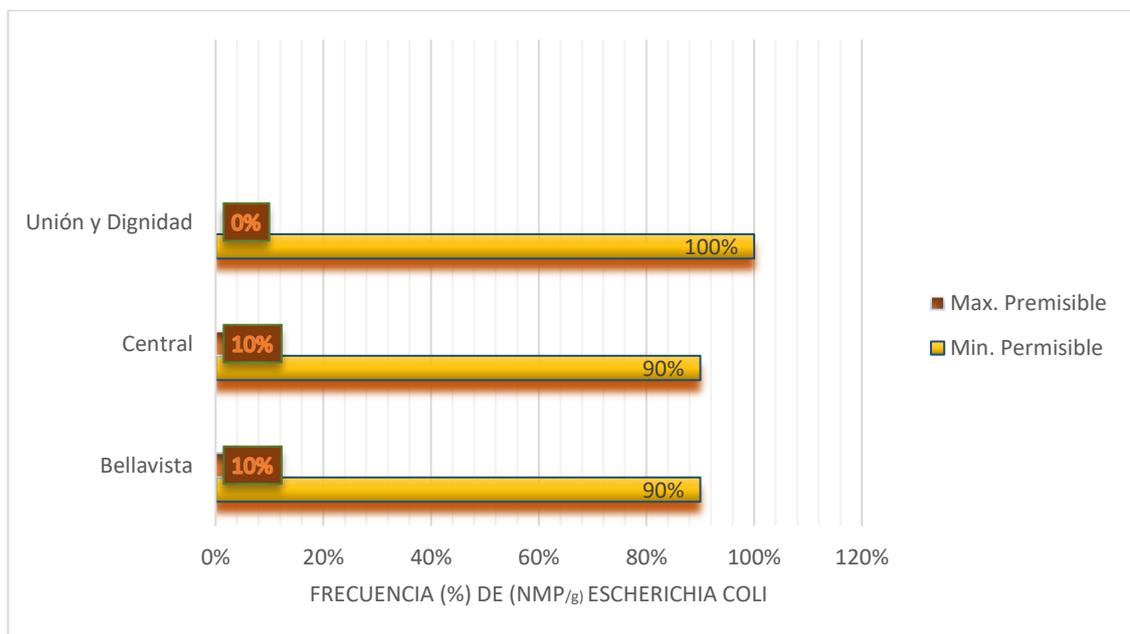
Mercados	Mesófilos viables ufc/ml				Total		NMP/ <i>Escherichia coli</i>				Total	
	m		M				m		M			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Bellavista	10	100	0	0	10	100	9	90	1	10	10	100
Central	10	100	0	0	10	100	9	90	1	10	10	100
Unión y Dignidad	10	100	0	0	10	100	10	100	0	0	10	100
Total	30	100	0	0	30	100	28	80	2	20	30	100

**Fuente:** elaboración propia.



**Figura 1.** Frecuencia del contenido de mesófilos viables en la leche cruda de vaca en la ciudad de Puno (enero- marzo del 2023).

**Fuente:** elaboración propia.



**Figura 2.** Frecuencia del contenido de Numero más probable (NMP/g) de Escherichia coli en la leche cruda de vaca en la ciudad de Puno (enero- marzo del 2023).

**Fuente:** elaboración propia.



Tabla 5 y figura 1 y 2. Se muestran los resultados de la leche cruda de vaca de los mercados de la ciudad de Puno. En el mercado Bellavista el recuento de mesófilos viables que el 100% de las muestras fueron aceptables ya se encontraron en el mínimo permisible y el 0% para el máximo permisible y para *Escherichia.coli* el 80% fueron aceptables por que se encuentran en el mínimo permisible y el 20% fueron rechazables ya que se encuentran en el máximo permisible. Se demuestra que las leches procedentes de los mercados es de buena calidad higiénica – sanitaria lo que significa que es un producto de buena calidad para el consumo humano.

Para el recuento de mesófilos viables los resultados fueron el 100% aptos para el consumo a diferencia a lo presentado por Fora (2015) en Tacna, analizo 50 muestras en leche cruda expandidos en la ciudad de Tacna ha obtenido un 62% como no aptos para mesófilos viables, e indica que esto podría deberse a las condiciones insalubres, lo cual indican mala calidad sanitaria. Así mismo Canches (2017) en Huánuco, en su estudio realizo 30 muestras 23%(7) encontró dentro de los parámetros establecidos, el 30%(9) reporto como regularidad en los recuentos de colonias y el 47% (14) reporto sobrepasaron los recuentos de colonias formadoras de mesófilos aeróbicos lo cual indica que la leche es de mala calidad comparo N°007-2017-MINAGRI.NTP.2002.001. Por otro lado, Umppiri (2022) en Ayacucho, determinó que, para el recuento de aerobios mesófilos, el 48 % de las muestras estuvieron superiores al límite permitido, con un promedio de  $1,29 \times 10^6$  UFC/ml y un 52 % que están dentro del rango e indica que sobrepasaron el rango permisible descrita por la Norma Técnica Peruana (NTP.202.001.2016).

Según el DS. N° 007-2017-MINAGRI reglamento de la leche y productos lácteos indica que la leche cruda que se destina al expendio debe proceder de animales libre de enfermedades y se debe de cumplir con las especificaciones de calidad sanitaria e inocuidad que establece el ministerio de salud ( $m= 5 \times 10^5$  ufc/ml, y  $M=10^6$ ml).

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que la leche cruda de vaca, expendida en piso de los tres mercados de la ciudad de Puno, es de buena calidad; y, por consiguiente se debe continuar promoviendo las condiciones adecuadas del producto, lo que significa, asimismo, que las campañas de difusión del Ministerio de Salud respecto de los cuidados higiénicos en los alimentos y el interés cada vez más frecuente de los expendedores a capacitarse en aspectos relacionados a lo higiénico – sanitario han tenido resultados favorables.

**Tabla 6.** Frecuencia de la calidad fisicoquímica del pH, Acidez y Densidad de la leche cruda de vaca expendido en los mercados de la ciudad de Puno (enero-marzo del 2023).

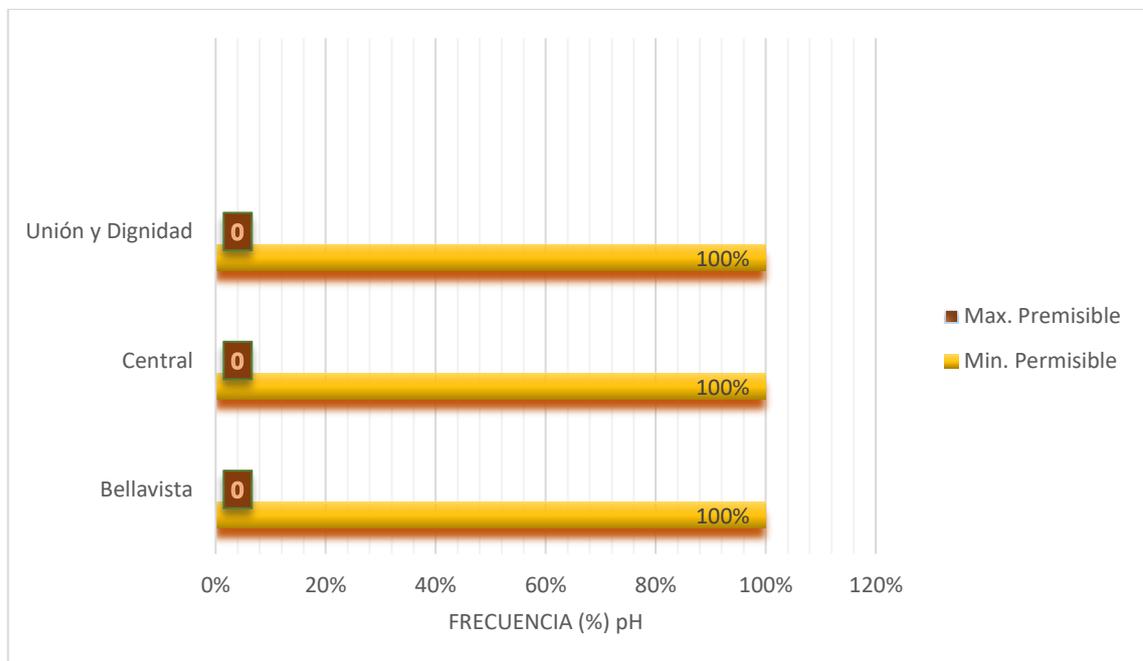
Mercados	pH				Total		Acidez				Total		Densidad				Total	
	m		M		N°	%	m		M		N°	%	m		M		N°	%
	N°	%	N°	%			N°	%	N°	%			N°	%	N°	%		
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Bellavista	10	100	0	0	10	100	8	80	2	20	10	100	10	100	0	100	10	100
Central	10	100	0	0	10	100	8	80	2	20	10	100	10	100	0	100	10	100
Unión y Dignidad	10	100	0	0	10	100	7	70	3	30	10	100	10	100	0	100	10	100
Total	30	100	0	0	30	100	26	76.7	7	23.3	30	100	30	100	0	100	30	100

**Fuente:** elaboración propia.

**Tabla 7.** Frecuencia de la calidad fisicoquímica de los sólidos grasos y solidos totales de la leche cruda de vaca expendido en los mercados de la ciudad de Puno (Enero - Marzo del 2023).

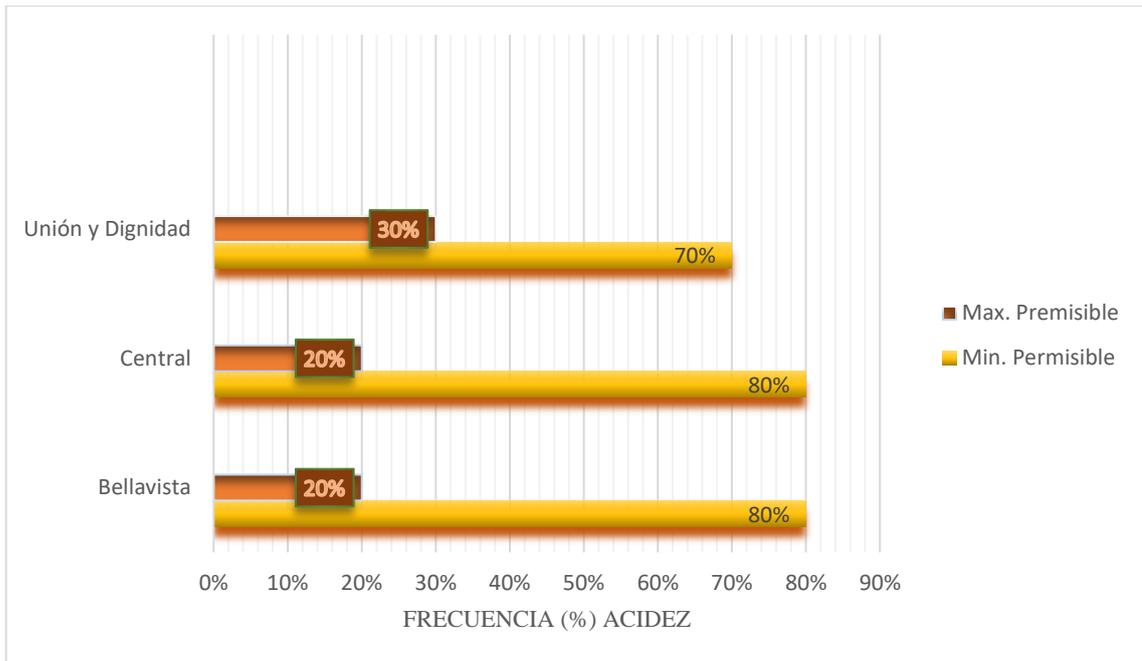
Solidos Grasos				Total		Solidos totales				Total	
m	M					m	M				
N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
4	40	6	60	10	100	6	60	4	40	10	100
6	60	4	40	10	100	3	30	7	70	10	100
5	50	5	50	10	100	8	80	2	20	10	100
15	50	15	50	30	100	17	56.7	13	43.3	10	100

**Fuente:** elaboración propia.



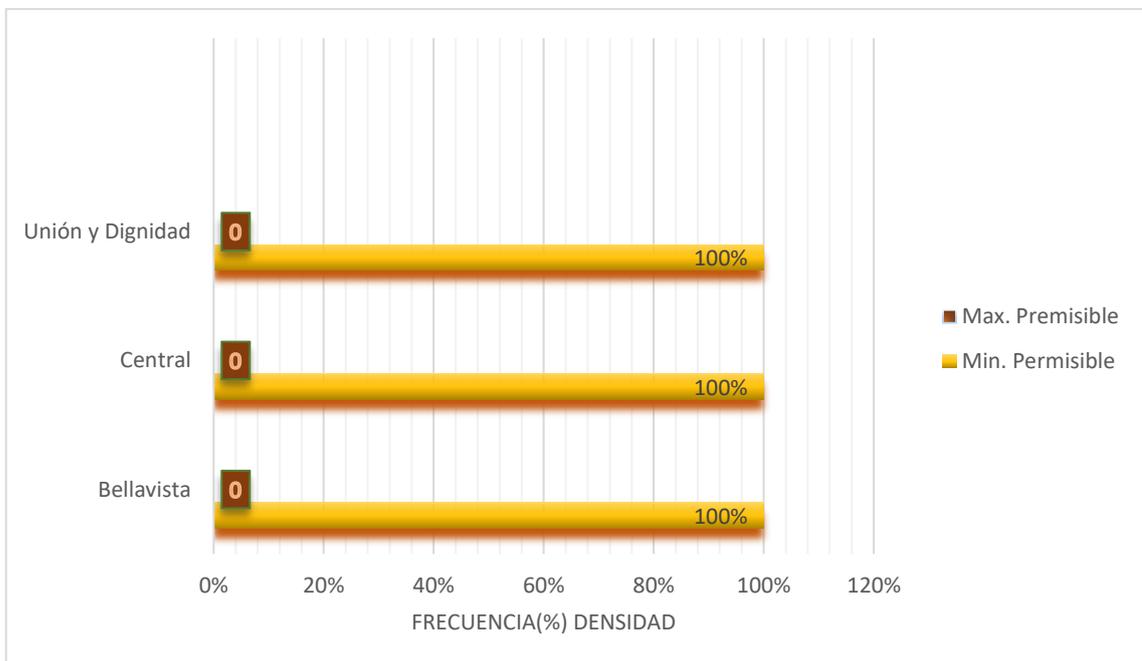
**Figura 3.** Frecuencia de la determinación de pH (H+).

**Fuente:** elaboración propia.



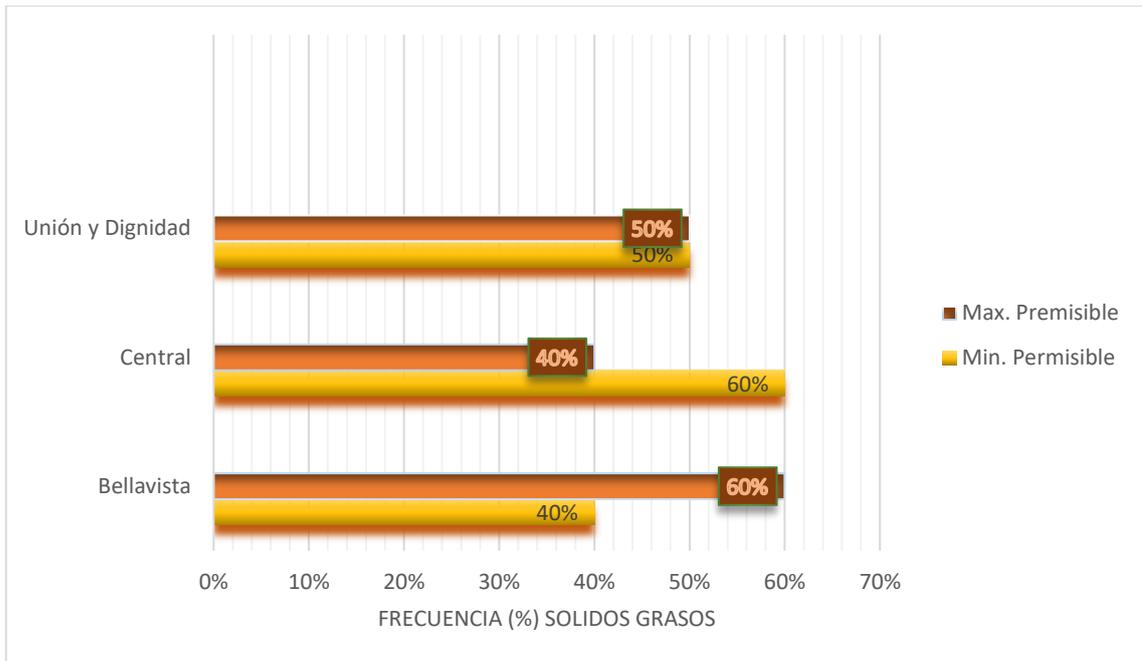
**Figura 4.** Frecuencia de la determinación de acidez (g/100).

**Fuente:** elaboración propia.



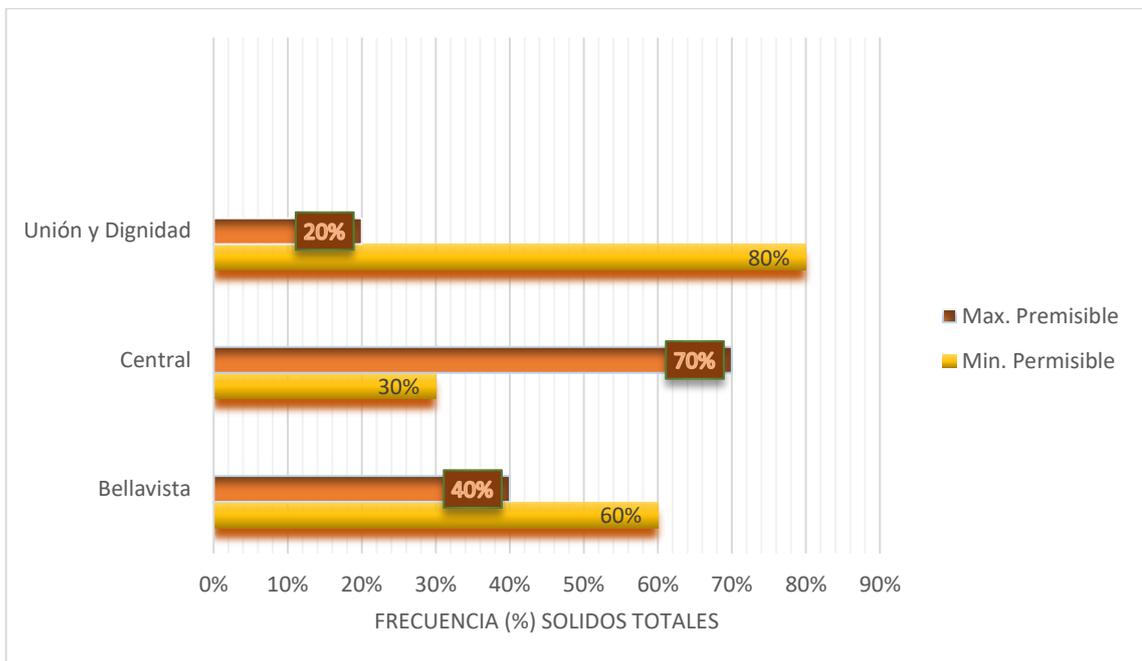
**Figura 5.** Frecuencia de la determinación de densidad titulable (g/ml).

**Fuente:** elaboración propia.



**Figura 6.** Frecuencia de la determinación de sólidos grados (g/100g).

**Fuente:** elaboración propia.



**Figura 7.** Frecuencia de la determinación de sólidos totales (g/100g).

**Fuente:** elaboración propia.

Tabla 6 y 7. **Figura 3.** Se muestran los resultados de la leche cruda de vaca en los parámetros fisicoquímicos, dando como resultado en los parámetros de pH se encontraron en el 100% está en el mínimo permisible y que el 0% está en el máximo permisible; **Figura 4.** para Acidez el 76.7% se encuentran en el mínimo permisible y el 23.3% se encuentran en el máximo permisible, **Figura 5.** Densidad se encontró que el 100%, se encuentran en el mínimo permisible. **Figura 6.** Sólidos grasos el 50% se encontraron en el mínimo permisible y el 50% en el máximo permisible; **Figura 7.** Sólidos totales el 56.7% se encontraron en el mínimo permisible y el 43.3% ya que encuentran en el máximo permisible.

Resultados similares a nuestro estudio Vásquez (2018) en Nicaragua, encontró en su estudio de leche entera ultra pasteurizada UHT que son procesadas en empresas lácteas establecidas en Nicaragua. pH entre 6.60 a 6.69, Acidez titulable entre 14 y 15°D, densidad entre 1029-1033 lo cual se encuentran dentro del rango permisible.

Fora (2015) en Tacna encontró en su estudio pH y acidez 100% aptas, para densidad el 80% no aptas, sólidos grasos 76% aptas y sólidos totales el 66% no aptas. Así mismo Abril y Pilco (2013) en su estudio realizo 93 muestras para Densidad Relativa, Materia Grasa, Acidez Titulable, Sólidos Totales, y comparo NTE INEN 9: 2012. Los resultados obtenidos fueron el 49,47% están dentro de los parámetros de calidad y el 50,53% restante presenta alteración, los parámetros analizados, por lo cual no es apta para el consumo humano.

Los resultados encontrados en el presente estudio, los parámetros fisicoquímicos de la leche cruda de vaca se observan que las frecuencias están dentro de los parámetros establecidos por los parámetros en la NTP y el D.S. N° 007- MINAGRI reglamento de la leche y productos lácteos. Por lo cual indicamos que la calidad fisicoquímica es aceptable.



Los resultados de frecuencia en Mesófilos viables en leche cruda de vaca resulto que el 100% cumplen con calidad microbiológica aceptable no excedieron el Número Mínimo Permisible, para *Escherichia coli* el 80% se encuentra dentro de lo aceptable y el 20% inaceptable según, DS. N° 007-2017-MINAGRI que establecen los criterios microbiológicos a diferencia de la calidad fisicoquímica donde se encontró a los parámetros de pH y Densidad dentro de lo permisible ya que se obtuvo un resultado del 100%, para acidez un 76.7% aceptable, 23.3% inaceptable, Solidos grasos el 50% aceptable y el 50% inaceptable, Solidos Totales 56.7% aceptable y el 43.3% inaceptable. En el presente estudio se obtuvo como resultado de los análisis microbiológicos (mesófilos viables y *Escherichia coli*) y fisicoquímicos (pH, Acidez, Densidad, solidos grasos y solidos totales) en donde los tres mercados de la ciudad de Puno que son Bellavista, Central y Unión Y Dignidad cumplen con calidad microbiológica y fisicoquímica, según el DS. N° 007-2017-MINAGRI reglamento de la leche y productos lácteos, lo cual se considera aceptable. La explicación está en que las muestras fueron tomadas en época de lluvias y por la mañana a temperaturas bajas donde no hubo contaminación y el trayecto que hacen los expendedores hasta los diferentes mercados de la ciudad de Puno fueron no más de 15 a 20 minutos por lo cual se considera una leche aceptable en cuanto a la calidad fisicoquímica ha variado en Acidez, Sólidos grasos y Sólidos totales debido a que podría tener materiales inapropiados para extraer la leche, la raza, período de lactancia, alimentación de los vacunos y etc.



## V. CONCLUSIONES

Los promedios para el recuento de mesófilos viables en leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno, fueron de:  $1.30 \times 10^4$  ufc/ml para el Mercado Bellavista; mercado Central  $3.22 \times 10^4$  ufc/ml y para el Mercado Unión y Dignidad  $2.64 \times 10^4$  ufc/ml la prueba T de student,  $P_m = 0,001$ , existe diferencia significativa y  $P_M = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) por lo que no existe diferencia significativa y para *Escherichia coli* 35.80 NMP Mercado Bellavista; 42.90 NMP Mercado Central, y 33.40 NMP Mercado Unión y Dignidad; Respecto de la prueba T de student, p de 1,000 ( $p > 0,05$ ) no existe diferencia significativa en los tres mercados de la ciudad de Puno.

Los promedios para los parámetros fisicoquímicos en leche cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno, fueron: pH 6,54 Mercado Bellavista, 6,71 Mercado Central y Unión y dignidad 6.63, Para la prueba T de student sobre el  $P_m$  0,850 ( $p > 0,05$ ) y  $p_M = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa; Acidez 0.157 Mercado Bellavista, 0.161 Mercado Central y Unión y dignidad 1.155 prueba T de student  $P_m = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) y  $p_M$  de 0,996 ( $p > 0,05$ ), no hay diferencia significativa; Densidad 1.0286 Mercado Bellavista 1.02961 Mercado Central y Unión y Dignidad 1.029, la prueba T de student  $P_m = 0,024$  ( $p < 0,05$ ) demostró diferencia significativa y  $P_M = 1,000$  ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa.; En solidos grasos: 3.188 Mercado Bellavista, 3.184 Mercado Central y Unión y Dignidad 3.197, la prueba T de student p de 0,745 ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa y Solidos totales 11.26 Mercado Bellavista, 11.35 Mercado Central y Unión y Dignidad 11.21, la prueba T de student valor p de 0,986 ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa.

Se concluye que las leches analizadas procedentes de los mercados presentan buena calidad higiénico-sanitaria y fisicoquímica.



## VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a la Municipalidad Provincial de Puno y Dirección de Higiene Alimentaria y Zoonosis (DHAZ) del Ministerio de Salud, a realizar controles periódicos de la calidad de la leche fresca, en los mercados y en lugares aledaños donde suele expendirse este producto.
2. Se recomienda integrar más investigaciones de calidad bacteriana, delimitando el estudio, durante las épocas de estiaje y lluvia.
3. Ampliar el estudio de la calidad de la leche, respecto a otros parámetros como el contenido de grasa, densidad y sólidos totales.
4. Promover campañas de difusión y concientización sobre la higiene en los alimentos, del mismo modo, capacitar a los productores y expendedores de leche fresca respecto a la correcta obtención de la leche y el adecuado traslado a los lugares de expendio.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abril, A., & Pillco, E. (2013). Calidad Fisicoquímica de la leche cruda que ingresa a la ciudad de Cuenca, para su comercialización. *Bioquímico Farmacéutico*, 97. <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/25331/T-2795.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Acaro, S. (2019). “evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda que se expende en la ciudad de chulucanas, piura, Perú.” 1–145. [http://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/UCSS/135/Cueva\\_Mallqui\\_tesis\\_maestría\\_2014.pdf?sequence=5&isAllowed=y](http://repositorio.ucss.edu.pe/bitstream/handle/UCSS/135/Cueva_Mallqui_tesis_maestría_2014.pdf?sequence=5&isAllowed=y)
- Alais, C. (2003). *Ciencia de la leche: principios de la técnica lechera*. (Obra original publicada en 1985).
- Alfaro, M., & Hurtarte, A. (2014). Implementación de un manual de ordeño higiénico en dos establecimientos lecheros y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en el departamento de Sonsonate, El Salvador. *Suparyanto Dan Rosad* (2015, 5(3), 248–253).
- Alonso, A., Iribán, C., & Benítez, M. (2018). Comportamiento físico-químico y microbiológico de la leche de vacas Siboney de Cuba. *Literature-Film Quarterly*, 52(2), 141–153.
- Amazará, E., Tarazona, G., Quintero, Y., Vaca, Y., & Vaca, D. (2022). Microbiología de alimentos recuento de los microorganismos aerobios mesofilos. June, 1–6.
- Andino, F., & Castillo, Y. (2010). Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. *Universidad Nacional de Ingeniería UNI - Norte*, 63. <http://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>
- Banda, J., & Chasquero, Y. (2019). Control de calidad de la leche fresca del distrito de santa rosa – jaén. *JAÉN – PERÚ*.
- Bedolla, C. (2007). Métodos de detección de la mastitis bovina ( *Methods of detection of the bovine mastitis* ). *Redvet*, 3(9), 1–17.
- Bonzano, S. (2012). Evaluación De La Calidad Fisicoquímica, Higiénica Y Sanitaria De



La Leche Cruda Fría Producida En Establos Con Diferentes Niveles Tecnológicos  
En El Norte Del Perú.

[http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1021/Bonzano Díaz%2C  
Saby .pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1021/Bonzano_Díaz%2C%20Saby.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Botina, E., & Ortiz, D. (2013). Evaluacion de la calidad fisicoquimica, composicional y microbiologica de la leche cruda comercializada en el corregimiento de catambuco. *Journal of the American Chemical Society*, 123(10), 2176–2181. <https://shodhganga.inflibnet.ac.in/jspui/handle/10603/7385>

Calderon, V., & Pascual, R. (2000). *Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas (segunda Ed).*

Canches, T. (2017). Determinar la carga bacteriologica de leche cruda de vaca y su relacion con la calidad higienica y sanitaria en el distrito de Baños -Huanuco 2017. 116.

[http://repositorio.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/873/T\\_047\\_22497889.p  
df?sequence=1&isAllowed=y%0Ahttp://repositorio.udh.edu.pe/123456789/873](http://repositorio.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/873/T_047_22497889.pdf?sequence=1&isAllowed=y%0Ahttp://repositorio.udh.edu.pe/123456789/873)

Cárdenas, C., & Murillo, M. (2018). Calidad Bacteriológica de la leche cruda en ganaderías de la provincia del Azuay.

[https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/31455/1/Trabajo de  
titulación.pdf](https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/31455/1/Trabajo de titulaci3n.pdf)

Chac3n, F. (2017). Evaluaci3n de los an3lisis f3sicos-qu3micos de la leche bovina. *Universidad Politécnica Salesiana*, 39–45. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13538/1/UPS-CT006912.pdf>

China, J. (2017). “tendencias anuales en las características de sólidos totales y microbiológicas de la leche fresca en la costa central del Perú.” 511, 7995788.

Cohaila, A. (2013). Calidad microbiologica de leche cruda expendida a los alrededores de los mercados del distrito de tacna, provincia de tacna.

Defaz, E., & Pérez, O. (2013). Determinaci3n de la calidad f3sico-qu3mica y microbiol3gica de la leche cruda de los centros de acopio de las 10 asociaciones del CONLAC-T. *Universidad Central Del Ecuador*, 76.

<http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4251>



- FAO. (2012). Prevencion De La E. coli En Los Alimentos.
- FAO. (2014). fao sanctions procedures 2014. November.
- FAO. (2022). Contribution of terrestrial animal source food to healthy diets for improved nutrition and health outcomes Key messages Key messages.
- FAO. (2023). FAO Dairy Industry development.
- Figuroa, C. (2019). "Calidad higiénica de la leche cruda comercializada en los puestos ambulatorios del distrito de tacna". 112.  
<http://repositorio.uandina.edu.pe/handle/UAC/2694>
- Fora. (2015). Evaluación de la calidad microbiologica y fisicoquimica de la leche cruda del ganado vacuno Distrito de Sama Iclán - Tacna, 2015.  
<https://www.ptonline.com/articles/how-to-get-better-mfi-results>
- Frau, F., Valdez, G., Paz, R., & Pece, N. (2013). Composición fisicoquímica y calidad microbiológica de leche de cabra producida en la provincia de Santiago del Estero ( Argentina ) Physicochemical composition and microbiological quality of goat milk produced in Santiago del Estero Province ( Argentine ). Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 21, 1–13.
- Fuentes, G., Ruiz, R. A., Sánchez, J. I., Ávila, D. N., & Escutia, J. (2013). Análisis microbiológico de leche de origen orgánico: atributos deseables para su transformación. Agricultura Sociedad y Desarrollo, 10(4), 419.  
<https://doi.org/10.22231/asyd.v10i4.134>
- Gonzales, W. (2013). "Evaluación de algunos parámetros físico-químicos de la leche de ganado vacuno en dos hatos del eje carretero Yurimaguas-Santa Rosa (km 17)."  
km 17, 64.  
[https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/3822/Harver\\_Tesis\\_Titulo\\_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/3822/Harver_Tesis_Titulo_2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Indecopi. (2021). Informe de lanzamiento del Estudio de Mercado sobre el sector Lacteo en el Perú. <https://www.indecopi.gob.pe/sobre-el-indecopi>
- INEI. (2019). Puno Encuesta Demografica y de Salud Familiar - ENDES 2019. Inei, 1–68. <https://proyectos.inei.gob.pe/endes/2019/departamentales/Endes21/pdf/Puno.pdf>



- Inga, L. (2017). Control calidad en la leche. Control de Calidad En La Densidad de La Leche.  
<http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/13908%0Ahttp://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/10790/1/.pdf>
- Laura, E. (2018). Metodos de Analisis Microbiologicos de los Alimentos.
- Laura, E., & Meza, R. (2013). Carga Bacteriana de *Bucillus cereus* en leche fresca de vacuno de tres comunidades de la cuenca lechera de Taraco - Puno.
- Lozano, H., & Fransua, carlos. (2008). Control en los alimentos. Calidad y Control, 2, 4–12.
- Luigi, T., Rojas, L., & Valbuena, O. (2013). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela.
- Mendez, V. M., & Osuna, L. E. (2007). Caracterización de la calidad higienica y sanitaria de la leche cruda en algunos sistemas productivos de la region del alto del Chicamocha (departamento de Boyaca). Universidad De La Salle, 156.
- MINAGRI. (2017). Decreto Supremo N° 007-2017/MINAGRI. Decreto Supremo que aprueba el reglamento de la leche y productos lacteos. Diario El Peruano, 6–17.  
<https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/decreto-supremo-que-aprueba-el-reglamento-de-la-leche-y-prod-decreto-supremo-n-007-2017-minagri-1538908-1/>
- Minaya, Torres, A., Alex, Bethy, & Hernán. (2015). Calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de leche cruda en las cuencas ganaderas de la región Puno–Perú. *Scientia Agropecuaria*, 6(3), 165–176.  
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.03.03>
- MINSA. (2019). Boletín epidemiológico del Perú, VOLUMEN 28 - SE 08.
- Miranda, C., & Quezada, J. (2018). Características físico químicas de leche fresca, procedente de establos de la provincia de trujillo, abril-mayo 2018.
- Moreno, F. C., Mancera, V. M., Ávila, L. E., & Vargas, M. R. (2007). Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). *Resvista de Medicina Veterinaria*, 14, 61–83.



- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfalle, M. (2017). *Microbiologia Medica* (8va ed.).
- Panaque, velez M. A. (2018). “Calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda acopiada en planta del grupo gloria – chiclayo.”  
<http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/3464>
- Pinzón, A. (2006). Determinación del índice de bacterias mesófilas aerobias presentes en la leche cruda, versus leche pasteurizada, que se comercializa en la zona urbana de la Ciudad de Popayán. (Colombia);, Facultad de Ciencias Agrarias, 18–21.  
[https://images.engormix.com/s\\_articles/pinzon\\_leche\\_bacterias.pdf](https://images.engormix.com/s_articles/pinzon_leche_bacterias.pdf)
- Quispe. (2010). Estudio de la calidad de leche en los centros de acopio del municipio de Pucanari. 105–115.
- Quispe, j. (2014). Evaluación De La Calidad De Leche Bovina Para La Época Seca Y Húmeda, En El Altiplano Norte De La Provincia Omasuyos Del Departamento De La Paz. 128. <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/5599>
- Revilla, T. (2019). Evaluación de la calidad de leche fresca en cuatro procesadoras lácteas en la zona del Alto Mayo, región San Martín.
- Rodriguez. (2016). “determinación de la inocuidad y calidad fisicoquímica de leche cruda en plantas procesadoras del cantón salcedo.” 13(3), 44–50.
- Rodriguez, P. (2017). Determinación De La Calidad Fisico-Química De La Leche Fresca En El Sector Urinsaya – Ccollana En Época De Secas. Universidad Nacional de San Antonio Abad Del Cusco.  
<https://www.academia.edu/download/53693081/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf>
- Rosales, D., & Garcia, P. (2017). la leche de vaca y sus implicaciones en la transmisión de enfermedades infecciosas.
- Vanegas, D., & Martínez, M. (2011). Determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de la leche en el municipio de Chipaque Cundinamarca y su comercialización (Colombia). 92–115.
- Vásquez, K. (2018). Caracterización Fisicoquímica y Organoléptica de leche entera ultrapasteurizada (UHT) procesadas en las empresas lácteas establecidas en



Nicaragua. 1–132. <http://repositorio.unan.edu.ni/10759/1/99979.pdf>

Zamora, G. (2006). analisis fisicoquimico de leches en la coperativa colanta ltda sede armenia.

## ANEXOS

### ANEXO 1

**Tabla 8.** Especificaciones sanitarias microbiológicas

Agente microbiano	Unidad	Categoría	Clase	N	c	Límite por ml	
						m	M
Aerobios mesófilos	UFC/ml	3	3	5	1	$5 \times 10^5$	$10^6$
Coliformes	UFC/ml	4	3	5	3	$10^2$	$10^3$

**Fuente:** Decreto supremo N° 007-2017- Minagri.

### ANEXO 2

**Tabla 9.** Especificaciones técnicas fisicoquímicas.

ENSAYO	REQUISITOS	MÉTODO DE ENSAYO
Materia grasa (g/100 g)	Min. 3.2	NTP 202.028
Sólidos no grasos (g/100 g)	Min. 8.2	*
Sólidos totales (g/100 g)	Min. 11.4	NTP 202.118
Acidez, expresada en g. de ácido láctico (g/100 g)	0.13 – 0.17	NTP 202. 116
Densidad a 15 °C (g/ml)	1.0296-1.0340	NTP 202.007
Índice de refracción del suero, 20 °C	Min. 1.34179	NTP 202.016
Ceniza total (g/100 g)	Max. 0.7	NTP 202. 172
Alcalinidad de la ceniza total (ml de solución de NaOH 1N)	Max. 1.7	NTP 202. 172
Índice crioscópico	Max. 0.540°C	NTP 202.184
Sustancias extrañas a su naturaleza	Ausencia	NTP 202.168
Prueba de alcohol (74 % v/v)	No coagulable	NTP 202.030
Prueba de la reductasa con azul de metileno	Min. 4 horas	NTP 202.014

**Fuente:** Norma técnica Peruana (202.001-2016), D.S.N° 007-2017-MINAGRI.



### ANEXO 3

**Tabla 10.** Promedio del recuento de bacterias mesófilas viables en muestras de leche cruda de vaca en los Mercados: Central, Bellavista y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.

N° de Muestras Mercados	Repeticiones/ Mesófilos		Promedio
	Primera	Segunda	
<b>Bellavista 1</b>	16500	14800	15650
<b>Bellavista 2</b>	5200	6580	5890
<b>Bellavista 3</b>	10900	13800	12350
<b>Bellavista 4</b>	14396	16700	15548
<b>Bellavista 5</b>	15484	15380	15432
<b>Total</b>	12496	13452	12974
<b>Central 1</b>	45630	387300	42180
<b>Central 2</b>	28820	496300	39225
<b>Central 3</b>	39728	452600	42494
<b>Central 4</b>	28369	3589230	32130.5
<b>Central 5</b>	4583	48900	4736.5
<b>Total</b>	29426	34880.4	32153.2
<b>Unión y Dignidad 1</b>	22520	37542	30031
<b>Unión y Dignidad 2</b>	56240	48287	52263.5
<b>Unión y Dignidad 3</b>	18928	25832	22380



<b>Unión y Dignidad</b> 4	3498	5890	4694
<b>Unión y Dignidad</b> 5	26890	18570	22730
<b>Total</b>	25615.2	27224.2	26419.7

**Fuente:** elaboración propia.

## ANEXO 4

**Tabla 11.** Promedios del Número más probable (NMP/g) de *E. coli* en muestras de leche cruda de vaca en los Mercados: Central, Bellavista y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.

N° de Muestras Mercados	Repeticiones (NMP/g) de <i>E. coli</i>		Promedio
	Primera	segunda	
<b>Bellavista 1</b>	15	36	25.5
<b>Bellavista 2</b>	24	120	72
<b>Bellavista 3</b>	43	21	32
<b>Bellavista 4</b>	64	15	39.5
<b>Bellavista 5</b>	13	7	10
<b>Total</b>	31.8	39.8	35.8
<b>Central 1</b>	240	20	130
<b>Central 2</b>	53	14	33.5
<b>Central 3</b>	7	43	25
<b>Central 4</b>	15	14	14.5
<b>Central 5</b>	7	16	11.5
<b>Total</b>	64.4	21.4	42.9
<b>Unión y Dignidad 1</b>	34	95	64.5
<b>Unión y Dignidad 2</b>	15	4	9.5
<b>Unión y Dignidad 3</b>	53	7	30



<b>Unión y Dignidad</b> 4	14	64	39
<b>Unión y Dignidad</b> 5	19	29	24
<b>Total</b>	27	39.8	33.4

**Fuente:** elaboración propia.

**ANEXO 5**

**Tabla 12.** Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en pH en muestras de leche cruda de vaca en los Mercados: Central, Bellavista y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.

N° de Muestras Mercados	Repeticiones/ pH		Promedio
	Primera	Segunda	
<b>Bellavista 1</b>	6.55	6.45	6.5
<b>Bellavista 2</b>	6.52	6.47	6.495
<b>Bellavista 3</b>	6.68	6.38	6.53
<b>Bellavista 4</b>	6.72	6.37	6.545
<b>Bellavista 5</b>	6.52	6.72	6.62
<b>Total</b>	6.598	6.478	6.538
<b>Central 1</b>	6.75	6.66	6.705
<b>Central 2</b>	6.78	6.71	6.745
<b>Central 3</b>	6.75	6.79	6.77
<b>Central 4</b>	6.62	6.79	6.705
<b>Central 5</b>	6.68	6.56	6.62
<b>Total</b>	6.716	6.702	6.709
<b>Unión y Dignidad 1</b>	6.55	6.65	6.6
<b>Unión y Dignidad 2</b>	6.74	6.43	6.585
<b>Unión y Dignidad 3</b>	6.78	6.45	6.615



<b>Unión y Dignidad</b> <b>4</b>	6.54	6.76	6.65
<b>Unión y Dignidad</b> <b>5</b>	6.62	6.78	6.7
<b>Total</b>	6.646	6.614	6.63

**Fuente:** elaboración propia.



## ANEXO 6

**Tabla 13.** Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en Acidez en muestras de leche cruda de vaca en los Mercados: Central, Bellavista y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.

N° de Muestras Mercados	Repeticiones/ Acidez		Promedio
	Primera	Segunda	
<b>Bellavista 1</b>	0.16	0.17	0.165
<b>Bellavista 2</b>	0.14	0.18	0.16
<b>Bellavista 3</b>	0.16	0.19	0.175
<b>Bellavista 4</b>	0.13	0.14	0.135
<b>Bellavista 5</b>	0.15	0.15	0.15
<b>Total</b>	0.148	0.166	0.157
<b>Central 1</b>	0.18	0.17	0.175
<b>Central 2</b>	0.19	0.15	0.17
<b>Central 3</b>	0.16	0.17	0.165
<b>Central 4</b>	0.13	0.16	0.145
<b>Central 5</b>	0.14	0.16	0.15
<b>Total</b>	0.16	0.162	0.161
<b>Unión y Dignidad 1</b>	0.19	0.14	0.165
<b>Unión y Dignidad 2</b>	0.14	0.13	0.135
<b>Unión y Dignidad 3</b>	0.16	0.13	0.145



<b>Unión y Dignidad</b> <b>4</b>	0.18	0.19	0.185
<b>Unión y Dignidad</b> <b>5</b>	0.15	0.14	0.145
<b>Total</b>	0.164	0.146	0.155

**Fuente:** elaboración propia.



## ANEXO 7

**Tabla 14.** Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en Densidad en muestras de leche cruda de vaca en los Mercados: Central, Bellavista y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.

N° de Muestras Mercados	Repeticiones/ Densidad		Promedio
	Primera	segunda	
<b>Bellavista 1</b>	1.0268	1.0302	1.0285
<b>Bellavista 2</b>	1.0272	1.0296	1.0284
<b>Bellavista 3</b>	1.0289	1.0278	1.02835
<b>Bellavista 4</b>	1.0283	1.0282	1.02825
<b>Bellavista 5</b>	1.0298	1.0293	1.02955
<b>Total</b>	1.0282	1.02902	1.02861
<b>Central 1</b>	1.0302	1.0306	1.0304
<b>Central 2</b>	1.0298	1.0303	1.03005
<b>Central 3</b>	1.0301	1.0282	1.02915
<b>Central 4</b>	1.0311	1.0286	1.02985
<b>Central 5</b>	1.0309	1.0263	1.0286
<b>Total</b>	1.03042	1.0288	1.02961
<b>Unión y Dignidad 1</b>	1.0282	1.0312	1.0297
<b>Unión y Dignidad 2</b>	1.0294	1.0301	1.02975
<b>Unión y Dignidad 3</b>	1.0296	1.0272	1.0284



<b>Unión y Dignidad</b> <b>4</b>	1.0289	1.0281	1.0285
<b>Unión y Dignidad</b> <b>5</b>	1.0289	1.0293	1.0291
<b>Total</b>	1.029	1.02918	1.02909

**Fuente: elaboración propia**

**ANEXO 8**

**Tabla 15.** Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en Sólidos grasos en muestras de leche cruda de vaca en los Mercados: Central, Bellavista y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.

N° de Muestras Mercados	Repeticiones		Promedio
	Primera	segunda	
<b>Bellavista 1</b>	3.24	3.12	3.18
<b>Bellavista 2</b>	3.21	3.14	3.175
<b>Bellavista 3</b>	3.1	3.34	3.22
<b>Bellavista 4</b>	2.86	3.25	3.055
<b>Bellavista 5</b>	3.36	3.26	3.31
<b>Total</b>	3.154	3.222	3.188
<b>Central 1</b>	3.18	3.14	3.16
<b>Central 2</b>	3.12	3.22	3.17
<b>Central 3</b>	3.14	3.26	3.2
<b>Central 4</b>	3.12	3.24	3.18
<b>Central 5</b>	3.18	3.24	3.21
<b>Total</b>	3.148	3.22	3.184
<b>Unión y Dignidad 1</b>	3.18	3.08	3.13
<b>Unión y Dignidad 2</b>	3.24	3.22	3.23
<b>Unión y Dignidad 3</b>	3.22	3.26	3.24



<b>Unión y Dignidad</b> <b>4</b>	2.96	3.32	3.14
<b>Unión y Dignidad</b> <b>5</b>	3.18	3.31	3.245
<b>Total</b>	3.156	3.238	3.197

**Fuente:** elaboración propia.



## ANEXO 9

**Tabla 16.** Datos obtenidos del análisis fisicoquímico en sólidos totales en muestras de leche cruda de vaca en los Mercados: Central, Bellavista y Unión y Dignidad de la ciudad de Puno.

N° de Muestras Mercados	Repeticiones/ sólidos totales		Promedio
	Primera	Segunda	
<b>Bellavista 1</b>	11.5	10.9	11.2
<b>Bellavista 2</b>	11.4	10.8	11.1
<b>Bellavista 3</b>	11.6	11.4	11.5
<b>Bellavista 4</b>	11.3	11.2	11.25
<b>Bellavista 5</b>	11.2	11.3	11.25
<b>Total</b>	11.4	11.12	11.26
<b>Central 1</b>	10.5	11.5	11
<b>Central 2</b>	10.6	11.6	11.1
<b>Central 3</b>	11.9	11.4	11.65
<b>Central 4</b>	11.8	11.5	11.65
<b>Central 5</b>	11.6	11.1	11.35
<b>Total</b>	11.28	11.42	11.35
<b>Unión y Dignidad 1</b>	11.4	10.8	11.1
<b>Unión y Dignidad 2</b>	11.3	10.9	11.1
<b>Unión y Dignidad 3</b>	11.3	11.4	11.35



<b>Unión y Dignidad</b> 4	11.2	11.5	11.35
<b>Unión y Dignidad</b> 5	10.9	11.4	11.15
<b>Total</b>	11.22	11.2	11.21

Fuente: elaboración propia

## ANEXO 10

**Tabla 17.** Numero Mas Probable para coliformes (*Escherichia coli*).

Tubos positivos			NMP	Tubos positivos			NMP
10 ml	1.0 ml	0.1 ml		10 ml	1.0 ml	0.1 ml	
0	0	1	3	2	0	1	14
0	0	2	6	2	0	2	20
0	0	3	9	2	0	3	26
0	1	0	3	2	1	0	15
0	1	1	6	2	1	1	20
0	1	2	9	2	1	2	27
0	1	3	12	2	1	3	34
0	2	0	6	2	2	0	21
0	2	1	9	2	2	1	28
0	2	2	12	2	2	2	35
0	2	3	16	2	2	3	42
0	3	0	9	2	3	0	29
0	3	1	13	2	3	1	36
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53
1	0	0	4	3	0	0	23
1	0	1	7	3	0	1	29
1	0	2	11	3	0	2	64
1	0	3	15	3	0	3	95
1	1	0	7	3	1	0	43
1	1	1	11	3	1	1	75
1	1	2	15	3	1	2	120
1	1	3	19	3	1	3	160
1	2	0	11	3	2	0	93
1	2	1	15	3	2	1	150
1	2	2	20	3	2	2	210
1	2	3	24	3	2	3	290
1	3	0	16	3	3	0	240
1	3	1	20	3	3	1	460
1	3	2	24	3	3	2	1100
1	3	3	29	3	3	3	1100 +
2	0	0	9				

## ANEXO 11



**Figura 8.** Muestra de la leche cruda de vaca y los vendedores de la ciudad de Puno.

**Fuente:** elaboración propia



**Figura 9.** Transporte y muestras de la leche cruda colectado de los tres mercados de la ciudad de Puno en contenedor gel pack.

**Fuente:** elaboración propia



**Figura 10.** Preparación de medios de cultivo.

**Fuente:** elaboración propia.



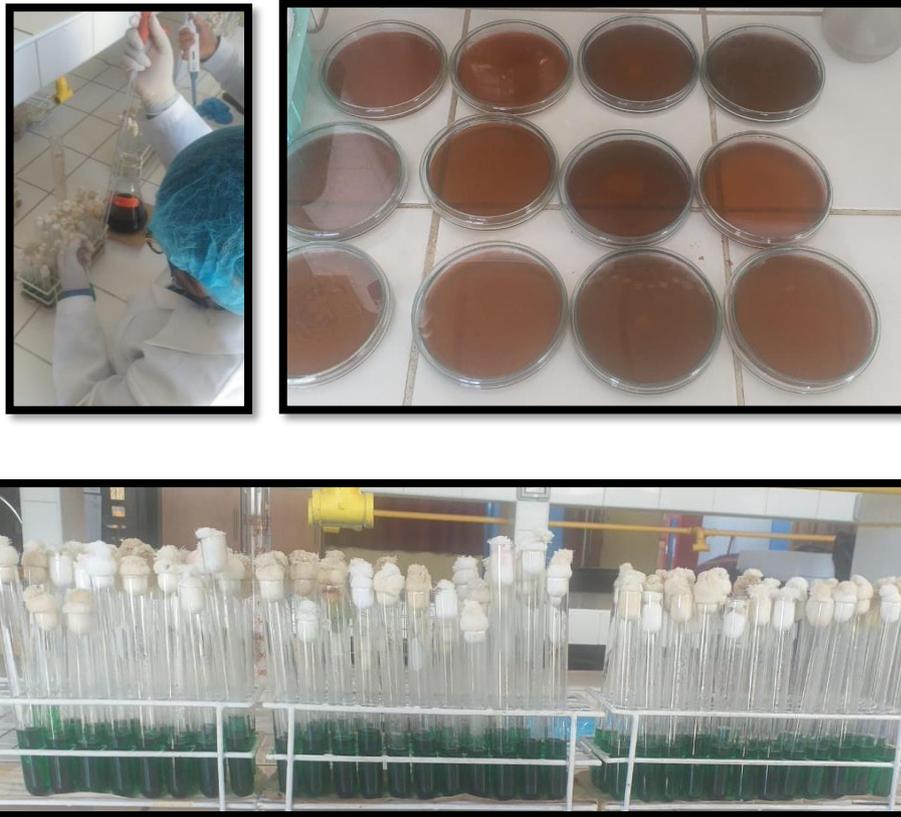
**Figura 11.** Procedimiento de plaqueo y lectura de recuento mesófilos viables en placa.

**Fuente:** elaboración propia.



**Figura 12.** Preparación de ensayo de presunción para *Escherichia coli* en caldo Lactosado.

**Fuente:** elaboración propia.



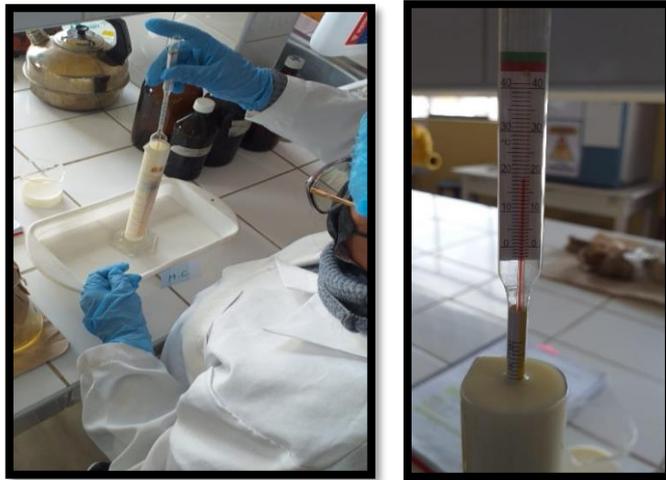
**Figura 13.** Preparación y Ensayo de confirmación de *Escherichia coli* en caldo verde brillante bilis.

**Fuente:** elaboracion propia.



**Figura 14.** *Escherichia coli* en agar selectivo Eosina Azul de Metileno (EMB).

**Fuente:** Elaboración propia.



**Figura 15.** Determinación de la densidad.

**Fuente:** Elaboración propia.



**Figura 16.** Determinación de la acidez titulable.

**Fuente:** Elaboración propia.



**Figura 17.** Determinación de la grasa.

**Fuente:** Elaboración propia.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS



CONSTANCIA

LA JEFE DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL  
DEL ALTIPLANO (UNA) PUNO

HACE CONSTAR:

Que la Srta. Bachiller **KATIA JUANA LARICO MAMANI**, egresada de la facultad de Ciencias Biológicas, Especialidad Microbiología y Laboratorio Clínico ha realizado su trabajo de investigación motivo de tesis, **título CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FISICOQUÍMICA DE LA LECHE CRUDA DE VACA EXPENDIDOS EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO**, en el laboratorio de Microbiología de los Alimentos y Control de Calidad de la Facultad de Ciencias Biológicas, durante el tiempo; Enero a Marzo del año 2023 ejecutó su trabajo con responsabilidad, dedicación y puntualidad.

Se expide el presente para los fines convenientes.

Puno, 28 de Diciembre de 2023.

  
  
Dpto. M.Sc. Zaira Lorena Chacua  
DOCENTE ASISTENTE DEL FOCAB - UNA  
COLABOR N° 00



### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo KATIA JUANA LARICO MAMANI  
identificado con DNI 71372358 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

BIOLOGÍA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FÍSICOQUÍMICA DE LA  
LECHE CRUDA DE VACA EXPENDIDOS EN LOS  
MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO ”

para la obtención de  Grado,  Título Profesional o  Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 12 de Enero del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo KATIA JUANA LARICO MAMANI,  
identificado con DNI 71372358 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional,  Programa de Segunda Especialidad,  Programa de Maestría o Doctorado

BIOLOGÍA

informo que he elaborado el/la  Tesis o  Trabajo de Investigación denominada:

“ CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y FÍSICOQUÍMICA DE LA  
LECHE CRUDA DE VACA EXPENDIDOS EN LOS  
MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO ”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 12 de ENERO del 20 24

FIRMA (obligatoria)



Huella