



**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE
TUXTLA GUTIERREZ**

REPORTE DE RESIDENCIA PROFESIONAL

INGENIERIA BIOQUIMICA

**“ESTUDIO DEL CONTENIDO DE ANTIBIÓTICOS EN LECHE DE LAS
PRINCIPALES ZONAS PRODUCTORAS DE CHIAPAS, MEXICO”**

**PRESENTA:
PÉREZ AGUILAR CARLOS MARIO**

**N° de control
08270026**

**ASESOR
DRA. PATRICIA GUADALUPE SÁNCHEZ ITURBE**

**REVISORES
IBQ. MARGARITA MARCELI MADRIGAL**

DRA. SANDY LUZ OVANDO CHACÓN

TUXTLA GUTIERREZ, CHIAPAS A 14 DE ENERO DEL 2014

ÍNDICE

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 2 JUSTIFICACIÓN.....	3
CAPÍTULO 3 OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS.....	4
CAPITULO 4 CARACTERIZACIÓN DEL AREA DE TRBAJO.....	5
4.1 Políticas y normas de la institución.....	5
4.2 Objetivos de la institución.....	5
4.3 Servicios que presta la institución.....	5
4.4 Descripción del departamento de ingeniería química y bioquímica.....	6
4.5 Funciones del departamento.....	6
CAPÍTULO 5 PROBLEMAS A RESOLVER.....	8
CAPÍTULO 6 ALCANCES Y LIMITACIONES.....	9
CAPÍTULO 7 FUNDAMENTO TEÓRICO.....	10
7.1 Prueba de determinación de antibióticos.....	11
7.1.1 Concepto de residuos de antibióticos en leche	12
7.1.2 Contaminación de la leche por antibióticos.	13
7.1.3 Importancia de residuos de antibióticos en la salud pública.....	14
7.1.4 Importancia de residuos de antibióticos en Salud Animal.....	16
7.1.5 Importancia de residuos de antibióticos en la Industria Láctea.....	17

7.1.6 Termoestabilidad de los antibióticos en leche	
y período de retiro del ordeño.	19
7.1.7 Normativas para los residuos de antibióticos en leche.	20
7.1.8 Período de retiro	21
7.1.9 Manejo y uso racional de antibióticos en ganado lechero.	23
7.1.10 Factores de variación de la presencia	
de residuos de antibiótico en leche.	24
7.1.11 Métodos de detección de residuos de antibióticos en leche.....	25
7.2 Prueba de reductasa.....	26
7.3 Prueba de alcohol.....	27
7.4 Determinación de pH.....	28
7.5 Determinación de acidez.....	29
7.6 Prueba de presencia de peróxido de hidrogeno.....	31
7.7.- Prueba de punto croscópico.....	32
CAPITULO 8 PROCEDIMIENTOS Y DESCRIPCIONES	
DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS.....	33
8.1 prueba de antibióticos.....	34
8.2 prueba de reductasa.....	35
8.3 de alcohol.....	37
8.4 determinación de pH.....	39

8.5 determinación de acidez.....	41
8.6 prueba de presencia de peróxido de hidrogeno.....	43
8.6 prueba de punto croscópico.....	45
CAPÍTULO 9 RESULTADOS.....	47
9.1 Resultados zona centro.....	47
9.2 resultados zona costa	49
9.3 zona frailesca.....	51
9.4 zona norte.....	53
CAPITULO 10 GRAFICAS.....	55
10.1 zona centro.....	55
10.2 zona costa.....	57
10.3 zona frailesca.....	59
10.4 zona norte.....	61
CAPITULO 11 DISCUSIÓN.....
CAPITULO 12 CONCLUSIÓN.....	63
CAPITULO 13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

INDICE DE IMÁGENES

fig.1 composición de leche de vaca.....	1
Fig. 2 diagrama de flujo del departamento de ingeniería química y bioquímica7.....	2
Fig.3 realización de prueba de antibióticos.....	23
Fig.4 kit de tiras prueba de antibioticos.....	24
Fig.5 incubadora de tiras prueba de antibioticos.....	25
Fig.6 lector de tiras prueba de antibioticos.....	25
Fig.7 prueba de reductasa.....	26
Fig.8 prueba de alcohol.....	28
Fig.9 pH-metro.....	29
Fig. 10 hidroxido de sodio prueba de acidez.....	31
Fig.11 Ácido sulfúrico al 6% prueba presencia de peróxido de hidrogeno.....	32
Fig. 12 prueba de punto croscópico.....	33
Fig.13 Diagrama de flujo determinación de prueba de antibióticos.....	35
Fig.14 diagrama de flujo prueba de reductasa.....	37
Fig. 15 Diagrama de flujo prueba de alcohol.....	39
Fig.16 diagrama de flujo determinación de alcohol.....	40
Fig. 17 diagrama de flujo determinación de acidez.....	42

Fig.18 diagrama de flujo presencia de peróxido de hidrogeno.....44

Fig. 19 diagrama de flujo punto croscópico.....46

1.-INTRODUCCIÓN

La leche es el producto normal de secreción de la glándula mamaria. La leche es un producto nutritivo complejo que posee más de 100 sustancias que se encuentran ya sea en solución, suspensión o emulsión en agua. Por ejemplo:

Caseína la principal proteína de la leche, se encuentra dispersa como un gran número de partículas sólidas tan pequeñas que no sedimentan, y permanecen en suspensión. Estas partículas se llaman micelas y la dispersión de las mismas en la leche se llama suspensión coloidal;

La grasa y las vitaminas solubles en grasa en la leche se encuentran en forma de emulsión; esto es una suspensión de pequeños glóbulos líquidos que no se mezclan con el agua de la leche;

La lactosa (azúcar de la leche), algunas proteínas (proteínas séricas), sales minerales y otras sustancias son solubles; esto significa que se encuentran totalmente disueltas en el agua de la leche.

Composición de la leche de vaca (por cada 100 gramos)

ELEMEMENTO	PORCENTAJE
Agua	88,0g
Energía	61,0kcal
Proteína	3,2g
Grasa	3,4g
Lactosa	4,7g
Minerales	0,72g

fig.1 composición de leche de vaca

Las micelas de caseína y los glóbulos grasos le dan a la leche la mayoría de sus características físicas, además le dan el sabor y olor a los productos lácteos tales como mantequilla, queso, yogurt, etc.

La composición de la leche varía considerablemente con la raza de la vaca, el estado de lactancia, alimento, época del año y muchos otros factores. Aún así, algunas de las relaciones entre los componentes son muy estables y pueden ser utilizados para indicar si ha ocurrido algún adulteración en la composición de la leche. Por ejemplo, la leche con una composición normal posee una gravedad específica que normalmente varía de 1,023 a 1,040 (a 20°C) y un punto de congelamiento que varía de -0,518 a -0,543°C. Cualquier alteración, por agregado de agua por ejemplo, puede ser fácilmente identificada debido a que estas características de la leche no se encontrarán más en el rango normal. La leche es un producto altamente perecedero que debe ser enfriado a 4°C lo más rápidamente posible luego de su colección. Las temperaturas extremas, la acidez (pH) o la contaminación por microorganismos pueden deteriorar su calidad rápidamente.

Cuando se introduce un antibiótico en la ubre, éste se distribuye en el tejido mamario por los conductos galactóforos y es transferido al torrente sanguíneo por un mecanismo fisicoquímico que depende del valor de pKa (valor de disociación) del preparado, valor de pH del plasma sanguíneo, proteína ligada al antibiótico y valor de pH de la leche. Debido a esto, la reabsorción del producto es muy variable de acuerdo al preparado y al animal.

De la dosis administrada a la glándula mamaria, una parte es absorbida pasando al torrente sanguíneo, otra es inactivada por la leche y los productos generados por la infección y el resto, que es la mayor parte, es excretada a la leche durante los ordeños posteriores.

Existe una correlación negativa entre el tiempo de eliminación del antibiótico y el volumen de leche producido por el animal. Los animales de baja producción demoran en excretar el preparado, principalmente por la mala absorción y secreción de los cuartos afectados. El ordeño frecuente aumenta el efecto de dilución y por lo tanto acorta el tiempo de eliminación del antibiótico.

Por otra parte, no sólo la leche de los cuartos tratados es la que se contamina. Se ha podido comprobar, en algunos casos, actividad antibiótica en los cuartos vecinos no tratados, actividad que permanece, por lo general, durante un período de tiempo

igual a la mitad del observado para los tratados. Es posible que esta situación se produzca por difusión pasiva entre la sangre y la leche y también por difusión directa entre los tejidos mamarios.

Debido a que los antibióticos de aplicación intramamaria son de fácil aplicación y generalmente baratos, dado que usualmente no se consulta al médico veterinario para su aplicación, se han hecho muy populares en las explotaciones lecheras y la consecuencia inmediata de esto es su reconocimiento como la principal causa de aparición de residuos de antibióticos en la leche.

2.- JUSTIFICACIÓN

El siguiente proyecto nace debido a la problemática al ingerir leche contaminadas con residuos de antibióticos representan un peligro para la salud, porque éstos son capaces de producir una toxicidad de tipo crónica, causar reacciones alérgicas de distintas magnitudes, efectos carcinogénicos, pueden estimularse bacterias antibiótico resistentes y en consecuencia el desarrollo de microorganismos patógenos, además puede causar la reducción de la síntesis de vitaminas; por otro lado, pueden presentarse irritaciones digestivas, entre otras.

En el caso de ingerir leche con residuos de antibióticos β -lactámicos pueden provocar reacciones adversas como erupciones maculopapulares, urticaria, fiebre, broncoespasmo, vasculitis, dermatitis exfoliativa y anafilaxia en distintos grados, pudiendo causar graves reacciones en personas hipersensibles tan solo con ingerir 40 UI de algún tipo de penicilina. Al consumir leche contaminada con residuos de tetraciclinas pueden provocarse reacciones adversas como dolor epigástrico y abdominal, náuseas, vómitos, diarreas; en personas hipersensibles al antibiótico se puede presentar fotosensibilidad por exposición cutánea al sol, en lactantes prematuros o niños en estado de desarrollo óseo y dentario acelerado, puede causar alteraciones y disminución del crecimiento óseo, por sus propiedades quelantes de calcio y otros cationes, formando compuestos estables que interfieren en la osificación y dentición normal, sin embargo, esta situación no parece ser un fenómeno frecuente y puede ser reversible si la exposición fue durante poco tiempo.

Por lo anterior resulta de gran interés el conocer si existe y con qué frecuencia la presencia de antibióticos en la leche de las principales zonas productoras de Chiapas, análisis que no se realiza rutinariamente en la leche común del estado.

3.- OBJETIVOS.

Objetivo general.

Evaluar la presencia y la concentración de antibióticos y los parámetros de calidad de la leche en el estado de Chiapas.

Objetivos específicos.

- Muestreo general de leche de vaca de las 4 principales zonas productoras del estado de Chiapas (zona centro, zona costa, zona frailesca, zona norte).
- realizar prueba de antibióticos, reductasa, alcohol, pH, acidez, presencia de peróxido de hidrogeno, punto croscópico, de la leche de las 4 zonas productoras del estado de Chiapas.
- En tablas y graficas representar los resultados obtenidos de cada prueba a realizar.

4.- CARACTERIZACION DEL AREA

Este proyecto fue realizado en el laboratorio de alimentos del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez Chiapas, ubicado en la carretera panamericana km 1080.

4.1 Políticas y normas de la institución:

Ser una oferta educativa tecnológica suficiente a nivel superior y postgrado, en las modalidades escolarizadas y abiertas, con perfiles profesionales acorde a los retos de todas las regiones del país.

Compartir con la población en general los beneficios de conocimiento, la cultura científica y tecnológica; en particular, proporcionar servicios directos al público, con finalidad de coadyuvar el modelo de desarrollo que el país reclama, para alcanzar el bienestar social que demandamos los mexicanos.

4.2 Objetivos de la institución:

Promover el desarrollo integral armónico del educando en relación con los demás, consigo mismo y con su entorno, mediante una formación intelectual que lo capacite en el manejo de los métodos y lenguajes sustentados, en los principios de identidad nacional, justicia, democracia, independencia, soberanía y solidaridad; en relación, el deporte y la cultura, que le permite una mente y cuerpo sanos.

4.3 Servicios que presta la institución

- Atender la demanda de educación superior y del posgrado, con la alta calidad a nivel nacional e internacional en las áreas industrial, agropecuaria y de servicio, de todas las regiones del país como forma de auspiciar el desarrollo regional.
- Hacer de cada uno de los institutos tecnológicos un instrumento de desarrollo mediante una estrecha y permanente retroalimentación con la comunidad en especial entre los sectores productivos de bienes y servicios, sociales, públicos y privados.
- Promover y convocar a los sectores productivos y educativos de cada localidad para generar y otorgar apoyos materiales y financiamientos adicionales, requeridos en la operación de planteles.
- Compartir con la localidad la cultura científica, tecnológica y humanista, así como la recreación y el deporte, mediante los diversos foros y medios con lo que cuenta el sistema.

- Ofertar perfiles profesionales que integren las necesidades que integren específicas, regionales, para que el egresado contribuya de manera satisfactoria al desarrollo de cada comunidad, en especial de la planta educativa.
- Actualizar permanentemente al personal docente y administrativo, para favorecer el desarrollo armónico entre toda la comunidad tecnológica.

4.4 Descripción del departamento de ingeniería química y bioquímica

Este departamento se encarga de planear, coordinar, controlar y evaluar las actividades de docencia, investigación y vinculación en las áreas correspondientes a ingeniería química y bioquímica que se imparten en el instituto tecnológico, de conformidad de las normas y lineamiento establecidos por la secretaria de educación pública.

Además de elaborar el programa educativo anual y el anteproyecto de presupuesto del departamento y presentarlo a la subdirección académica para el conducente.

4.5 Funciones del departamento

Las funciones del departamento de investigación son múltiples por lo que tiene que coordinarse con otros departamentos:

1. Coordinar con las divisiones de estudios profesionales y de posgrados e investigación, la aplicación de los programas de estudios y con el departamento de desarrollo académico, los materiales y apoyos didácticos de las asignaturas de las correspondientes áreas de ingeniería química que se imparte en el instituto tecnológico y controlar su desarrollo.
2. Coordinar con las divisiones de estudios profesionales y de posgrado e investigación y con el departamento de desarrollo académico, la formulación y aplicación de técnicas e instrumentos para la elaboración de aprendizajes de las asignaturas correspondientes a las áreas de ingeniería química y bioquímica que se imparten en el instituto tecnológico y controlar su desarrollo.
3. Coordinar los proyectos de investigación educativos, científicos y tecnológicos en las áreas de ingeniería química y bioquímica que se lleven a cabo en el instituto tecnológico con el sector productivo de bienes y servicios de la región y controlar su desarrollo.
4. Proponer la subdirección académica el desarrollo de cursos y eventos que propicien la superación y actualización profesional del personal docente de las áreas de ingeniería química y bioquímica en el instituto tecnológico.
5. Apoyar a la división de estudios profesionales en el proceso de titulación de los alumnos del instituto.

6. Supervisar y evaluar el funcionamiento del departamento y con base a los resultados proponer las medidas que mejoren su operación.
7. Coordinar las actividades del departamento con las demás áreas de la subdirección académica.
8. Presentas reportes periódicos de las actividades desarrolladas a la subdirección académica.

Departamento de ingeniería química y bioquímica



Fig. 2 diagrama de flujo del departamento de ingeniería química y bioquímica

5.- PROBLEMÁTICA A RESOLVER.

No existen datos reportados relacionados con el contenido de antibiótico en la leche en el estado de Chiapas, resulta de importancia conocer su presencia para preparar alternativas para disminuir o erradicar su consumo o utilización.

6.- ALCANCES Y LIMITACIONES

ALCANSES

Se logró realizar la prueba de antibiótico en las muestras de leche de las 4 mayores zonas productoras del estado de Chiapas. Obteniendo muy buenos resultados con base a lo esperado en cada prueba.

LIMITACIONES

Debido al costo de las tiras para realizar la prueba de antibióticos y los tiempos dados para realizar el proyecto no se pudo tener un número mayor de pruebas para que los resultados fueran más precisos.

7.- FUNDAMENTO TEORICO

El uso de antibióticos en las explotaciones ganaderas es una realidad y una necesidad, sin embargo, al aplicar tales fármacos se debe contar con una dosis, vía de administración, período de retiro adecuado y apropiada identificación de vacas en tratamiento para evitar contaminación accidental de la leche procedente de vacas sanas, además se debe identificar el motivo principal para usarlos y tomar las medidas adecuadas para disminuir el uso de éstos.

El uso excesivo e inapropiado de los antibióticos, ha logrado el aumento de microorganismos resistentes, los cuales han adquirido la capacidad para resistir los efectos de determinado fármaco ante el cual eran susceptibles, debido a esto, es importante que se apliquen buenas prácticas agrícolas, veterinarias, de alimentación animal, así como de higiene en las explotaciones lecheras, para evitar la presencia de residuos de fármacos en la leche. (Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994)

Toma de muestra de la leche

Es de suma importancia que la muestra de la leche destinada a las determinaciones analíticas sea homogénea para que sea representativa del total de la partida.

La distinta densidad de los componentes de la leche, dejada en reposo por algún tiempo provoca diferente grado de composición a distintas alturas del recipiente como ocurre con la separación de la crema (materia, grasa y proteínas) que se encuentra normalmente en mayor porcentaje en la parte superior. (sagarpa 2010)

Forma correcta para la toma de muestra de leche líquida.

En los casos en los que se trate en grandes volúmenes de leche (tanques, vagones, camiones, tanques, transporte por tuberías, etc.) se deberá traer las muestras homogenizando previamente su contenido por agitación mecánica moderada, también puede hacerse por aire comprimido. Para recoger la muestra puede usarse un recipiente que permita obtener la muestra captándola directamente por vaciado o puede emplearse un tubo metálico con una válvula en su extremo interior, de manera que al bajar el tubo este sea llenado progresivamente y al subirlo, la válvula obture la salida.

Una vez obtenida la muestra, esta deberá mantenerse en 2-4°C para que no fermente, antes de comenzar el análisis, esta debe ser nuevamente homogenizada, para ello el recipiente con leche debe agitarse suavemente por espacio de 1 o 2 minutos y en general repetir esta operación cada media hora mientras dure la extracción de las porciones necesarias para cada determinación.

7.1 Prueba de determinación de antibióticos

7.1.1 Concepto de residuos de antibióticos en leche

Cuando existe presencia de concentraciones de antibióticos en leche que son superiores a las permitidas por normas sanitarias establecidas, son denominados como residuos, concentraciones residuales o inhibidores y estos pueden ser detectadas por métodos químicos, químico-físicos o microbiológicos, realizadas con el fin de proteger la salud o de evitar problemas en los procesos de industrialización láctea. La leche que contienen concentraciones residuales de algún antibiótico, corresponden a vacas que han recibido tratamiento por distintas vías, tanto a nivel sistémico como local.

7.1.2 Contaminación de la leche por antibióticos.

Los residuos más comunes y conocidos en productos de origen animal son los procedentes de medicamentos antibióticos que se emplean con fines profilácticos y terapéuticos, los cuales se han ido estudiado con mayor interés, puesto que ha sido necesario establecer un criterio muy estricto en cuanto al límite máximo de residuos, resultante de la utilización de un principio activo utilizado en un medicamento veterinario independientemente de los excipientes que lo acompañe, considerando la posible ingesta a través de alimentos contaminados y por tratamientos específicos para la erradicación de enfermedades en los humanos.

Una de las razones más comunes de administrar antibióticos en una explotación lechera es la ocurrencia de casos de mastitis, la cual generalmente es tratada de forma fácil, rápida y barata con la aplicación intramamaria de antibióticos β -lactámicos. Sin embargo, de la dosis administrada, una parte es absorbida por el cuerpo y pasa al torrente sanguíneo, otra parte es inactivada por la leche y los productos generados por la infección y el resto, que es la mayor parte, es excretada en la leche durante los ordeños siguientes, siendo los animales de baja producción los que se tardan más en eliminar el fármaco; por tanto, el ordeño frecuente ayuda a diluir el antibiótico y acorta el tiempo de eliminación del mismo, además debe tenerse en cuenta que no sólo se contamina la leche de los cuartos tratados sino también la leche producida por los cuartos vecinos, posiblemente por difusión pasiva entre la sangre y la leche y también entre el tejido mamario. En el caso de las enfermedades o infecciones sistémicas, como las respiratorias, entéricas, casos de metritis o presencia de anaplasmosis, entre otras, se usa como antibiótico de elección algún derivado de la tetraciclina, por ser fácil de conseguir, aplicar y de precio accesible, siendo el mayor problema el uso de dosis inadecuadas, deficiente período de retiro y la falta de consulta con el médico veterinario, las tetraciclinas por ser generalmente aplicados de forma sistémica, son distribuidos a todo el cuerpo y por tanto excretados de distintas maneras,

siendo la leche una de éstas, en la cual se puede encontrar aproximadamente la mitad de la concentración respecto a la cifra plasmática debido a que la existencia de límites máximos permitidos de residuos de antibióticos en la leche no proporciona una solución al problema, se debe hacer uso racional de los mismos, tanto en dosis como en vías de administración, además de un adecuado manejo, seleccionar ganado con buena genética y sobre todo utilizar medidas que disminuyan la incidencia de mastitis.

7.1.3 Importancia de residuos de antibióticos en la Salud Pública

Los residuos de antibióticos en leche son perjudiciales tanto para la salud pública como para algunos procesos de la industria láctica. Al ingerir alimentos contaminados con residuos de antibióticos representan un peligro para la salud, porque éstos son capaces de producir una toxicidad de tipo crónica, causar reacciones alérgicas de distintas magnitudes, efectos carcinogénicos, pueden estimularse bacterias antibiótico resistentes y en consecuencia el desarrollo de microorganismos patógenos, además puede causar la reducción de la síntesis de vitaminas; por otro lado, pueden presentarse irritaciones digestivas, entre otras.

La resistencia bacteriana podría llegar a considerarse también como un problema ecológico, ya que cepas que son resistentes a algunos antibióticos no afectan solamente a las personas que están siendo tratadas, sino a otros individuos que comparten el ambiente con éstas, además muchas bacterias resistentes pueden pasar de animales a humanos y viceversa, lo cual hace difícil el tratamiento de infecciones en ambos, tomando en cuenta que todas las bacterias de un organismo son afectadas cuando se implementa un tratamiento a base de antibióticos.

En el caso de ingerir leche con residuos de antibióticos β -lactámicos pueden provocar reacciones adversas como erupciones maculopapulares, urticaria, fiebre,

broncoespasmo, vasculitis, dermatitis exfoliativa y anafilaxia en distintos grados, pudiendo causar graves reacciones en personas hipersensibles tan solo con ingerir 40 UI de algún tipo de penicilina. Al consumir leche contaminada con residuos de tetraciclinas pueden provocarse reacciones adversas como dolor epigástrico y abdominal, náuseas, vómitos, diarreas; en personas hipersensibles al antibiótico se puede presentar fotosensibilidad por exposición cutánea al sol, en lactantes prematuros o niños en estado de desarrollo óseo y dentario acelerado, puede causar alteraciones y disminución del crecimiento óseo, por sus propiedades quelantes de calcio y otros cationes, formando compuestos estables que interfieren en la osificación y dentición normal, sin embargo, esta situación no parece ser un fenómeno frecuente y puede ser reversible si la exposición fue durante poco tiempo.

La resistencia a los antibióticos se manifiesta debido al aumento de casos dichos fármacos eran eficaces para un tratamiento y dejan de responder repentinamente de forma adecuada respecto a experiencias clínicas anteriores, es decir, algunos microorganismos adquieren resistencia múltiple al ser sometidos a bajas concentraciones de antibióticos, la posibilidad de inducir resistencia bacteriana tiene relación con la gran diversidad bacteriana que contacta con numerosos antibióticos y la habilidad de adquirir y transferir esta resistencia.

Por otro lado, la disbacteriosis consiste en eliminar las bacterias benéficas, de presencia deseable en el tubo digestivo, pueden producir dolor y picor en la boca y lengua, además de diarrea entre otros síntomas, además, pueden presentarse sobrecrecimientos, ya que algunos antibióticos son capaces de eliminar algunas bacterias pero hacen crecer otras e incluso otros microorganismos indeseables como los hongos se debe tener en especial consideración a las poblaciones más susceptibles, tales como los infantes, los adultos mayores y mujeres embarazadas, ya que generalmente dichos grupos de personas son grandes consumidores de productos lácteos, por tanto, en caso de ser expuestos continuamente a residuos de antibióticos pueden perder sensibilidad ante éstos.

7.1.4 Importancia de residuos de antibióticos en Salud Animal

Debe tenerse en cuenta que cuando se habla de salud animal no se puede excluir los riesgos que implica que los animales consuman leche con residuos de antibióticos en concentraciones mayores a las permitidas por los organismos regulatorios, ya que si esta leche, se descarta y es suministrada a animales en período de lactancia, existe un riesgo potencial muy alto de inducir resistencia bacteriana a patógenos comunes tanto en humanos como en animales, ya que al estar ingiriendo dosis subterapéuticas de forma prolongada, disminuye la eficacia de los fármacos administrados en dosis terapéuticas al presentarse una necesidad real. Es por ello que no es adecuado nutrir a lactantes, terneros especialmente, con leche de alto contenido antibióticos.

7.1.5 Importancia de residuos de antibióticos en la Industria Láctea

Por otro lado, los problemas relacionados a la industria láctea están directamente relacionados a la pérdida de la calidad de la leche, afectando mayormente a los productos fermentados, fabricación y maduración del queso; los residuos de antibiótico por tanto, provocan demora en la acidificación y coagulación, siendo ésta última deficiente; además hay disminución de la retención de agua, se puede dar el desarrollo de microorganismos indeseables y alteración de las características normales del producto, tales como cuerpo débil, textura blanda, sabor amargo y consistencia arenosa, además, reduce la producción normal de acidez y aroma durante la fabricación de la mantequilla y el yogurt. La inhibición de bacterias que participan en los procesos de obtención de derivados de leche, queso, crema, yogurt y otros, es una consecuencia de la presencia de residuos de antibióticos, produciendo pérdidas para la industria, además la tendencia del uso de

antibióticos de larga acción sin prescripción médica favorece la supervivencia del problema.

Las bacterias utilizadas en procesos de industrialización de la leche, por efecto de los antibióticos, presentan cambios morfológicos y pueden darse casos en que los cultivos iniciadores sean reemplazados por microorganismos indeseables, provocando la inutilización del producto o convirtiéndose en peligroso para consumo humano. Por ejemplo las bacterias utilizadas en la fabricación de yogurt, tales como, *L. bulgaricus* y *Strep. Thermophilus* resultan ser de las más sensibles a los antibióticos.

Además la industria se ve perjudicada en pruebas de control de calidad, como por ejemplo, en la prueba de tiempo de reducción del azul de metileno, aumenta cuando la leche está contaminada con antibióticos, clasificando la leche de forma errónea los estreptococos mesófilos lácticos, son parcialmente inhibidos a concentraciones de 0.1ng/ml y totalmente inhibidos a concentraciones de 0.2 ó 0.3 ng/ml.

Los *Streptococcus thermophilus* y los *Lactobacillus*, son 10 veces más susceptibles a la penicilina, que los *Streptococcus* mesófilos ya que en muchos casos la leche con residuos de antibióticos es mezclada con el resto de la leche libre de los mismos, un ejemplo del grado de afectación que puede representar el tratamiento con penicilina para el procesamiento industrial refiere que un tratamiento vía intramamaria de una vaca con 200 mg de penicilina G es capaz de contaminar la leche de 8.000 vacas.

7.1.6 Termoestabilidad de los antibióticos en leche y período de retiro del ordeño.

En muchas ocasiones la leche producida por vacas tratadas con antibióticos no es eliminada, y se destina a la comercialización en mercados, se mezcla con leche de buena calidad para evitar que los residuos sean detectados o se destina para procesos de industrialización, sin embargo se debe tener en cuenta que los tratamientos térmicos no son capaces de eliminar sustancias inhibidoras como los antibióticos contenidos en la leche y se tiene conocimiento que la pasteurización elimina solamente el 8% de actividad de la penicilina, y no se tienen datos que inactive o elimine sustancias como la tetraciclina, por lo cual, no es una opción someter la leche contaminada a dichos procesos, ya que un litro de leche contaminada con antibióticos es capaz de contaminar otros dos mil litros de leche, aun si son sometidos a procesos de pasteurización. Se ha constatado que el calor o frío que se utilizan en los procesos de industrialización de leche y pasteurización no destruyen totalmente la molécula de antibióticos, la ebullición de la leche destruye 90% de residuos de tetraciclinas, sin embargo, un tratamiento térmico más exigente aplicando 90°C por 30 minutos, puede destruir el 20% de la actividad de la penicilina y la esterilización hasta un 50%. Por lo antes mencionado es importante tener en cuenta el período de retiro de cada producto utilizado, y se debe tener un parámetro de por lo menos 48 a 72 horas de retiro de la ordeña para evitar la contaminación del resto de leche sana.

7.1.7 Normativas para los residuos de antibióticos en leche.

En cuanto a la norma de productos lácteos, leche pasteurizada y ultra pasteurizada con sabor. Especificaciones NSO 67.01.15:08 y la norma de productos lácteos para leche cruda de vaca. Especificaciones NSO 67.01.01:06, establecen que los límites máximos para residuos de plaguicidas, metales pesados y medicamentos veterinarios, las tolerancias admitidas en la leche pasteurizada y ultra pasteurizada y aséptica con sabor son las permitidas por el Codex Alimentarius para productos lácteos y derivados. Para controlar la presencia de residuos de medicamentos en los alimentos, se han establecido los límites máximos de residuos, definiéndose como el contenido máximo de concentración de residuos resultante de la utilización de un medicamento veterinario, expresado en $\mu\text{g}/\text{kg}$ o g/kg sobre la base del peso en fresco, autorizada en la comunidad o reconocida como admisible en un producto alimenticio. (Residuos de sustancias antimicrobianas en la leche. sf). De acuerdo con los lineamientos del Codex Alimentarius, es indispensable que todas las personas que intervienen en la autorización, elaboración, venta y suministro, prescripción y aplicación de antibióticos en el ganado productor de leche actúen dentro del marco legal y responsablemente, a fin de limitar la diseminación de microorganismos resistentes entre los animales y la presencia de residuos de éstos medicamentos en la leche, para proteger la salud pública, y cumplir con la obligación ética y la necesidad económica de conservar la salud de los animales.

Desde el descubrimiento de los antibióticos como principal elemento de lucha antibacteriana, organismos de países de gran desarrollo lechero han dictado

normas que han sido acogidas por otras naciones. Así, en 1962, la FDA, de Estados Unidos dictó normas de control de antimicrobianos y cuenta con una base de datos de los límites residuales en alimentos de origen animal estableciendo sanciones para quienes incumplan estas disposiciones. Por otra parte, en Inglaterra, algún tiempo después, el Milk Marketing Board introduce, con carácter obligatorio, un test de residuos en leche y dicta normas sobre manejo de antibióticos en la vaca lechera.

A fines de la década del 60, la Organización Mundial de la Salud y otros organismos internacionales como la FAO, establecen normas con fines de información y orientación de los países miembros, respecto de las concentraciones de residuos permitidas en leche de antibióticos de uso frecuente en bovinos de leche, listado que ha ido incrementando en número de acuerdo a la incorporación de nuevos agentes antibacterianos. En la actualidad se cuenta con un listado que permite conocer las concentraciones máximas permitidas y su detección por diversos métodos. Los límites máximos de residuos de Bencilpenicilinas en leche de vaca son de 4 $\mu\text{g/L}$, Permitiendo una ingesta diaria de 30 μg de penicilina por persona por día, por lo cual los residuos de dicha sustancia deberían mantenerse por debajo de esta concentración. Por otro lado, los límites máximos de residuos de Clortetraciclina, Oxitetraciclina y Tetraciclina es de 100 $\mu\text{g/L}$, permitiendo una ingesta diaria de 0 – 30 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal, el establecimiento del IDA, de un residuo medicamentoso o químico constituye una guía para conocer la cantidad máxima que puede ingerirse diariamente con el alimento sin riesgo apreciable para el consumidor.

El IDA es la base para obtener el límite máximo de residuo, que son las concentraciones máximas permitidas en una matriz determinada para leche, carne, miel, entre otros, de una sustancia química. El LMR varía de un país o bloque comercial a otro y éstos tienen que ser tenidos en cuenta en el momento de exportar algún producto de origen animal.

La Bencilpenicilina y la Oxitetraciclina se encuentran entre los antimicrobianos cuyos residuos han sido evaluados por la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura y la Organización Mundial de la Salud, a través del Comité 14 Mixto FAO-OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, además, la tetraciclina, es un antibiótico que no ha sido aprobado para utilizarlo en ganado de producción de leche.

7.1.8 Período de retiro

El conocimiento de las concentraciones residuales y farmacocinética de los antibióticos, permiten establecer período de resguardo, también llamado tiempo de supresión o período de suspensión, el cual indica el tiempo en horas o días, entre el final de una terapia sistémica o local y el momento en que las concentraciones de antibióticos en leche se encuentra en niveles de máxima tolerancia de acuerdo a normas dictadas por la organización Mundial de la Salud o el FDA, indicando cuando la leche se encuentra apta para el consumo humano.

El período de retiro es variable debido a diferentes factores como la estructura fisicoquímica del antibiótico, excipientes, condiciones de administración, farmacodinamia y cinética en la vaca lechera, por esto hay que tener en cuenta las distintas presentaciones farmacéuticas, de larga acción, acción rápida o intermedia. Los períodos de retiro varían de acuerdo al país, sin embargo se aceptan los valores establecidos por la OMS.

7.1.9 Manejo y uso racional de antibióticos en ganado lechero.

El uso racional de los antibióticos implica la restricción de los mismos en casos justificados, elegir un fármaco con la duración y dosis adecuadas; además en

muchos casos podría utilizarse algún antibiótico de corto espectro y medicar únicamente a los animales enfermos y no a todo el grupo de animales, así, al hacer uso menos intensivo de antibióticos, favorece a que las cepas susceptibles compitan con las resistentes, asegurando un rápido retorno de la flora normal después del tratamiento.

Debido a que una de las principales causas del uso de tratamientos antibióticos está directamente relacionada con el nivel de mastitis de cada explotación, el establecimiento de un programa de control y prevención ante éste padecimiento es fundamental para minimizar la posibilidad de contaminar el resto de leche con antibióticos, en especial la que se encuentra en los tanques recolectores y está lista para procesos de industrialización, dicho programa debe basarse en puntos importantes como, visita periódica de un Médico veterinario, revisión semestral de las máquinas de ordeño, adecuada higiene del establo, adecuada técnica de ordeño, tratamiento antibiótico en la lactación, manejo del período seco y la eliminación de animales con problemas crónicos.

Además para evitar la presencia de antibióticos en la leche, se debe tener en cuenta la asesoría del Médico veterinario para el uso responsable e indicado de los diferentes tratamientos antibióticos, la utilización de medicamentos registrados, legalizados y perfectamente etiquetados, respetar la especie de destino y las dosis de cada fármaco, teniendo en cuenta los períodos de supresión para no incorporar al tanque la leche de animales tratados tanto en la fase de administración del medicamento como durante el período de supresión, por lo cual no debe utilizarse fármacos que no especifiquen dicho período, también, deben identificarse las vacas tratadas, llevar un registro estricto de los tratamientos, usar una unidad de ordeño exclusiva para animales tratados y dar un correcto manejo a las vacas secas, las cuales al encontrarse en tratamiento antibiótico de secado tienen una permanencia en la ubre de 5 a 7 semanas pudiendo acortarse o alargarse, para lo cual se deberá tener en cuenta los cuidados antes mencionados con respecto a la leche de dichas vacas.

7.1.10 Factores de variación de la presencia de residuos de antibiótico en leche.

La eliminación de los medicamentos de forma activa en el organismo depende de los procesos de biotransformación y excreción, el volumen de distribución y la unión del fármaco a proteínas plasmáticas, debido a esto, las vías de excreción de los medicamentos en orden de importancia son vía renal, biliar, pulmonar, mamaria, salival, secreciones gastrointestinales, cutánea y vía genital. La excreción de los agentes antimicrobianos a través de la leche depende de una serie de factores físico-químicos, como pH, solubilidad del fármaco en lípidos y unión de éste a las proteínas. A su vez, éstos factores pueden verse alterados por la enfermedad y provocar cambios sistémicos o locales en la distribución de dicha sustancia, Sin embargo, existen factores inherentes a la aplicación de fármacos que pueden influir tanto en la cantidad como en la duración de los tiempos de excreción, además de la presencia de sus residuos en la leche, algunos de estos factores son: La naturaleza del antibiótico, porque el carácter ácido o básico del antibiótico puede ser importante para su presencia en la leche, ya que los antibióticos básicos son los menos ionizados al pH de la leche y se difunden mejor que los de tipo ácido. La dosis administrada, ya que un aumento de ésta implica un alargamiento en la duración de la eliminación de los antibióticos inyectados por vía parenteral; en cuanto a los productos intramamarios, el incremento de la dosis también puede aumentar la duración de la eliminación. La influencia del excipiente, los fármacos inyectados por vía parenteral que poseen excipientes oleosos tienen un período de eliminación más largo que el de los excipientes acuosos. La vía de administración, ya que el cambio de la vía de administración puede modificar la concentración del antibiótico en la leche y la duración de su período de eliminación de la dosis; y finalmente el estado sanitario de la ubre, debido a que el tratamiento contra la mastitis modifica el pH y la composición de la leche, de igual forma, los procesos de filtración entre la sangre y la leche se encuentran alterados, por lo cual el paso de antibióticos a la leche puede ser diferente si se comparan animales sanos con enfermos.

7.1.11 Métodos de detección de residuos de antibióticos en leche

Existen diferentes métodos que se emplean para detectar residuos en leche, sin embargo, la implementación de éstos depende del presupuesto con el que cuente ya sea la empresa privada o el estado; el método microbiológico detecta la presencia o ausencia de un determinado fármaco y puede incluso cuantificar la concentración del mismo, debido a esto es usado habitualmente por su costo. Los test rápidos o Snap Test, tales como el BRT, BR-Test, Copan, Delvotest o Eclipse son algunos de los métodos más utilizados hoy en día y todos ellos emplean el *Geobacillus stearothermophilus* var. *calidolactis*, antes denominado *Bacillus stearothermophilus*, como microorganismo de prueba, son utilizados comúnmente para conocer la presencia o ausencia de determinado fármaco y basándose en el cambio de color para compararlo posteriormente con una escala. Por otro lado, entre los métodos de confirmación cualitativos, existen actualmente distintos tipos de métodos enzimáticos, inmunoenzimáticos, de unión a receptores, que permiten detectar de una forma más específica y por lo general más rápida, la presencia de residuos de antibióticos y sulfonamidas en la leche (Residuos de sustancias antimicrobianas en la leche. sf). (Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994)



Fig.3 realización de prueba de antibióticos

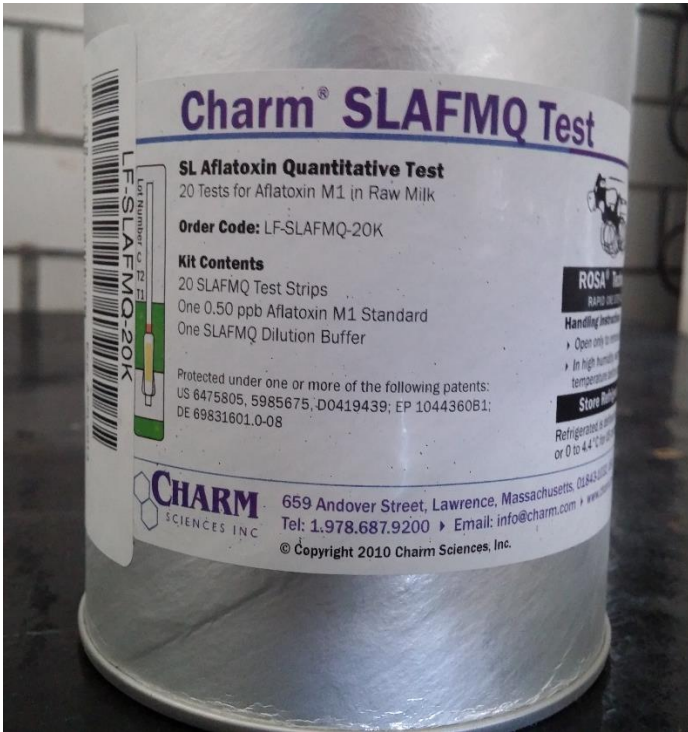


Fig4. kit de tiras prueba de antibioticos

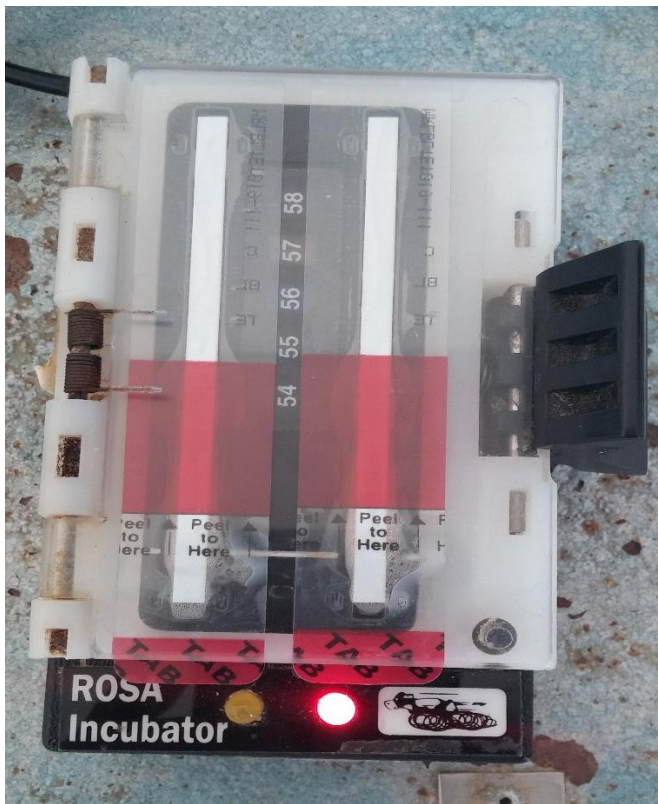


Fig.5 incubadora de tiras prueba de antibioticos



Fig.6 lector de tiras prueba de antibioticos

7.2 Prueba de reductasa

Reductasa.- es una enzima proteica que es producida por bacterias gram negativas.

Esta técnica es la determinación del tiempo necesario para obtener a 37°C la decoloración del azul de metileno añadido a la leche.

Este dato es una medida aproximada de la carga microbiana contenida en la muestra. El azul de metileno es un indicador de óxido-reducción producido por los microorganismos. Algunos microorganismos, utilizando el oxígeno disuelto en la leche, son capaces de reducir el potencial de óxido-reducción; la reducción es catalizada por la enzima reductasa, que es una enzima respiratoria vinculada con la oxidación celular.

(Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994)

Lectura de los resultados

- a. leche de primera calidad

No decolora el azul de metileno en 5 horas y media, lo que corresponde a una leche menor de 500 000 microorganismos/ml.

- b. Leche de calidad mediana

Se mantiene coloreada durante 20min, pero se decolora dentro de 2 horas, lo que corresponde 4 000 000 hasta 20 000 000 de microorganismos/ml.

- c. -leche muy mala

Se decolora en menos de 20min, lo que corresponde a más de 20 000 000 de microorganismos/ml



Fig.7 prueba de reductasa

7.3 Prueba de alcohol

Objetivo

Las leches normales son en general estables al alcohol, por tanto no flocularan, pero las anormales; acidas; acidas, con balance salino incorrecto; con exceso del albumina ya sea por ser ricas en calostro o por mastitis, serán inestables al alcohol y flocularan. En este caso se utiliza por lo general para detectar acidificación como prueba de anden.

Coagulo o grumo: fenómeno que se presenta cuando la leche tiene inestabilidad en la proteína. (Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994)



Fig.8 prueba de alcohol

7.4 Determinación de pH

Esta prueba se realiza con leche bronca, por su composición la leche es un líquido semidenso, que presenta un pH cercano a la neutralidad cuando ha sido correctamente procesada. La determinación del pH permite conocer la composición de un mal procesamiento ya que una excesiva acidez, podría ser detectada por este medio.

Con la ayuda de un potenciómetro, asegurándose de calibrarlo previamente con los estándares adecuados, determine el pH de la leche recién homogenizada a temperatura ambiente, se debe hacer al menos dos comprobaciones de los valores del pH de leches que han sido correctamente conservadas como de leches que han estado a temperatura ambiente por más de 24 horas. (Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994)



Fig.9 pH-metro

7.5 Determinación de acidez

La leche generalmente tiene una acidez de 1.30 a 1.60 g/L expresada en ácido láctico. La acidez normal de la leche se debe principalmente a su contenido de caseína (0.05 – 0.08%) y de fosfatos, así como de dióxido de carbono (0.01%-0.02%) citratos (0.1%) y la albumina (menos de 0.001%)

El ácido láctico se forma durante la acidificación debido principalmente a la acción de los microorganismos sobre la lactosa.

La acidez se mide con base a una titulación alcalimétrica con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1N utilizando fenolftaleína como indicador o, en su caso, utilizando un potenciómetro para detectar el pH de 8.3 que corresponde al fin de la titulación.

La leche de vaca presenta un pH comprendido entre 6.6 y 6.8, siendo la acidez total debida a una suma de tres reacciones fundamentales y una cuarta de carácter eventual. Estas son:

- 1.-Acidez proveniente de la caseína.
- 2.-acidez debida a las sustancias minerales y a la presencia de ácidos orgánicos.
- 3.- reacciones secundarias debidas a los fosfatos presentes en la leche.
- 4.- acidez desarrollada, debida al ácido láctico y a otros lácticos procedentes de la degradación microbiana de la lactosa en las leches, en proceso de alteración. Las tres primeras representan la acidez natural de la leche. La cuarta puede existir debido a condiciones higiénico-sanitarias no adecuadas. En general, la determinación de acidez de la leche es una manera indirecta de su calidad sanitaria.

Acidificación espontánea y coagulación láctica.

La lactosa se transforma en ácido láctico, generalmente se debe a la presencia de streptococcus lactis, que se desarrolla perfectamente a temperatura ambiente, si la acidez alcanza los 35 o 40°D y se somete la leche a ebullición, la caseína flocula, si la acidez es de entre 60 y 70°D el fenómeno se produce a temperatura ambiente, este proceso también puede ser debido a la presencia de gérmenes tales como bacterias coliformes, enterococos, estafilococos, micrococos, etc.

Coagulación con acidez básica

En este caso, la caseína flocula debido a la presencia de gérmenes que producen sustancias similares al cuajo: Micrococcus caseolyticus, micrococcus liquefaciens, bacillus subtilis y proteus vulgari. Estos gérmenes se desarrollan bien a baja temperatura, por lo que pueden coagular la leche refrigerada.

Acidez: es la concentración de iones hidronio (H^+) en un medio.

Titulación: se refiere al proceso en el cual se mide la cantidad de volumen requerido para alcanzar el punto de equivalencia y determinar la concentración de una disolución mediante otra disolución de concentración conocida. (Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994)



Fig. 10 hidroxido de sodio prueba de acidez

7.6 Prueba de presencia de peróxido de hidrogeno

Peróxido de hidrogeno (H_2O_2) o agua oxigenada: es el compuesto químico que se utiliza como conservador que altera la composición de la leche.

Método de pentóxido de vanadio: se basa en la formación de un compuesto color rojo al reaccionar con agua oxigenada que contiene la muestra de pentóxido de vanadio (V_2O_5) en medio ácido. (Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994)



Fig.11 Ácido sulfúrico al 6% prueba de presencia de peróxido de hidrogeno

7.7.- Prueba de punto croscopico

Punto croscopico: la leche tiene un rango de congelación determinado, específico para una zona dada en función de la alimentación, raza, etapa de lactancia del ganado, y época del año. Si se adiciona agua a la leche, el punto de congelación se eleva del valor normal y tiende a 0°C. Esta elevación es lineal con el porcentaje de agua adicionada.

Por medio del punto croscópico, es posible detectar y determinar cuantitativamente la adulteración de la leche con agua. (Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994)



Fig. 12 prueba de punto croscópico

8.- PROCEDIMIENTO

8.1 PROCEDIMIENTO DE PRUEBA DE ANTIBIOTICOS

- 1.- con una pipeta se toman 0.3 micro litros de toma de muestra de leche.
- 2.- se toma una tira para prueba de antibióticos y se le retira el plástico, dejando al descubierto la esponja que absorberá la leche.
- 3.- una vez puesta la leche en la tira se sella la tira

4.- se colocan las tiras en una incubadora a temperatura de 60°C y se deja ahí por 8min.

5.- se retiran las tiras de la incubadora y se llevan al lector de tiras

6.- se mete la tira al lector y este te indica si es negativa o positiva la presencia de antibióticos.

(Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006)

Dagrama de flujo

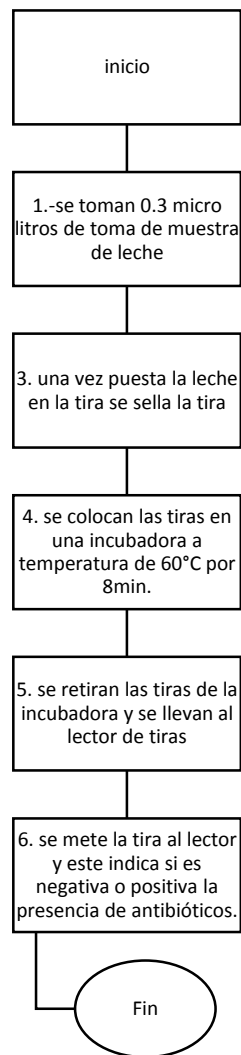


Fig.13 Diagrama de flujo determinación de prueba de antibióticos

8.2 PROCEDIMIENTO DE PRUEBA DE REDUCTASA

Material y equipo.

Tubos de ensayo de 1 x 60 mm esterilizados

Pipetas de 10 mm esterilizadas

Pipetas graduadas de 1ml (0.1 ml por división) esterilizadas.

Procedimiento

1.- añadir 0.25 ml de solución de azul de metileno al 0.85% tener cuidado de que la pipeta no toque la leche y tapar el tubo (la solución de azul de metileno debe de ser de preparación reciente máximo 10 días)

2.- colocar asépticamente 10ml de leche en un tubo de ensaye estéril.

3.- mezclar invirtiendo totalmente el tubo por 2 a 3 veces lentamente hasta que la leche adquiera un tono uniforme.

4.- colocar el tubo a un baño maría a 38°C durante 5 minutos.

5.- colocar el tubo en una incubadora a 37°C hasta decoloración de azul de metileno.

6.- observar regularmente el proceso de decoloración en intervalos de 15,30 y 60 minutos al inicio y se continua cada hora.

7.- se considera decolorada, cuando la leche ha recobrado su color inicial.

8.- si en el momento de la observación la decoloración aún no ha empezado, voltéese suavemente el tubo una vez y póngase de nuevo en la incubadora, evitando que se enfríe.

9.- anotar el resultado el tiempo de incubación necesario para obtener la decoloración.

(Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006)

Diagrama de flujo

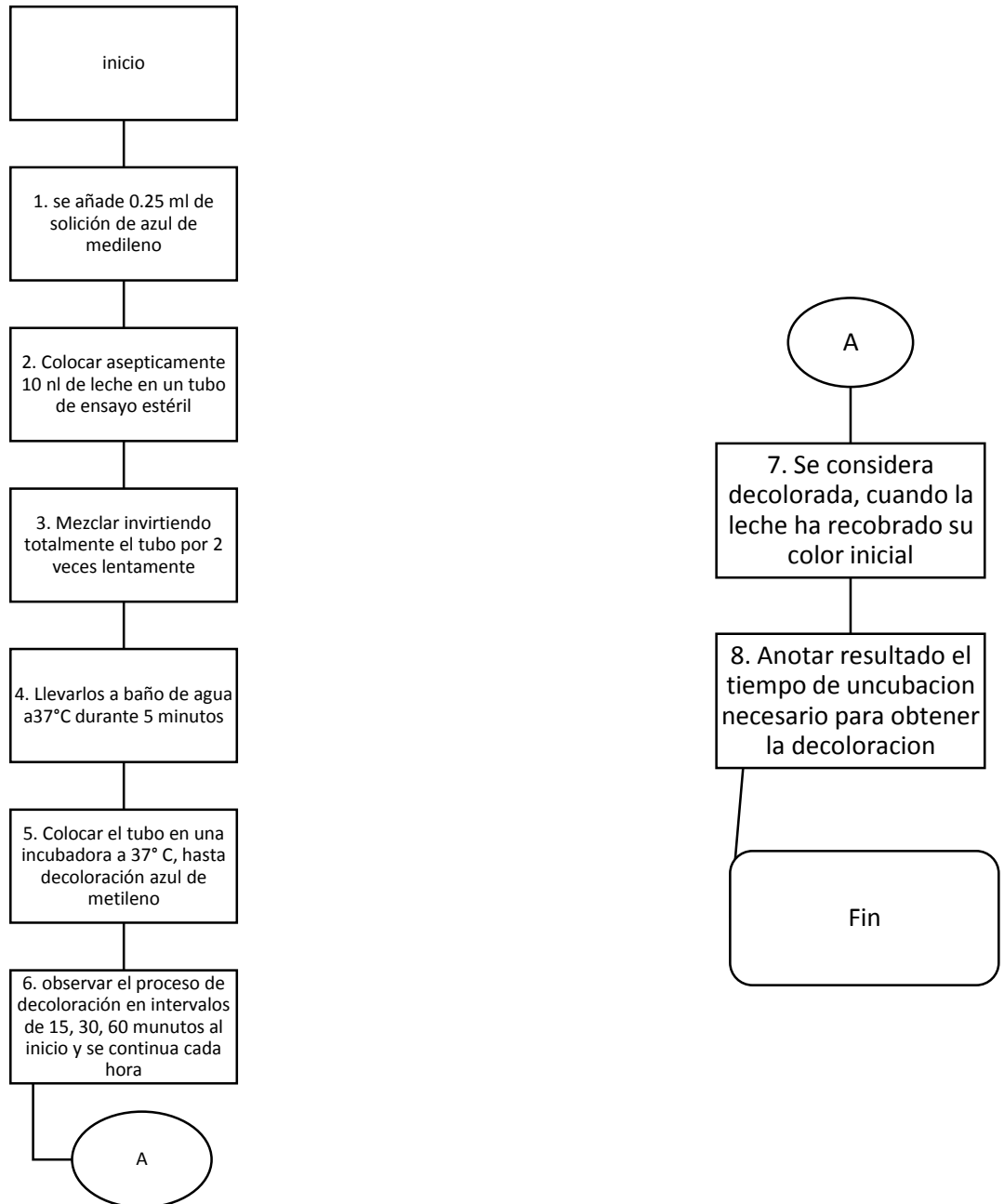


Fig.14 diagrama de flujo prueba de reductasa

8.3 PRUEBA DE ALCOHOL

Material y equipo

Caja Petri

Pipeta graduada de 2ml.

Reactivo

Alcohol etílico al 72% en volumen (v/v) o 65% en peso (w/v), correspondiendo a un peso específico 20/20°C de 0.874

Procedimiento

- 1.- tomar 2 ml de leche fresca con una pipeta graduada de 2ml
- 2.- vaciar en caja Petri y adicionar 2ml de alcohol etílico 75% con otra pipeta graduada de 2ml.
- 3.- se mezcla el contenido por rotación de 2 o 3 veces y se observa si hay formación de coágulos.
- 4.- la prueba es positiva si se observan partículas de grumos. La prueba es negativa cuando no se observan estas partículas.
- 5.- anotar los resultados en el formato correspondiente.

Anexo: si se coloca más de 2ml de leche fresca en la caja Petri, esto se puede solucionar aplicando el mismo volumen de alcohol etílico, que se adicione de más en la mezcla analizada. Por lo tanto estas deben tener el mismo volumen para ser analizadas correctamente.

(Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006)

Diagrama de flujo

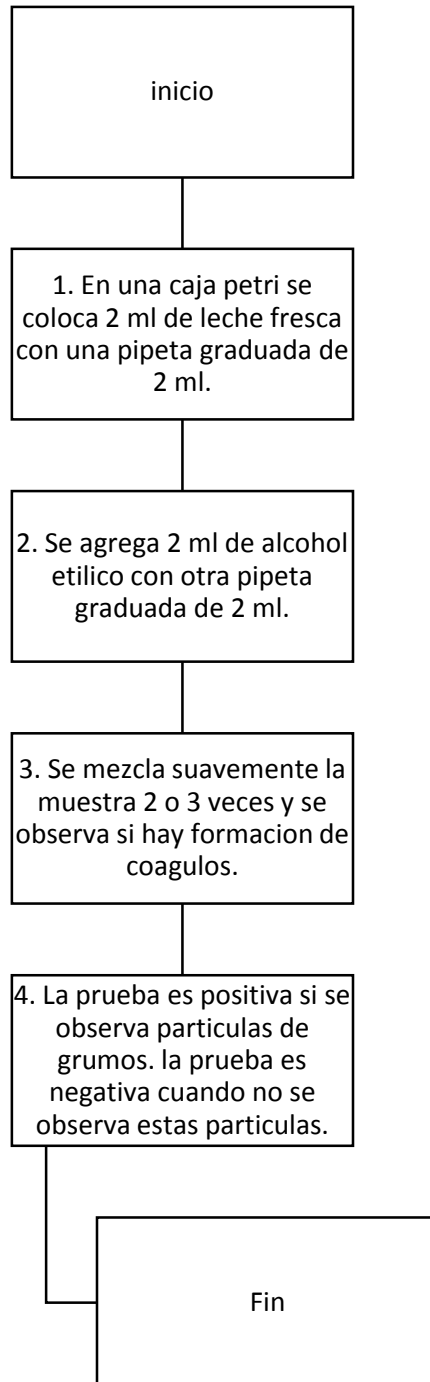


Fig. 15 Diagrama de flujo prueba de alcohol

8.4 DETERMINACION DE PH

Material y equipo

Potenciómetro

Vaso de precipitado de 100ml

Papel secante o gasa

Pizeta

Reactivos

Agua destilada

Soluciones buffer pH 4

Soluciones buffer pH7

Procedimientos

1.- verificar si el potenciómetro se encuentra calibrado. Si no se encuentra calibrado seguir los siguientes pasos:

Colocar por separado 50ml de solución buffer de pH 7 y pH 4 en vasos de precipitado de 100ml, de tal manera que el bulbo del electrodo se sumerja completa y libremente en la solución, evitando que toque las paredes del recipiente. Introducir el electrodo en la solución buffer pH 7, con el control correspondiente, ajustar el agua del galvanómetro o la presentación en la pantalla hasta tener la lectura 7.0. Extraer el electrodo y enjuagar con agua destilada utilizando pizeta. Secar el electrodo con papel absorbente o gasa.

2.- en un vaso de precipitado de 100ml agregar 50 ml de leche a analizar a una temperatura de 20°C

3.- encender el potenciómetro

- 4.- introducir el potenciómetro en el vaso de precipitado a modo de que no toque las paredes de este.
- 5.- agitar suavemente con el potenciómetro sin tocar las paredes, para darle una mayor homogenización a la leche.
- 6.- tomar la lectura de la pantalla del potenciómetro y anotar los resultados en el formato correspondiente. (Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006)

DI AGRAMA DE FLUJO

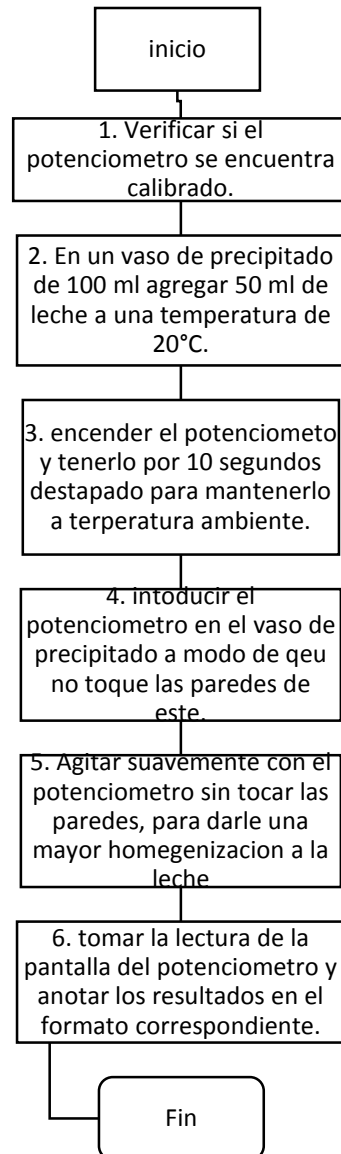


Fig.16 diagrama de flujo determinación de alcohol

8.5 PROCEDIMIENTO DE DETERMINACION DE ACIDEZ

Material y equipo

Vaso de 100ml

Pipeta volumétrica de 10ml.

Bureta de 10ml graduada en 0.05ml.

Reactivos

- 1.-En una muestra de leche fresca extraer un volumen de 9ml con una pipeta graduada y posteriormente agregarlo a un vaso de 100ml.
- 2.- agregar 1ml de solución de fenolftaleína al 1%
- 3.- titular con hidróxido de sodio al 0.1 N hasta la aparición de un color rosa pálido.
- 4.- medir volumen gastado de NaOH en la bureta.

Cálculo y expresión de resultados

La acidez presente en la leche, expresada en g/l de acio láctico, se calcula utilizando la siguiente formula:

$$\text{Acidez (g/L ácido láctico)} = (V \times N \times 90) / M$$

Donde:

V: son los ml de solución de NaOH 0.1N, gastados en la titulación

N: es la normalidad de la solución de NaOH

M: es el volumen de leche en ml.

90: pesos molecular del ácido láctico.

(Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006)

DIAGRAMA DE FLUJO

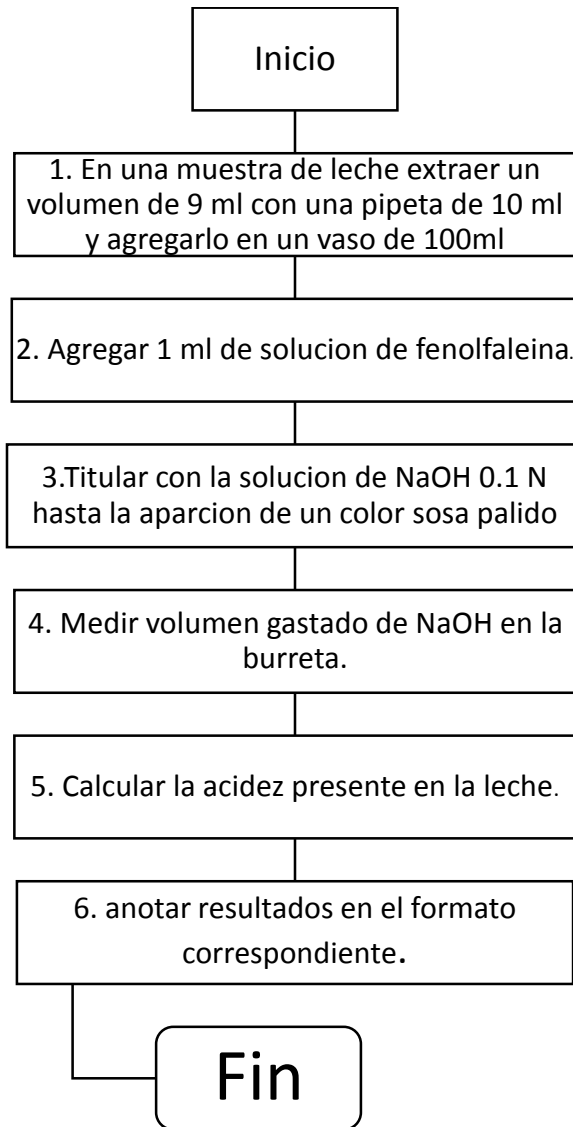


Fig. 17 diagrama de flujo determinación de acidez

8.6 PRESENCIA DE PEROXIDO DE HIDROGENO

Material y equipos

Tubo de ensayo de 16 x 160mm

Vaso de precipitado de 100ml

Pipeta de 10ml

Pipeta de 1ml

Reactivos

Ácido sulfúrico al 6% v/v: medir 94 ml de agua destilada y añadir poco a poco por las paredes 6ml de H₂SO₄ concentrado.

Peróxido de vanadio (V₂O₅): disolver 1gr de pentóxido de vanadio en 100ml de ácido sulfúrico al 6%.

Procedimiento

1.- colocar 10 ml de leche en un tubo de ensayo; adicionar de 0.5 a 1ml del reactivo de pentóxido de vanadio (V₂O₅)

2.- agitar bien la muestra y observar el color desarrollado por 30 seg.

3.- prueba positiva. Cuando se torna un color rosa o rojo esto indica la presencia de peróxido de hidrogeno.

4.- prueba negativa. No se desarrolla el color rosa o roja, se observa el color original de la leche y el reactivo. (Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006) (Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006)

DIAGRAMA DE FLUJO

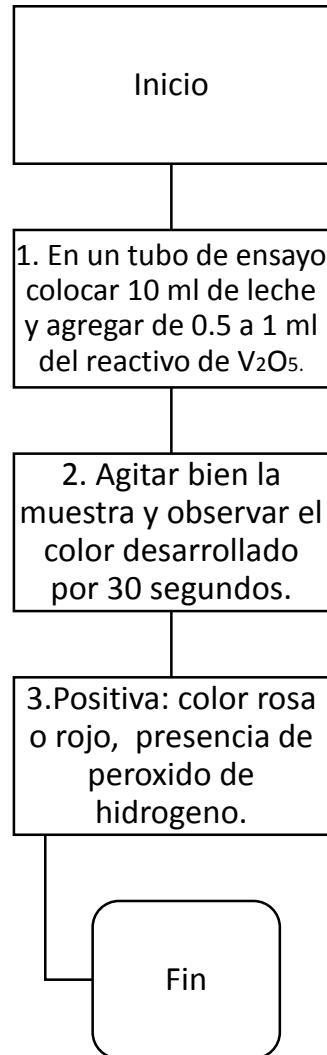


Fig.18 diagrama de flujo presencia de peróxido de hidrogeno

8.7 PRUEBA DE PUNTO CROSCOPICO

Material y equipo

Crióscopico con termisor

Tubos para crióscopo

Pipeta graduada de 2ml.

Reactivo

Agua destilada.

Soluciones estándares para calibración de crióscopo: estándar 621 y 421

Líquido congelante para baño del crióscopo.

Procedimiento

- 1.-obtener una muestra representativa y homogénea de la leche
- 2.-tomar de la muestra representativa 2ml de leche con una pipeta de 2ml y vaciarla al tubo para crioscopio previamente limpio
- 3.-introducir el tubo en la sección correspondiente del crioscopio y presionar el botón start.
- 4.-leer y apuntar la lectura que aparece en la pantalla. Si hay duda en alguna lectura obtenida, repetir la determinación pudiendo haber una variación de 0.002 entre una lectura y otra

5.- retirar el tubo y limpiar perfectamente el sensor, el alambre, el mandril y la parte superior del elevador antes de cada determinación, enjuagando con agua destilada y secando posteriormente.

6.- el resultado obtenido debe cumplir con lo especificado para cada tipo de leche.

Anexo: el punto crioscópico de la leche es de $-0,510^{\circ}\text{C}$ ($-0,530^{\circ}\text{H}$) a $-0,536^{\circ}\text{C}$ ($-0,560^{\circ}\text{H}$) con valor promedio de $-0,526^{\circ}\text{C}$ ($-0,545^{\circ}\text{H}$) valores menores a $-0,510$ ($-0,530^{\circ}\text{H}$) si el valor es superior a $-0,536^{\circ}\text{C}$ ($-0,560^{\circ}\text{H}$) se sospecha la adición de sales. (Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006) (Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006)

Diagrama de flujo

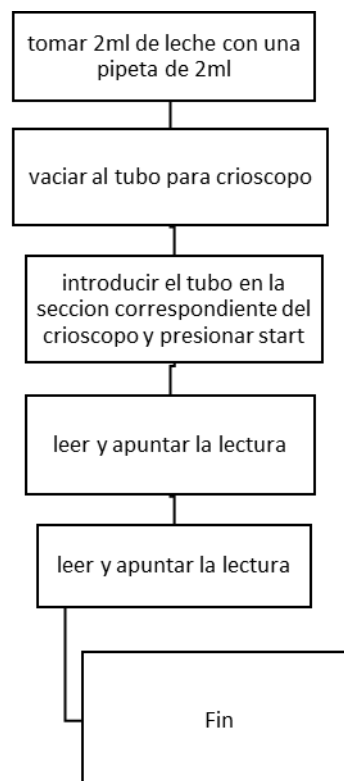


Fig. 19 diagrama de flujo punto crioscópico

9.- RESULTADOS

9.1 Resultados zona centro

ZONA CENTRO

	san Fernando	tecpatan	ocuilapa	Berriozábal	apic-pac	Ocozocoautla	Cintalapa	Ixtapa
PRUEBA DE ANTIBIOTICOS								
	-1780	-1478	748	2015	-2132	-2451	-1746	-2040
	-1750	-1847	738	1929	-1609	-1522	-2036	-1884
	-2050	-1636	959	1796	-2116	-1774	-1710	-2020
promedio	-1860.00	-1653.67	815.00	1913.33	-1952.33	-1915.67	-1830.67	-1981.33
SD	165.23	185.13	124.81	110.34	297.44	480.43	178.73	84.88

PRUEBA DE REDUCTASA

	166	134	154	187	163	181	159	168
	166	134	154	187	163	181	159	168
	166	134	154	187	163	181	159	168
promedio	166	134	154	187	163	181	159	168
SD	0	0	0	0	0	0	0	0

PRUEBA DE ALCOHOL

negativo	negativo	positivo	Negativo	negativo	Negativo	negativo	negativo
negativo	negativo	positivo	Negativo	negativo	Negativo	negativo	negativo
negativo	negativo	positivo	Negativo	negativo	Negativo	negativo	negativo

PRUEBA DE PH

	6.58	6.57	5.7	6.3	6.63	6.43	6.23	6.37
	6.58	6.57	5.71	6.3	6.64	6.43	6.24	6.37
	6.58	6.56	5.7	6.27	6.63	6.43	6.24	6.37
promedio	6.58	6.57	5.70	6.29	6.63	6.43	6.24	6.37
SD	0.00	0.01	0.01	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00

9.2 resultados zona costa

ZONA COSTA

huanacastan Ocotan Vergel agua fría el azteca el naranjo paredón calzada
PRUEBA DE ANTIBIOTICOS

	-1411	-1505	-1656	-2220	-2153	-1579	-1476	569
	-999	-1466	-1754	-1771	-2048	-1709	-1745	548
	-1445	-2215	-1755	-2160	-2237	-1389	-1976	885
promedio	-1285.00	-1728.67	-1721.67	-2050.33	-2146.00	-1559.00	-1732.33	667.33
SD	248.27	421.63	56.87	243.76	94.69	160.93	250.24	188.80

PRUEBA DE REDUCTASA

	188	190	205	180	175	188	170	130
	188	190	205	180	175	188	170	130
	188	190	205	180	175	188	170	130
promedio	188	190	205	180	175	188	170	130
SD	0	0	0	0	0	0	0	0

PRUEBA DE ALCOHOL

	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO

PRUEBA DE Ph

	6.78	6.55	6.7	6.5	6.46	6.46	6.72	5.9
	6.78	6.54	6.68	6.55	6.45	6.48	6.7	5.9
	6.74	6.5	6.66	6.5	6.45	6.46	6.7	5.9
promedio	6.77	6.53	6.68	6.52	6.45	6.47	6.71	5.90
SD	0.02	0.03	0.02	0.03	0.01	0.01	0.01	0.00

PRUEBA DE ACIDEZ °D

	12	14	14	15	18	17	12	26
	11	13	13	15	18	18	12	27
	12	14	13	15	17	18	12	26
promedio	11.67	13.67	13.33	15.00	17.67	17.67	12.00	26.33
SD	0.58	0.58	0.58	0.00	0.58	0.58	0.00	0.58

PRUEBA DE PRESENCIA DE PEROXIDO DE HIDROGENO

NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO

PRUEBA DE PUNTO CRIOSCOPICO °C

-43	-48	-46	-50	-42	-47	-40	-32
-43	-48	-46	-50	-42	-47	-40	-32
-43	-48	-46	-50	-42	-47	-40	-32

promedio	-43	-48	-46	-46	-42	-47	-40	-32
SD	0	0	0	0	0	0	0	0

Frailesca

cardenas Garza villaflores la concordia villacorzo montecristo emiliano zapata rio negro

PRUEBA DE ANTIBIOTICOS

	-1119	-1342	-1148	1831	-1308	-1055	-1685	-1299
	-1870	-1861	-1403	998	-1253	-685	-1298	-1418
	-1045	-2071	-1397	636	-493	-2011	-1398	-947
promedio	-1344.67	-1758.00	-1316.00	1155.00	-1018.00	-1250.33	-1460.33	-1221.33
SD	456.45	375.26	145.52	612.77	455.49	684.24	200.89	244.92

PRUEBA DE REDUCTASA

	187	205	190	145	200	178	180	180
	187	205	190	145	200	178	180	180
	187	205	190	145	200	178	180	180
promedio	187	205	190	145	200	178	180	180
SD	0	0	0	0	0	0	0	0

PRUEBA DE ALCOHOL

NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

PRUEBA DE PH

	6.5	6.78	6.64	5.82	6.5	6.8	6.6	6.4
	6.46	6.78	6.62	5.8	6.51	6.74	6.64	6.38
	6.53	6.76	6.64	5.79	6.51	6.78	6.64	6.38
promedio	6.50	6.77	6.63	5.80	6.51	6.77	6.63	6.39
SD	0.04	0.01	0.01	0.02	0.01	0.03	0.02	0.01

PRUEBA DE ACIDEZ

	15	13	13	29	15	12	13	18
	15	12	12	26	15	13	12	17
	14	11	13	29	15	12	13	17
promedio	14.67	12.00	12.67	28.00	15.00	12.33	12.67	17.33
SD	0.58	1.00	0.58	1.73	0.00	0.58	0.58	0.58

PRUEBA DE PRESENCIA DE PEROXIDO DE HIGROGENO

NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

PRUEBA DE PUNTO CRIOSCOPICO °C

-55	-50	-48	-53	-49	-45	-48	-42
-55	-50	-48	-53	-49	-45	-48	-42
-55	-50	-48	-53	-49	-45	-48	-42

promedio	-55	-50	-48	-53	-49	-45	-48	-42
SD	0	0	0	0	0	0	0	0

zona norte

amatan Pichucalco Rayón reforma simojovel sunuapa tapalapa tapilula

PRUEBA DE ANTIBIOTICOS

	-1934	883	-1762	-1360	-2105	-1770	-1825	-1799
	-1855	652	-1808	-1507	-1447	-1814	-1738	-1290
	-1623	704	-1905	-1496	-1258	-1638	-1657	-1840
promedio	-1804.00	746.33	-1825.00	-1454.33	-1603.33	-1740.67	-1740.00	-1643.00
SD	161.65	121.18	73.00	81.88	444.61	91.59	84.02	306.39

PRUEBA DE REDUCTASA

	190	140	190	175	200	178	187	182
	190	140	190	175	200	178	187	182
	190	140	190	175	200	178	187	182
promedio	190	140	190	175	200	178	187	182
SD	0	0	0	0	0	0	0	0

PRUEBA DE ALCOHOL

NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

PRUEBA DE PH

	6.5	5.8	6.78	6.4	6.45	6.55	6.6	6.44
	6.5	5.76	6.76	6.4	6.44	6.53	6.58	6.4
	6.48	5.77	6.78	6.42	6.44	6.52	6.58	6.43
promedio	6.49	5.78	6.77	6.41	6.44	6.53	6.59	6.42
SD	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02

PRUEBA DE ACIDEZ °D

	15	29	11	18	18	14	13	18
	14	29	11	18	18	14	13	17
	15	28	11	17	18	15	14	18
promedio	14.67	28.67	11.00	17.67	18.00	14.33	13.33	17.67
SD	0.58	0.58	0.00	0.58	0.00	0.58	0.58	0.58

PRUEBA DE PRESENCIA DE HIDROGENO

NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

PRUEBA DE PUNTO CROSCOPICO

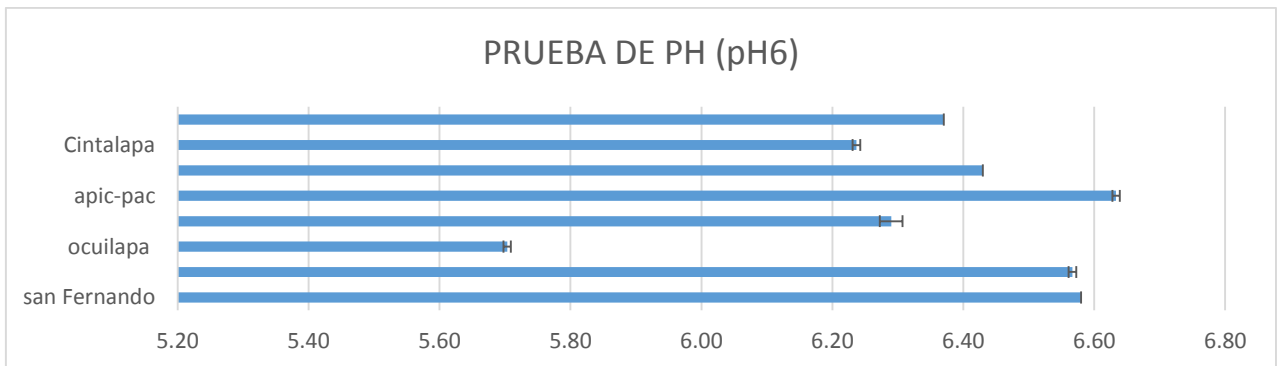
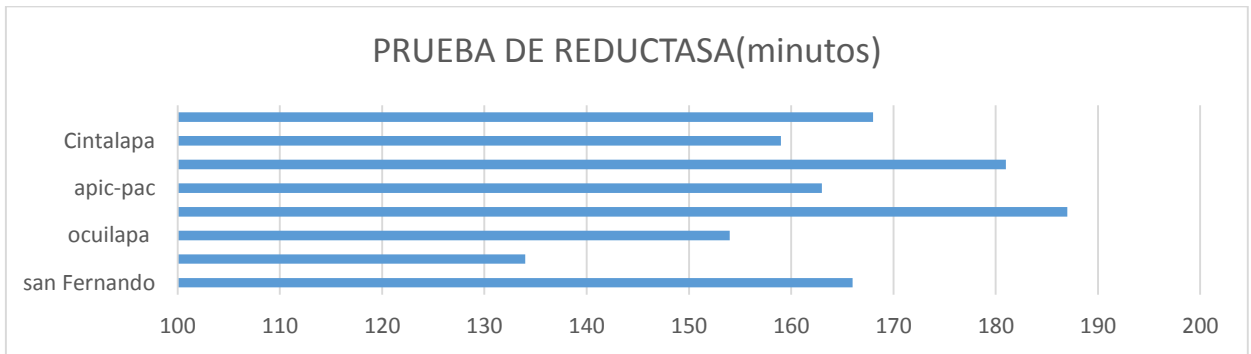
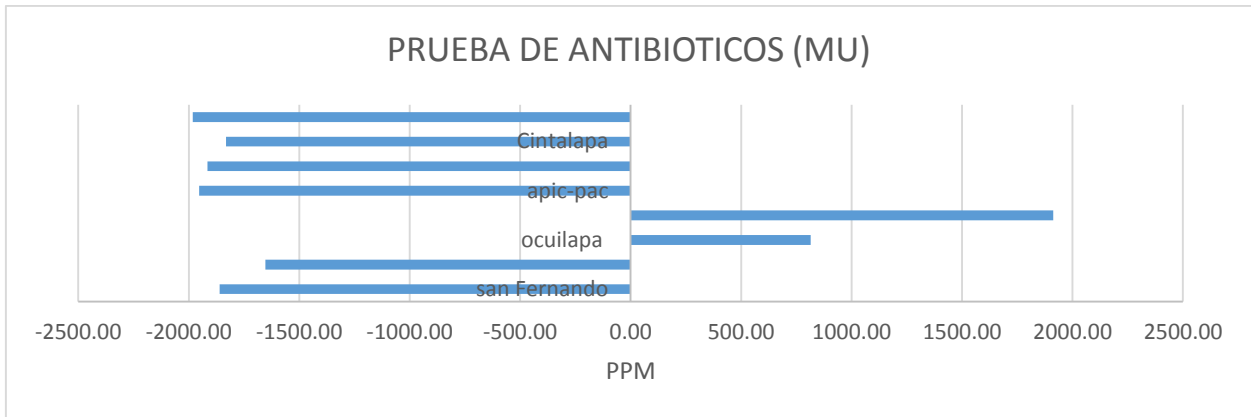
°C

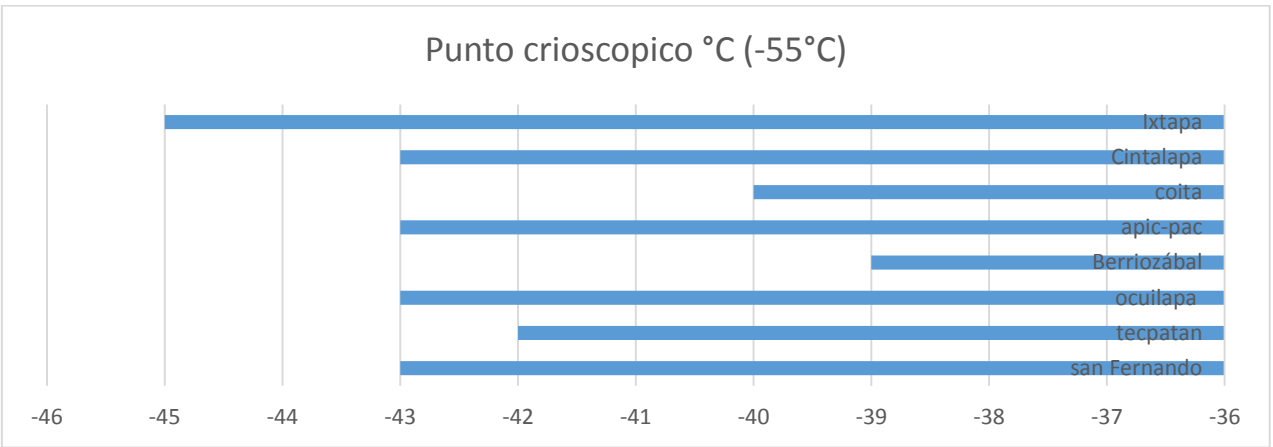
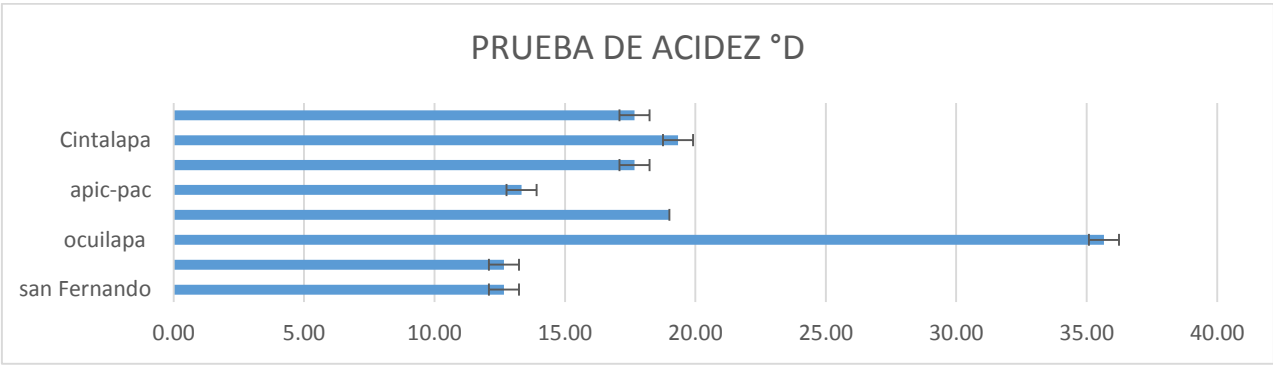
-40	-35	-46	-39	-43	-43	-41	-42
-40	-35	-46	-39	-43	-43	-41	-42
-40	-35	-46	-39	-43	-43	-41	-42

promedio	-40	-35	-46	-39	-43	-43	-42	-42
SD	0	0	0	0	0	0	0	0

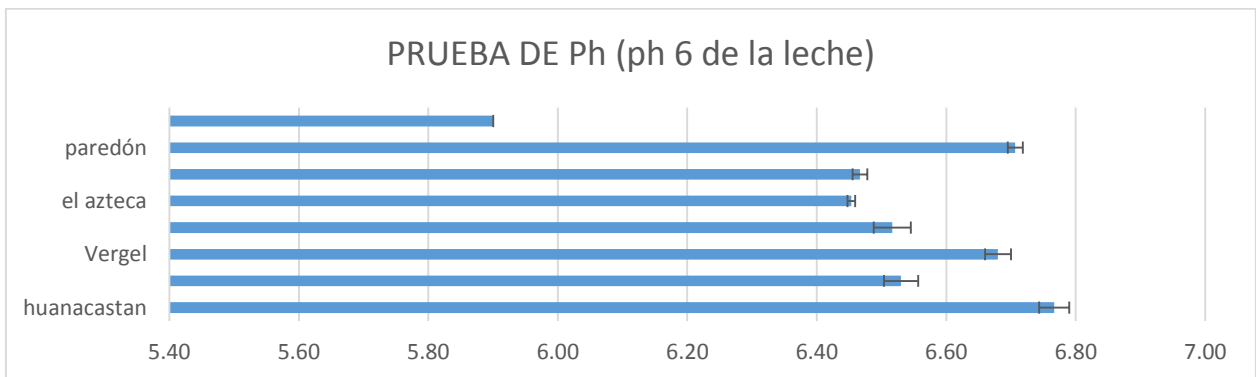
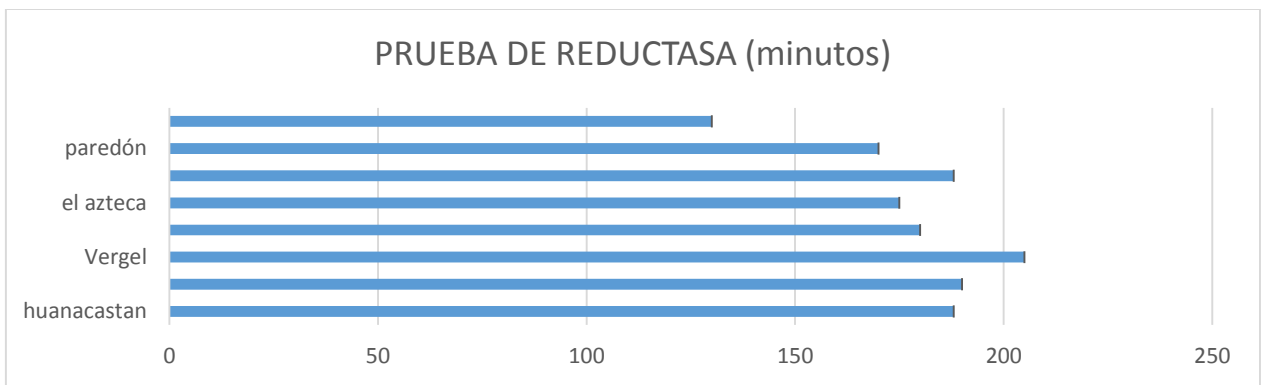
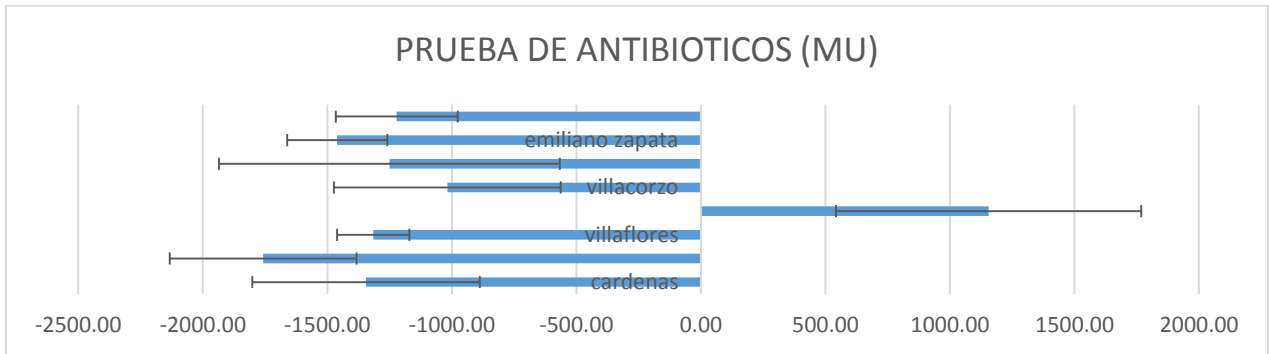
10.- REPRESENTACION GRAFICA

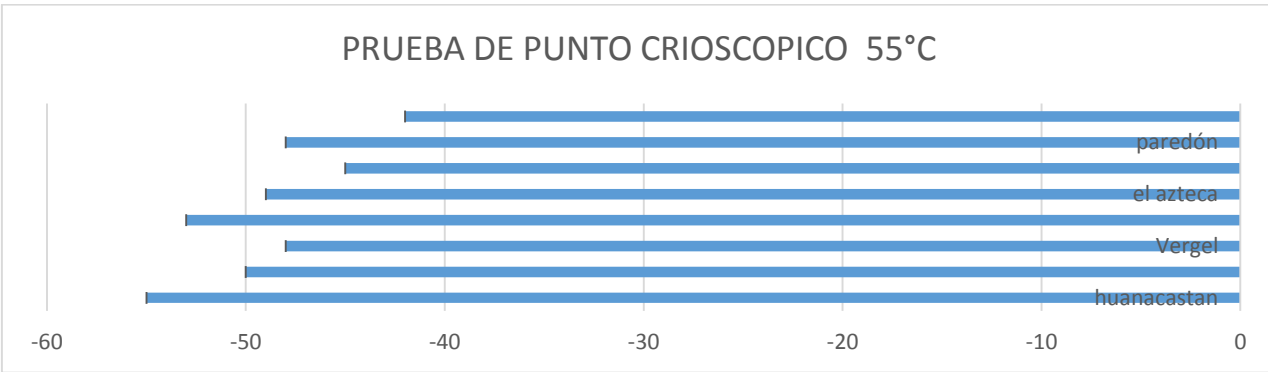
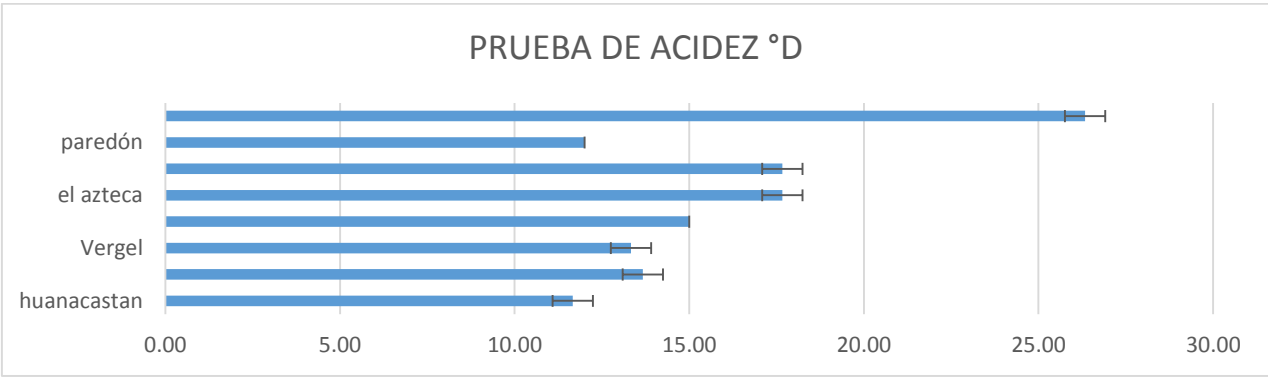
10.1 Zona centro



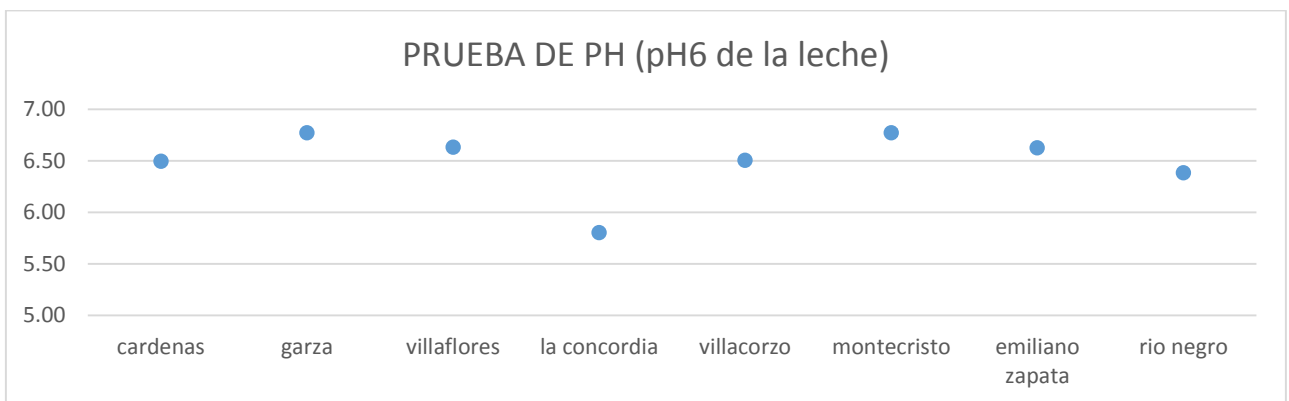
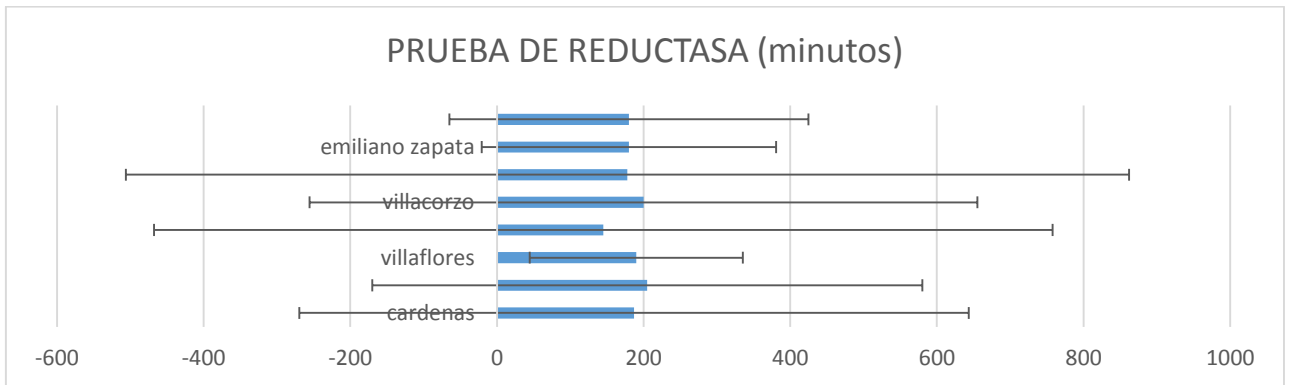
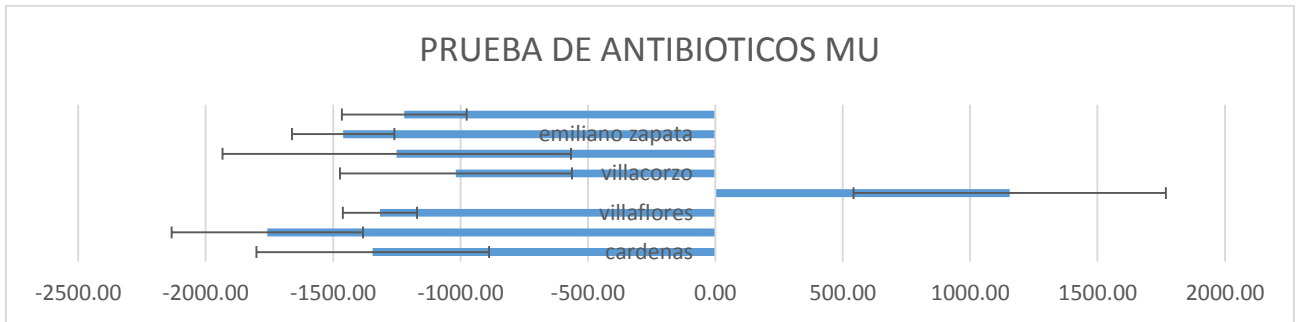


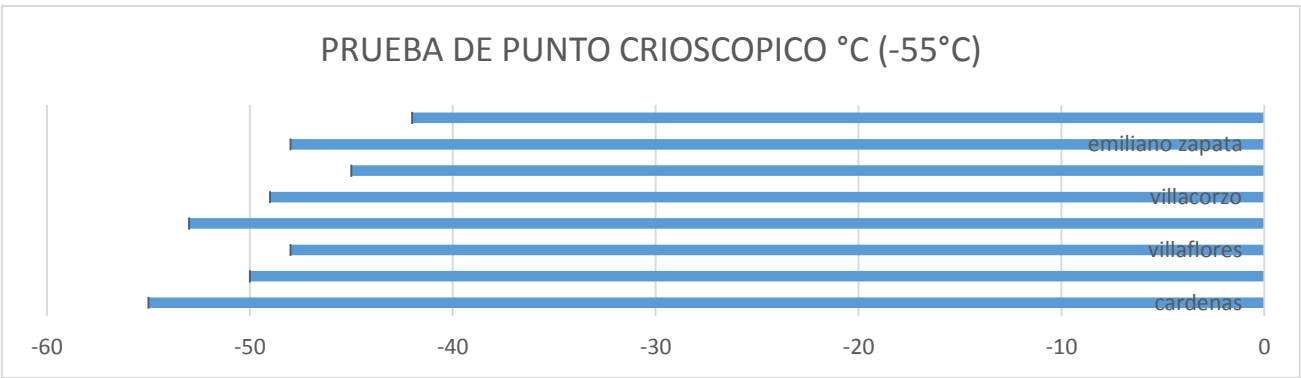
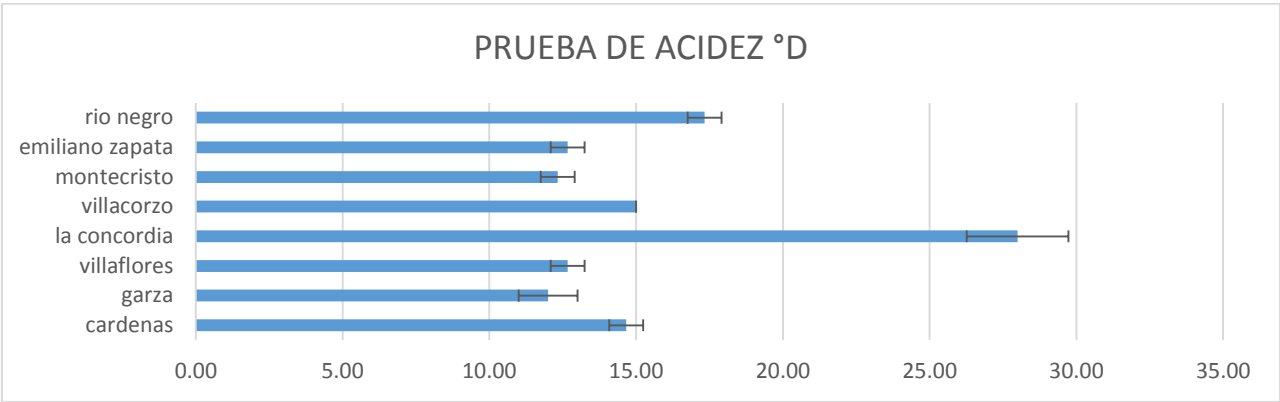
10.2 Zona costa



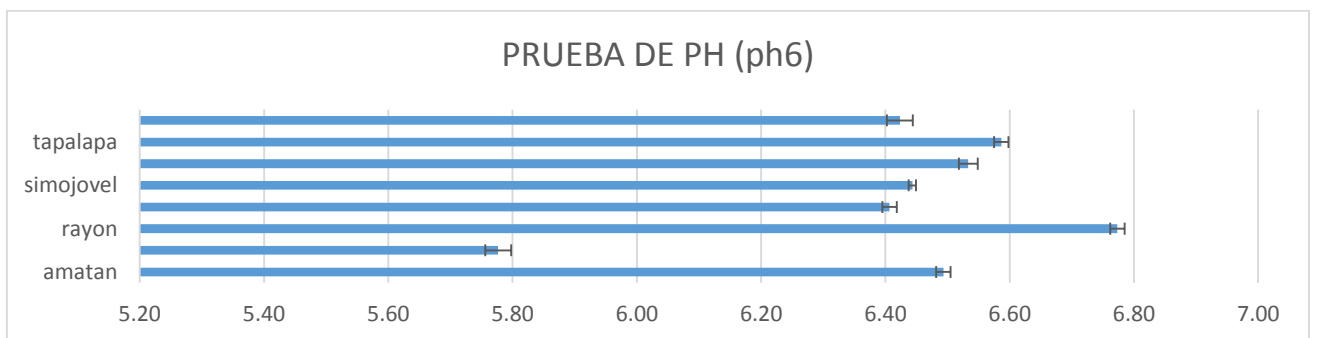
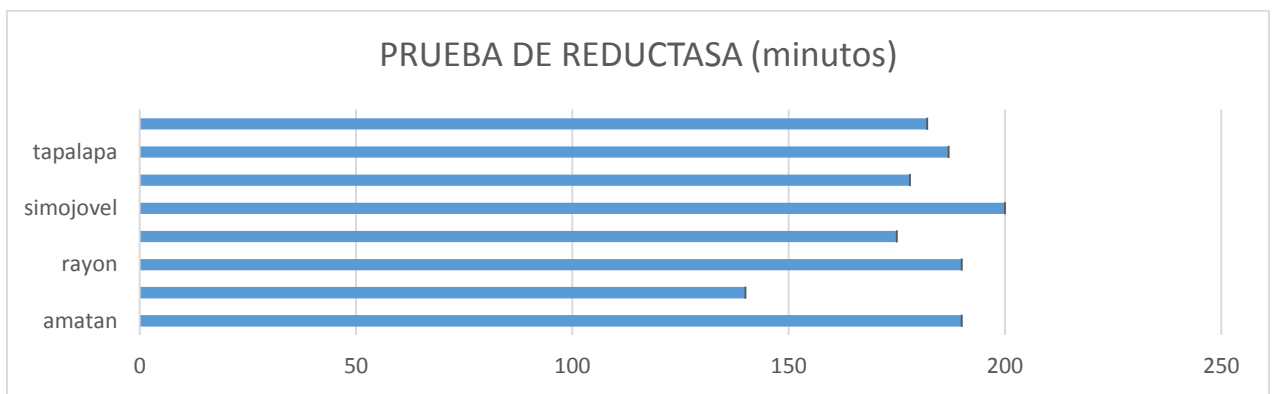
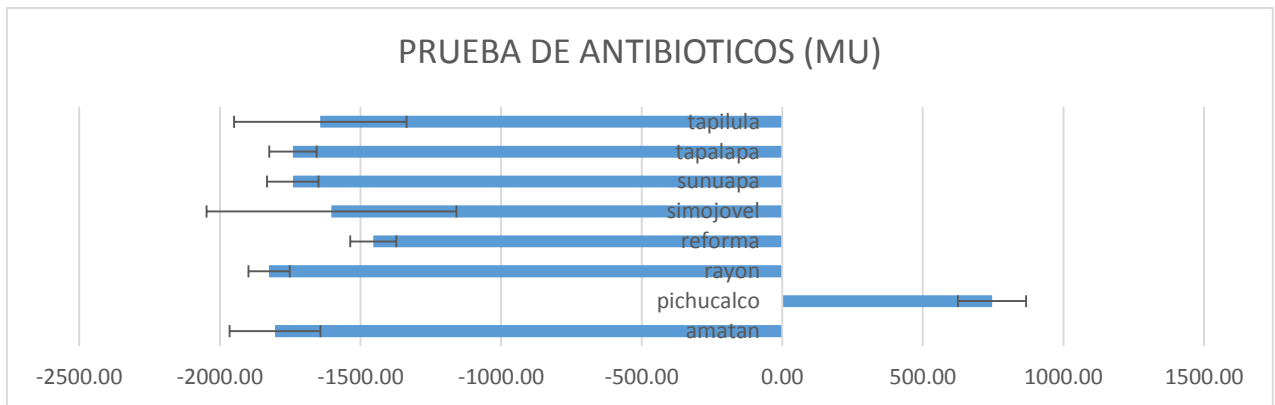


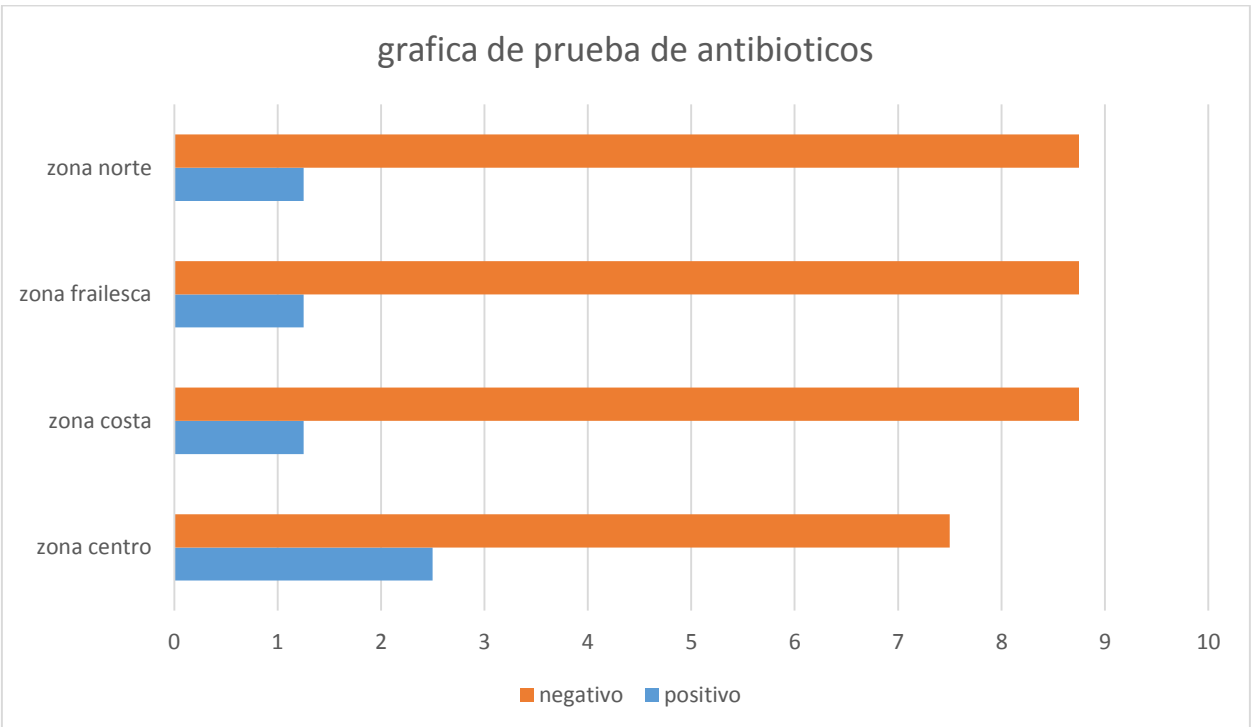
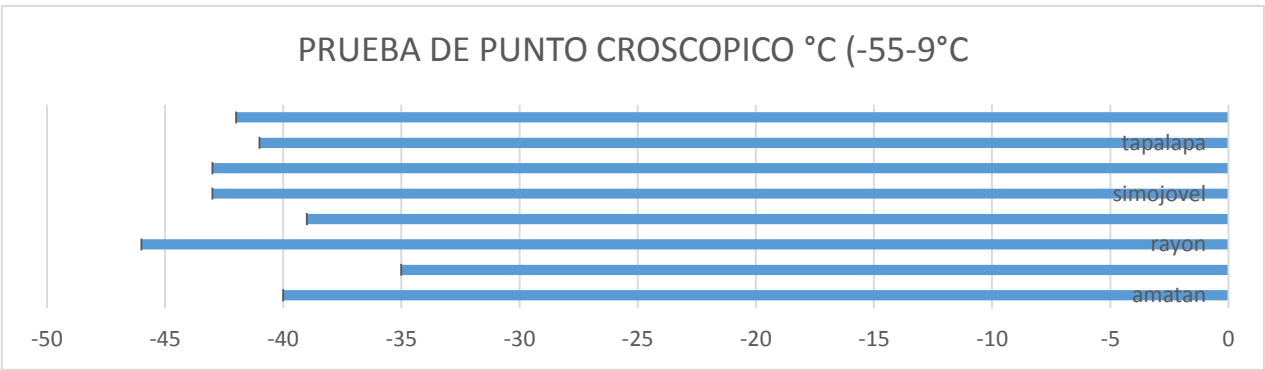
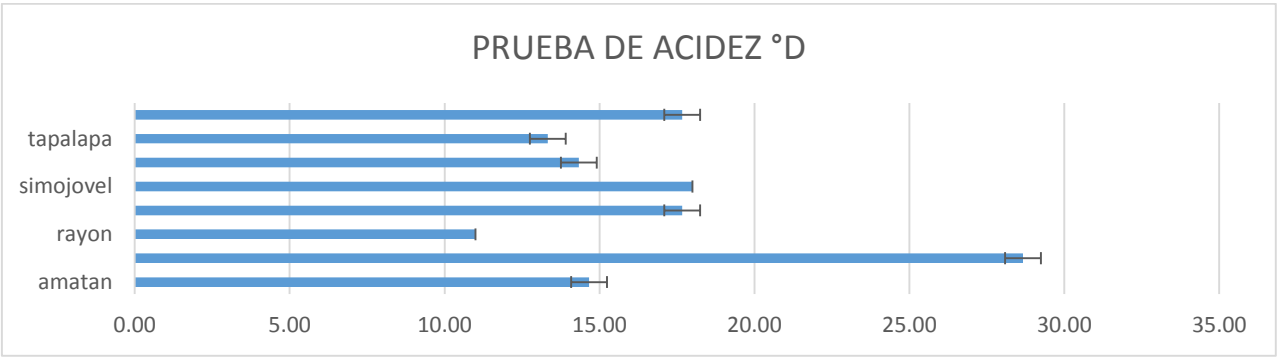
10.3 Zona frailesca





10.4 Zona norte





11.- DISCUSIÓN

De las pruebas realizadas a las leches de la zona (centro, costa, frailesca y norte) de Chiapas se encontró con un porcentaje mínimo de presencia de antibióticos en la leche, al ser positiva la prueba de antibióticos en una leche se ve reflejada también en un resultado variable de las demás pruebas (pH, acidez, punto croscópico, presencia de peróxido de hidrogeno, reductasa, alcohol) por tanto las pruebas que dieron un resultado negativo de presencia de antibióticos en leche dieron en sus demás pruebas un resultado más acorde, tomando en cuenta el rango indicado de cada una de las pruebas.

La presencia de inhibidores en leche es responsabilidad del ganadero. Es probable que estos proveedores entreguen leches con antibióticos como consecuencia de un mal manejo en la finca. Entre las principales causas de residuos de antibióticos están el no respetar los tiempos de retiro de los medicamentos, ordeño de vacas que han presentado aborto o con períodos secos muy cortos, uso de medicamentos no aprobados, carencia de registros de medicación, sobredosificación de medicamentos, aplicación de medicamentos sin recomendación del Médico Veterinario, administración por vías no recomendadas, por los laboratorios fabricantes, residuos de soluciones desinfectantes en el equipo de ordeño, mezcla con leches contaminadas, descarte de leche solamente del cuarto mamario tratado con antibiótico.

Se encontró una baja presencia de antibióticos en leches crudas, mediante el empleo de un método sencillo. La frecuencia de residuos de antibióticos encontrados en la leche cruda, Aunque el uso de antibióticos en la industria agropecuaria es útil en ocasiones para el tratamiento de enfermedades infecciosas, estos porcentajes demuestran el abuso de ellos y pueden repercutir en la salud pública humana.

11.- CONCLUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos de las pruebas realizadas podemos concluir que si existe presencia de antibióticos en la leche, las demás pruebas realizadas darán un resultado muy variado al esperado, debido a que afecta las propiedades de la leche tales como su pH, acidez, nivel de congelación y el tiempo de durabilidad de la leche.

Si se lograra tener leche libre de presencia de antibióticos las pruebas realizadas pH, acidez, nivel de congelación y el tiempo de durabilidad de la leche darían un resultado más normal y estables; y por consiguiente se evitarían muchos problemas de salud para el consumidor.

12.- Bibliografía

Bibliografía Básica

1. Anónimo, 1989. Manuales para el control de calidad de los alimentos.9. Introducción a la toma de muestras de alimentos. Ed. FAO. Roma.
2. Belitz, H.D. y Grosch, W., 1988. Química de los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza.
3. Vacclavick, V.A. 1998. Fundamento de Ciencia de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España.
4. Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. 1994. Leche y Productos Lácteos. Tecnología, Química y Microbiología. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España.
5. Yousef, A.E. y Carlstrom, C. 2006. Microbiología de los Alimentos: Manual de Laboratorio. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza, España.
6. Charles Alais. 1986 Ciencia de la leche. CIA. Edit. Continental, S.A. de C.V., México.
7. Norma oficial mexicana NOM-091-SSA1-1994. Bienes y servicios. Leche pasteurizada de vaca. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
8. Norma oficial mexicana NOM-115-SFCI-2003, leche, formula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
9. VARNAM, H., y SUTHERLAND, J.P., 1995. Leche y productos lácteos: tecnología, química y microbiología. Ed. Acribia, Zaragoza.
10. CASTLE, M.E., WATKINS, P., 1988. Producción lechera moderna. Ed. Acribia, Zaragoza.
11. LUQUET, F.M., 1989. Leche y productos lácteos. 2 volúmenes. Ed. Acribia, Zaragoza.
12. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación), Delegación Estatal, Subdelegación Agropecuaria, Programa de Fomento Agrícola, Aguascalientes, 2004

13. <http://www.cenam.mx/quienes.aspx> (Alais, NOVIEMBRE DE 1986)
14. Manual de buenas prácticas de laboratorio. 3a. Edición, CENAM. Septiembre
15. LUQUET, 1991. Leche y productos lácteos Vaca – Oveja – Cabra, Volumen 1: La leche. De la mama a la lechería; Editorial Acribia, S.A. de C.V.; Edición en lengua española.
16. Tecnología de la leche. Instituto interamericano de cooperación para la agricultura, San José Costa Rica 1982
17. Análisis de los Alimentos. Fundamentos y técnicas. London 1964.
18. B-lactámicos y tetraciclinas en leche fresca en la cuenca de Arequipa Rev Inv Vet, Perú 19:140-143
19. [FAO/OMS] programa conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Grupo de acción intergubernamental especial del Codex. 2007
20. Detección de antibióticos en la leche de consumo de Lima, Callao y Balnearios. Tesis de Bachiller en Medicina Veterinaria. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 60
21. Producción higiénica de la leche cruda. Guatemala: Producción y Servicios Incorporados. 95
22. Residuos de medicamentos veterinarios y plaguicidas organofosforados en leche y derivados. Camilac 70: 2-3.