



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CALIDAD DE LA LECHE PRODUCIDA EN
SISTEMAS FAMILIARES Y COMERCIALIZADA
EN LA CUENCA DEL RÍO ATOYAC EN
PUEBLA Y TLAXCALA

ANABEL ROSAS GALLO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PUEBLA

2022



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis, titulada: **CALIDAD DE LA LECHE PRODUCIDA EN SISTEMAS FAMILIARES Y COMERCIALIZADA EN LA CUENCA DEL RIO ATOYAC EN PUEBLA Y TLAXCALA**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:

DR. FRANCISCO CALDERÓN SÁNCHEZ

ASESOR:

DR. JUAN DE DIOS GUERRERO RODRÍGUEZ

ASESOR:

DR. JOSÉ SERGIO ESCOBEDO GARRIDO

ASESOR:

DR. ADRIÁN ARGUMEDO MACÍAS

ASESOR:

DR. FRANCISCO MAROTO MOLINA

Puebla, Puebla, México, septiembre del 2022

CALIDAD DE LA LECHE PRODUCIDA EN SISTEMAS FAMILIARES Y COMERCIALIZADA EN LA CUENCA DEL RÍO ATOYAC EN PUEBLA Y TLAXCALA

Anabel Rosas Gallo, D.C.

Colegio de Posgraduados, 2022

RESUMEN

En la cuenca del Río Atoyac en los estados de Puebla y Tlaxcala, se produce leche en sistemas familiares, cuya producción la acaparan intermediarios para elaborar quesos frescos. La calidad de la leche comercializada en este proceso es poco controlada, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar su características fisicoquímicas y microbiológicas y determinar una posible adulteración. Se analizaron muestras de 264 explotaciones ubicadas en 12 municipios, que forman parte de la cartera de clientes de tres empresas queseras. Se corrieron pruebas presuntivas de plataforma, de sus características físicas: pH, acidez y punto crioscópico, y químicas: grasa, proteína, lactosa, minerales, sólidos no grasos, sólidos totales y contenido de agua. Se realizó un análisis multivariado de agrupación con la técnica Cluster y se realizaron comparaciones entre grupos formados y entre productores por empresas. Adicionalmente se realizaron análisis microbiológicos a 34 muestras. Se formaron cuatro grupos de productores y se dejó entrever la posibilidad de que uno de ellos adultera con agua y además, adicionan algún compuesto para incrementar el contenido de grasa. Se determinó que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en las características de la leche que comercializan los productores con las empresas. En general es una leche ácida y adulterada fuera de la normatividad, con un promedio de 11.49% de agua que representa una pérdida de \$0.67/litro y una dilución de proteína y lactosa. Microbiológicamente, no se encontraron diferencias significativas entre empresas y los conteos de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, Hongos y levaduras cumplieron con la norma NOM-243-SSA1-2010, no así para Coliformes Totales, *Staphylococcus aureus* y *Listeria spp*. Este estudio sugiere el establecimiento de programas de verificación para el cumplimiento de la normatividad, esperando con ello, que los productores reciban un precio justo de su producción y no tengan necesidad de adulterar la leche.

Palabras clave: fisicoquímicos, higienización, leche bronca, norma, plataforma.

QUALITY OF MILK PRODUCED IN FAMILY SYSTEMS AND MARKETED IN THE ATOYAC RIVER BASIN IN PUEBLA AND TLAXCALA

Anabel Rosas Gallo, D.C.

Colegio de Posgraduados, 2022

ABSTRACT

In the Atoyac River basin in the states of Puebla and Tlaxcala, milk is produced in family systems, whose production is hoarded by intermediaries to make fresh cheeses. The quality of the milk marketed in this process is poorly controlled, so the objective of this research was to evaluate its physicochemical and microbiological characteristics and determine possible adulteration. Samples from 264 farms located in 12 municipalities that are part of the client portfolio of three cheese companies were analyzed. Presumptive platform tests were run; in its physical characteristics, pH, acidity and cryoscopic point were determined; and in its chemical characteristics fat, protein, lactose, minerals, non-fat solids, total solids and water content were determined. A multivariate analysis of grouping was carried out with the Cluster technique and comparisons were made between groups formed and between producers by companies. Additionally, microbiological analyzes were performed on 34 samples. Four groups of producers were defined, one of which hints at the possibility that adulterate the milk with water and add some compound to increase the fat content. There were significant differences ($p < 0.05$) in the characteristics of the milk that the producers market with the companies. In general, it is an acidic and adulterated milk outside the regulations, with an average of 11.49% water, which represents a loss of \$0.67/liter and a dilution of protein and lactose. Microbiologically, no significant differences were found between companies and the counts of Aerobic Mesophilic Bacteria (AMB), *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, fungi and yeasts complied with the NOM-243-SSA1-2010 standard, but not for Total Coliforms, *Staphylococcus aureus* and *Listeria* spp. This study suggests the establishment of verification programs for compliance with regulations, hoping with this, the producers receive a fair price for their production and do not have the need to adulterate milk.

Keywords: physicochemicals, sanitation, raw milk, standard, platform.

DEDICATORIA

A mis hijos Miguel Ángel, Fabián y Santiago por ser mi fuente de inspiración y fortaleza, con su cariño y amor me han ayudado a levantar la cara ante cualquier adversidad, siendo mi principal fuente de inspiración.

A mis padres Sara y José Luis por su cariño y apoyo en todo momento, por alentarme y enseñarme a nunca rendirme y buscar mis objetivos.

A mí esposo Fabián por considerarme ser parte de él y lograr esta meta juntos.

A mi consejero el Dr. Francisco Calderón a pesar de todas las adversidades él siempre estuvo apoyándome y dando consejos.

A mis amigas y amigos, por acompañarme y darme palabras de aliento cuando más lo necesitaba.

A todos aquellos que no creían en mí, ese ha sido un gran aliciente para superarme.

A Dios por permitirme culminar este trabajo a pesar de las adversidades.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) el brindarme el apoyo y confianza para la realización de mis estudios doctorales.

Agradezco al Colegio de Postgraduados Campus Puebla y a su todo su personal el recibirme y brindarme los conocimientos necesarios para realizar este proyecto de gran relevancia en mi vida.

A la Universidad Tecnológica de Huejotzingo (UTH) en especial al área de Procesos Alimentarios por las darne las facilidades necesarias, sin su valioso apoyo no habría sido posible llegar a esta meta.

A mi consejero el Dr. Francisco Calderón Sánchez por su acompañamiento y por guiarme con sus conocimientos y consejos sus aportaciones fueron de gran ayuda.

A mis asesores: Dr. Juan De Dios Guerrero Rodríguez y Dr. José Sergio Escobedo, Garrido, Francisco Maroto Molina y Adrián Argumedo Macías y sinodales, gracias por sus valiosos comentarios y sugerencias, así como por su invaluable apoyo.

A mis padres Sara Gallo García y José Luis Rosas Maya por darme la oportunidad de elegir y acompañarme en mi camino. Son parte fundamental de mi formación. Por su cariño y apoyo les estaré eternamente agradecida.

A mis hijos Miguel Ángel, Fabián y Santiago por estar en los momentos más difíciles de mi vida y sin ellos esto no hubiera sido posible.

A mi esposo Fabián por estar siempre conmigo en los desvelos, en las alegrías y sobre todo en las tristezas que pasamos juntos en todo este tiempo y que, sin sus palabras, consejos de salir adelante solo se hubiera quedado en el intento.

Principalmente agradezco a Dios por darme fuerza y salud para salir adelante.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE CUADROS	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1 Situación actual de la producción de leche en México.....	2
2.2 Sistemas de producción de leche en México	6
2.3 Sistemas de producción lechera familiar	7
2.4 Producción de leche en la Cuenca del rio Atoyac.....	9
2.5 Características de la leche.....	11
2.5.1 La leche: recurso primordial de la alimentación	11
2.5.2 Calidad fisicoquímica	12
2.5.3 Calidad higiénico-sanitaria.....	15
2.6 Factores que afectan la calidad de la leche bovina	19
2.7 Adulteración de la leche: condiciones y factores que la propician	20
2.8 Normas y análisis de calidad de la leche cruda	25
III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	29
3.1 Objetivo general.....	29
3.2 Objetivos específicos	29
3.3 Hipótesis general	29
3.4 Hipótesis específicas	29
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
4.1 Zona de estudio	30
4.2 Número de muestras.....	30
4.3 Obtención de las muestras	31
4.3.1 Etapa 1. Análisis presuntivos.....	32
4.3.2 Etapa 2. Análisis fisico-químicos	35

4.3.3 Etapa 3. Análisis microbiológicos	36
4.4 Análisis estadísticos.....	46
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	478
5.1 Características de la leche en los grupos formados por análisis multivariado	48
5.2 Resultados y discusión por grupos generados en el análisis multivarido.....	49
5.2.1 Pruebas presuntivas analizadas por grupos	49
5.2.2 Análisis de características físicas de la leche	51
5.2.3 Composición química de leche	53
5.2.4 Corrección en la composición química de leche	54
5.3 Resultados y discusión de resultados por empresa transformadora.....	55
5.3.1 Análisis de características físicas de leche por transformadora.....	57
5.3.2 Análisis de químicas de leche por empresa transformadora	59
5.3.3 Composición química y pérdida de leche (por transformadora).....	61
5.4 Composición microbiológica de la leche bronca del Rio Atoyac	63
5.4.1 Composición microbiológica de la leche por procesadora	64
5.4.2 Análisis de dependencia microbiológicos	66
VI. CONCLUSIONES	74
VII. RECOMENDACIONES.....	75
VIII. LITERATURA CITADA	78
IX ANEXOS.....	92

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación porcentual del aporte de los diferentes productos al valor de la producción pecuaria nacional	3
Figura 2. Precio de la leche pagado a pie de establo en diferentes países	4
Figura 3. Distribución de los vientres bovinos en las unidades de producción en México.	5
Figura 4. Ubicación geográfica de municipios que suministran leche a las procesadoras de estudio	31
Figura 5. Identificación de la muestra.....	32
Figura 6. Prueba de alcohol, A) Antes de adicionarle el alcohol, B) Prueba positiva con formación de grumos.	33
Figura 7. Prueba de ebullición, A) Antes de llevar al calor, B) Prueba negativa después de la ebullición	34
Figura 8. Prueba de reductasa, A) Incubación a 35°C, B) Decoloración después de 20 minutos.....	34
Figura 9. Equipo Lactoscan LA utilizado para analizar leche bronca	35
Figura 10. Determinación de análisis fisicoquímicos y de plataforma.	36
Figura 11 Preparación de la primera dilución de acuerdo la NOM-110-SSA1-1994	37
Figura 12. Dilución de las muestras con base en la NOM-110-SSA1-1994	37
Figura 13. Determinación de CT en placa, A) utilizando Agar Rojo Violeta Bilis, B) Placa testigo.....	38
Figura 14. Determinación de BMA, A) Placa Testigo, B) De izquierda a derecha se colocó la dilución 10^{-1} – 10^{-5} , C) Conteo de BMA.	39
Figura 15. Determinación de mohos y levaduras con PDA acidificado con ácido tartárico.	40
Figura 16. Determinación de <i>E. Coli</i> por la técnica del NMP: A) Siembra en caldo Lauril, B) Selección de colonias desarrolladas en agar verde brillante,	

C)Siembra en caldo EC MUG , D)Observación en Luz UV; prueba negativa, E) Observación en Luz UV; prueba positiva.	41
Figura 17. Determinación de <i>Staphylococcus a.</i> , A) Siembra por extensión, B) Selección de colonias típicas, C) Siembra en caldo BHI, D) Caldo BHI antes de incubar.....	42
Figura 18. Prueba de Coagulasa antes de su incubación.....	42
Figura 19. Determinación de <i>Listeria spp.</i> , A) Caldo lactosado, B) Aislamiento en medio Oxford Modificado, C) Placas con colonias sospechosas de <i>Listeria spp.</i> con hidrolisis de esculina (coloración negra).	43
Figura 20. Determinación de <i>Salmonella spp.</i> , A) Caldo lactosado, B) Caldo Selenito Cistina antes de incubar, C) Siembra en Agar XLD y Verde Brillante, D) Identificación Bioquímica; Agar LIA, CITRATO,TSI,MIO.....	45
Figura 21. Tinción Gram, A y B) Fijación de la muestra, C) Aplicación de Cristal Violeta, D) Enjuague, E) Aplicación de alcohol-cetona, F) Aplicación de Safranina	46
Figura 22. Dendrograma de 264 productores clasificados por las características de la leche cruda que comercializan en la cuenca del río Atoyac	48
Figura 23. Resultado prueba de ebullición, A) Positiva formación de grumos, B) Negativa sin formación de grumos.	56
Figura 24. Resultado prueba de reductasa, A) Decoloración lenta signo de excelente calidad, B) Decoloración rápida sinónimo de mala calidad.	57
Figura 25. Crecimiento de CT correspondiente a la procesadora 3.	64
Figura 26. Ausencia de BMA en Agar Cuenta Estándar.	65
Figura 27. Ausencia de Mohos y Levaduras en placas de la transformadora 2.	66
Figura 28. Presencia de <i>E. coli</i> en muestra de la transformadora 3, A) Testigo, B) Producción de gas y turbidez, C) Elevación de campana y presencia de burbuja.	68

Figura 29. Determinación de <i>E. coli</i> en muestra de la transformadora 3, A) Crecimiento de colonias <i>E. coli</i> . en agar VB, B) Prueba positiva con fluorescencia caldo EC MUG.	69
Figura 30. Determinación de <i>Salmonella spp.</i> en muestra de la transformadora 3, A) Caldo lactosado, prueba positiva, B) Caldo Selenito Cistina, prueba positiva, C) crecimiento de colonias características productoras de ácido sulfhídrico (color negro).....	70
Figura 31. Identificación bioquímica en muestra de la transformadora 3, A) Colonias tomadas de agar XLD, B) Positivo a <i>E. Coli</i> en agar citrato de simmons, C) Positivo a <i>E. aerogénica</i> y <i>Enterobacter</i> en Agar MIO, D) Negativa a <i>E. coli</i> y <i>Proteus</i> en LIA, E) Positivo a <i>E. Coli</i> y <i>Citrobacter</i> en TSI.....	71
Figura 32. Placa de la transformadora 1 con crecimiento de colonias sospechosas de <i>Listeria spp.</i> con hidrolisis de esculina (coloración negra).....	72
Figura 33. Prueba confirmativa de <i>S. aureus.</i> en transformadora 1, A) Testigo, B y C) Formación de coagulo.	72
Figura 34. Recuento de bacterias coliformes totales en placa	92
Figura 35. Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias.....	93
Figura 36. Conteo de hongos y levaduras.....	93
Figura 37. Recuento de <i>E. coli</i> por la técnica del NMP (CCAYAC-M-004/8).....	94
Figura 38. Determinación del <i>Listeria spp.</i>	95
Figura 39. Determinación de <i>Salmonella spp.</i>	95
Figura 40. Determinación detallada de <i>Salmonella spp.</i>	96

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de leche de distintas especies expresada en porcentaje (%)	12
Cuadro 2. Especificaciones fisicoquímicas para leche cruda de vaca	25
Cuadro 3. Especificaciones sanitarias para leche cruda de vaca	26
Cuadro 4. Datos de NMX-F-700-COFOCALEC-2012	47
Cuadro 5. Resultados de las pruebas de ebullición, alcohol y reductasa de leche cruda comercializada por unidades de producción familiar	50
Cuadro 6. Variables físicas de la leche cruda comercializada por unidades de producción familiar agrupadas por análisis multivariado	51
Cuadro 7. Composición química de la leche cruda comercializada por unidades de producción familiar agrupadas por análisis multivariado	53
Cuadro 8. Corrección en la composición química de leche cruda (%) y pérdida económica (\$/L) por adición de agua en unidades de producción familiar de la cuenca del río Atoyac agrupadas por análisis multivariado	55
Cuadro 9. Resultados de las pruebas de ebullición, alcohol y reductasa por transformadora.	56
Cuadro 10. Características físicas de leche cruda comercializada por unidades de producción familiar y acopiada en tres empresas queseras de la Cuenca del río Atoyac.....	58
Cuadro 11. Características químicas de leche cruda comercializada por unidades de producción familiar y acopiada en tres empresas queseras de la Cuenca del río Atoyac	60
Cuadro 12. Composición química y pérdida económica de leche cruda corregida por contenido de agua en unidades de producción familiar que acopian tres empresas queseras de la cuenca del río Atoyac	61
Cuadro 13. Recuento de microorganismos en leche bronca por transformadoras	67

Cuadro 14. Prueba de chi-cuadrado de Pearson, microorganismos patógenos por transformadora.....	68
Cuadro 15. Resultados microorganismos patógenos por transformadora	73

I. INTRODUCCIÓN

La producción de leche es una actividad estratégica a nivel mundial, que se desarrolla con el objetivo fundamental de disponer un alimento de alto valor nutricional, aunque también representa una fuente permanente de ingresos para las familias dedicadas a ella (Doughrate *et al.*, 2013). Recientemente, además de reconocer su importancia por los beneficios en la nutrición, se ha demostrado que la leche también tiene efectos positivos en la salud de los consumidores, por lo que actualmente es blanco de diversos estudios en proceso (Davoodi *et al.*, 2016). Sin embargo, debido a su composición química, es un alimento altamente perecedero que requiere condiciones higiénicas estrictas (Kamana *et al.*, 2014) y es uno de los alimentos más comúnmente adulterados en el mundo (Cavin *et al.*, 2016).

En México se producen 12.8 millones de toneladas de leche (SIAP, 2021), que cubren el 69% de la demanda, el resto se cubre con la importación de leche en polvo y otros derivados, que desafortunadamente afecta el precio de la leche pagado a los productores (Ángeles *et al.*, 2004; Espinoza-Arellano *et al.*, 2019). La producción se genera en los sistemas intensivo, familiar y extensivo de doble propósito, diferenciados por su ubicación geográfica y nivel de tecnificación (Camacho *et al.*, 2022). Al respecto Dávalos (2020) exhibe una polarización estructural de la ganadería lechera, resaltando que el 73.95% de las 95,887 unidades de producción, tienen menos de 20 vacas y concentran apenas el 28% del inventario de vientres lecheros, contribuyendo de acuerdo a Martínez *et al.* (2015), con el 37% de la producción y corresponde a la ganadería familiar. La ganadería lechera familiar se caracteriza por ser parte de una economía familiar diversificada, con animales de baja producción (Abrego, 2011), instalaciones deficientes (Botero *et al.*, 2012) y la carencia de una estructura organizativa para vender o transformar su producción, de manera que son dependientes de intermediarios, quienes fijan el precio y las condiciones de compra de leche.

Por otra parte, las familias dedicadas a esta actividad, además de ser vulnerables a las importaciones y la desigualdad que existe entre el precio de la leche cruda que se les paga y el precio de la leche procesada y sustitutos exhibidos en los centros comerciales (Munguía, 2015), han sido poco beneficiadas con los programas gubernamentales, entre

ellos los precios de garantía propuestos por el gobierno, donde una de las condicionantes a cumplir es con los estándares de calidad de la leche que marca la normatividad (NMX-F-700-COFOCALEC-2012).

Tradicionalmente en la relación comercial productor-intermediario, la calidad de la leche en términos de sus características físicas, composición química, carga bacteriana y contenido de adulterantes, ha sido poco valorada y de poco interés (Bernal *et al.*, 2007), lo que es debido en parte a que no existe un trato de pago diferencial por calidad y, por otra parte, la normatividad establecida por las instituciones reguladoras para el control de calidad es voluntaria y sin supervisión.

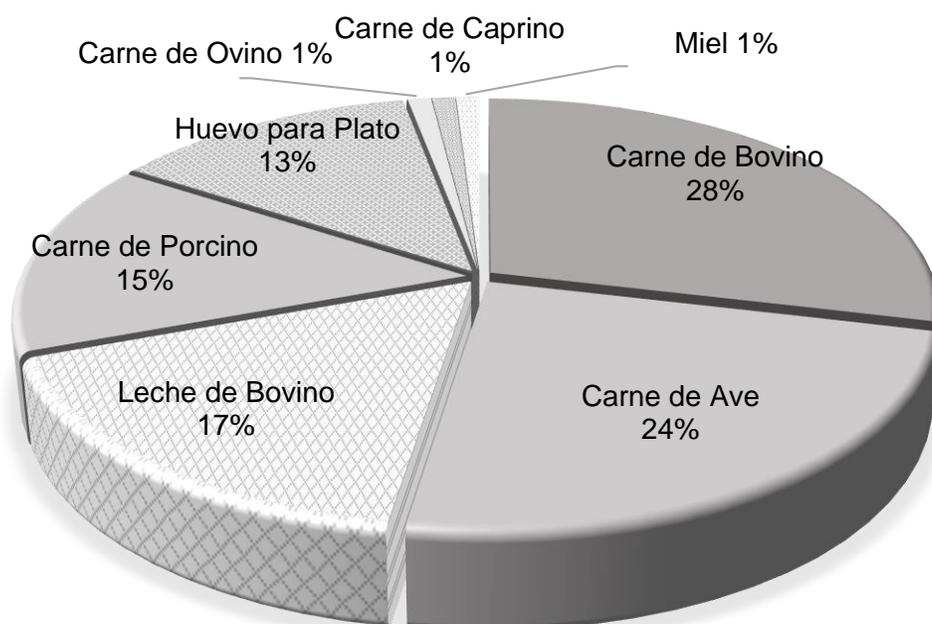
Ante este escenario, los productores pueden recurrir a prácticas de adulteración a fin de incrementar el rendimiento y valor económico de la leche (Pérez *et al.*, 2011), siendo la adición de agua la práctica más común. En este sentido, el propósito de este trabajo es determinar las propiedades físicas, químicas y sanitarias de la leche que comercializan las unidades de producción familiar ubicadas en la cuenca del río Atoyac en los estados de Puebla y Tlaxcala, e identificar el efecto económico de una posible adulteración.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Situación actual de la producción de leche en México

Se reporta que a nivel mundial se producen 748 millones de toneladas de leche, de las cuales, México produce 12.8 millones que representando el 2% (FAOSTAT, 2019); sin embargo, se ubica como el productor 16 de leche a nivel mundial y el tercero en Latinoamérica, por debajo de Brasil y Colombia. Por otra parte, con base a datos del SIAP (2021), el valor de la producción pecuaria es de 532 millones de pesos, cuyos aportes por producto se especifican en la Figura 1, resaltando la participación que hace la carne de bovinos y aves que juntos representan el 52% del valor total, en tercer lugar la leche, que hace un aporte del 17% y retoma una importancia socioeconómica significativa, debido a que es un producto que se obtiene diariamente y representa una fuente permanente de ingresos para las familias que se dedican a su producción (Doughrate *et al.*, 2013).

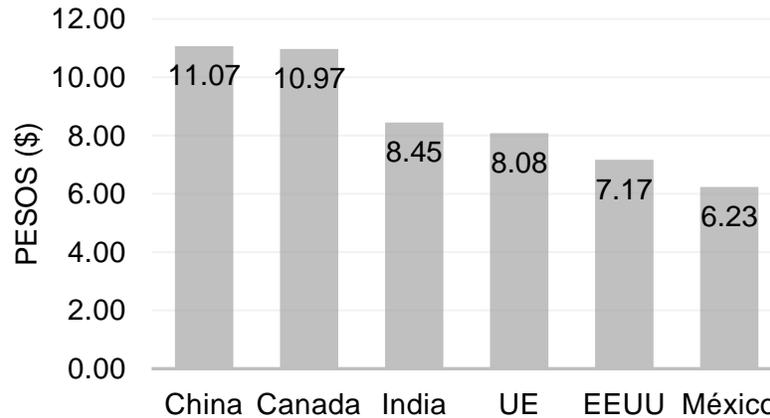
Figura 1. Representación porcentual del aporte de los diferentes productos al valor de la producción pecuaria nacional



(Fuente: SIAP, 2021)

En los últimos 10 años el volumen de leche producido en el país ha cubierto en promedio el 73% de la demanda, lo que hace necesario recurrir a una constante importación, principalmente de leche en polvo, procedente principal de Estados Unidos, convirtiendo al país como uno de los principales importadores a nivel mundial. De acuerdo con Ángeles *et al.* (2004), esta importación de lácteos ha influido para que el precio de la leche se mantenga bajo y afecte el nivel de ingresos de los productores. En la Figura 2, se esquematizan los precios de la leche que diferentes países pagan a sus productores a pie de establo, observando que China y Canadá son los que valoran más la producción; por el contrario, en México además de no contar con subsidios a la producción como en otros países, se tiene muy castigado el precio y esto repercute de manera directa en el nivel de vida de las familias dedicadas a esta actividad. De este modo, la importación de leche de países donde existen subsidios y un precio nacional persistente, son factores que desmotivan a los ganaderos nacionales.

Figura 2. Precio de la leche pagado a pie de establo en diferentes países

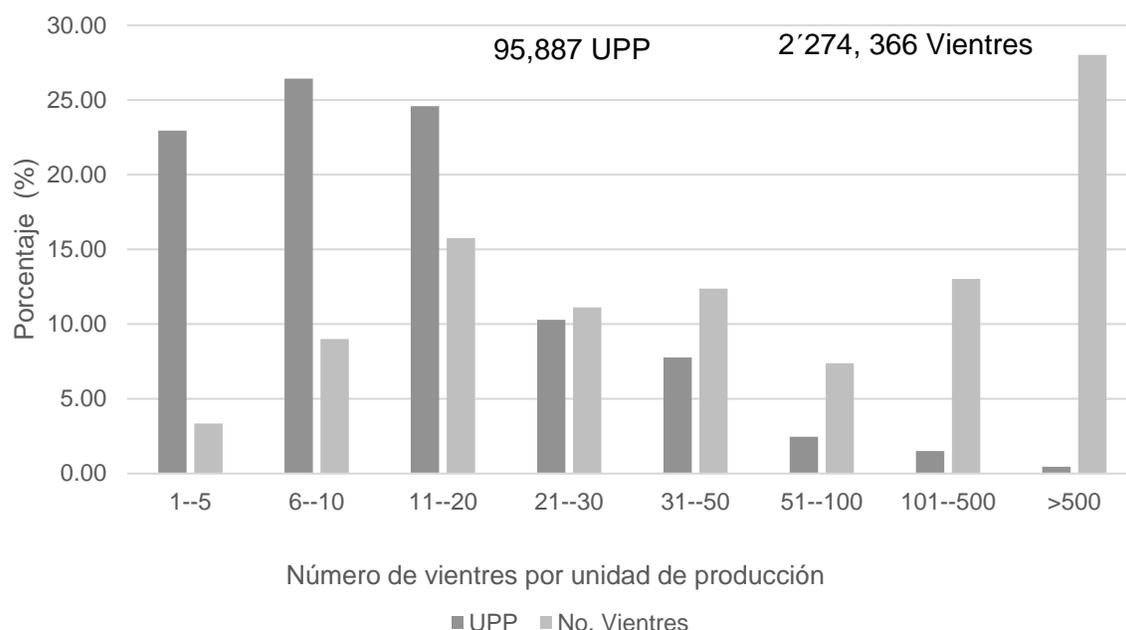


(Conversión dólar a \$20.06; Fuente: Dávalos 2020)

A pesar de las circunstancias antes planteadas, Rebollar *et al.* (2016), indican que en las últimas tres décadas se ha registrado una tasa de crecimiento media anual de 2.8% en la producción de leche, justificándolo en parte por ser un alimento ampliamente demandado y por su alto valor nutricional, al ser una de las principales fuentes de proteína de origen animal para la población, especialmente para niños (Secretaría de Economía [SE], 2012). Por ello, se entiende que en México existe una fuerte necesidad de incrementar la producción de leche y de mejorar las políticas de apoyo hacia los productores para valorar su producción.

Se estima que el hato lechero en México es del orden de 2.27 millones de cabezas, que se encuentran distribuidas en 95,887 unidades de producción. Resaltando en la Figura 3 que el 49.36% de estas explotaciones, tienen menos de 10 vacas, el 24.59% de 10 a 20 y el restante 26.04% de unidades tiene más de 20 vacas, observándose una dualidad en el sector, debido a que este último segmento de productores concentra el 60.79% de la población vacuna (Dávalos, 2020).

Figura 3. Distribución de los vientres bovinos en las unidades de producción en México.



La leche de bovino pese a que se produce en toda la República Mexicana, Jalisco es la entidad con mayor aporte, le sigue Coahuila, Durango, Chihuahua, Guanajuato y Veracruz, quienes en su conjunto contribuyen con más de mitad de la producción nacional (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2022); por debajo de ellos se encuentra el territorio poblano en el cual se ha identificado una importante zona productora en la cuenca lechera Puebla-Tlaxcala (Castro-González *et al.*, 2018). El estado de Puebla cuenta con 720 mil cabezas que producen alrededor de 449,188 litros con un valor de 2,766 millones de pesos (Infografía Agroalimentaria Puebla, 2021), mientras que la entidad de Tlaxcala contribuye con 82,850 litros (Infografía Agroalimentaria Tlaxcala, 2021).

En esta región, el principal sistema de producción es el familiar, el cual depende en gran medida de la estacionalidad provocada por las temporadas de lluvias y las temperaturas, lo que conlleva a una variación en la producción de los forrajes que destinan a la alimentación del ganado lechero. Los productores para disponer de forrajes de manera más prolongada en el transcurso del año, se ven en la necesidad de usar fuentes alternas para suministrar agua a los terrenos de cultivo forrajeros a través de arroyos, pozos profundos y ríos; en estos se encuentra al río Atoyac y Zahuapan, que son considerados

como afluentes con alto grado de contaminación, los que durante su recorrido arrastran a su paso residuos químicos de diversa índole como metales pesados, compuestos orgánicos volátiles, hidrocarburos, desechos hospitalarios y contaminantes microbiológicos (INEGI, 2016); por lo tanto, el uso del agua del río Atoyac para la irrigación por su calidad sanitaria deficiente, puede ser un vector de microorganismos patógenos lo que repercute en la calidad microbiológica y fisicoquímica de la leche. Estudios han demostrado presencia de microorganismos patógenos en la leche, dentro de ellos se cita a *E. coli*, *Salmonella spp*, *Listeria spp*, y *S. aureus*, que son agentes causales de enfermedades transmitidas por alimentos específicos como la leche y sus derivados que afectan tanto al ganado como a los consumidores (Claeys *et al*, 2013).

2.2 Sistemas de producción de leche en México

La ganadería es una actividad altamente potencial para el sector agrícola de México, con más de la mitad del territorio nacional dedicado a la actividad pecuaria (55.9%), que corresponde a una superficie de 109.8 millones de hectáreas, donde se estima que existen poco más de 3.4 millones de unidades de producción pecuaria (UPP's) (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria [CEDRSSA], 2020).

Existen diferentes maneras de clasificar los sistemas, pero de acuerdo con CEDRSSA (2020) el país cuenta con diferentes sistemas de producción pecuarios, los cuales han sido clasificados con base en su tecnificación, ubicación geográfica donde se desarrollan, el objetivo productivo, así como la vegetación, el clima y los recursos alimenticios disponibles. En las entidades con mayor producción ubicadas en las grandes cuencas lecheras del altiplano y el norte de la república mexicana, el sistema de producción más relevante es el intensivo y el de doble propósito, localizado principalmente en regiones húmedas, semi cálidas y secas del trópico mexicano (en las costas del golfo y el pacífico). Mientras que en los estados de baja producción ubicados al centro del país y en regiones montañosas sobresale el sistema familiar y de traspatio, que aportan el 30% de leche cruda que se consume en el país (Osorio, 2010).

De acuerdo con Loera y Banda (2017), el sistema intensivo se caracteriza por orientarse a la producción de leche fluida; el sistema de doble propósito es extensivo, se enfoca principalmente a la producción de leche y carne, con fuentes de alimentación del ganado como pastos nativos o introducidos y eventualmente complementados con subproductos agroindustriales. En ambos sistemas, comúnmente predominan ganado de razas Holstein, Jersey y Pardo Suizo; en cambio, el sistema familiar y de traspatio se desarrollan a pequeña escala, con actividad familiar ligada a la elaboración de quesos y otros productos lácteos elaborados de manera artesanal en pequeñas empresas o en los hogares de las familias ganaderas. La lechería familiar es considerada de gran influencia nacional por el número de explotaciones lecheras y porque son el sustento de un gran número de familias en el país, siendo una fuente primordial de ingresos para una fracción importante de familias rurales (Grass-Ramírez *et al.*, 2015).

2.3 Sistemas de producción lechera familiar

El sistema familiar o de traspatio se refiere a unidades de producción con superficies de tierra limitada, en algunos casos pueden no tener, sin embargo, cuentan con un mínimo de tres vacas y un máximo de 20, con bajos niveles de tecnología e inversión. Las instalaciones son poco confortables, la ordeña principalmente es manual, aunque ya existe una proporción de ganaderos que realizan el ordeño mecánico. Se utiliza predominantemente la raza Holstein y en menor medida la Suizo y Criollo con cruza de buena calidad (Espinoza-Ortega *et al.*, 2005).

Por lo general, en las épocas de lluvia el ganado se desenvuelve en pastoreo, su dieta se basa en forrajes de corte que producen los productores o que existen en la región, entre los que destaca la alfalfa y esquilmos o rastrojos de maíz, avena, arvenses, pastoreo de praderas nativas y praderas cultivadas. Utilizan como complementos principalmente maíz en grano y subproductos agroindustriales y en menor cantidad alimentos balanceados comerciales (Castelán *et al.*, 1997), repercutiendo en limitaciones para cubrir los requerimientos nutrimentales de los animales.

En cuanto al manejo del ganado, se carece de un calendario de manejo, también de servicios médicos veterinarios permanentes, así como asesoría y asistencia técnica para

hacer frente a los problemas sanitarios, de nutrición y reproducción, lo que repercute directamente en los bajos niveles de producción y productividad (FAO, 2019). Su producción se destina principalmente para autoconsumo y los excedentes para comercialización, sus principales canales son para venta directa de leche cruda o “bronca” al consumidor y para venta a acopiadores de procesadoras, agroindustrias o empresas pequeñas de leche, quienes la recolectan directamente en la unidad de producción y luego la llevan a las procesadoras para elaborar diversos lácteos artesanales, desde leche pasteurizada en sus múltiples presentaciones, quesos, mantequillas, cremas, yogures, hasta las fórmulas lácteas y sueros (Panorama Agroalimentario, 2021). Para este fin el comprador exige que cumpla con altos estándares de calidad (Bernal *et al.*, 2004).

Socialmente, este sistema tiene un alto impacto tanto por el volumen producido como por su vinculación con otras cadenas productivas, también por la ocupación de fuerza de trabajo e ingresos, toda vez que la venta de leche genera ingresos para la familia, que son complementados con otros generados por diversas actividades dentro de la explotación de producción y/o fuera de ésta en trabajos asalariados (Villegas *et al.*, 2011).

De acuerdo con Martínez-García *et al.* (2015) los pequeños productores de leche representan más del 78% de las granjas lecheras y contribuyen con poco más del 30% de la producción nacional. En la producción de leche se ocupa mucha mano de obra familiar, la participación de las familias de los pequeños productores se presenta en niveles que van desde un complemento en la producción de maíz para grano y otras actividades dentro de la unidad de producción lechera, hasta ser la base de los ingresos familiares (Arriaga *et al.*, 1997). La actividad lechera demanda cantidades importantes de mano de obra, convirtiéndose en una alternativa ocupacional para las comunidades rurales; por tanto, permite que los hijos, otros familiares y algunos trabajadores participen en actividades productivas, lo que ayuda al arraigo en la comunidad. Esta actividad es dominada por varones, aunque el 20% de la ocupación generada es ocupada directamente por mujeres, la participación de éstas, tanto directa como indirectamente, es mucho mayor que la reconocida por ellas mismas (Del Valle *et al.*, 1997).

2.4 Producción de leche en la Cuenca del río Atoyac

Durante el año 2021, con aproximadamente 449 mil 188 litros, el estado de Puebla se posicionó como el séptimo mayor productor nacional de leche bovina, aportando el 3.64% de la producción total, la cual proviene de pequeños productores. De acuerdo con datos públicos puestos a disposición por la Secretaría de Desarrollo Rural (SDR, 2021), 161 municipios del territorio poblano albergan 178 mil cabezas de ganado que representan 6.89% del inventario nacional. El primer lugar lo ocupa el municipio de Tecamachalco con el 10.3% de producción de leche, le siguen Tochtepec, Atoyatempan, Tehuacán, Huejotzingo, Palmar de Bravo, Tlahuapan, Tlacotepec de Benito Juárez, Ocoyucan, San Gregorio Atzompa, San Martín Texmelucan, San Salvador El Seco, Tepanco de López, Tlanepantla, Tepeaca, Huitziltepec, Libres, Tepeyahualco, San Andrés Cholula y Atlixco. De acuerdo a la misma fuente, durante el año 2017 el litro de leche se vendió a \$5.70 en el medio rural poblano, mientras que en la Ciudad de México alcanzó los \$8.00 (SDR, 2021).

La entidad poblana como productora de leche, posee los tres sistemas de producción tradicionales de México, son: la especializada, la semi estabulada y la de ordeño estacional o rejeguería en el trópico. Las unidades de producción lechera familiar, generalmente están asociadas con la ganadería de traspatio, donde la estructura para el alojamiento del ganado es bastante rústica, ello genera problemas importantes en la salud animal, a veces se encuentra como un anexo de la vivienda, el tamaño del hato es variable, no más de 5 cabezas de ganado de diversas edades, teniendo una función muy importante para la economía familiar (Rappo, 1997).

En esta entidad se confinan seis micro cuencas lecheras de gran importancia que son: Cholula-Chipilo, Atlixco, Texmelucan, Libres, Tecamachalco y Tehuacán (Caicedo *et al.*, 2011). Una de las más significativas es la microcuenca de San Martín Texmelucan conformada por los siguientes municipios lecheros: Huejotzingo, Santa Rita Tlahuapan, San Martín Texmelucan, San Matías Tlalancaleca, San Felipe Teotlalcingo, Santa Inés Ahuatempan, San Miguel Xoxtla y Cuautlancingo, las cuales en conjunto generan cerca de la cuarta parte de la producción lechera del estado. Se estima que Huejotzingo ocupa el primer lugar en producción regional de leche bronca con 17 mil 176 litros, cuyo valor

de la producción es de 112 mil 920 pesos. Su precio promedio es de \$6.57 por litro, le sigue Santa Rita Tlahuapan con 12 mil 647 litros de leche con un valor de producción de 81 mil 940 de pesos y precio promedio de \$6.48 por litro, y en tercer lugar, San Martín Texmelucan con 9 mil 685 litros y con un valor de la producción de 61 mil 633 de pesos y un precio promedio de \$6.36 por litro (SIAP, 2021).

En los municipios que conforman la microcuenca Atoyac-Zahuapan, la producción de leche se realiza a pequeña escala, en unidades de producción familiar con bajos índices productivos. Esta actividad que complementa y fortalece la economía familiar, se practica con triple propósito: para asegurar la alimentación básica de las familias, para la elaboración de productos lácteos en pequeñas agroindustrias y para generar empleos e ingresos (Caicedo *et al.*, 2011). Los ganaderos utilizan forrajes para satisfacer la demanda de alimento para el ganado, el cual es regado por las aguas del río Atoyac y sus efluentes (río Xopanac y río Xochiac) que reciben descargas residuales de diferentes industrias desde alimenticia, textil, química, automotriz, papelera, bebidas, farmacéutica, tenería, hierro y hasta acero, ubicadas en el parque industrial ciudad textil Quetzalcóatl ubicado en Huejotzingo y una planta petroquímica de Petróleos Mexicanos, de Texmelucan.

Por lo anteriormente citado del río Atoyac y sus efluentes, son considerados como fuentes de agua con alto grado de contaminación. Reyes *et al.* (2016) indican que el uso agrícola de agua contaminada es una práctica no sustentable, que se realiza en este territorio sin ningún tipo de control o regulación, y sin previa evaluación de los riesgos que pueden generar al ambiente y a la seguridad y salud pública humana. En estudios realizados en el agua de estos afluentes han exhibido un elevado grado de contaminación, Méndez *et al.* (1995) encontraron un alto contenido de sales solubles, metales pesados, detergentes y grasas en agua usada como sistema de riego. Por su parte, Méndez *et al.* (2000) muestrearon suelos sometidos a riego por más de 30 años con aguas del río, revelando que el agua presentaba concentraciones de metales en el siguiente orden Fe>Pb>Mn>Cr>Cd. Saldaña *et al.* (2002) empleando pruebas de toxicidad en la evaluación de la calidad del agua del río Atoyac encontraron un coeficiente de correlación alto entre parámetros fisicoquímicos y toxicológicos, también encontraron

contaminantes patógenos y parasitarios. La Comisión Nacional de Agua reportó que los principales contaminantes de las aguas residuales del río Atoyac y sus afluentes son: materia orgánica, nutrientes (nitrógeno y fósforo), metales y microorganismos patógenos principalmente coliformes totales y coliformes fecales, que repercuten en la calidad microbiológica y fisicoquímica de la leche (CONAGUA, 2021).

Estudios como el de Castro-González *et al.* (2018) han analizado la calidad de diversos quesos y la leche de vacas alimentadas con forrajes irrigados con aguas residuales en Santa Ana Xalmimilulco, encontrando niveles altos de metales pesados como Ni, Cr, Cu, Zn, Pb y As, exhibiendo como la salud de la población infantil y consumidores de este tipo de leche se encuentra en alto riesgo por la ingesta de elementos carcinogénicos como el arsénico. La problemática que genera el agua del río Atoyac es preocupante y más porque en la comunidad de Santa Ana Xalmimilulco perteneciente al municipio de Huejotzingo, se ubican tres procesadoras de productos lácteos de las más importantes de esta cuenca lechera, que recolectan leche de explotaciones lecheras familiares de 15 municipios diferentes del Estado de Puebla, Tlaxcala y Michoacán.

2.5 Características de la leche

2.5.1 La leche: recurso primordial de la alimentación

La leche es la secreción natural de las glándulas mamarias y representa el primer alimento de sobrevivencia para los mamíferos hasta que madura su sistema digestivo (<https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/milk/>; Botelho, 2015). Físicamente es un líquido blanco natural, cuya composición y propiedades varían según los requerimientos específicos de cada especie. Es una mezcla compleja de lípidos, proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales (Spreer, 1998), que nutricionalmente está considerada como uno de los alimentos más completos para toda la población, resultando ideal para la dieta de niños, ancianos y enfermos.

Varios animales se utilizan para la producción de leche comestible: vacas, cabras, ovejas, búfalos, camellos; todos forman la base del comercio de productos lácteos en el mundo. Comparando los componentes más importantes de la leche entre algunos mamíferos (Cuadro 1), se observa que el contenido lactosa es mayor en la leche humana,

la de oveja tiene un mayor contenido de proteína, grasa y cenizas, mientras que la leche de vaca posee menores valores nutricionales en contenido graso. No obstante, por sus atributos sensoriales y disponibilidad, la leche de vaca es la más utilizada como alimento líquido en cualquier etapa de desarrollo humano (con una gran repercusión en la nutrición de los niños y ancianos) y como materia prima en la industria para obtener diversos productos destinados a la alimentación humana, industrial, farmacéutica entre otras (Hernández, 2010).

Cuadro 1. Composición de leche de distintas especies expresada en porcentaje (%)

Especie	Proteína	Grasa	Lactosa	Cenizas
Humana	1.0	3.8	7.0	0.2
Vaca	3.4	3.7	4.8	0.7
Cabra	2.9	4.5	4.1	0.8
Oveja	5.3	7.4	4.8	1.0

Fuente: Hernández (2010)

Cuando se habla de leche, normalmente es referida a la de vaca, para las otras especies de mamíferos se especifica a la hembra para diferenciarla; por tanto, una leche de calidad se concibe a aquella obtenida del ordeño de vacas sanas, bien alimentadas y mantenidas en condiciones de confort (González *et al.*, 2010). De acuerdo con Food and Drug Administration (FDA, 2012), la leche bronca o cruda es un alimento líquido que después de ser extraída de la ubre, no se ha sometido a ningún tipo de proceso térmico y de pasteurización ($\geq 40^{\circ}\text{C}$) para exterminar las bacterias patógenas. La calidad de la leche bovina es posible segmentarla en calidad fisicoquímica y calidad higiénico-sanitaria (Martínez-Vasallo *et al.*, 2017).

2.5.2 Calidad fisicoquímica

Físicamente la leche se refiere a un fluido de color opalescente a blanco, con sabor ligeramente dulce. Maza y Legorreta (2011) indican que los compuestos químicos disueltos o en suspensión le proporcionan ciertas propiedades como su viscosidad, densidad, índice de refracción, tensión superficial y el punto crioscópico; mientras que, los electrones o iones determinan otras propiedades como la conductividad y el pH.

Químicamente, la leche de vaca está compuesta principalmente por agua (85.3-88.7%), lactosa (3.8-5.3%), proteínas (2.3-4.4%), grasa (2.5 a 5.5%), 0.8% de minerales, 0.2% de vitaminas y 0.1% de enzimas (WingChing y Mora, 2013). Es fuente importante de vitaminas hidrosolubles y liposolubles como la riboflavina (vitamina B2), vitamina A (retinol), vitaminas B1, B3, B6, B12, BD, BE, minerales como el fósforo y calcio y en menor proporción se encuentra el potasio, zinc y yodo (Fernández *et al.*, 2015). En la leche bovina se pueden encontrar representados de todos los nutrientes esenciales, desde agua, proteínas, lípidos, sólidos no grasos, vitaminas, glúcidos, sales minerales, hasta enzimas. A continuación, se describe cada uno de ellos:

Agua: componente principal de la leche (87%), que la hace ser un alimento líquido, limitando su cualidad a ser muy energético, más aún si se le ha eliminado la grasa. Por ello, aunque tradicionalmente se considera un alimento bajo en azúcar, lípidos y proteínas, sorprende que tenga un mayor porcentaje de hidratos de carbono que otros ingredientes.

Proteínas: en la leche están presentes más de 40 proteínas (32 g/L), dentro de ellas la caseína que se encuentra en mayor proporción (70-80%), así como lactoalbúminas y otras que proveen de aminoácidos esenciales; debido a que estas proteínas se encuentran en cantidades mayores tiene gran aplicación en la industria alimentaria (Valero-Leal *et al.*, 2012). Estrella (2016) indica que los contenidos de proteína, suelen ser más altos en la temporada de invierno y más bajos en verano, debido a la disponibilidad y calidad del alimento.

Lípidos: estos constituyen cerca de un 4% de la leche, cuya composición es muy variada. En la leche de vaca se han encontrado más de 400 ácidos grasos distintos, haciéndola muy compleja. Los triglicéridos o grasas constituyen hasta un 98%, en estos sobresalen los saturados (62%), entre ellos los ácidos cáprico y butírico, relevantes por brindar el sabor característico a la crema y mantequilla; por el contrario, los ácidos grasos no saturados entre los que se encuentra el oleico, linoleico y linolénico se encuentran en menor cantidad (33%), pero son de importancia por ser benéficos a la salud. La cantidad de grasa presente en la leche varía de acuerdo a la estación del año, siendo otoño e invierno las épocas con contenidos superiores; por otra parte, la raza, edad, estado

nutricional de la vaca, relación forraje-concentrado, estado de salud, además de otros factores externos como ambientales, hora del ordeño y tiempos de lactancia (Vásquez, 2018).

Sólidos no grasos (SNG): denominados también sólidos del suero de la leche, están determinados por la concentración de proteínas, carbohidratos, minerales y cenizas (Revilla, 1982); este sólido está directamente relacionado con el contenido de proteína y lactosa, ya que a mayor contenido de estos repercute en el contenido de SNG dado que éste será mayor; los SNG también están relacionados directamente con la densidad de la leche y es indicador para identificar la adulteración de dicho fluido (Pérez, 2011).

Vitaminas: en la leche se encuentra vitaminas tanto liposolubles como hidrosolubles, dentro de las primeras encontramos a las vitaminas A, D, E y K, y en las hidrosolubles están la tiamina, niacina, ácido pantoténico, biotina, piridoxina, ácido fólico y cobalamina. Es muy elevada la cantidad de riboflavina y, en menor cuantía, la de las vitaminas, A, B1 y B12. Sin embargo, las cifras de vitaminas C y D son relativamente bajas (Valdivia, 2017). Su cantidad varía considerablemente en función de la alimentación y la salud animal, la raza, el estado de lactación, la época del año, entre otros (Caravaca *et al.*, 2003).

Glúcidos: la lactosa generalmente conocida como el azúcar de la leche es el principal glúcido de este fluido, este carbohidrato representa el 5% de los sólidos, es el menos variable y el que le da su característico sabor dulce. El contenido de lactosa depende de diversos factores y disminuyen por infección en la glándula mamaria y en la etapa final de la lactación. En el transcurso de esta aumenta gradualmente, esto provoca que la leche tenga un elevado contenido de carbohidratos, lo que la convierte en un excelente medio para el crecimiento de microorganismos, esencialmente bacterias, que repercuten en su calidad higiénica; a este compuesto también se le relaciona con el volumen de producción, de manera que la concentración de lactosa es inversamente proporcional a la cantidad de minerales (FAO, 2019).

Minerales: las materias minerales se encuentran como sales solubles o como fase coloidal insoluble, en mayor proporción se encuentran: calcio, potasio, fósforo, magnesio,

cloro, citratos, azufre, carbonatos y silicatos, mientras que los de menor concentración son: zinc, cobre, aluminio, hierro, zinc, cobalto, manganeso, yodo, boro, níquel, plomo, cromo, arsénico, selenio, flúor, molibdeno y bromo (UNAD, 2011). El contenido aceptable de este compuesto es de 7 a 8.5 gramos por litro de leche (Alais, 1985). La determinación de minerales es importante para despistaje de fraudes o alteraciones de la leche; estos se forman por los metales que son ingeridos por el ganado mediante la alimentación (Aranceta y Serra, 2005).

Enzimas: la leche contiene una diversidad importante de estas proteínas con funciones muy específicas, entre ellas: fosfatasa alcalina, lisozima, lactoperoxidasa, catalasa, lipasa. Estas tres últimas inhiben el crecimiento bacteriano. En general, las reacciones y transformaciones que producen son tan importantes que regulan la composición y propiedades de la leche. Son muy sensibles a los cambios de pH y temperatura, por lo que se inactivan rápidamente debido a las temperaturas elevadas, lo que permite evaluar la calidad y manipulación del producto (Ramírez, 2008).

2.5.3 Calidad higiénico-sanitaria

La leche cruda, por sus características fisicoquímicas y de composición, constituye un medio que favorece el crecimiento de diversos microorganismos que influyen en la calidad de la misma, no obstante, la leche destinada para el consumo humano y/o para la producción de derivados lácteos, debe contener una baja carga microbiana y estar libre de patógenos, sedimentos y compuestos dañinos (Mariscal e Ibañez, 2013).

De acuerdo con Mamani (2010), la calidad higiénica en la leche es una herramienta que ayuda a identificar el grado de contaminación de este fluido por la presencia de agentes extraños a su naturaleza. A la calidad higiénica es posible segmentarla en física, química y microbiológica; la calidad higiénica física se refiere a partículas extrañas, principalmente residuos fecales u otros como madera, plásticos, etc., (Codex Alimentarius, 2004); la calidad higiénica química aborda a los agentes tales como hormonas, medicamentos veterinarios, principalmente antibióticos utilizados en la cría del animal, sustancias que el ganado suele ingerir en el alimento, donde pueden haber residuos de agroquímicos y partículas de detergentes o desinfectantes utilizados en las

limpieza. La calidad higiénica microbiológica hace énfasis a los microorganismos presentes en este fluido, los cuales son, por mucho, la principal causa de enfermedades derivada de la contaminación directa del animal hacia la leche o indirectamente por prácticas ineficientes de manipulación durante el proceso de ordeño (Rodríguez y Magro, 2008).

La calidad higiénica microbiológica se evalúa a través de la determinación de la carga de microorganismos presentes en la leche, la cual según Bravo (2004), está constituida por dos grupos de microorganismos de relevancia mundial, con especificaciones microbiológicas tomadas en cuenta para la aceptación o rechazo de este líquido; el primero lo conforman los microorganismos indicadores como los Organismos Coliformes Totales (OCT), Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), Mohos y Levaduras, también por *E. coli* y *S. coagulans* positivos (*S. aureus*) (Olivas y Alarcón, 2012). Otro grupo relevante son los microorganismos patógenos entre los que se encuentran a *Listeria spp.*, *Salmonella spp.* por citar los más importantes (Lejeune y Rajala, 2009). La llegada de estos microorganismos a la leche puede estar relacionada con la salud del animal y por factores de manejo y/o exposición, son causantes de infecciones e intoxicaciones e indican un riesgo potencial para el consumidor (Mataix, 2013); por lo tanto, no deben estar presentes en ningún alimento, debido a la patogenicidad de estos.

En seguida se describen los dos grupos de microorganismos presentes en la leche bronca

i) Microorganismos indicadores

Organismos Coliformes Totales: pertenecen al grupo de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, en este se incluyen algunas bacterias patógenas generadoras de daños a la salud del consumidor. Estos microorganismos se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente y forman parte de la flora intestinal de animales de sangre caliente. Las fuentes de carbono como la leche, la lactosa son un suministro óptimo para su desarrollo. Bravo (2004) señala que la temperatura idónea para su crecimiento oscila entre los 35 y 37°C, en presencia de oxígeno y producen gas. El conteo de CT en la

leche es un indicador de deficientes o nulas prácticas de limpieza durante el proceso de obtención de este fluido, principalmente en el ordeño y/o almacenaje.

Bacterias Mesófilas Aerobias: este tipo incluye bacterias de diferentes formas y agrupaciones desde bacterias sacarolíticas, lipolíticas, proteolíticas, hasta patógenas; crecen favorablemente en temperaturas que van de 20 a 45°C y forzosamente necesitan la presencia de oxígeno; las BMA indica la presencia de microorganismos patógenos en la leche, deficientes condiciones higiénicas y una baja vida en anaquel (Bravo, 2004).

Hongos y levaduras: los hongos son organismos filamentosos, su principal aplicación es para la producción de derivados lácteos; no obstante, la presencia en exceso de estos microorganismos junto con una elevada carga bacteriana influye de manera negativa en el deterioro de la leche (Orberá, 2004), indican un riesgo para la salud del consumidor con la producción de toxinas principalmente por hongos del género *Fusarium*, *Penicillium* y *Aspergillus*; pese a que las esporas no son resistentes a la pasteurización, si la leche cruda no es sometida a ningún tratamiento térmico para su consumo o para la producción de derivados lácteos, puede causar daños en la salud pública (Salas, 2008). Por su parte las levaduras, son células ovaladas, esféricas y voluminosas que pertenecen al género *Cándida*. Producen gas y son las causantes de producir espuma en la leche, fermentar la lactosa y formar alcohol; si bien es cierto que estos microorganismos representan un riesgo menor que las bacterias, pueden generar problemas importantes en la leche y modificar sus características organolépticas (Alis, 1985).

E. coli: su presencia indica contaminación fecal, es una bacteria bacilo gram negativa, anaerobia facultativa, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*. Nutricionalmente no es rigurosa, se encuentra en el ambiente, crece a pH 6-7 a 37°C, es fermentadora de glucosa, fructosa y sacarosa, formadora de indol y sulfuro de hidrógeno; comúnmente llega a la leche debido a malas prácticas de higiene, principalmente a deficientes prácticas de limpieza en el ordeño. Se ha identificado diferentes cepas patogénicas como las *enteroinvasivas* (EIEC), *enterotoxigénicas* (ETEC), *enteropatogénico* (EPEC) y *enterohemorrágicas* (EHEC). Estas últimas de la variedad O157 H7 es la más peligrosa dado a que la producción de una verotóxina conduce a la muerte celular, lo que provoca, daño renal llamado también Síndrome Urémico Hemolítico y su desenlace es la muerte

(Espinoza, 2015). La dosis infectiva de dicho patógeno es de 10-100 UFC (Salas, 2008). Romero (2007) indica que esta bacteria en ocasiones se restringe a colonizar mucosas intestinales, lo que ocasiona infecciones de tipo urinario y/o enfermedades diarreicas.

S. aureus: son cocos gram positivos anaerobios facultativos de la familia *Staphylococcaceae*. Las condiciones idóneas para su crecimiento son entre 4 a 48°C, aunque la temperatura óptima es a 37°C. La presencia de este microorganismo en la leche tiene dos significados, por un lado, exhibe la contaminación a partir de los manipuladores, el escaso proceso de limpieza en el ordeño y desinfección de materiales (Pilamunga, 2017); por otro lado, demuestra el estado de salud en el que se encuentra el ganado, particularmente la ubre, por ello es un indicador de mastitis y es una prueba asociada a conteo de células somáticas. Esta bacteria produce al menos cinco toxinas sumamente resistentes a tratamientos térmicos, cuando la leche posee una carga por encima de 10⁵-10⁷ UFC (>5 Log₁₀ UFC/mL), estos metabolitos se convierten en los causantes de intoxicaciones e infecciones en el torrente circulatorio (Zendejas-Manzo *et al.*, 2014).

ii) *Microorganismos patógenos*

En este grupo es posible encontrar a *Listeria spp.* y *Salmonella spp.*, por mencionar los más importantes: son los causantes de infecciones e intoxicaciones (Mataix, 2013).

Listeria spp.: son bacilos gram positivos no esporulados con efecto patogénico, considerado como zoonótico, cuyos reservorios son los rumiantes y seres humanos. Estos llegan a la leche por dos vías, la primera por contaminación en el proceso de ordeña y la segunda pudo ser agente causal de enfermedad en el animal y ser excretado en este líquido; su capacidad de infectar depende de varios factores como el tipo de alimento, la virulencia de la cepa y la vulnerabilidad del consumidor, enfermándolo de Listeriosis; Los grupos más susceptibles a la enfermedad son los recién nacidos, las mujeres embarazadas, los ancianos, los pacientes con cáncer o SIDA, los alcohólicos y otras personas con inmunidad celular debilitada. Por lo anterior, este microorganismo se ha convertido en un problema de salud pública, y aunque la incidencia está entre 4 y 8

casos por cada 1,000,000 de personas, la tasa de mortalidad es alta en comparación con otras Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) (Torres *et al.*, 2004).

Salmonella spp.: son bacilos gram negativos de la familia *Enterobacteriaceae*. Se caracterizan porque poseen flagelos fimbrias y pilis, atributos que facilitan la adherencia, no tienen capsula, y pueden ser aerobios o anaerobios facultativos. Habitan en el ambiente, por ello llegan fácilmente a la leche si existe algún descuido higiénico durante su obtención, además sobreviven en condiciones adversas como los tratamientos térmicos, refrigeración y congelación.

Este agente muestra preferencia por el tracto digestivo y torrente sanguíneo; es el causante de diferentes infecciones intestinales conocidas como salmonelosis (Espinoza, 2015).

2.6 Factores que afectan la calidad de la leche bovina

De acuerdo con Rodríguez y Magro (2008) existen una serie de factores que pueden influir directamente en la calidad fisicoquímica de la leche, algunos asociados con el animal, entre ellos la raza, nivel de producción, la etapa de lactancia, edad y estado de salud. Por ejemplo, la raza Jersey en comparación con las otras posee un importante contenido de grasa y proteína (4.64% y 3.73% respectivamente). Otro elemento importante es el nivel productivo, el ganado de la raza Holstein son más productivos a diferencia de otros; el número de lactación y edad también repercuten de manera significativa en algunos contenidos fisicoquímicos, como la proteína y grasa, que son superiores en el inicio en la etapa del calostro y disminuyen al final. El estado sanitario de los animales también tiene un efecto significativo, se ha encontrado que ganado con mastitis muestran una disminución en el contenido de grasa lo cual se debe a la permeabilidad.

Otros factores como las condiciones de manejo del ganado, la alimentación y con ello, la utilización del agua suministrada para regar los cultivos forrajeros, también el ordeño y alojamiento, afectan en el contenido fisicoquímico de la leche; asimismo, los factores relacionados con el ambiente, estación del año y clima; en la temporada de otoño e

invierno es común que los contenidos aumenten, esto es atribuible a los diferentes tipos de alimentación y nutrición del ganado.

Por otra parte, los microorganismos pueden llegar a la leche por al menos cuatro vías diferentes: *i) Por la vía de suministro de agua:* que es utilizada para satisfacer las necesidades hídricas de los cultivos forrajeros y del animal; *ii) Por la vía mamaria:* en esta las bacterias son adheridas a la piel de la ubre infectando al animal, después del ordeño entran *S. aureus*, *Streptococcus*, entre otros, mediante el esfínter del pezón; *iii) Por la vía descendente o hematógena:* en esta el animal es infectado por microorganismos causando enfermedades sistémicas, estos se movilizan principalmente por la sangre y por los capilares mamaros para ser excretados en la leche (*Salmonella spp*, *Listeria spp*, *Brucella spp.*); y, *iv) Contacto con superficies o utensilios contaminados:* es otro medio por el cual se puede dar la contaminación en la leche, así como el contacto directo con los factores ambientales, por ello las condiciones higiénicas en las explotaciones lecheras repercuten de manera significativa en la calidad microbiológica de la leche, de tal forma que a medida que mayores sean los cuidados en la obtención de la leche, la salud del ganado, la inocuidad en las explotaciones lecheras con corrales libres de lodo, estiércol y humedad, áreas y equipo de ordeño limpias, menores serán las cargas microbianas en este líquido (Reyes y Soltero, 2004).

2.7 Adulteración de la leche: condiciones y factores que la propician

De acuerdo con la Ley General de Salud (1998), “un producto se considera adulterado cuando su naturaleza o composición no correspondan con lo que se etiqueta, anuncia, expende, suministra, o cuando no corresponda a las especificaciones de su autorización; o haya sufrido tratamiento que disimule su alteración, se encubran defectos en su proceso, o en la calidad sanitaria de las materias primas utilizadas”. La adulteración de la leche generalmente se realiza agregando materiales o elementos inferiores y más baratos, con ello, los proveedores aumentan su margen de ganancia por la venta de leche a través de la dilución, extracción de componentes valiosos como la grasa, y/o adición de aditivos.

La adulteración de la leche con agua es la forma más común en muchos países y obedece a diferentes necesidades, entre ellas, la alta demanda y la oferta limitada de leche como en China (Gale y Hu, 2007); pero la más diseminada, es para aumentar el volumen y obtener mayores ingresos (Bernal *et al.*, 2007), lo cual ocasiona que los componentes se diluyan y exista la necesidad de agregar otros adulterantes que los sustituyan o enmascaren. Bajo estos procesos indebidos, la leche puede ser adulterada hasta el punto de que quede con poco valor nutritivo (Lateef, 2004). Por otra parte, también pueden provocarse daños nocivos en la salud de los consumidores por la adición intencional de sustancias no permitidas, algunos con efectos tóxicos como la melanina (Lam *et al.*, 2008) que pueden conducir a enfermedades devastadoras (Ayub *et al.*, 2007). Una dilución o adición de otros compuestos, también puede afectar la calidad tecnológica para su transformación en los talleres o empresas queseras.

Para aumentar el contenido de grasa en leche adulterada con agua, puede utilizarse la grasa vegetal o animal (Bernal *et al.*, 2007) o aceite vegetal (Barham *et al.*, 2014). Para confundir la proteína o componente nitrogenado, se puede utilizar urea (Zhao y Zhang, 2019) acompañada de productos tensoactivos para hacerla espumosa (Sadat *et al.*, 2006); por otra parte, para falsificar el contenido de proteína puede adicionarse un compuesto llamado melamina (Yong-Ning *et al.*, 2009). Para simular la lactosa, el azúcar es fuente barata de edulcorante, por lo tanto, se podría suponer que el azúcar de caña se añade diluida a la leche cruda para mejorar su sabor (Chanda *et al.*, 2012).

También la leche es adulterada con almidón, harina de trigo y la harina de arroz, que sirven para aumentar el contenido de sólidos no grasos (SNG) y viscosidad de la leche. Otros componentes son la sosa cáustica, el carbonato de sodio y el bicarbonato, para neutralizar el pH y la acidez de la leche (Fakhar y Law Walker 2006; Afzal 2011). Por otra parte, la adición de peróxido de hidrógeno es muy común para minimizar el crecimiento microbiano y controlar la degradación de la leche (Paixao y Bertotti 2009), aunque se perjudican los microorganismos beneficiosos para la elaboración de quesos y sus derivados.

Adulterantes con efectos nocivos que se adicionan a la leche

- a) El carbonato que se le adiciona a la leche puede producir problemas que incluyen úlcera gástrica, diarrea, úlcera de colon y alteraciones electrolíticas (Haasnoot, 2004).
- b) El peróxido de hidrógeno altera los antioxidantes en el cuerpo; distribuyendo la inmunidad natural, por lo tanto, aumentando el envejecimiento (Haasnoot, 2004).
- c) El cloruro de sodio en la leche altera el equilibrio ácido base y el pH de la sangre en el cuerpo (Rideout *et al.*, 2008; Ayub *et al.*, 2007; Gwin *et al.*, 2009; See *et al.*, 2010; Mota *et al.*, 2003; Saad *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2009).
- d) El amoníaco en la leche puede causar regresión, pérdida de la inmunidad adquirida, problemas renales y sensoriales disturbios (Rideout *et al.*, 2008; Ayub *et al.*, 2007; Gwin *et al.*, 2009; See *et al.*, 2010; Mota *et al.*, 2003; Saad *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2009).
- e) La formalina provoca vómitos, diarrea y dolor abdominal. También afecta los nervios ópticos y causa ceguera y es uno de los carcinógenos potentes (Rideout *et al.*, 2008; Ayub *et al.*, 2007; Gwin *et al.*, 2009; See *et al.*, 2010; Mota *et al.*, 2003; Saad *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2009).
- f) El ácido bórico causa náuseas, vómitos, diarrea, daño renal, insuficiencia aguda del sistema circulatorio e incluso la muerte (Rideout *et al.*, 2008; Ayub *et al.*, 2007; Gwin *et al.*, 2009; See *et al.*, 2010; Mota *et al.*, 2003; Saad *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2009).
- g) El ácido benzoico produce efectos adversos como asma, urticaria, acidosis metabólica y convulsiones en personas sensibles (Rideout *et al.*, 2008; Ayub *et al.*, 2007; Gwin *et al.*, 2009; See *et al.*, 2010; Mota *et al.*, 2003; Saad *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2009).
- h) La melamina, un producto químico industrial causa problemas del tracto urinario en bebés y niños (Haasnoot *et al.*, 2004).

Otros adulterantes para enmascarar la dilución de la leche

- i) El almidón se utiliza como espesante, aumentando el contenido sólido de la leche adulterada (Kasemsumran *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2013b; Zhang *et al.*, 2014).
- j) El citrato se utiliza como estabilizador y conservante, con el objetivo de evitar la precipitación de nutrientes (Kasemsumran *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2013b; Zhang *et al.*, 2014).
- k) El formaldehído se utiliza para conservar leche adulterada de la contaminación microbiana, ya que la reducción del valor nutricional debido a la adición de agua aumenta este riesgo (Kasemsumran *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2013b; Zhang *et al.*, 2014).
- l) La sacarosa se utiliza para restaurar los valores analíticos normales de la leche adulterada en pruebas fisicoquímicas y para mejorar sus propiedades sensoriales (Kasemsumran *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2013b; Zhang *et al.*, 2014).

En Brasil, recientemente se produjeron dos grandes escándalos de adulteración de leche Reportado por la Policía Federal. En 2007, la llamada "Operação Ouro Branco" (Operación Oro Blanco) denunció el uso de sodio citrato, hidróxido de sodio, cloruro de sodio, sacarosa, fosfatos, carbonatos, bicarbonatos y agua oxigenada para corregir los defectos de la leche, tales como alta acidez y crecimiento microbiano, y para aumentar su volumen (Hoorfar, 2012). En 2013, la "Operação Leite Compenado" (Operación de Leche Compensada) reveló la utilización de fertilizantes como la urea y formaldehído para enmascarar la adición de agua en la leche.

Para la ganadería lechera del país, una de las condiciones que afecta su estabilidad económica, es la importación principalmente de leche en polvo, que ocasiona una disminución del precio nacional de la leche y con ello la desmotivación de los ganaderos lecheros por seguir produciendo y si lo hacen, se ven orientados a buscar estrategias para incrementar rendimiento y ganancias. Algunos productores adulteran la leche para disimular la falta de higiene, aumentar el rendimiento y para sacar mayor provecho económico. Por ello, en los últimos años estudios como el de Montes (2021), Hernández-Vázquez (2020) y García-Martínez *et al.* (2014) se han enfocado a realizar análisis de

plataforma, fisicoquímicos y microbiológicos en este líquido para asegurar la calidad de la misma y así minimizar el riesgo de contaminación y enfermedades transmitidas por microorganismos patógenos a los alimentos (ETA'S).

En general se divulga poca información sobre las características de la leche producida y su calidad con respecto a las normas nacionales e internacionales. Por lo tanto, los programas de capacitación son destinados en forma indiscriminada, sin tomar en cuenta las necesidades específicas de los productores. Por otro lado, los estudios sobre las características de la leche y su relación con las prácticas de manejo en distintas partes del mundo (Gwin *et al.*, 2009) plantean un tratamiento estadístico univariado que no permite la identificación de grupos problemáticos, dificultando la implementación de estrategias. Sin embargo, existen técnicas estadísticas multivariadas como el análisis cluster, que permite clasificar los datos en grupos homogéneos y diferenciarlos con base en la heterogeneidad entre grupos (Álvarez-Fuentes *et al.*, 2012). Esta clasificación genera información que facilita la identificación de grupos específicos y la orientación de medidas preventivas o correctivas con el objetivo de mejorar la calidad de la leche producida.

La importancia de conocer la calidad de la leche en los sistemas lecheros de los países, radica en que a partir de este conocimiento se pueden tomar decisiones que afectarán la gestión de la calidad en toda la cadena agroindustrial con el objetivo de mejorarla. La calidad estándar se refiere a patrones industriales y a la adecuación del producto con las normas y reglamentos vigentes; en otras palabras, está vinculada con normas específicas sobre las condiciones de producción, comúnmente aceptadas a nivel nacional e internacional (Mota *et al.*, 2003).

Tal adulteración crea gran preocupación por toda la cadena productiva. Debido a las sofisticadas prácticas de adulteración de leche que han sido adoptadas por la industria, productores y transportadores, es necesario desarrollar tecnologías para identificar dicho fraude. Sin embargo, los métodos actuales empleados para este propósito generalmente tienen baja capacidad analítica y rendimiento, dependiendo en gran medida del trabajo manual, y requieren el uso de reactivos (Harding, 1995). Estas características obstaculizan la implementación del monitoreo de programas a gran escala, lo que

dificulta el análisis de todos los adulterantes en la leche de forma rutinaria. Otra barrera es la identificación de la adulteración, se deben desarrollar metodologías para identificarlo tan pronto se detecte (Cassoli, 2010).

2.8 Normas y análisis de calidad de la leche cruda

En el país se cuenta con la Norma Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2012, Sistema producto leche – alimento – lácteo – leche cruda de vaca – especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba, que establece las especificaciones tanto fisicoquímicas (Cuadro 2) como microbiológicas (Cuadro 3) que debe cumplir la leche cruda para su consumo y/o procesamiento.

Cuadro 2. Especificaciones fisicoquímicas para leche cruda de vaca

Parámetro	Especificación	Método de Prueba
Densidad a 15°C (%)	1.0295 mín.	NMX-F-737-COFOCALEC-2010
Grasa butírica (%)		
Clase A	≥ 3.2	NOM-155-SCFI-2003
Clase B	3.1 mín.	
Clase C	3.0 mín.	
Proteínas totales (%)		
Clase A	≥ 3.1	NOM-155-SCFI-2003
Clase B	3.0 a 3.09	
Clase C	2.8 a 2.99	
Caseína (%)	2.3 mín.	NOM-155-SCFI-2003
Lactosa (%)	4.3 a 5.0	NOM-155-SCFI-2003
Sólidos no grasos (%)	8.3 mín.	NOM-155-SCFI-2003
Punto Crioscópico °C	Entre -0,515 y -0,536	NOM-155-SCFI-2003

Mín.=mínimo.

Fuente. NMX- F-700-COFOCALEC

Para verificar las especificaciones fisicoquímicas y sanitarias establecidas en la norma mexicana anteriormente citada, se deben aplicar los métodos de prueba señalados en el Cuadro 2 y 3.

A nivel laboratorio es posible desarrollar diversos análisis para conocer la composición fisicoquímica y microbiológica de la leche (Arguello, 2017). A continuación, se describen las pruebas más importantes que se le deben realizar a la leche cruda.

Análisis de plataforma: son pruebas que utilizan como criterio para determinar de la calidad de la leche, dentro de estos análisis los más importantes que se consideran son acidez, densidad, agua, pH, prueba de ebullición, prueba de alcohol y prueba de reductasa. Dichas pruebas proveen la información necesaria para poder dar un criterio acertado del destino de esa leche, también sirven para verificar si existe alguna posible alteración o adulteración.

Cuadro 3. Especificaciones sanitarias para leche cruda de vaca

Parámetro	Especificación	Método de Prueba
Acidez (como ácido láctico) (%)	0.13 a 0.16	NOM-155-SCFI-2003
Prueba de alcohol al 72 % v/v	Negativa	Véase inciso 1 del Apéndice Normativo A
Materia extraña	Libre	Véase inciso 2 del Apéndice Normativo A
Inhibidores	Negativo	NOM-243-SSA1-2010
Aflatoxina M1 µg/kg	0.5 máx.	NOM-243-SSA1-2010
Bacterias Mesofílicas Aerobias UFC/mL		
Clase 1	< 100 000	NOM-243-SSA1-2010
Clase 2	101 000 a 300 000	
Clase 3	301 000 a 599 000	
Clase 4	600 000 a 1 200 000	
Células Somáticas CS/mL		
Clase 1	< 400 000	Véase inciso 3 del Apéndice Normativo A
Clase 2	401 000 a 500 000	
Clase 3	501 000 a 749 000	
Clase 4	750 000 a 1 000 000	

Mín.=mínimo.

Fuente. NMX- F-700-COFOCALEC

En cuanto *acidez*: indica la acidez de la leche fresca expresada como contenido de ácido láctico, comúnmente la leche no contiene ácido láctico; no obstante, la lactosa sufre un proceso de fermentación por la presencia de bacterias. formándose ácido láctico y otros elementos que aumentan la acidez titulable, por ello esta determinación es una fuente importante de información sobre la calidad sanitaria del producto, su determinación se realiza a través de procedimientos normalizados (Arguello, 2017).

Densidad: es la relación entre la densidad del agua destilada y la densidad de la leche, ambas a una cierta temperatura, ésta se determina a través del método del lactodensímetro o el método del picnómetro (Arguello, 2017).

Agua añadida a la leche: Es el punto de congelación o crioscopia, es una herramienta que permite determinar adulteraciones en la leche por la adición de agua (Gómez y Mejía, 2015).

pH: es una unidad que reporta el grado de acidez o alcalinidad de la leche, los valores óptimos de pH en este líquido oscilan de 6.5 a 6.7 cuya variación se atribuye a la presencia de microorganismos y compuestos químicos básicos, su cuantificación se realiza a través de dos métodos, uno por colorimetría utilizando papeles indicadores y por métodos electrométricos con potenciómetros que son más eficaces (Universidad del Zulia, 2003).

Prueba de ebullición: La prueba que permitió comprender la capacidad industrial de la leche se basa en que el calor generado por la descomposición de la lactosa actúa como catalizador de la precipitación de la caseína para formar ácido láctico.

Prueba del alcohol: en la leche fresca se encuentra una acidez de 13-20 ml de NaOH 0.1 N/100 ml y un pH de 6.5-6.7; valores superiores de la acidez, con la consiguiente disminución de pH, se debe por lo general a la descomposición bacteriana propia de leches de menor calidad, esta característica puede identificarse mezclando la leche con igual volumen de etanol de 68%, debido a que el alcohol a esta concentración existe floculación o coagulación del producto (es decir la caseína se precipita) cuando la acidez es igual o superior a 22.5 ml NaOH 0.1N/100 ml. Cuando la prueba del alcohol es positiva indica también poca estabilidad de la leche al calor, esta prueba es útil para la detección de leche anormal como calostros o leches alteradas en el balance salino, ocasionando que sean más susceptibles a la congelación.

Prueba de reducción: en la leche existen microorganismos capaces de producir enzimas reductasas con la capacidad de modificar el potencial óxido-reducción de este fluido, su presencia se demuestra al añadir azul de metileno a la leche y la mezcla se incuba a 37°C, que es decolorada al migrar de la forma oxidada a la forma reducida, la cantidad de población bacteriana es directamente proporcional a la velocidad a la que se produce el cambio de color de la sustancia (García *et al.*, 2014).

Análisis fisicoquímicos: sirven para determinar las características físicas y químicas de la leche, entre los más importantes se encuentran: *proteína:* es uno de los componentes más importantes de la leche; el método Kjeldahl es frecuentemente utilizado para su determinación, el cual se realiza mediante una digestión de las proteínas y otros elementos orgánicos; el nitrógeno orgánico total es convertido en sulfato de amonio; el producto de la digestión es neutralizada con una base para su posterior destilación; el destilado es recogido en una solución de ácido bórico; los aniones de borato que se forman son titulados con HCl o H₂SO₄ para cuantificar el nitrógeno presente en la leche (Santiago, 2011). *Grasa:* para determinar el contenido de grasa de la leche se debe saponificar con una solución de KOH y acidificada con H₃PO₄ para dejar libres los ácidos grasos, insolubles y solubles en agua; los ácidos grasos son separados por filtración; el ácido butírico es determinado como ácido libre mediante cromatografía de gases utilizando estándar interno (SE, 2003). *Sólidos No Grasos:* un método muy usado en la determinación de SNG es el método lactométrico (Universidad del Zulia, 2003). *Lactosa:* es posible determinarla mediante el método de Lane Eynon (SE, 2003).

Análisis microbiológicos: la mala manipulación durante la ordeña, almacenamiento y transporte de la leche provoca afectaciones en la calidad de la misma aumentando la formación de unidades microbianas, reduciendo la vida útil de la materia prima, así como aumenta el riesgo de afectar la salud humana y la transmisión de microorganismos patógenos, por ello es importante realizar análisis microbiológicos, para reducir estos riesgos. Dentro de estos análisis los más importantes son Coliformes Totales, Mesófilos Aerobios, Hongos y Levaduras, así como *E. coli*, *Salmonella spp*, *Listeria spp*, *S. aureus*.

III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1 Objetivo general

Evaluar las características físicoquímicas y microbiológicas de la leche que se produce en sistemas familiares de la cuenca del río Atoyac en los estados de Puebla y Tlaxcala, e identificar una posible adulteración al comercializarse con empresas queseras.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar las características físicas en términos de acidez, densidad, agua, pH, prueba de ebullición, prueba de alcohol y prueba de reductasa.
- Determinar la composición físicoquímica de la leche bronca en términos de contenido de proteína, grasa, lactosa, minerales, sólidos no grasos y lactosa.
- Cuantificar la carga microbiológica de la leche bronca tanto los microorganismos indicadores: coliformes totales, bacterias mesófilas aerobias, *E. coli*, *S. aureus*, mohos, levaduras, y agentes patógenos como *Listeria spp.* y *Salmonella spp.*
- Identificar elementos extraños adicionados a la leche, con efectos adulterantes

3.3 Hipótesis general

La leche bronca producida tradicionalmente en sistemas familiares de la cuenca lechera del río Atoyac es apta para pasteurizar y no existe adulteración, su composición físicoquímica y microbiológica cumple con los parámetros establecidos en las normas vigentes.

3.4 Hipótesis específicas

- En la leche bronca producida tradicionalmente en sistemas familiares de la cuenca lechera del río Atoyac no existe adulteración y es apta para pasteurizar y elaborar diversos productos lácteos.

- La calidad microbiológica de la leche bronca producida tradicionalmente en las explotaciones familiares de la cuenca del Río Atoyac es homogénea y cumple con los parámetros establecidos por las normas.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Zona de estudio

La presente investigación se realizó en explotaciones lecheras de tipo familiar, ubicadas en la cuenca del río Atoyac en los estados de Puebla y Tlaxcala, que forman parte de la cartera de clientes de intermediarios que colectan leche para entregarla a tres empresas queseras ubicadas en Santa Ana Xalmimilulco, Huejotzingo, Puebla. En esta región, tradicionalmente la leche es colectada por intermediarios, llamados “boteros”, que hacen tratos de palabra con los productores para que todas las mañanas recuperen la leche de las dos ordeñas (tarde y mañana). Ellos la entregan a los transformadores, quienes son empresas queseras donde se procesan en promedio 30,000.00 litros diarios para elaborar quesos frescos, como queso Oaxaca, Panela y Ranchero. En dos de ellas también producen quesos semi maduros que distribuyen local y regionalmente.

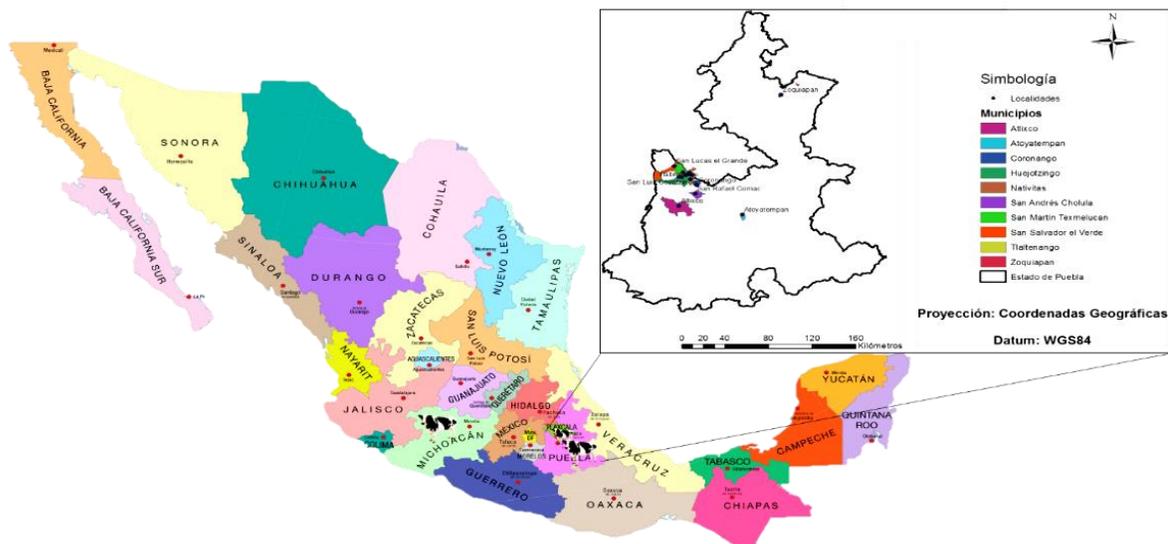
Geográficamente se encuentran entre los paralelos 19° 06' y 19° 16' de latitud norte, los meridianos 98° 20' y 98° 38' y a una altitud de 2,250 msnm; el clima prevaeciente es templado subhúmedo con lluvias en verano, con temperatura promedio de 15.6°C y una precipitación de 824 mm anuales. Las explotaciones mayoritariamente cuentan con menos de 20 vacas de la raza Holstein, alimentadas con forrajes (alfalfa y maíz) de corte, producidos en pequeñas áreas de riego, esquilmos agrícolas y alimentos balanceados.

4.2 Número de muestras

Para los análisis de plataforma y fisicoquímicos se muestrearon 264 unidades lecheras de producción familiar pertenecientes a 12 municipios de la región Centro-Oeste del estado de Puebla y Sur del estado de Tlaxcala, excepcionalmente se consideró un municipio de Michoacán, cuya producción es acaparada por las tres procesadoras de estudio. En la Figura 4 se muestra la representación gráfica de los tres estados y

municipios donde se acopia leche. Para la cuantificación de la carga microbiana sólo se analizaron 34 muestras, correspondientes a aquellos productores que mostraron buena disposición y autorizaron que sus muestras se procesaran, esto debido a que la mayoría carecen de buenas prácticas de manejo y desconfiaron a ser amonestados por los acaparadores.

Figura 4. Ubicación geográfica de municipios que suministran leche a las procesadoras de estudio



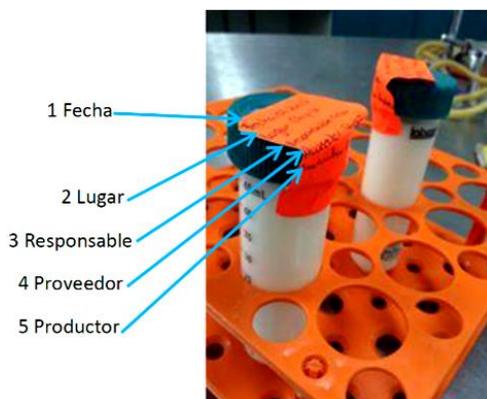
(Fuente: Elaboración propia)

4.3 Obtención de las muestras

La recolección de las muestras se realizó en el periodo de febrero-abril del año 2016, consistió en coleccionar por duplicado 100 mL de leche cruda de la ordeña de la mañana; la muestra fue tomada del contenedor donde se deposita la producción total de cada unidad de producción familiar (UPF), es decir una mezcla compuesta. Para obtener una muestra representativa, previamente se mezcló la leche con un homogeneizador de 52 puntos, haciendo movimientos circulares por un minuto; las muestras se depositaron en tubos Dorninc estériles y se trasladaron en una hielera a una temperatura de 4-8 °C para sus análisis correspondientes.

Después de la toma de muestra y transportada al laboratorio se verificó la identificación de las mismas, las cuales contuvieron los siguientes datos: fecha, lugar, nombre del responsable, proveedor y productor con la etiqueta colocada entre la tapa y el cuerpo del frasco, evitando que la muestra sea alterada o violada de acuerdo a la NOM-109-SSA1-1994 (Figura 5).

Figura 5. Identificación de la muestra



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Una vez colectadas las muestras, se procedió a realizar por triplicado los análisis fisicoquímicos de 264 muestras, en el laboratorio de vida de anaquel de la Universidad Tecnológica de Huejotzingo (UTH). Las pruebas de laboratorio se llevaron a cabo en tres etapas:

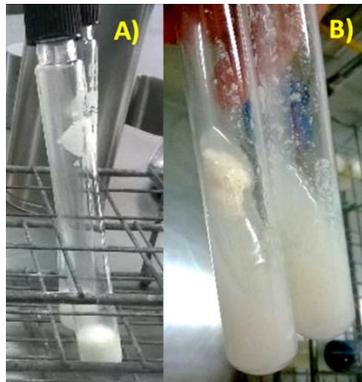
4.3.1 Etapa 1. Análisis presuntivos

Las pruebas de plataforma son importantes para pronosticar la vida de anaquel de la leche, además de que sirven para verificar sospechas de alteración o adulteración, siendo uno de los principales sustentos para tomar la decisión de aceptar o rechazar la leche, definir si procede a pasteurizar o destinarla a otro proceso tecnológico. Tres de las pruebas básicas son las de ebullición, prueba de alcohol y prueba de reductasa, que se realizaron de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-F-700 COFOCALEC-2012.

Prueba de alcohol: La prueba de alcohol nos indica el grado de frescura de la leche, si la prueba resulta negativa no hay formación de grumos en las paredes del tubo lo que

significa que la leche es fresca, por el contrario, si hay formación de grumos es una leche que ya tiene más tiempo de ordeña. Para realizar la prueba se tomó una muestra de 2 mL de leche y se depositó en un tubo de ensayo, se agregó la misma cantidad de alcohol al 68% y se invirtió el tubo dos veces. La interpretación es que una muestra es negativa cuando hay formación de grumos en la pared del tubo de ensayo, en contraste, las muestras positivas la formación de partículas de cuajada y, por tanto, la leche no es apta para ser pasteurizada (Figura 6).

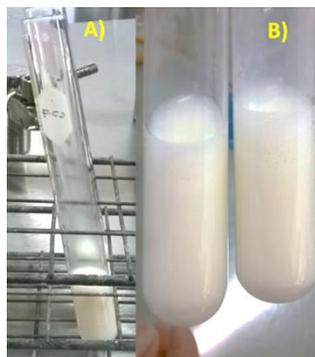
Figura 6. Prueba de alcohol, A) Antes de adicionarle el alcohol, B) Prueba positiva con formación de grumos.



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Prueba de ebullición: se colocó una muestra de 5 mL de leche en un tubo de ensayo, se calentó con mechero hasta llegar a la ebullición y se observó si se produce floculación (coagulación) de la proteína; la prueba es positiva si la leche coagula al punto de ebullición, lo que indica que su acidez es mayor a 0.24% de ácido láctico y no es apta para pasteurización, si sucede lo contrario, es negativa (Figura 7).

Figura 7. Prueba de ebullición, A) Antes de llevar al calor, B) Prueba negativa después de la ebullición



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Prueba de la reductasa en leche: se colocó en el tubo de ensaye 10 mL de leche y 0.5 mL de azul de metileno, posteriormente se homogeneizó en un vortex y se introdujeron en baño maría a 37°C; los resultados se registraron a los 10 minutos y después a cada hora hasta completar las 6 horas con intervalos de una hora. Si existe decoloración de la muestra de la muestra se considera una muestra negativa que tiene una determinada carga bacteriana y no es apta para la pasteurización (Figura 8).

Figura 8. Prueba de reductasa, A) Incubación a 35°C, B) Decoloración después de 20 minutos



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

4.3.2 Etapa 2. Análisis físico-químicos

Estos análisis se realizaron utilizando el equipo analizador de leche ultrasónico Lactoscan LA con pantalla LCD 4 líneas x 16 caracteres Milkotronic Ltd, 8900, Nova Zagora Bulgaria (Figura 9).

Figura 9. Equipo Lactoscan LA utilizado para analizar leche bronca



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

La función del aparato es hacer los análisis rápidos de la leche como son: pH, porcentaje de Contenido de Agua, Temperatura (°C), Lactosa, Grasa (FAT), Sólidos no-Grasos (SNF), Proteínas, Punto de Congelación, Sólidos, Conductividad, así como Densidad de la muestra, los resultados obtenidos se comparan de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2012.

El procedimiento (Figura 10) se realizó de la siguiente manera:

1. Verificación de los parámetros iniciales para medición de leche de vaca con una muestra blanco a la que se le conocen sus parámetros.
2. Colocar la muestra dentro del compartimiento muestra de leche, posteriormente introducir en ella el tubo de entrada.
3. Presionar enter y esperar 60 segundos.
4. Observar en la pantalla los resultados y anotar.
5. Dar clic en las flechas para pasar a la siguiente página de resultados.

Figura 10. Determinación de análisis fisicoquímicos y de plataforma.



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

Determinación de acidez

La acidez se mide por titulación e indica a la cantidad de hidróxido de sodio utilizada para neutralizar los grupos ácidos. Este valor se puede expresar de diversas maneras: en grados Dornic (°D) que corresponde a la cantidad de solución de hidróxido de sodio utilizada para titular 10 ml de leche en presencia de fenolftaleína. Este resultado proporciona el contenido en ácido láctico. Un grado Dornic es igual a 0,1 g/l de ácido láctico ó 0,01%.

4.3.3 Etapa 3. Análisis microbiológicos

A 34 muestras se les realizaron determinaciones microbiológicas, cuantificando la carga de microorganismos indicadores, tales como Coliformes Totales siguiendo el procedimiento detallado en la NOM-113-SSA1-1994, Bacterias Mesófilas Aerobias (NOM-092-SSA1-1994), Hongos y Levaduras (NOM-111-SSA1-1994), *E. coli* (NOM-112-SSA1-1994) y *S. aureus* (NOM-115-SSA1-1994), así como la carga de microorganismos patógenos como *Listeria spp.* (NOM-143-SSA1-1995) y *Salmonella spp.* (NOM-114-SSA1-1994). A continuación, se describe la metodología para cada especificación microbiológica considerando que, para la siembra de los microorganismos indicadores a excepción de *S. aureus*. y los microorganismos patógenos, se realizaron diluciones.

Preparación de diluciones: la preparación y dilución de las muestras para su análisis microbiológico se realizó siguiendo a detalle la metodología señalada en la NOM-110-

SSA1-1994. Se tomó una muestra de 10 mL de leche y se efectuó de manera inicial una dilución en 90 mL de diluyente (agua peptonada al 0.1%), homogeneizando mediante una ligera agitación con 25 movimientos de arriba hacia abajo en un arco de 30 cm por 7 segundos (Figura 11).

Figura 11 Preparación de la primera dilución de acuerdo la NOM-110-SSA1-1994



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Adicionalmente, se realizaron diluciones posteriores, tomando 1 mL de la dilución anterior en cada caso desde 10^{-2} hasta 10^{-5} colocándola en 9 mL del mismo diluyente, homogeneizando en vortex por un tiempo aproximado 7 segundos (Figura 12).

Figura 12. Dilución de las muestras con base en la NOM-110-SSA1-1994



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Determinación de Coliformes Totales (CT): para determinar el número de microorganismos coliformes presentes en las muestras de leche se utilizó la técnica de cuenta en placa descrita en la NOM 113- SSA1- 1994 (Figura 12).

Primero se realizaron diluciones seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) usando el medio selectivo agar rojo violeta bilis (Bioxon®) (Figura 13, inciso A); en este medio selectivo es propicio para el desarrollo de bacterias a 35°C en las próximas 24 h, obteniendo como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, estos son reconocidos mediante el vire del indicador de pH y precipitación de las sales biliares. Adicionalmente, se inoculó una caja control (testigo) sin muestra con 18 mL de medio para verificar la esterilidad del medio y de la placa (Figura 13, inciso B). Las placas se incuban en posición invertida por 24 ± 2 horas a 35°C ; después de ese periodo, se realizó el conteo de colonias considerando las especificaciones de la norma.

Figura 13. Determinación de CT en placa, A) utilizando Agar Rojo Violeta Bilis, B) Placa testigo



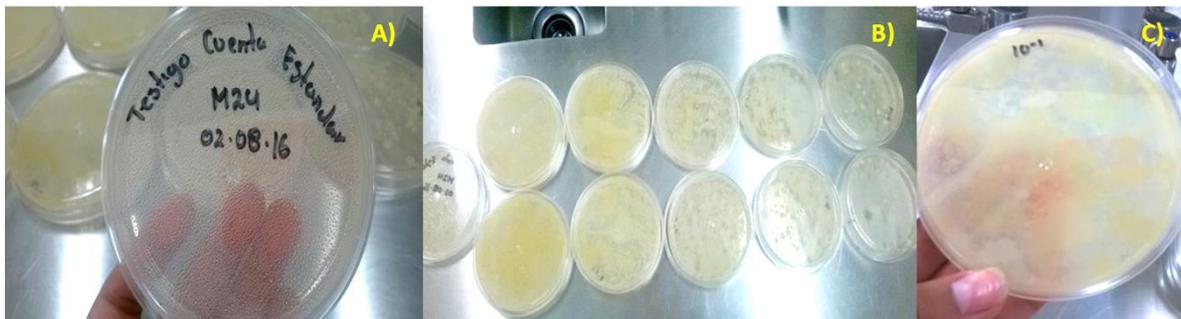
Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

Determinación de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA): la base de la determinación consiste en contabilizar las colonias desarrolladas en el medio de elegido después de incubar por 24 h a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$, asumiendo que cada colonia tiene como origen a un microorganismo de la muestra analizada. El método permite diversas fuentes de variación, algunas controlables, pero bajo la influencia de varios factores. Esta prueba se efectuó utilizando la técnica de vertido en placa tal y como lo describe la NOM 092- SSA1-1994.

En esta determinación se incluyó una caja sin inóculo sólo con diluyente y medio preparado como testigo de esterilidad (Figura 14, inciso A); se utilizaron diluciones 10^{-1} a 10^{-5} (Figura 14, inciso B); se utilizó Agar Cuenta Estándar (Bioxon®); posteriormente

se incubaron las placas en posición invertida durante por 24 h a $35\pm 2^\circ\text{C}$, después del tiempo transcurrido de incubación se realizó el conteo de colonias (Figura 14, inciso C).

Figura 14. Determinación de BMA, A) Placa Testigo, B) De izquierda a derecha se colocó la dilución 10^{-1} – 10^{-5} , C) Conteo de BMA.

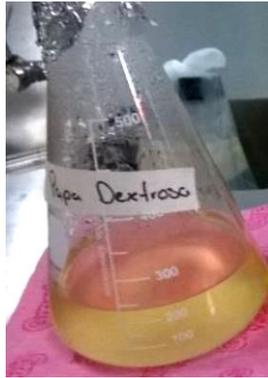


Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

Determinación de hongos y levaduras: este método se fundamenta en la inoculación de una cantidad establecida de muestra de prueba en un medio selectivo específico, acidificado a un pH 3.5 e incubar a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, obteniendo como resultado la formación de colonias características para este tipo de microorganismos; para el conteo de estos microorganismos se utilizó el procedimiento de la NOM-111-SSA1-1994.

Esta determinación se realizó con diluciones consecutivas 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} , se usó el medio Agar Papa Dextrosa (PDA Bioxon®) acidificado con solución de ácido tartárico al 10% (Figura 15). Las placas se ubicaron en una incubadora a $35\pm 2^\circ\text{C}$ por un periodo 48 h en el caso de levaduras, mientras que los hongos fueron incubados a $25\pm 2^\circ\text{C}$ por 5 días.

Figura 15. Determinación de mohos y levaduras con PDA acidificado con ácido tartárico.

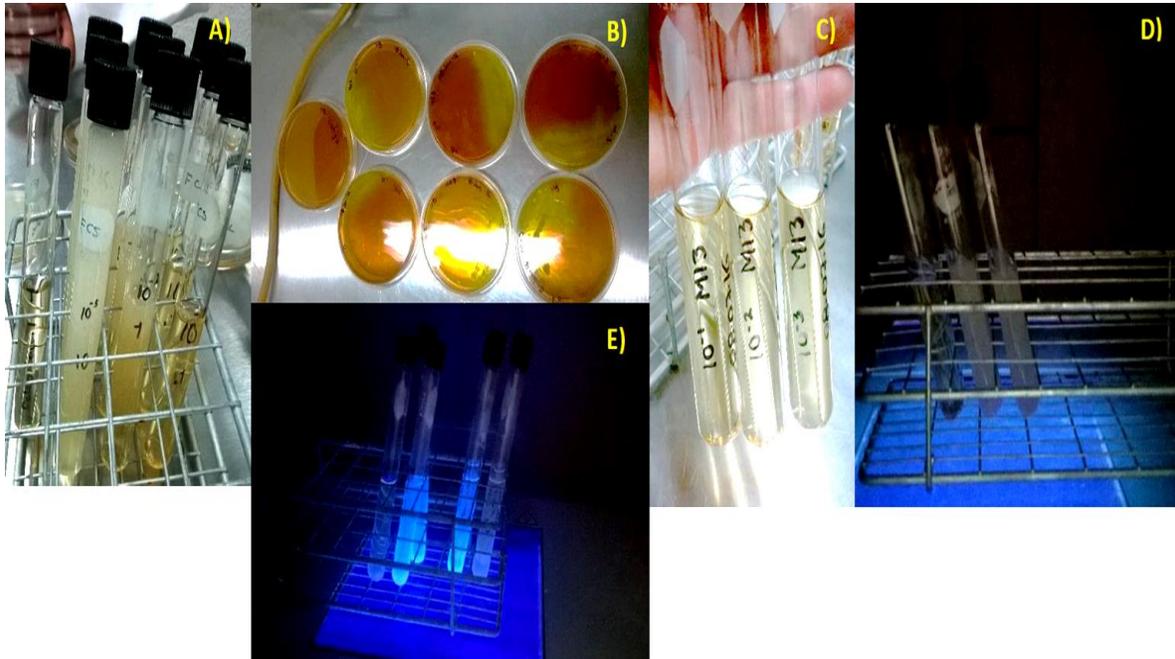


Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Determinación de E. coli: se usó el método de Prueba CCAYAC- M-004/8 que facilita establecer la estimación de la densidad de coliformes fecales e identificar la presencia de *E. coli* mediante la técnica del número más probable (NMP).

Se utilizaron diluciones seriadas 10^{-1} a 10^{-3} , se depositó 1 mL de cada dilución a cada uno de los tres tubos, conteniendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato Triptosa (Difco®) con tubo Durham invertido (Figura 16, inciso A), una forma de detectar la presencia de gas (prueba positiva) y se incubaron durante 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Transcurrido ese tiempo de incubación se estuvieron revisando los tubos que presentaron formación de gas y presencia de burbujas en los tubos de Durham. Posteriormente se utilizó la dilución más alta en la que se notó la presencia de gas en los tres tubos, y se toma una asada para sembrar en agar verde brillante previamente esterilizado y solidificado en placa, en estría por aislamiento y se incubo a 35°C por 24 h (Figura 16, inciso B). Después se tomaron dos asadas de cada placa y se sembró en tubos conteniendo 10mL de caldo *E. coli* MUG (Difco®) (Figura 16, inciso C) y se incubaron a una temperatura de 44.5°C . Posterior a la incubación, se revisaron los tubos con producción de gas y turbidez y se observaron bajo una lámpara de luz ultravioleta de 366 nm (Steren ®) para confirmar la usencia de fluorescencia, prueba negativa para *E. Coli*. (Figura 16, inciso D) y presencia de fluorescencia, prueba positiva (Figura 16, inciso E).

Figura 16. Determinación de *E. Coli* por la técnica del NMP: A) Siembra en caldo Lauril, B) Selección de colonias desarrolladas en agar verde brillante, C) Siembra en caldo EC MUG, D) Observación en Luz UV; prueba negativa, E) Observación en Luz UV; prueba positiva.



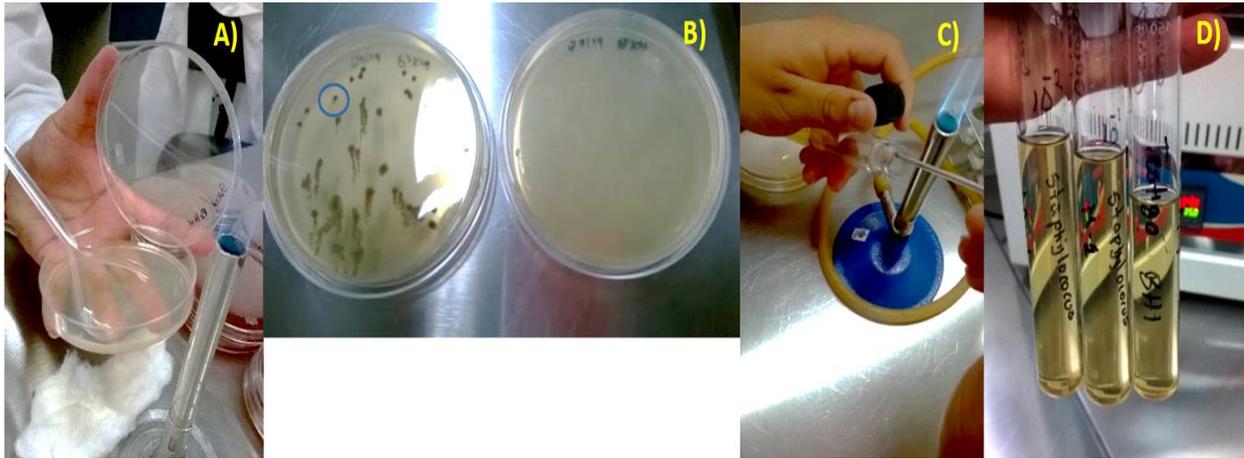
Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

Determinación de S. aureus: el método permite determinar la cantidad de este agente microbiano en placas de medio selectivo y diferencial, por medio de la confirmación con la prueba de coagulasa; esta determinación se llevó a cabo conforme a lo indicado por la NOM 115-SSA1- 1994.

El agar Baird-Parker (Difco ®) fue utilizado como medio selectivo y diferencial; se inocularon 0.1 mL de cada dilución (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}); el inóculo se extendió sobre la superficie del agar con varillas esterilizadas de vidrio en ángulo recto, usando una por cada dilución (Figura 17, inciso A). Estas placas se incubaron de 45 a 48 h a 35°C ; posterior a ese tiempo se hace el conteo tomando en cuenta las placas con crecimiento entre 15 y 150 colonias típicas de *S. aureus* (colonias negras, circulares, brillantes, convexas, lisas, de diámetro de 1 a 2 mm con zona opaca con halo claro) (Figura 17 inciso B). Posteriormente se seleccionaron dichas colonias y se sembraron por asada en

un tubo de ensaye con 10 mL de Caldo Infusión cerebro-corazón (BHI) y se incuban a 35°C durante 24h (Figura 17, inciso C y D).

Figura 17. Determinación de *S. aureus*, A) Siembra por extensión, B) Selección de colonias típicas, C) Siembra en caldo BHI, D) Caldo BHI antes de incubar.



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

Prueba de coagulasa: a los tubos sembrados con las colonias de *S. aureus* se les adicionó 0.2 ml de plasma de humano diluido con solución salina estéril (Figura 18); se incubaron a 35°C y se mantuvieron en observación durante 6 h a intervalos de 1 h hasta formarse el coágulo (prueba positiva en la formación de éste y negativa en ausencia).

Figura 18. Prueba de Coagulasa antes de su incubación.

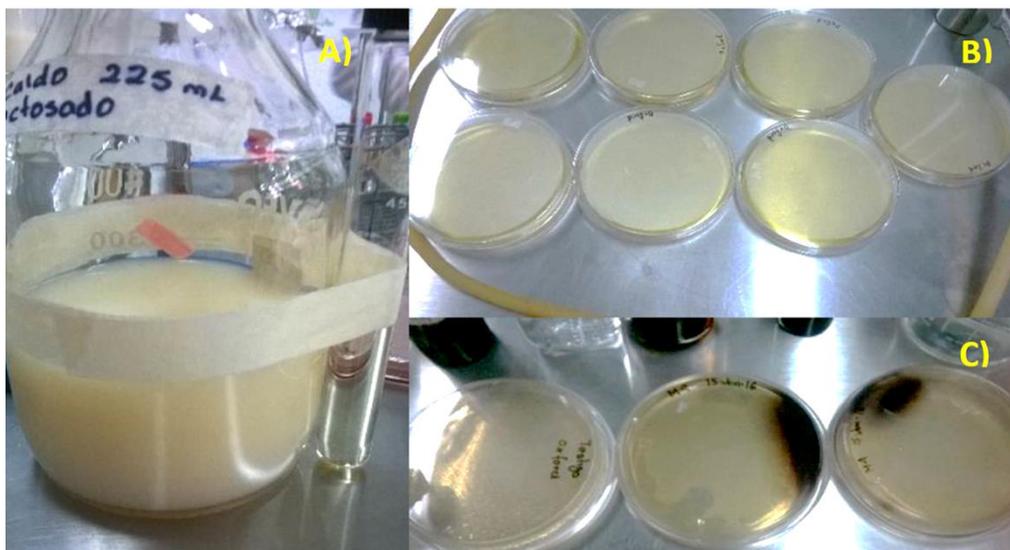


Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Determinación de Listeria spp.: para la detección de presencia de *Listeria spp.* se fundamenta en el aislamiento y la diferenciación de especies fundamentalmente por la fermentación de carbohidratos y la actividad hemolítica del microorganismo de este género. Este análisis se basa el procedimiento indicado en la NOM-143-SSA1-1995.

Inicialmente se realiza una fase de enriquecimiento en la que se colocaron 25 mL de la muestra con 225 ml de medio de enriquecimiento (caldo lactosado) (Bioxon®) (Figura 19, inciso A) y se incubaron por 48h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Figura 19. Determinación de *Listeria spp.*, A) Caldo lactosado, B) Aislamiento en medio Oxford Modificado, C) Placas con colonias sospechosas de *Listeria spp.* con hidrolisis de esculina (coloración negra).



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

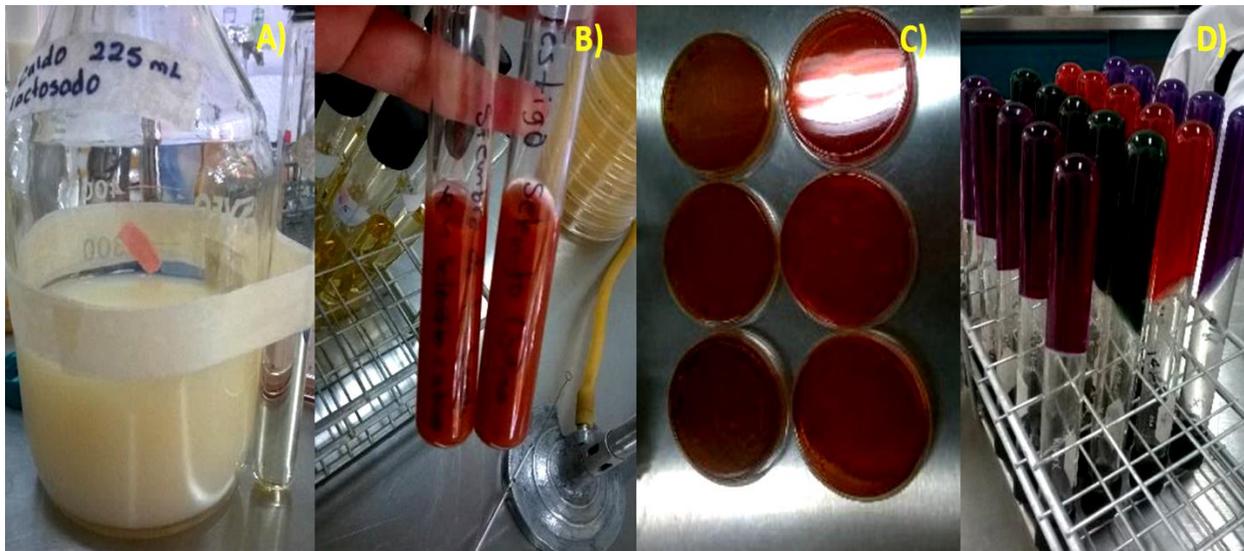
Posterior a la incubación se realizó el aislamiento en medio Oxford Modificado (Difco®) por medio de estría cruzada (Figura 19, inciso B) y se incubaron las placas de 24 a 48h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Se nota la formación en el medio de colonias negras, con halo negro, algunas aparecen con un tono café oscuro (Figura 19, inciso C). Por último, se realiza una tinción de Gram de las colonias sospechosas para confirmar la morfología.

Determinación de Salmonella spp.: se realizó empleando la técnica indicada en la NOM 114-SSA1-1994.

En la primer fase de pre enriquecimiento se sembraron 25 mL de leche en un frasco con 225 mL de medio no selectivo caldo lactosado (Bioxon®) (Figura 20, inciso A), se homogeniza y se deja incubar por 24 h. a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posteriormente en la fase de enriquecimiento se tomó 1 mL y se transfiere a un tubo con 10 mL de caldo selenito cistina con el objetivo de aumentar las células presentes en el medio (Figura 20, inciso B), se dejó incubar por 24 h a 35°C y se reportó como positivo cuando el caldo se tornó a color rojizo. En la fase siembra en medios selectivos, del tubo con crecimiento con coloración rojiza, se agita y se toma una asada que fue inoculada por estría cruzada en los medios selectivos (que no permiten la formación de otros géneros distintos a *Salmonella* y facilita la identificación visual de colonias sospechosas) como Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) y Agar Verde Brillante (VB) (Figura 20, inciso C) y se dejan incubar durante 24 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Se examinaron las placas para revisar la presencia de colonias típicas de *Salmonella*, de acuerdo con las siguientes características: agar XLD: colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro, no se descarta que las colonias pueden aparecer completamente negras. Agar VB: colonias rojas o rosas generalmente son transparentes rodeadas por medio enrojecido; las bacterias fermentadoras de la lactosa dan colonias con coloración amarillas. La fase cuatro de identificación bioquímica (Figura 20, inciso D) se llevó a partir de colonias aisladas en medio selectivo (VB o XLD): se roza ligeramente el centro de cada colonia y se inocula en los tubos con agar triple azúcar hierro (TSI) y con agar hierro lisina (LIA), además se sembró agar citrato de Simmons sólo inoculando la superficie y medio MIO (movilidad, indol y ornitina) por punción. Todos los tubos se incubaron por 24 ± 2 h a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; posteriormente se nota la formación en tubos tomando en cuenta las siguientes reacciones en cada prueba. En el Agar TSI, en el fondo del tubo se llega a observar un cambio del indicador como consecuencia de la fermentación de la glucosa; en la zona superficial del medio observamos una tonalidad roja más intensa que el medio original, como consecuencia de la no fermentación de la lactosa y de la sacarosa; en gran parte de las muestras se observa coloración negra a lo largo de la punción debido a la producción de ácido sulfhídrico. En el Agar LIA, se intensificó el color púrpura en todo el tubo por la descarboxilación de la lisina, con formación de ácido Sulfhídrico

(coloración negra). En Agar citrato Simmons: no hubo crecimiento (sin cambio de color), dando como resultado una prueba negativa. Se hizo la Prueba Movilidad, Indol y Ornitina

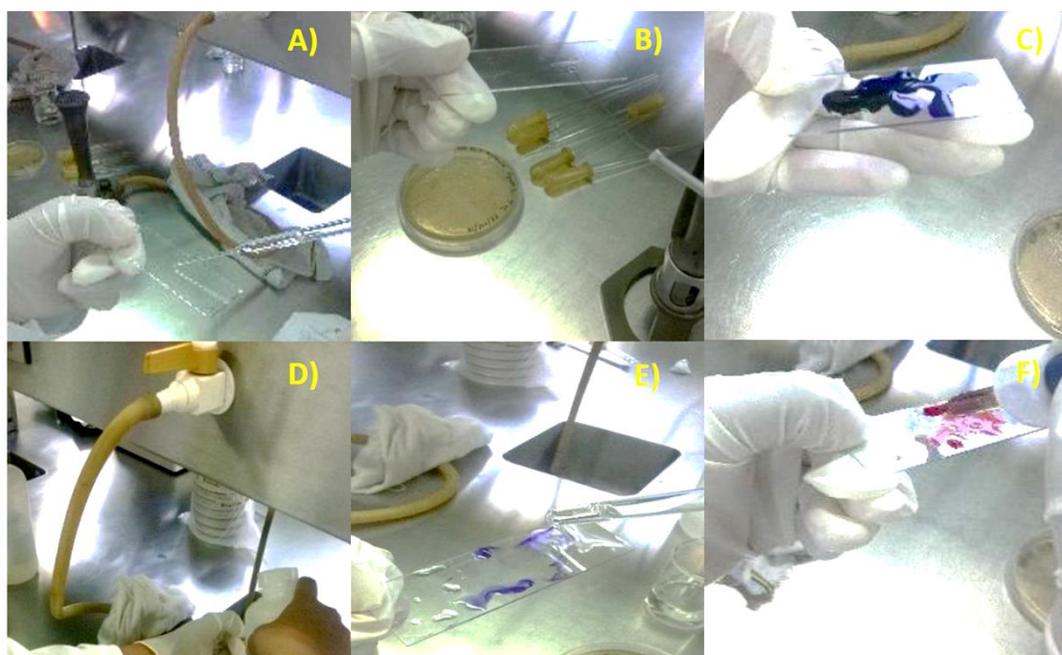
Figura 20. Determinación de *Salmonella spp.*, A) Caldo lactosado, B) Caldo Selenito Cistina antes de incubar, C) Siembra en Agar XLD y Verde Brillante, D) Identificación Bioquímica; Agar LIA, CITRATO, TSI, MIO.



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

Tinción Gram: por último, del crecimiento en tubo se realizó tinción de Gram para identificar la morfología (bacilos Gram negativos); en un porta objetos se colocó una gota de agua, posteriormente se tomó una asada del tubo correspondiente y se expandió la muestra, por tres veces se pasó en medio de la llama del mechero (Figura 21, inciso A y B). Adicionalmente se colocó una gota de Cristal violeta sobre la muestra ya fijada (Figura 21, inciso C); se enjuago con agua hasta que no tuviera color (Figura 21, inciso D); se colocó una gota de Yodo Lugol y se enjuago; se agregó un gota de alcohol-cetona y dejo actuar por 45 segundos (Figura 21, inciso E); se depositó una gota de safranina y esperó 1 minuto (Figura 21, inciso F); Finalmente, se observó en el microscopio con lente de 10, 40 y 100 adicionando una gota de aceite de inmersión cuando se observó en el lente de 100.

Figura 21. Tinción Gram, A y B) Fijación de la muestra, C) Aplicación de Cristal Violeta, D) Enjuague, E) Aplicación de alcohol-cetona, F) Aplicación de Safranina



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

4.4 Análisis estadísticos

En una hoja de cálculo se ordenan los datos y con base a los resultados obtenidos sobre el contenido de agua en las muestras, se generó una variable adicional referente a la ganancia económica de los productores o pérdida por los acopiadores, considerando un precio de \$8.20/litro de leche (precio de garantía), a la cual se le denominó “Pérdida económica”. Adicionalmente, se hizo una corrección para estimar el contenido real de los componentes de la leche, restando la cantidad de agua adicionada y ajustando para cada componente.

En un primer análisis se realizó una clasificación de muestras, basado en las características físicas y químicas de la leche, que tuvo como propósito agrupar a productores con homogeneidad entre individuos y heterogeneidad entre los distintos grupos resultantes, realizada con el método Clúster del programa SAS, versión 2003. La información del análisis de clasificación provino de la revisión y selección de variables. En seguida se continua con un análisis de varianza entre grupos definidos, con

procedimiento Proc–GLM del paquete estadístico SAS. Posteriormente se hizo un análisis de varianza comparando las características de la leche que acopian las tres empresas queseras con el mismo procedimiento Proc–GLM del paquete estadístico SAS. Para contrastar los resultados se consultó la NMX-F-700-COFOCALEC-2012, que norma la calidad de la leche cruda (Cuadro 4).

Una forma de identificar las diferencias significativas entre los valores medios de las variables respuesta también se realizó una prueba chi cuadrada de contingencia para analizar la dependencia de las variables categóricas (cualitativas) de los análisis microbiológicos con las transformadoras; el software estadístico que se utilizó fue IBM SPSS Statistics V22. También, se construyeron tablas de contingencia para analizar si las variables de plataforma cualitativas: prueba de ebullición, prueba de alcohol y prueba de reductasa, así como los indicadores microbiológicos (*E. coli*, *Salmonella spp*, *Listeria spp.* y *S. aureus*) están relacionadas con las transformadoras.

Cuadro 4. Datos de NMX-F-700-COFOCALEC-2012

Grasa (%)	Clase A ≥ 3.2 Clase B 3.1 mín. Clase C 3.0 mín.
Proteína (%)	Clase A ≥ 3.1 Clase B 3.0 a 3.09 Clase C 2.8 a 2.99
Lactosa (%)	4.3 a 5.0
Minerales (%)	Menos del 1%
Solidos no grasos (%)	8.3 mín.
Solidos totales (%)	10.5 y 15.5%
Agua añadida (%)	-----
Punto crioscópico (°C)	Entre -0,510 (-0,530) y 0,536 (-0,560)
pH	6.5 y 6.8
Acidez %	0.13 a 0.17

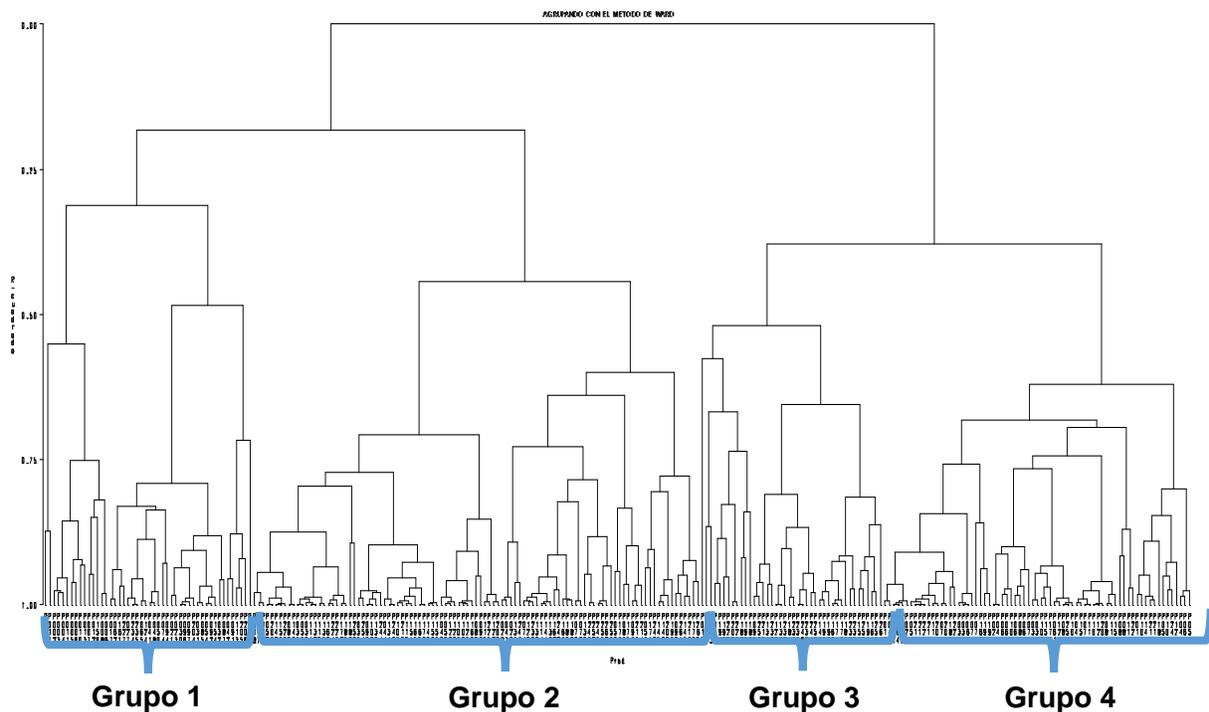
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En un primer momento se presentan los resultados referentes a las características de la leche en los diferentes grupos formados con el análisis multivariado y subsecuentemente, se presentan los resultados y discusión analizando por empresas queseras. El orden de presentación de resultados es iniciar con las pruebas presuntivas, enseguida con las características físicas, químicas normales y químicas corregidas. Al final se presentan los resultados y discusión de las pruebas microbiológicas.

5.1 Características de la leche en los grupos formados por análisis multivariado

La clasificación realizada con el análisis Cluster, arrojó 4 grupos de leche que comercializan los productores en la zona de estudio (Figura 22), básicamente la agrupación estuvo dada por el contenido de grasa y el contenido de agua adicionada, datos que se resaltan en el Cuadro 3 y por variables como acidez y pH, observadas en el Cuadro 6.

Figura 22. Dendrograma de 264 productores clasificados por las características de la leche cruda que comercializan en la cuenca del río Atoyac



El primer grupo incluyó el 18.18% de los productores, que corresponde a las muestras más altas en contenido de grasa y en sólidos totales, con niveles deficientes de proteína, lactosa y minerales, incluso fuera de la norma oficial. Desde el punto de vista de la composición química de la leche, el contenido de grasa está muy por encima de los valores que marca la norma y que biológicamente pueden tener las vacas en las unidades de producción muestreadas. El grupo 2, que incluyó el 39.01% de los productores, destaca por ser el que más adultera la leche con agua y, por tanto, se diluyen todos los componentes, quedando fuera de los parámetros establecidos por la norma. El grupo 3 se conformó por el 15.90% de los productores y corresponde a aquellos con los niveles más bajos de grasa y con problemas de calidad higiénica por su bajo nivel de pH y valores altos de acidez, observadas en el Cuadro 3. Finalmente, el grupo 4 incluye al 26.91% de productores que adicionan la menor cantidad de agua y por consiguiente la de mayor contenido de los sólidos no grasos y sus componentes, siendo el que presenta mejor calidad.

5.2 Resultados y discusión por grupos generados en el análisis multivarido

5.2.1 Pruebas presuntivas analizadas por grupos

Puntualmente en lácteos, las pruebas de plataforma son importantes para pronosticar la vida de anaquel de la leche, además de que sirven para verificar sospechas de alteración o adulteración, el resultado es traducido en la decisión de aceptación o rechazo para su posterior pasteurización.

En el Cuadro 5 se observan los valores porcentuales positivos y negativos de las pruebas de ebullición, alcohol y reductasa. Las muestras de los grupos 1 y 4 resultaron negativas con valores arriba del 90%, un valor deficiente para el grupo 2 y el que tuvo una estabilidad menor fue el grupo 3 con el 50% de sus muestras positivas.

Cuadro 5. Resultados de las pruebas de ebullición, alcohol y reductasa de leche cruda comercializada por unidades de producción familiar

Grupo	Parámetro (porcentaje de positivas y negativas)					
	Ebullición		Alcohol		Reductasa	
	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa
1	6.25	93.75	37.50	62.50	79.17	20.83
2	22.30	77.67	30.10	69.90	91.26	8.74
3	50.00	50.00	64.29	35.71	95.24	4.76
4	2.82	97.18	33.80	66.20	84.51	15.49

Normalmente en las queserías de la región, si la prueba de ebullición es negativa, la leche puede destinarse a la elaboración de determinados tipos de quesos como el panela u otros especializados, pero cuando no tienen aptitud para ser sometidas a pasteurización, esta leche puede ser utilizada para elaborar productos en donde la materia prima sólo debe ser calentada a una temperatura de 35°C, por ejemplo, el queso asadero, queso Oaxaca o también conocido como quesillo y queso de hebra.

En lo que respecta a la prueba del alcohol, el grupo 3 tiene resultados negativos en sus muestras del 35.71%, no así para los grupos 1, 2 y 4 donde los valores obtenidos fueron muy semejantes con un valor promedio de 66.20%. En lo que respecta a la prueba del alcohol también se usa como prueba presuntiva para detectar la estabilidad para someter la leche a tratamientos térmicos, refleja el grado de frescura después de haber sido obtenida la leche de la ordeña y también sirve como indicador para detectar si la leche es extraída de vacas con problemas de mastitis. De acuerdo con la NOM-243-SSA1-2010 la prueba de alcohol en leche cruda debe ser negativa, ya que deben poseer las características idóneas para pasteurizarlas y con ello elaborar diversos productos como quesos tipo manchego o panela, queso canasta, queso añejo, yogurt y mantequilla; una minoría de muestras resultaron positivas, esa leche es rechazada para pasteurizar. Los principales factores que pudieron influir para que algunas muestras resultaran positivas son que podrían tratarse de leche que fue obtenida de una ordeña anterior o bien de una mezcla de las ordeñas, también podrían ser muestras con una carga bacteriana alta debido a las malas formas de refrigeración o falta de cuidado en las condiciones higiénicas.

La prueba de reductasa para los cuatro grupos se obtuvieron por arriba del 79% positivas lo que representa una carga microbiana alta, esto quiere decir que la leche se encuentra contaminada ya sea por el mal manejo de las condiciones del ordeño o la mala recolección de los boteros, lo que ocasiona se encuentren con valores positivos altos. La prueba de reductasa es sumamente importante porque permite conocer las condiciones higiénicas en el ordeño y manejo posterior de la leche hasta llegar a la quesería.

5.2.2 Análisis de características físicas de la leche

En el Cuadro 6 se presentan los resultados obtenidos en las características físicas de las muestras analizadas y clasificadas por grupos. En cuanto, a porcentaje de acidez, que indica la cantidad de ácido láctico presente en la leche y sirve como indicador de calidad higiénica, se observa que los cuatro grupos tienen valores fuera de la norma (0.13%–0.17%), siendo más remarcable en el grupo 3, que estadísticamente es superior ($p \geq 0.05$) a los grupos 1, 2 y 4, y aunque estadísticamente son similares, también es deseable que bajen sus niveles de acidez.

Cuadro 6. Variables físicas de la leche cruda comercializada por unidades de producción familiar agrupadas por análisis multivariado

Variable	G 1 (n=48)	G 2 (n=103)	G 3 (n=42)	G 4 (n=71)	Media	DMS
pH	6.58 ^a	6.68 ^a	6.19 ^b	6.67 ^a	6.58	0.22
Acidez %	0.23 ^b	0.22 ^b	0.32 ^a	0.23 ^b	0.24	0.04
Punto crioscópico (°C)	-0.45 ^b	-0.43 ^a	-0.47 ^b	-0.49 ^c	-0.46	0.03
Densidad (g/mL)	1024.96 ^c	1024.86 ^c	1027.35 ^b	1028.28 ^a	1026.19	1.74
Conductividad (mS/cm)	4.57 ^c	4.66 ^{cb}	5.53 ^a	4.87 ^b	4.84	0.43

De manera coherente con los resultados anteriores, el pH del grupo 3 es estadísticamente más bajo ($p \geq 0.05$) a los otros tres grupos y está fuera de los parámetros establecidos en la normatividad; por otra parte, aun cuando el primer grupo está ligeramente por abajo de la norma, estadísticamente no difiere de los grupos 2 y 4 que tienen valores permitidos. Negri (2005) indica que el valor óptimo de la leche bronca va

de 6.5 a 6.8, sin embargo, su valor es constante y puede sufrir variaciones en el transcurso de la lactación, al principio es ácido pH 6.0 y al final llega a alcanzar valores alcalinos de pH 7.5, por lo que es un parámetro que puede variar y no necesariamente por la adulteración.

El punto crioscópico o punto de congelación, es un indicador importante para identificar cuando la leche es adulterada con agua, y de acuerdo con WingChing y Mora (2019), la simple adición del 1% (p/p) produce cambios significativos en este parámetro y en la composición química de la leche cruda. Los valores establecidos en la normatividad vigente, van de -0.510 a -0,536, por lo que, observando los valores obtenidos en el presente estudio, resulta que los cuatro grupos están fuera de la norma, siendo más notorio en el grupo 2, que estadísticamente su valor es superior ($p \geq 0.05$) a los otros tres grupos, sin diferencias los grupos 1 y 3, pero diferente el grupo 4, cuyo valor denota que es el que menos agua adicionada tiene. De acuerdo con los estudios obtenidos por Henno (2008), el punto de congelación también depende de diferentes factores, tales como la raza de la vaca, la etapa de lactancia, la temporada y la nutrición y la suma de estos factores puede generar variaciones en el orden ± 0.0169 en el punto de congelación,

La densidad es una variable que determina la relación que hay entre la masa y el volumen, en la leche debe tener valor 1029 g/mL de acuerdo a la normatividad. Analizando los valores obtenidos en este estudio, se encontró que el grupo 4 es el que tiene mayor proximidad al valor señalado, siendo estadísticamente diferente ($p < 0.05$) a los otros tres grupos, donde el grupo 3 es superior ($p \geq 0.05$) al 1 y 2. En la densidad de la leche están vinculadas con la cantidad de grasa, sólidos no grasos y agua en la leche, por lo que es el grupo 4 el más normal.

Respecto a conductividad, está dada principalmente por la presencia de iones como cloruros, fosfatos, o calcio, y en menor cantidad por otros elementos como el sodio, los cuales están definidos por una serie de factores, pero es una prueba que puede diagnosticar la presencia de riesgos en salud de las vacas, particularmente en la presencia de mastitis (Cepero *et al.*, 2005), lo que afecta de manera directa la calidad higiénica de la leche. El valor normal indicado en la norma es de 4 a 5 mS/cm y con los

datos encontrados, se encontró que el grupo 3, cuyo valor es superior al permitido y superior a los otros tres grupos ($p \geq 0.05$) pudiera contener leche de vacas con problemas de ubre.

5.2.3 Composición química de leche

En el Cuadro 7 tenemos los valores de la composición química obtenidos para cada grupo. En general, en las cuales las diferencias son significativas entre ellos y comparando los valores promedio con la norma NMX-F-700-COFOCALEC-2012, obtenemos que la leche bronca que se extrae en hatos de la cuenca del río Atoyac no cumple con los parámetros requeridos para proteína y lactosa, principales componentes de los sólidos no grasos. En contenido de grasa corresponde a la de clase C, debido a que el grupo 1 está muy elevado y favorece un promedio aceptable.

Cuadro 7. Composición química de la leche cruda comercializada por unidades de producción familiar agrupadas por análisis multivariado

Variable (%)	G 1 (n=48)	G 2 (n=103)	G 3 (n=42)	G 4 (n=71)	Media	DMS
Grasa	4.31 ^a	2.76 ^{bc}	2.47 ^c	2.96 ^b	3.05	0.67
Proteína	2.63 ^b	2.54 ^d	2.75 ^b	2.88 ^a	2.68	0.15
Lactosa	3.95 ^c	3.81 ^d	4.13 ^b	4.32 ^a	4.03	0.23
Minerales	0.59 ^c	0.56 ^d	0.61 ^b	0.64 ^a	0.6	0.03
Sólidos no grasos	7.25 ^c	6.95 ^d	7.53 ^b	7.87 ^a	7.35	0.41
Sólidos Totales	11.05 ^a	10.47 ^b	10.06 ^b	10.08 ^b	10.4	0.76
Agua	10.08 ^b	16.98 ^a	10.22 ^b	5.21 ^c	11.49	5.06

Medias con letras iguales en una fila son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$); ET= Empresa procesadora; n: Número de muestra;

Retomando el contenido de grasa y como se comentó en el párrafo anterior, el grupo 1 fue estadísticamente muy superior ($p \geq 0.05$) al resto de grupos, con valores que biológicamente no son normales para este tipo de explotaciones, lo que sugiere que pudieran estar agregando sustitutos de grasa para enmascarar la adición de agua. En los otros tres grupos el contenido de grasa está por debajo de los parámetros establecidos en la norma, e inversamente relacionado con el contenido de agua y quizás con otros factores de manejo. El grupo 4 es el que tiene el mejor contenido ($p \geq 0.05$), no

difiere del grupo 2, pero si del grupo 3 que fue el más bajo. Normalmente el contenido de grasa, de acuerdo con Hernández-Vázquez (2020), está asociado con la cantidad de fibra suministrada en la dieta del animal, de manera que, a mayores niveles de fibra, mayor porcentaje de grasa en la leche. Por su parte, Calderón *et al.* (2006) afirman que la grasa es el componente más variable en la leche y a su vez el que más cambios sufre por efecto genético, fisiológico y nutricional. Estos resultados son relevantes para las procesadoras, ya que este componente es el más significativo para la industrialización, puesto que es una fuente primordial para la obtención de crema de calidad, que en el mercado tiene un precio atractivo

En términos de lactosa, proteína, minerales y por ende en sólidos no grasos, se ven fuertemente afectados por la adición de agua, siendo el grupo 4 el que menos agua tiene y el que presenta una mejor composición, que estadísticamente es superior ($p \geq 0.05$) a los otros grupos. Inversamente, el grupo 2 que resultó ser el de mayor adición de agua, los componentes se diluyen y se ve seriamente afectado.

En cuanto a sólidos no grasos y lactosa, de los cuatro grupos diferentes se encuentra en los límites inferiores establecidos por la norma, esto podría estar ocasionado por la dieta de la vaca. Bennett *et al.* (2001) señalan que la nutrición, la genética, diferentes patologías, la fase de lactancia y la estación del año afectan los SNG de la leche.

Los valores encontrados en esta investigación, son diferentes a los reportados por Hernández-Vázquez (2020) en explotaciones familiares de la microrregión Texcoco, quien encontró valores promedio en grasa de 3.61%, proteína (3.00%), sólidos no grasos (7.96%) y lactosa (4.21%), esta amplia variación está relacionada con la cantidad de fibra en la dieta de manera que, a mayores niveles de fibra, mayor porcentaje de grasa en la leche. En estos pequeños hatos, la relación de forraje/concentrado es alta, incrementándose esta proporción debido a los costos del concentrado y a que muchos de ellos producen su propio forraje.

5.2.4 Corrección en la composición química de leche

En el Cuadro 8 observamos los valores de los componentes corregidos al restar el contenido de agua. Se puede constatar que la leche producida, a excepción del

contenido de grasa que es muy alta en el grupo 1 y muy baja en el grupo 3, los demás componentes se ubican dentro de los rangos aceptables que indica la normatividad. Por otro lado, en la misma tabla se especifica la ganancia económica que obtienen los productores por adicionar agua, o la pérdida de las empresas, constatando que es en el grupo 2 donde los productores obtienen una mayor ganancia por litro de leche.

Cuadro 8. Corrección en la composición química de leche cruda (%) y pérdida económica (\$/L) por adición de agua en unidades de producción familiar de la cuenca del río Atoyac agrupadas por análisis multivariado

Variable	G 1 (n=48)	G 2 (n=103)	G 3 (n=42)	G 4 (n=71)	Media	DMS
Grasa	4.85 ^a	3.32 ^b	2.77 ^c	3.11 ^{cbc}	3.46	0.79
Proteína	2.92 ^c	3.06 ^a	3.06 ^a	3.03 ^b	3.03	0.03
Lactosa	4.39 ^c	4.60 ^a	4.61 ^a	4.56 ^b	4.55	0.05
Minerales	0.66 ^b	0.68 ^a	0.68 ^a	0.67 ^a	0.68	0.01
Sólidos no grasos	8.07 ^c	8.38 ^a	8.39 ^a	8.31 ^b	8.31	0.1
Sólidos totales	12.93 ^a	11.71 ^b	11.17 ^c	11.43 ^{cbc}	11.77	0.76
Pérdida	0.82 ^b	1.39 ^a	0.83 ^b	0.42 ^c	0.67	0.29

5.3 Resultados y discusión de resultados por empresa transformadora

En la prueba de ebullición, la mayoría de las muestras de las tres transformadoras resultaron negativas; este parámetro se usa como prueba presuntiva para ver la estabilidad de la leche en los tratamientos térmicos, se determina negativa cuando hay ausencia de floculación o grumos y positiva a la presencia de estos.

En el Cuadro 9 se reportan los resultados positivos y negativos de las pruebas de ebullición, alcohol y reductasa por procesadora.

Cuadro 9. Resultados de las pruebas de ebullición, alcohol y reductasa por transformadora.

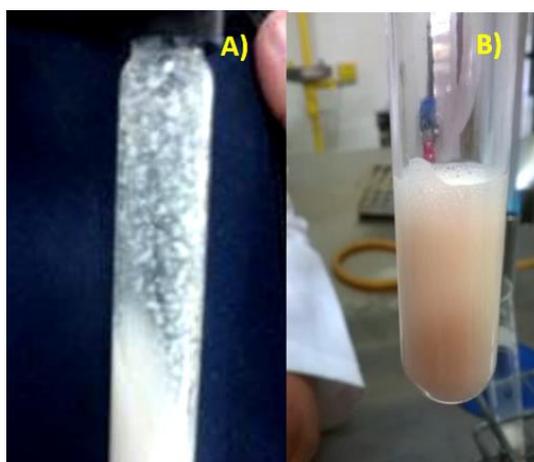
T	Parámetro					
	Prueba de Ebullición		Prueba de Alcohol		Prueba de Reductasa	
	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa
1	0.00%	100.00%	14.30%	85.71%	7.14%	92.86%
2	2.53%	97.47%	39.20%	60.76%	26.58%	73.42%
3	26.40%	73.60%	38.80%	61.24%	36.52%	63.48%
Especificación	Negativa ¹		Negativa ²		Negativa ¹	

P= Transformadora; 1Rodríguez *et al.* (2020); 2NOM-243-SSA1-20102

Fuente: elaboración propia con datos de trabajo de campo 2016

En el cuadro 9 se observa una muestra de prueba de ebullición de leche del 26.40% que resultaron positivas de la transformadora 3, en esta es posible percibir coagulación en la leche (inciso A), mientras que el 100% de las muestras de la procesadora uno resultó negativa y, por tanto, hubo ausencia de grumos (inciso B).

Figura 23. Resultado prueba de ebullición, A) Positiva formación de grumos, B) Negativa sin formación de grumos.

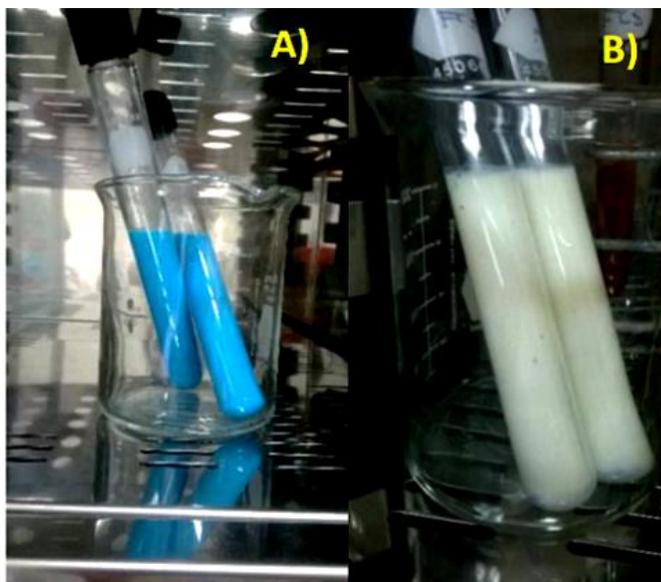


Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

En la Figura 22 es posible observar, que las muestras con carga microbiana menor, el color azul se perdió lentamente (Figura 23, inciso A y B). Por el contrario, las muestras que tuvieron una elevada carga microbiana, la cual fue una minoría en la leche de las tres procesadoras, se decoloró rápidamente, retomando su color blanco (Figura 24, inciso A y B). Estos resultados pueden atribuirse al no tener buenas prácticas de higiene en la obtención de la leche cruda en la ordeña o bien en la transportación y

almacenamiento, posiblemente el productor en un descuido no lavó bien las ubres, los recipientes o las manos, por lo que al momento de pasteurizar hay que aumentar temperatura para eliminar microorganismos.

Figura 24. Resultado prueba de reductasa, A) Decoloración lenta signo de excelente calidad, B) Decoloración rápida sinónimo de mala calidad.



5.3.1 Análisis de características físicas de leche por transformadora

Los resultados obtenidos evidenciaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en las características físicas de la leche vendida por las unidades de producción familiar, a las tres empresas transformadoras. En el Cuadro 10, se especifican los valores encontrados para cada variable, donde se observa que, con respecto a la normatividad, el pH en las transformadoras 2 y 3 se encuentra en los rangos aceptables, no así la empresa 1 que es ligeramente bajo y diferente estadísticamente ($p \geq 0.05$); sin embargo, el valor de pH promedio en la leche es aceptable. La acidez y el punto crioscópico, se ubican fuera de los valores especificados en la norma, indicando que existe adulteración con agua en la leche que adquieren las tres transformadoras y, por otra parte, hay problemas de acidificación que demerita su calidad higiénica, con una mayor notoriedad en la empresa 3, que estadísticamente es mayor su valor ($p \geq 0.05$) a las otras dos empresas.

Cuadro 10. Características físicas de leche cruda comercializada por unidades de producción familiar y acopiada en tres empresas queseras de la Cuenca del río Atoyac

Variable	ET 1 (n=14)	ET 2 (n=75)	ET 3 (n=175)	MEDIA	DMS
Acidez %	0.21b	0.22b	0.25a	0.24	0.03
Punto crioscópico (°C)	-0.47a	-0.47a	-0.45a	-0.46	0.03
pH	6.33b	6.67a	6.56a	6.58	0.17
Densidad (g/mL)	1026.38a	1026.65a	1025.98a	1026.19	1.37
Conductividad (mS/cm)	4.52b	4.83a	4.87a	4.84	0.34

Medias con letras iguales en una fila son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$); ET= Empresa procesadora; n: Número de muestra;

Concerniente a la acidez, en general la leche colectada tiene valores altos y fuera de la normatividad, que puede atribuirse a la falta de higiene en el ordeño (Cervantes *et al.*, 2011) e inapropiado almacenamiento que permite el desarrollo de la carga bacteriana, problema que se incrementa posteriormente debido a las malas condiciones de transporte (sin equipos de refrigeración) y el tiempo que dura la colecta por los boteros. Sin embargo, en la zona de estudio la acidificación puede ser favorable debido a que ésta leche se destina a elaborar queso de hebra o queso Oaxaca, donde se utiliza leche ácida, por tanto, facilita que las empresas avancen en sus procesos de transformación. Desde luego que esta acción, puede traer consecuencias en la vida de anaquel de los productos y en la salud de los consumidores, por ser un producto elaborado con leche sin pasteurizar (FAO, 2019).

Para el caso de densidad y conductividad los valores obtenidos se encuentran dentro de los parámetros que establece la norma, Cepero (2005), se encontró que la concentración de iones en la leche era constante, excluyendo las primeras semanas del parto y las semanas posteriores a la lactancia. Cuando una vaca tiene mastitis, la concentración de iones de sodio y cloruro en la leche aumenta del 50% al 100%, por lo que la conductividad de la leche es proporcional a la concentración de iones, por lo que este dato puede determinar la presencia de mastitis.

WingChing y Mora (2014) mencionan que el punto crioscópico de la leche corresponde a la temperatura que se congela y en la cual la parte líquida y los solutos se encuentran en equilibrio. Reportan que éste parámetro cambia proporcionalmente en función de la cantidad de agua adicionada hasta un 15% y, por otro lado, que la adición mínima del 1% de agua a la leche diluye sus componentes. Los resultados del presente estudio, delatan la presencia considerable de agua en la leche y son pueden comparar con los reportados por Barham *et al.*, 2014 en Pakistán, donde encontraron valores entre -0.534 a -0.441 y son similares con lo reportado por Escoto *et al.*, 2013 en las cuencas lecheras del estado de Hidalgo, donde menciona también que la adulteración está más acentuada en pequeños ganaderos.

5.3.2 Análisis de químicas de leche por empresa transformadora

En cuanto a la composición química de la leche Cuadro 11, los valores promedio indican que, con respecto a la normatividad, es una leche normal en grasa pero diluida en proteína, lactosa y minerales; de manera que es una leche baja en sólidos no grasos y ligeramente baja en sólidos totales. En el análisis por transformadora 1 y 2 la grasa se encuentra dentro de los parámetros que marca la normatividad y sin diferencia entre ellas, pero con valores estadísticamente ($p < 0.05$) más altos a los de la empresa 3, que no cubre la norma. Para las tres empresas el contenido de proteína y lactosa en la leche, están fuera e inferiores a los parámetros establecidos, siendo aún más remarcable en la empresa 1, donde se registraron valores más bajos y estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Cuadro 11. Características químicas de leche cruda comercializada por unidades de producción familiar y acopiada en tres empresas queseras de la Cuenca del río Atoyac

Variable	ET 1 (n=14)	ET 2 (n=75)	ET 3 (n=175)	MEDIA	DMS
Grasa (%)	3.49a	3.5a	2.82b	3.05	0.53
Proteína (%)	2.61b	2.76a	2.65ab	2.68	0.12
Lactosa (%)	3.91b	4.15a	3.98ab	4.03	0.18
Minerales (%)	0.61a	0.62a	0.59a	0.6	0.03
Sólidos no grasos (%)	7.33a	7.57a	7.26a	7.35	0.32
Sólidos totales (%)	10.81a	11.07a	10.09b	10.4	0.6
Agua añadida (%)	6.83b	8.67b	13.07a	11.49	4.01

Medias con letras iguales en una fila son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$); ET= Empresa procesadora; n: Número de muestra;

La cantidad de sólidos totales que contenga la leche determinará su grado de calidad; en la actualidad se le está dando gran importancia al porcentaje de los sólidos totales, variable en que han encontrado valores de 12.37% de sólidos totales (Ribas *et al.*, 2004), pero inferiores a los reportados por Machado *et al.*, (2000) 12.97%; se ha relacionado que la producción de leche a porcentajes mayores de sólidos totales tiende a mejorar el rendimiento significativamente en los procesos industriales. Se ha probado que una disminución de 0,5 unidades porcentuales de los sólidos totales puede significar la pérdida de 5 toneladas por cada millón de litros de leche procesada (Fonseca, 2000).

Para Calderón *et al.* (2006) una leche de excelente calidad tiene un porcentaje de lactosa >5 %, en un rango del 4.9% al 5.3% la leche es de buena calidad, y si el contenido va de 4.6% al 4.9% es de calidad regular; pero si el porcentaje encontrado es <4.6% es de mala calidad. De igual manera, Senevirathne *et al.* (2016) indican que el contenido de lactosa influye en 53.2% en el valor del punto crioscópico de la muestra de leche analizada.

Respecto a minerales y sólidos no grasos, no se observaron diferencias entre empresas. En cuanto a la adición de agua, se identificó que es una práctica común para la leche de

las tres empresas, siendo aún más evidente este hábito para la empresa 3, que estadísticamente es más alto.

5.3.3 Composición química y pérdida de leche (por transformadora)

En las estimaciones realizadas con los datos corregidos por la cantidad de agua adicionada y especificados en el Cuadro 12, se observa que todos los componentes incrementan considerablemente y cubren con la normatividad, a excepción de los sólidos no grasos de la empresa 1, que estadísticamente son más bajos ($p < 0.05$) con respecto a las empresas 2 y 3.

El contenido de grasa y los sólidos totales, no mostraron diferencias entre empresas transformadoras, y sus valores se ubicaron dentro de la normatividad. En función del contenido de agua, resultó que la empresa 3 tiene una pérdida económica por litro de leche recibido, estadísticamente superior ($p < 0.05$) al de las otras empresas, las cuáles registran pérdidas similares entre ellas.

Cuadro 12. Composición química y pérdida económica de leche cruda corregida por contenido de agua en unidades de producción familiar que acopian tres empresas queseras de la cuenca del río Atoyac

Variable	ET 1 (n=14)	ET 2 (n=75)	ET 3 (n=175)	MEDIA	DMS
Grasa (%)	3.76 ^a	3.86 ^a	3.26 ^a	3.46	0.63
Proteína (%)	2.81 ^b	3.03 ^a	3.05 ^a	3.03	0.03
Lactosa (%)	4.2 ^b	4.55 ^a	4.59 ^a	4.55	0.04
Minerales (%)	0.66 ^b	0.68 ^a	0.68 ^a	0.68	0.01
Sólidos no grasos (%)	7.87 ^b	8.29 ^a	8.35 ^a	8.31	0.07
Sólidos totales (%)	11.63 ^a	12.15 ^a	11.61 ^a	11.77	0.59
Pérdida (\$/L)	0.4 ^b	0.5 ^b	0.76 ^a	0.67	0.23

Medias con letras iguales en una fila son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$); ET= Empresa procesadora; n: Número de muestra;

El cumplimiento de los parámetros que establece la norma es uno de los retos que enfrentan las unidades de producción familiar. Estadísticamente existen diferencias entre transformadores y entre los grupos resultantes del análisis multivariado en el pH de la

leche cruda, y pareciera que existe una asociación positiva con la acidez; sin embargo, Negri (2005) menciona que no necesariamente se da una asociación entre ambas variables, y relaciona al pH con la estabilidad de la leche frente a tratamientos térmicos industriales. Por otra parte, Rodríguez-Pérez *et al.*, (2011) en un estudio donde se controló la adición de agua a la leche cruda, se encontró que adicionando el 20%, el pH sube una unidad porcentual y técnicamente tiene una probable repercusión en la pérdida de capacidad reguladora ácido base de los componentes la leche cruda.

La adulteración de la leche con agua es la forma más común en muchos países y obedece a diferentes necesidades, entre ellas la alta demanda y la oferta limitada de leche como en China (Gale y Hu, 2007), pero la más diseminada es para aumentar el volumen y obtener mayores ingresos (Bernal *et al.*, 2007), lo cual ocasiona que los componentes se diluyan y exista la necesidad de agregar otros adulterantes que los sustituyan o enmascaren.

Para aumentar el contenido de grasa en leche adulterada con agua, puede utilizarse la grasa vegetal o animal (Bernal *et al.*, 2007) o aceite vegetal (Barham *et al.*, 2014); para confundir la proteína o componente nitrogenado, se puede utilizar urea (Zhao y Zhang, 2019) acompañada de productos tensoactivos para hacerla espumosa (Sadat *et al.*, 2006); por otra parte, para falsificar el contenido de proteína puede adicionarse un compuesto llamado melamina (Wu *et al.*, 2009). Para simular la lactosa, el azúcar es fuente barata de edulcorante, por lo tanto, se podría suponer que el azúcar de caña se añade diluida a la leche cruda para mejorar su sabor (Chanda *et al.*, 2012).

También la leche es adulterada con almidón, harina de trigo y la harina de arroz, que sirven para aumentar el contenido de sólidos no grasos (SNG) y viscosidad de la leche. Otros componentes son la sosa cáustica, el carbonato de sodio y el bicarbonato, para neutralizar el pH y la acidez de la leche (Fakhar y Law Walker 2006; Afzal 2011). Por otra parte, la adición de peróxido de hidrógeno es muy común para minimizar el crecimiento microbiano y controlar la degradación de la leche (Paixao y Bertotti 2009), aunque se perjudican los microorganismos beneficiosos para la elaboración de quesos y sus derivados.

La consecuencia de adicionar intencionalmente sustancias no permitidas puede ser peligroso puesto que pueden traer efectos tóxicos como la melanina la cual trae consigo graves problemas de salud (Lam *et al.*, 2008). Gale y Hu (2007) detectaron que los comerciantes en China diluyen la leche para aumentar el rendimiento y agregan polvos sintéticos para aumentar el valor proteico.

De acuerdo a Lateef *et al.*, (2009) la adulteración de la leche puede ser con agua, urea, formalina, peróxido de hidrógeno y azúcar de caña. Díaz *et al.*, (2002) y Gutiérrez *et al.*, (2009) evaluaron adulteraciones en la leche y productos lácteos con grasas animales y vegetales en leches pasteurizadas y ultra pasteurizadas.

Estos resultados son importantes para los productores ya que con ellos se le puede garantizar al transformador y a los consumidores, un producto de calidad y alto valor nutricional. Sin embargo, el precio al que se les está pagando a los productores y la falta de vigilancia normativa, posibilita que el productor la adultere con agua y para enmascarar esta acción, adicionan otros componentes que demeritan el valor de la producción y pueden ocasionar problemas de salud en los consumidores.

5.4 Composición microbiológica de la leche bronca del Rio Atoyac

Estudiar la composición microbiológica de la leche bronca del río Atoyac es de suma importancia, ya que el contenido de microorganismos indicadores de calidad higiénica refleja si la leche es inocua o no, y pone en evidencia las condiciones de obtención, manipulación y almacenamiento de este fluido.

Generalmente, las normas en materia de alimentos, informan las cantidades mínimas de la calidad microbiológica en términos de microorganismos indicadores. Dichos organismos (o grupos) nos previenen de manera oportuna que el manejo puede ser inadecuado durante los procesos de ordeña, almacenamiento y transporte de la leche ocasionando que la calidad se deteriore, aumentando la carga microbiana, viéndose afectada de manera considerable la vida de anaquel, tanto de la materia prima (leche cruda), como de sus derivados (queso, yogurt, crema, mantequilla, entre otros). También se aumenta el riesgo de afectar la salud humana y la transmisión de microorganismos

patógenos, por ello es importante la determinación de la calidad microbiológica, para reducir estos riesgos (García, 2014).

De manera general, los análisis microbiológicos hacen notar que la leche producida en la cuenca del río Atoyac contiene una cantidad diversificada de microorganismos y cuyo origen se puede deber a diversos factores.

En los municipios muestreados se encontraron diferencias significativas (0.05), esto indica que la carga microbiana de la leche no es homogénea, y al compararlos con la norma NOM-243-SSA1-2010 la mayoría de valores resultantes no se encuentran en los límites permitidos (Cuadro 13 y Cuadro 14).

5.4.1 Composición microbiológica de la leche por procesadora

En coliformes totales la leche de la procesadora 1 que tuvo una carga de 8.267 UFC/mL cumple con la norma nos indica un límite máximo de 20 UFC/mL, lo contrario de la procesadora 2 y 3 que lo superan 25.25 y 22.25 UFC/mL respectivamente. En la Figura 23 se observa placa con crecimiento de colonias sospechosas de CT perteneciente a la procesadora 3.

Figura 25. Crecimiento de CT correspondiente a la procesadora 3.



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

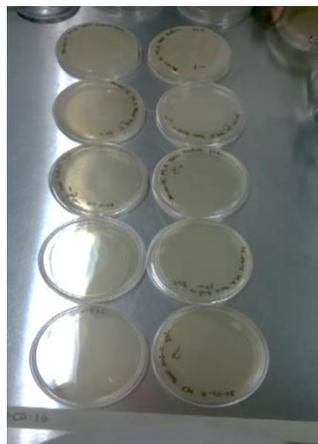
Estos resultados demuestran una alta contaminación en estas procesadoras, producto de diferentes factores. Por un lado, puede afectarla utilización de aguas residuales para

cubrir las necesidades hídricas tanto del animal como del forraje utilizado para alimentar al ganado. De acuerdo con Pérez (2019) en un estudio que realizó sobre la calidad del agua del río Atoyac encontró presencia de microorganismos patógenos, principalmente elevadas cargas de coliformes fecales, lo que causa enfermedades en los productores que tienen contacto con ella, y para el ganado que consumen cultivos forrajeros regados con esas aguas negras. Por otro lado, está elevada contaminación que se puede deber también a deficientes prácticas dentro del proceso, tal vez por un descuido desde la ordeña, toma de muestra o transporte.

Ibtisam y Mahboba (2007) reportaron cargas de 9.38 a 23.70 UFC/mL, resultado que atribuyó a deficientes prácticas de manejo durante la ordeña. De acuerdo con Calderón *et al.* (2006) el registro de este microorganismo se asocia a la presencia de bacterias que pueden afectar las características iniciales en la leche, mermando su vida de anaquel; estos mismos autores indican que, un exceso de carga microbiana se debe a prácticas inadecuadas de limpieza en las manos de los operarios, de equipos y pezones del animal.

En cuanto a Bacterias Mesófilas Aerobias, las leches de las tres transformadoras se pueden clasificar dentro de la Clase 1= <100 000 UFC/mL (Figura 25), lo evidencia que es una leche de excelente calidad higiénica, lo que permite garantizarle al consumidor que le está vendiendo una leche libre de BMA.

Figura 26. Ausencia de BMA en Agar Cuenta Estándar.



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Para el caso de hongos y levaduras, las leches de las tres transformadoras cumplen con la especificación estipulada en la norma. En la Figura 26 se muestran placas de la procesadora 2.

Figura 27. Ausencia de Mohos y Levaduras en placas de la transformadora 2.



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

El origen de este grupo de microorganismos en la leche, en parte es asociado a factores externos; no obstante, autores como Fulya (2011) lo asocian con la alimentación del ganado (ensilados mal almacenados). Abarca *et al.* (2000) indican que se han registrado poco más de 100 especies de hongos productores de micotoxinas, incluidas en tres géneros: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, la existencia de estos puede ocasionar que dichos compuestos se reproduzcan dentro de la leche, lo que representa un riesgo potencial para los consumidores. Como se indica en el Cuadro 13.

Fuentes-Coto *et al.* (2013) encontraron valores similares en leche producida en explotaciones campesinas del Estado de México. En investigaciones realizadas en otros países como Turquía (Fulya, 2011) y Sudán (Asmahan, 2010) también se han encontrado cargas similares a este estudio.

5.4.2 Análisis de dependencia microbiológicos

La gran mayoría de las veces la contaminación de la leche radica en el mal uso de las medidas higiénicas en la producción, preparación y conservación, lo que es propicio para la presencia y el desarrollo de microorganismos que se nutren con las diversas

sustancias que provee este y lo transforman, volviéndolo inaceptable para la salud humana.

Cuadro 13. Recuento de microorganismos en leche bronca por transformadoras

T	Parámetro	N	X	DS	V. Mín	V. Máx	F	Sig	NOM-243-SSA1-2010
1	Coliformes	3	8.267 a	6.104	2.300	14.500			
2	Totales	10	25.250 a	28.334	2.900	71.200	0.436	0.655	≤ 20 UFC/mL
3	(UFC/mL)	21	22.250 a	28.417	0.400	85.800			
1		3	10.767 a	5.314	4.700	14.600			Clase 1= < 100 000 UFC/mL
2	Mesófilos	10	19.017 a	18.286	2.800	53.000			Clase 2= 101 000 a 300 000 UFC/mL
	Aerobios						0.271	0.765	Clase 3= 301 000 a 599 000 UFC/mL
3	(UFC/mL)	21	15.608 a	16.131	2.000	50.500			Clase 4= 600 000 a 1 200 000 UFC/mL
Hongos y									
1	Levaduras	3	11.067 a	11.1	0.000	22.200	0.129	0.879	50 a 500 UFC/mL
	(UFC/mL)								

Medias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales, según la comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$); T= Transformadora; UFC= Unidades Formadoras de Colonia; N: Número de muestra; X= Media; DS= Desviación Estándar; V. Mín= Valor Mínimo; V. Máx= Valor Máximo; F= Valor de F; Sig= Significancia Fuente: elaboración propia con datos de trabajo de campo 2016

Desde el punto de vista de una perspectiva sanitaria, los alimentos sirven de vehículos de infecciones (ingestión de microorganismos patógenos) o de intoxicaciones (provocadas por toxinas producidas por microorganismos) graves. De acuerdo con Ayala (2009) en la región del Atoyac los padecimientos gastrointestinales ocupan la primera posición de las enfermedades endémicas, siendo las aguas residuales la fuente principal de microorganismos como bacterias, virus, protozoarios y helmintos. Por ello fue importante construir tablas de contingencia para analizar si los microorganismos patógenos como *E. coli*, *Salmonella spp*, *Listeria spp* y *S. aureus*, pues están relacionadas con las tres procesadoras de estudio para evitar posibles riesgos dañinos para la salud.

Análisis de dependencia, microbiológicos por transformadora

Se observa que, a diferencia de *Listeria spp*, *E. Coli*, *Salmonella spp* y *S. aureus* no se relacionan con el tipo de transformadora (Cuadro 14).

Cuadro 14. Prueba de chi-cuadrado de Pearson, microorganismos patógenos por transformadora.

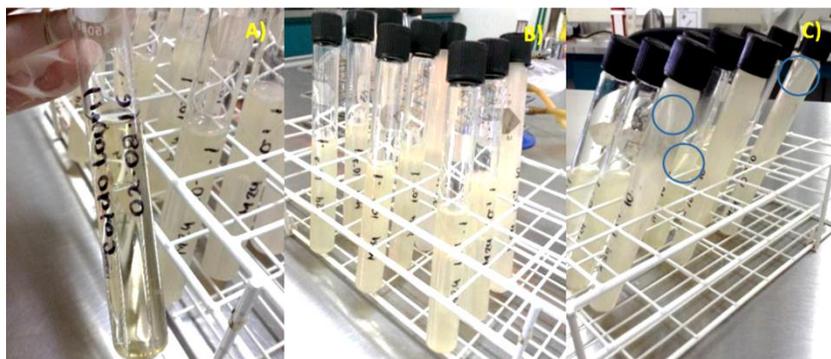
Parametro	Valor	Sig
<i>E. coli</i>	3.062	0.216
<i>Salmonella spp</i>	3.124	0.210
<i>Listeria spp</i>	5.906	0.050
<i>S. aureus</i>	0.264	0.876

Fuente: elaboración propia con datos de trabajo de campo 2016

En el Cuadro 15 se reportan los resultados en porcentajes de la presencia y ausencia de microorganismos patógenos por transformadora.

En *E. coli* se observa que la leche de las tres transformadoras, en su mayoría, está ausente este microorganismo, no obstante, en una minoría está presente; en la Figura 26 se muestran los resultados de esta prueba en una muestra de leche de la transformadora 3 que resultó positiva en la fase de pre enriquecimiento debido a que los tubos produjeron gas y turbidez, presentaron elevación de campanas y presencia de burbuja en su interior.

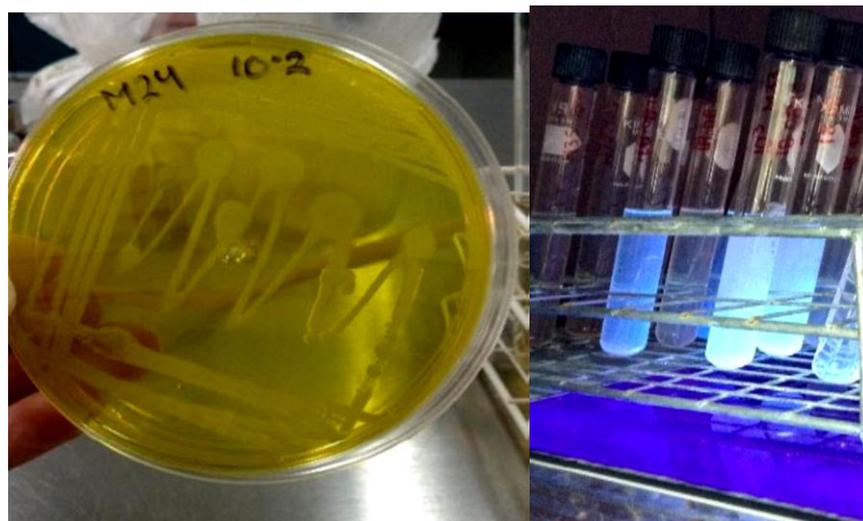
Figura 28. Presencia de *E. coli* en muestra de la transformadora 3, A) Testigo, B) Producción de gas y turbidez, C) Elevación de campana y presencia de burbuja.



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

Dicha muestra en la fase de sembrado en medios selectivos se detectó presencia de colonias *E. coli*. dado a que existió un el cambio de tonalidad en el medio, de rojo a amarillo o en tonos verdes y rojizos (Figura 27, inciso A), en cuanto a la prueba confirmativa se consideró positiva a *E. coli* debido a que se observó fluorescencia mediante el equipo de luz UV (Figura 27, inciso B).

Figura 29. Determinación de *E. coli* en muestra de la transformadora 3, A) Crecimiento de colonias *E. coli*. en agar VB, B) Prueba positiva con fluorescencia caldo EC MUG.



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

En otros estudios han vinculado que la bacteria está presente, por una parte, por deficiencias en la limpieza previa del ordeño y aunado al uso del agua contaminada en el lavado de ubres, instrumentos y utensilios, por lo cual en algún descuido estos factores pudieron incidir para que en una minoría de muestras este presente esta bacteria. El obtener estos resultados es de suma importancia para la detección por contaminación fecal y una alta probabilidad de contener cepas patógenas productoras de toxinas (*E. coli* O157 H7); sin embargo, en la mayoría de las muestras no se encontró tal presencia. En un estudio realizado en leche cruda procesada por pequeños productores seleccionados en granja lecheras de Zimbabwe han encontrado que en el 100% de las muestras, fueron positivas (Fulya, 2011), mientras que Mhone *et al.* (2011) obtuvo 40.8% de muestras positivas.

En lo que respecta a *Salmonella spp.* se observa que en la leche de las transformadoras 1 y 2, en su mayoría, está ausente; la procesadora 3, muestra mayor presencia. En la Figura 28 se observan los resultados de esta determinación en una muestra de la transformadora 3 que resultó positiva en la fase de pre enriquecimiento dado a que se produjo gas y residuos flotantes a las 24 horas de incubación (Figura 28, inciso A); así mismo en la fase de enriquecimiento se determinó positiva debido a que existió viraje de color en el caldo (Figura 28, inciso B) y en la fase de sembrado en medios selectivos en agar xilosa lisina desoxicolato se observó presencia de colonias típicas de *Salmonella spp* (Figura 28, inciso C).

Figura 30. Determinación de *Salmonella spp.* en muestra de la transformadora 3, A) Caldo lactosado, prueba positiva, B) Caldo Selenito Cistina, prueba positiva, C) crecimiento de colonias características productoras de ácido sulfhídrico (color negro).



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

En la Figura 29 se pueden ver los resultados de dicha muestra en la identificación bioquímica. En cuanto a las Colonias características tomadas de agar XLD (Figura 29, inciso A); en agar citrato de Simmons, la prueba dio pH Alcalino y positivo a la presencia de *E. Coli* (Figura 29, inciso B); en agar MIO dio positivo a la movilidad con pH ácido/alcalino, negativo al indol y positivo a la presencia de *E. aerogénica* y a *Enterobacter* (Figura 29, inciso C). En agar hierro y lisina (LIA) resultó positivo a la fermentación de la glucosa, negativo a la descarboxilación de la lisina con pH ácido 5.2

y prueba negativa a la presencia de *E. coli* y *Proteus* (Figura 29, inciso D); y en agar hierro triple azúcar (TSI) dio ácido y ácido con gas, positivo a la producción de ácido sulfhídrico, atacada sólo por la lactosa y positivo a presencia de *E. Coli* y *Citrobacter* (Figura 29, inciso E).

Mientras que las Colonias tomadas de agar VB (Figura 29, inciso F); en agar citrato de Simmons dio pH alcalino y prueba positiva a presencia de *E. Coli* (Figura 29, inciso G); en agar movilidad indol y ornitina (MIO) resultó positivo a la movilidad, a indol, a la ornitina con alcalino/alcalino pH 6.8 y dio positivo a la presencia de *E. Coli* y *Enterobacter* (Figura 29, inciso H); en agar hierro y lisina (LIA) dio positiva a la descarboxilación de lisina y a la producción de ácido sulfhídrico con alcalino/alcalino pH 6.8 y positivo a la presencia de *E. Coli*, *Proteus* y algún género de *Salmonella* (Figura 29, inciso I); en agar hierro y triple azúcar (TSI) dio ácido/ácido, con gas atacada solamente es la glucosa y positivo a la presencia de *Escherichia* y *Enterobacter* (Figura 29, inciso J).

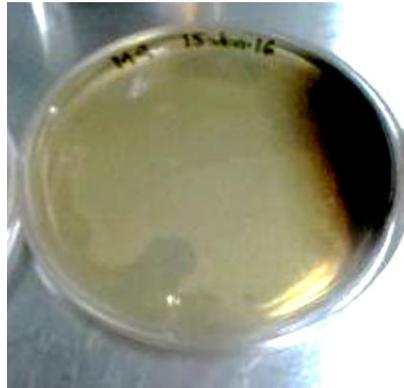
Figura 31. Identificación bioquímica en muestra de la transformadora 3, A) Colonias tomadas de agar XLD, B) Positivo a *E. Coli* en agar citrato de simmons, C) Positivo a *E. aerogénica* y *Enterobacter* en Agar MIO, D) Negativa a *E. coli* y *Proteus* en LIA, E) Positivo a *E. Coli* y *Citrobacter* en TSI.



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

En cuanto a *Listeria spp.* la mayoría de las muestras de leche de la transformadora 1 y 3 tuvieron presencia a dicho microorganismo (Figura 30), por lo cual únicamente la transformadora 2, en su mayoría (90.0%) cumple con la norma.

Figura 32. Placa de la transformadora 1 con crecimiento de colonias sospechosas de *Listeria spp.* con hidrolisis de esculina (coloración negra).



Fuente: Fotografía propia con trabajo de laboratorio 2016

Estos datos nos llevan a considerar que los microorganismos están presentes una vez realizada la limpieza, pueden estar implícita la presencia de éstas en el ganado causando una posible enfermedad. De acuerdo con Claeys *et al.* (2013) estos microorganismos se encuentran en el ambiente y tienen la capacidad de infectar animales por medio de la ingesta de agua o alimentos contaminados con dicha bacteria, de esta forma se explica su existencia en la leche.

Para el caso de *S. aureus* se observa que en las tres transformadoras predomina la presencia de este agente microbiano. En la Figura 31 se muestra el resultado de la prueba confirmativa de una muestra de la procesadora 1 que dio positiva al presentar formación de coagulo.

Figura 33. Prueba confirmativa de *S. aureus*. en transformadora 1, A) Testigo, B y C) Formación de coagulo.



Fuente: Fotografías propias con trabajo de laboratorio 2016

Estos resultados necesariamente obligan a las tres transformadoras a usar métodos térmicos para ser procesados o consumidos, no obstante, Mhone *et al.* (2011) señalan que aun cuando este microorganismo se trate de eliminar con tratamientos térmicos, las toxinas que liberan son resistentes al calor, por lo que, no se garantizaría en su totalidad la inocuidad convirtiéndose en un riesgo potencial para el consumidor. La presencia de contenidos altos de *S. aureus* en la leche indica que los animales no gocen de buena salud, y provocando la posibilidad de que padezcan una alta incidencia de mastitis y la manipulación poco higiénica después del ordeño.

Cuadro 15. Resultados microorganismos patógenos por transformadora

T	Parámetro							
	<i>E. coli</i>		<i>Salmonella spp</i>		<i>Listeria spp</i>		<i>S. aureus</i>	
	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
1	0.00%	100.00%	33.30%	66.70%	66.70%	33.30%	66.70%	33.30%
2	10.00%	90.00%	30.00%	70.00%	10.00%	90.00%	50.00%	50.00%
3	33.30%	66.70%	61.90%	38.10%	52.40%	47.60%	52.40%	47.60%
NOM-243-SSA1-2010	< 3 NMP/g o mL		Ausente en 25g o mL		Ausente en 25g o mL		<10 UFC/mL por siembra directa	

T= Transformadora

Fuente: elaboración propia con datos de trabajo de campo 2016

Pérez (2019, p 49) al estudiar la calidad bacteriológica del agua del Río Atoyac en el Valle de Puebla y en la comunidad agrícola Emilio Portes Gil, encontró 14 tipos de bacterias patógenas oportunistas que son de las familias: Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Enterobacter sp*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia fonticola*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter braakii*, *Morganella morganii*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Kluyvera sp.*, *Pantoea sp.*); de la familia Aeromonadaceae (*Aeromonas hydrophila*, y *Aeromonas sp.*); Pseudomonadaceae (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas sp.*); y Xanthomonadaceae (*Stenotrophomona maltophilia*), las cuales de acuerdo con Burgos *et al.* (2017) producen infecciones en el sistema nervioso central y digestivo (*Escherichia*), en el tracto urinario (*Escherichia*, *Klebsiella*, y *Morganella*) y en el tracto respiratorio inferior y torrente sanguíneo (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*).

Por lo anteriormente citado al ocuparse agua del río Atoyac para satisfacer las necesidades de riego de los cultivos forrajeros y del animal se convierte en un vector de transmisión de microorganismos que repercute en la calidad de la leche, por ello es primordial continuar con más estudios para identificar la interacción existente entre la calidad microbiológica del agua usada para la producción de forraje, el forraje consumido por el animal y la calidad de la leche para conocer el efecto del agua residual del río Atoyac en la calidad de la leche.

VI. CONCLUSIONES

Con base a los resultados encontrados llegamos a la conclusión que la leche producida por las unidades de producción familiar de la cuenca del río Atoyac, cumple con los parámetros de la normatividad vigente; sin embargo, por el manejo deficiente se vende acidifica y es adulterada con agua en niveles promedio de 11.49%, con el que las empresas transformadoras pierden en promedio \$0.68/litro de leche.

Se observaron diferencias significativas en las características fisicoquímicas de la leche que se comercializa a las tres empresas estudiadas, siendo común en las tres la adulteración con agua que ocasiona que los componentes se diluyan, particularmente proteína y la lactosa, que mayoritariamente conforman los sólidos no grasos.

El análisis multivariado generó cuatro grupos de productores, resaltando uno de ellos, donde al corregir sus componentes por la adición de agua, deja entrever la posibilidad que adicionen grasa para enmascarar la adición de agua.

En términos microbiológicos, aun cuando la leche cumple con la NOM-243-SSA1-2010 en lo que respecta a Bacterias Mesófilas Aerobias, *E. coli*, *Salmonella spp*, Hongos y levaduras, se encontró que una minoría de muestras registra presencia de Coliformes Totales, *S. aureus* y *Listeria spp*; esto pone en evidencia que la calidad microbiológica específicamente en estos indicadores es deficiente, lo cual se atribuye a múltiples factores como la contaminación del ambiente, el uso de aguas residuales pudo ser un medio de transporte de microorganismos patógenos, también debido a que las explotaciones familiares no cuentan con las instalaciones apropiadas para el ganado, problemas de higiene en las ubres y por las prácticas inadecuadas de saneamiento en

los equipos empleados durante la ordeña, prácticas ineficientes en la recolección de la leche, contaminación del transporte. Esto obliga y compromete a las procesadoras a implementar de manera más estricta las buenas prácticas de higiene tanto en el personal como en el proceso para evitar problemas graves de salud de los consumidores de esta leche.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda para futuras investigaciones continuar impulsando esfuerzos para mejorar y mantener la calidad fisicoquímica y principalmente la microbiológica de la leche bronca producida tradicionalmente en unidades familiares de la cuenca del río Atoyac.

Es importante que los productores de las procesadoras 2 y 3 que le adicionan mayor cantidad de agua a la leche tengan cuidado especial en esta práctica, ya que si bien la leche de estas procesadoras son la de mejor calidad, también disminuye con la adición de ésta, principalmente el contenido de proteína; sin embargo, es fundamental desarrollar talleres con los productores para que no sigan implementando esta práctica y no disminuyan la calidad de su leche, también se necesita concientizar a las procesadoras y consumidores directos para ofrecerles un precio justo a los productores para que a cambio de ello entreguen una leche con características de calidad e inocuidad, de acuerdo como lo marca la normatividad vigente.

Es conveniente capacitar a cada procesadora sobre las pruebas de plataforma, fisicoquímicas y el manejo del equipo Lactoscan.

Se debe poner especial énfasis en garantizar la calidad microbiológica (inocuidad) y las buenas prácticas de higiene desde la nutrición del animal y ordeña para contribuir en el mejoramiento de la calidad de la leche y productos y con ello su competitividad en el mercado.

Así mismo debido al uso irracional sin control ni regulación de aguas residuales para la producción de forraje con el cual es alimentado el ganado de las explotaciones familiares lecheras de la cuenca Atoyac es de suma importancia realizar investigaciones para encontrar la relación que existe entre la calidad microbiológica del agua que se usa para

irrigar los campos de cultivo, el forraje consumido por el ganado y la calidad de la leche para identificar el efecto del agua residual del río Atoyac en la calidad microbiológica y fisicoquímica de la leche cruda. Con ello se podría evaluar el efecto que tiene en la salud el consumo de esta leche para con ello impulsar acciones para reemplazar el uso de agua contaminada para riego y/o, en su defecto, evitar lo menos posible su uso.

Para que el productor cubra con las normas básicas de calidad fisicoquímica e higiene es necesario crear alianzas estratégicas de cooperación entre el sector ganadero, sector académico y el estado. El trabajo conjunto de estos tres actores contribuirá de manera significativa a mejorar de manera integral la calidad de la leche y ello permitirá darle un valor diferenciado en el mercado e introducir sus productos a nuevos mercados, ya sea como materia prima o como producto terminado.

Se recomienda involucrar a las instituciones académicas que están inmersas en la cuenca del río Atoyac como Colegio de Postgraduados, Universidad Tecnológica de Huejotzingo (UTH), Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx). Con estas instituciones se podría capacitar a los productores en torno a prácticas de limpieza en la ordeña y realizar investigaciones sobre el efecto del uso agrícola de agua residual del río Atoyac en la calidad de la leche cruda, así como de la higienización pre ordeño en los indicadores microbianos, también en la realización de diagnósticos y caracterización de las unidades familiares de la cuenca del río Atoyac, y en la generación de metodologías, técnicas, herramientas, capacitación de las normas sanitarias y la adecuada regulación del mercado, transferencia tecnológica y asistencia técnica. Ello permitiría mejorar las habilidades y capacidades de los productores para aumentar la calidad de la leche y mejorar el manejo de los animales, la siembra de forrajes de calidad, y el acceso al mercado que garantice una mejora en la económica de las familias productoras. No obstante, para que las explotaciones lecheras familiares de la cuenca del río Atoyac puedan tener mejores oportunidades de mercado, es importante, además de ofrecer un producto de calidad fisicoquímica y nutricional, mejorar la calidad microbiológica e higiénica de la leche. Por ello, es fundamental continuar con más investigaciones orientadas a implementar una técnica de higienización

que reduzca la carga microbiológica de la leche de la cuenca del Atoyac para la obtención de un producto de calidad higiénica aceptable.

Se espera que el gobierno diseñe políticas públicas que enfoquen su atención y recursos hacia los sistemas familiares de leche ubicados en la cuenca del río Atoyac, donde el estado deberá implementar actividades de apoyo y realizar inversión financiera que respondan a las necesidades de las procesadoras de leche y municipios productores, pero sobre todo se requiere de la participación decidida de los productores para mejorar su leche y con ello sus condiciones de vida.

VIII. LITERATURA CITADA

- Abarca, M. L., Bragulat, M. R., Castellá, G., Accensi, F. y Cabañes, F. J. (2000). Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Revista Iberoamericana de Micología*. 17(2), 63-68.
- Abrego, C. H. (2011). El sistema familiar de producción de leche bovina en el municipio de Nopalucan, Puebla. Colegio de Postgraduados. Tesis de Maestría en Ciencias. 97 p
http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/10521/613/1/Abrego_Castillo_H_MC_EDAR_2011.pdf
- Afzal, A., Mahmood, M.S., Hussain, I. and Akhtar, M. 2011. Adulteration and microbiological quality of milk. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10 (12). 1195-1202
- Alais, C. (1985). Ciencia de la leche: principios de técnica lechera. Reverté.
- Ali, A. A., Irshad, N. B., Razaz, S. A., and Manahil, A. A. (2010). Microbiological safety of raw milk in Khartoum State, Sudan: 1-Khartoum and Omdurman cities. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(5), 426-429.
- Álvarez-Fuentes G, Herrera-Haro JG, Alonso-Bastida G, Barreras-Serrano A. 2012. Calidad de la leche cruda en unidades de producción familiar del sur de Ciudad de México. *Arch Med Vet*;44(3):237-242.
- Ángeles M. R., Mora F.J. S., Martínez D. M. A., y García M. R. (2004). Efecto de las importaciones de leche en el mercado nacional del producto. *Agrociencia*, 38(5), 555-564.
- Aranceta, B. y Serra, J. (2005). Leche, lácteos y salud. Impacto de los procesos industriales en el valor nutricional de los productos lácteos. Editorial Panamericana. p 127-144.
- Arguello, P. (2017). Guía de laboratorio de bromatología II. Ecuador.
- Arriaga, J. C., Espinoza, A. O. O., Rojo, G. H. E., Valdés, M. J. L., Albarragan, P.B., y Sánchez, V.E. (1997). La producción campesina de leche en el Valle de Toluca: una respuesta al ajuste estructural en el campo mexicano. Distrito de Desarrollo Rural No. 1. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Toluca Edo. México.
- Ayala, R. I. (2009). La Situación ambiental en Puebla: Elementos para la educación. Universidad Iberoamérica Puebla. México. 317 pp.
https://books.google.com.mx/books/about/La_situaci%C3%B3n_ambiental_en_Puebla.html?id=BFBgAAAAMAAJ&redir_esc=y
- Ayub, M., Q. Ahmed, M. Abbas, I.M. Qazi and I.A. Hattak. 2007. Composition and adulteration analysis of milk samples. *Sarhad Journal of Agriculture*, 23 (4), 1127-1130.

- Barham, G. S., Khaskheli, M., Soomro, A. H., and Nizamani, Z. A. (2014). Extent of extraneous water and detection of various adulterants in market milk at Mirpurkhas, Pakistan. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(3), 83-89.
- Bernal, L., Rojas, M., Rosales, A., Vázquez, C., Espinoza, A. y Castelán, O. (2004). Diagnóstico de la calidad sanitaria de leche bronca en sistemas campesinos del Estado de México. *Memorias del Congreso Internacional Agroindustria Rural y Territorio*. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Estado de México. 97-98.
- Bernal, M. L. R., Rojas, G. M. A., Vázquez, F. C., Espinoza, O. A., Estrada F. J. y Castelán, O. O. A. (2007). Determinación de la calidad fisicoquímica de la leche cruda producida en sistemas campesinos en dos regiones del estado de México. *Veterinaria México*, 38(4), 395-407. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=42338402>
- Bernett, A., Draayer, J., Dugdell, B., Lamber, J. C. y Thapa, T. (2001). Informe sobre la Conferencia Electrónica de la FAO sobre acopio y procesamiento de Leche en Pequeña Escala en Países en Desarrollo. Roma. www.fao.org/ag/againfo/themes/documents/LPS/DAIRY/ecs/Proceedings/econf-procspanish.
- Botelho, B. G., Reis, N., Oliveira, L. S., and Sena, M. M. (2015). Development and analytical validation of a screening method for simultaneous detection of five adulterants in raw milk using mid-infrared spectroscopy and PLS-DA. *Food chemistry*, 181, 31-37.
- Botero, A. L., Vertel, M. M., Flores, M. L. y Medina, P. J. (2012). Calidad composicional e higiénico-sanitaria de leche cruda entregada en época por productores de Galera Sucre. *Vitae*, 19(1), 314–316. <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914097.pdf>
- Bravo, M. F. (2004). El manejo higiénico de los alimentos: Guía para la obtención del distintivo H. Editorial Limusa. 115 p. <https://www.worldcat.org/title/manejo-higienico-de-los-alimentos-guia-para-la-obtencion-del-distintivo-h/oclc/893577772>
- Burgos, A. L., Alvarado, M., Páez, R. y Hernández, R. (2017). Patrones espacio temporales de la condición microbiológica del agua de fuentes comunitarias y amenazas a la salud familiar en cuencas estacionales del Bajo Balsas (México). *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33 (2), 199-213. <https://www.revistascca.unam.mx/rica/index.php/rica/article/view/RICA.2017.33.02.02/46655>
- Caicedo, R. R., Garita, G. J. L. y Paz-Calderón, N. (2011). Salud animal de una cuenca lechera bajo el sistema de traspatio, Puebla, México. *In AICA*, 1, 323-326. https://scholar.google.com.mx/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Caicedo%2C+R.+R.%2C+Garita%2C+G.+J.+L.+and+Paz-

Calder%C3%B3n%2C+N.%282011%29.+Salud+animal+de+una+cuenca+leche+ra+bajo+el+sistema+de+traspacio%2C+Puebla%2C+M%C3%A9xico.+In+AICA%2C+1%2C+323-326&btnG=#

Calderón A., García F. y Martínez G. 2006. Indicadores de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Revista MVZ. Córdoba*; 11(1):725-737. Disponible en: www.redalyc.org/pdf/693/69311106.pdf

Camacho, J., Cuesta, A., Garcia Contreras, G. A., Corredor Sanjuanelo, D. W., y Arévalo, L. (2022). Composición nutricional, niveles de nitratos y nitritos del pasto Kikuyo y su influencia en producción de leche. *Revista MVZ Córdoba*, 27(1), 1-11.

Caravaca, R., Castel, G., Guzmán, G., Delgado, P., Mena, G. y Alcalde, A. (2003). Bases de la producción animal. Secretariado de Publicaciones de la universidad de Sevilla. 452-460.

Cassoli LD (2010) Validac,ãõ da metodologia de infravermelho com transformada de Fourier para identificac,ãõ de adulterac,ãõ em leite cru. Ph.D. Thesis, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". University of Saõ Paulo, Piracicaba. <https://goo.gl/l8avo>

Castelán, O. O., Matthewman, R. W., González, M. E. y Burgos, G. R. (1997). Caracterización y evaluación de los sistemas campesinos de producción de leche. El caso de dos comunidades del Valle de Toluca. *Ciencia Ergo Sum*, 4(3), 316-326.

Castro-González, N. P., Calderón-Sánchez, F., Castro de Jesús, J., Moreno-Rojas, R., Tamariz-Flores, J. V., Pérez-Sato, M. and Soní-Guillermo, E. (2018). Heavy metals in cow's milk and cheese produced in areas irrigated with waste water in Puebla, Mexico. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 11 (1), 33-36. Cavin, C., Cottenet, G., Blancpain, C., Bessaire, T., Frank, N., and Zbinden, P. (2016). Food adulteration: From vulnerability assessment to new analytical solutions. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 70(5), 329-333.

CCAYAC-M-004/11. 2014. Comisión de control analítico y ampliación de cobertura. Método de prueba para la estimación de la densidad microbiana por la técnica del número más probable (NMP), detección de coliformes totales, coliformes decales y *Escherichia coli*. [Consultado 01 septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/TyS/Documents/TercerosAutorizados/CCAYAC-M-004.PD>

CEDRSSA. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2020). Cámara de diputados LXIV legislatura. Investigación política pecuaria y ganadera sostenible. Palacio legislativo de San Lázaro, Ciudad de México. 33p. <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/34PoliticaPecuariaN.pdf>

Cepero, O., Castillo, J. C., Salado, J., Herrada, N., Aguiar, J., y González, R. (2005). Valoración de diferentes factores que intervienen en la calidad higiénico-sanitaria de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 6(3).

Cervantes, E. F., Santoyo C. H., y Álvarez M. A. 2011. Lechería familiar, factores de éxito. Edición, Plaza y Valdés. D. F., México.

https://scholar.google.com.mx/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Castro-Gonzalez%2C+N.+P.%2C+Calder%3%B3n-S%3A1nchez%2C+F.%2C+Castro+de+Jes%3BAs%2C+J.%2C+Moreno-Rojas%2C+R.%2C+Tamariz-Flores%2C+J.+V.%2C+P%3A9rez-Sato%2C+M.+and+Son%3AD-Guillermo%2C+E.+%282018%29.+Heavy+metals+in+cow%E2%80%99s+milk+and+cheese+produced+in+areas+irrigated+with+waste+water+in+Puebla%2C+Mexico.+Food+Additives+and+Contaminants%3A+Part+B%2C+11+%281%29%2C+33-36&btnG=#

Claeys W., Cardoen S., Doube G., De Block J., Dewettinck K., Dierick K., Dieven D., Imberechts H., Thiange P., Vandenplas Y. and Hermann L. 2013. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food control* 31: 251-262

Codex Alimentarius. (2004). Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. CAC/RCP 57. Segunda edición. Disponible en www.codexalimentarius.org/input/download/standards/.../CXP_057s.pdf

CONAGUA. Comisión Nacional del Agua. (2021). Diagnóstico de la calidad del agua del Río Atoyac y sus afluentes, 2012-2020. Informe final. 42p. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5199672&fecha=06/07/2011

Chanda, T., Debnath, G. K., Hossain, M. E., Islam, M. A., and Begum, M. K. (2012). Adulteration of raw milk in the rural areas of Barisal district of Bangladesh. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 41(2), 112-115.

Dávalos, J. F. (2020). Panorame general de la leche en el mundo y México. *Foro de perspectivas del mercado de los lácteos*, (pág. 4 a 13). México.

Davoodi, S. H., Shahbazi, R., Esmaili, S., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A., Jazayeri, S., and Taslimi, A. (2016). Health-related aspects of milk proteins. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 15(3), 573.

Del Valle, R. M. Del C., Aguilar, C.C., y Hernández, T. A. (1997). Estudio sobre los Efectos económicos-sociales de la política neoliberal en el sistema lácteo mexicano. La reestructuración productiva de dos microrregiones (Los altos de Jalisco y la Fraylesca, Chiapas). UNAM, Instituto de Investigaciones Económicas Cd. Universitaria, México.

Díaz G.G; Gutiérrez R; Pérez N; León-Vega; González M. y Prado; 2002; Detección de adulteraciones en la grasa de leche pasteurizada mexicana; *Revista de Salud Animal* (Vol. 24, Número 1).

Douphrate, D. I., Hagevoort, G. R., Nonnenmann, M. W., Lunner, C., Reynolds, S. J., Jakob, M., and Kinsel, M. (2013). The dairy industry: A brief description of

production practices, trends, and farm characteristics around the world. *Journal of Agromedicine*, 18(3), 187-197.

https://scholar.google.com.mx/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Douphrate%2C+D.+I.%2C+Hagevoort%2C+G.+R.%2C+Nonnenmann%2C+M.+W.%2C+Lunner%2C+C.%2C+Reynolds%2C+S.+J.%2C+Jakob%2C+M.%2C+and+Kinsel%2C+M.+%282013%29.+The+dairy+industry%3A+A+brief+description+of+production+practices%2C+trends%2C+and+farm+characteristics+around+the+world.+Journal+of+Agromedicine%2C+18%283%29%2C+187-197.+&btnG=#d=gs_cit&t=1668616752357&u=%2Fscholar%3Fq%3Dinfo%3AxxhhpTtz9F8J%3Ascholar.google.com%2F%26output%3Dcite%26scirp%3D0%26hl%3Des

Escoto, F. C., Vargas, A. C., y Oño, I. M. (2013). La calidad estándar de la leche en el estado de Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 4(1), 75-86.

Espinoza-Arellano, J. D. J., Fabela-Hernández, A. M., López-Chavarría, S., y Martínez-Gómez, F. (2019). Impacto de las importaciones de leche en polvo y derivados lácteos en el precio al productor de leche de bovino en México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 16(1), 123-139.

Espinoza-Ortega, A, Álvarez-Macías, A, Del Valle, M. C. y Chauvete, M. (2005). La economía de los sistemas campesinos de producción de leche en el Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 43(1), 39-56. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/1393>

Espinoza, B. S. B. (2015). Análisis microbiológico de coliformes totales y fecales en la leche cruda de la parroquia baños, en el período agosto-septiembre del 2014. Universidad Católica de Cuenca. Cuenca, Ecuador. 1-102 pp. <https://dspace.ucacue.edu.ec/handle/ucacue/7832>

Estrella, A. (2016). Evaluación de cuatro niveles de proteína en balanceados relacionado a la producción y composición de la leche en vacas en el segundo tercio de lactancia. Universidad Central del Ecuador. *In Ciencia Veterinaria*, 18, (2), 65p. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8886/1/T-UC-0004-65.pdf>

FAO. Food and Agricultural Organization. (2019). Composición de la leche. Portal lácteo. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/composicion-de-la-leche/es/>

FDA. Food and Drug Administration. (2012). Los peligros de la leche cruda, 1-2pp. <https://www.fda.gov/media/84522/download>

Fernández, E., Martínez, J. A., Martínez, V., Moreno, J. M., Collado, L. R., Hernández, M. y Morán, F. J. (2015). Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutrición hospitalaria*, 31(1), 92-101. <https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v31n1/09revisión09.pdf>

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT Statistical Database, Statistical Division. Rome (2019).
- Fonseca, L. D. S. (2000). MV dos. Resíduos de antibióticos e qualidade do leite. In_. Qualidade do leite e controle da mastite.(pp 169-175).
- Fuentes-Coto, G., Ruíz-Romero, R., Sánchez-Gómez, J.I., Ávila-Ramírez, N.D., y Escutia-Sánchez, J. (2013). Análisis microbiológico de leche de origen orgánico: atributos deseables para su transformación. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 10 (4), 419–432. <http://www.scielo.org.mx/pdf/asd/v10n4/v10n4a3.pdf>
- Fakhar, H. and Law Walker, F.G. (2006). The white revolution-dhoodh darya. Pakistan Dairy Development Company, (pp. 72)
- Fulya, T. (2011). Microbiological and chemical properties of raw milk consumed in Burdur. *Journal of animal and veterinary advances*, 10(5), 635-641.
- Gale Jr, H. F., y Hu, D. (2007). Problemas de la cadena de suministro en el incidente de adulteración de la leche de China (No. 1005-2016-79204).
- García, H. (2014). Recepción y almacenamiento de la leche y otras materias primas. INAE0209. IC Editorial. 334p.
- García-Martínez, E., Fuentes-López, A. y Fernández-Segovia, I. (2014). Determinación de la calidad higiénica de la leche mediante la medición indirecta del tiempo de reducción del azul de metileno o prueba de la reductasa microbiana. Valencia. 3p. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/38380/Eva%20Garc%C3%ADa.%20Calidad%20leche-2014.pdf>
- Gómez, D. A. A. and Mejía, O. B. (2015). Composición Nutricional de la leche en el Ganado Vacuno. *Revista Lasallista de Investigación*. 2(1),38-42.
- González, G., Molina, B., y Coca, R. (2010). Calidad de la leche cruda. Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz. https://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida.html
- Grass-Ramírez, J. F., Sánchez-Gómez, J., y Altamirano-Cárdenas, J. R. (2015). Análisis de redes en la producción de tres quesos mexicanos genuinos. *Estudios Sociales*, 23(45), 185- 212.
- Gutiérrez, R., Vega, S., Díaz, G., Sánchez, J., Coronado, M., Ramírez, A., Pérez, J., González, M. and Schettino, B. 2009. Non-Milk Fat Detection In Milk Fat By Gas Chromatography And Linear Discriminant Analysis. *Journal of Dairy Science*. 92:1846-1855.
- Gwin, M.C., G. Lienert and J. Kennedy. 2009. Formaldehyde exposure and asthma in children. A systematic review. *Environment Health Perspective*, 118, 2009, 313-317.

- Haasnoot, W., N.G. Smits, A.E.K. Voncken and M.G. Bremer. 2004. Fast biosensor immunoassays for the detection of cows' milk in the milk of ewes and goats. *Journal of Dairy Research*, 71, 322-329.
- Harding F. (1995). *Milk quality* (Chapter 6). Blackie Academic y Professional, London
- Henno, M., Ots, M., Jõudu, I., Kaart, T., y Kärt, O. (2008). Factores que afectan la estabilidad del punto de congelación de la leche de vacas individuales. *International Dairy Journal*, 18(2), 210-215.
- Hernández, A. (2010). *Composición y calidad nutritiva de los alimentos: Leche y sus derivados*. Editorial Panamericana Tomo II segunda edición.
- Hernández-Vázquez, Y. G. (2020). *Calidad nutricional y sanitaria de leche cruda, en granjas bovinas familiares de la microrregión Texcoco*. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados *Campus Montecillo*. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 30-31p.
http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/10521/4344/1/Hernandez_Vazquez_YG_MC_RGP_Ganaderia_2020.pdf
- Ibtisam, E.M. E, y Mahboba, I. A. A. (2007). The hygienic quality of raw milk produced by some dairy farms in Khartoum State, Sudan. *Research Journal of Microbiology*, 2(12), 988–991.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Anuario estadístico y geográfico de Puebla. México, 2016.
- Infografía Agroalimentaria Puebla (2021). https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2021/Puebla-Infografia-Agroalimentaria-2021
- Infografía Agroalimentaria Tlaxcala (2021). https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2021/Tlaxcala-Infografia-Agroalimentaria-2021
- Kamana, O., Ceuppens, S., Jacxsens, L., Kimonyo, A., and Uyttendaele, M. (2014). Microbiological quality and safety assessment of the Rwandan milk and dairy chain. *Journal of Food Protection*, 77(2), 299-307.
- Kasemsumran, S., Thanapase, W., & Kiatsoonthon, A. (2007). Feasibility of nearinfrared spectroscopy to detect and to quantify adulterants in cow milk. *Analytical Sciences*, 23, 907–910.
- Lam, H. S., Ng, P. C., Chu, W. C., Wong, W., Chan, D. F., Ho, S. S. and Li, C. K. (2008). Renal screening in children after exposure to low dose melamine in Hong Kong: cross sectional study. *Bmj*, 337.
- Lateef, M., A. Faraz, M.I. Mustafa, P. Akthar and M.K. Bashir, 2009. Detection of adulterants and chemical composition of milk supplied to canteens of various hospitals in Faisalabad city. *Pak. J. Zool.*, 9: 139-142.

- Lim J., Kim G. and Mo C. (2016) Detection of melamine in milk powders using near-infrared hyperspectral imaging combined with regression coefficient of partial least square regression model. *Talanta* 151:183–191. doi:10.1016/j.talanta.2016.01.035
- Lejeune, J. and Rajala, P. (2009). Unpasteurized milk: a Continued Public Health Threat. *Clinical Infectious Diseases* 48(1), 93-100. <https://doi.org/10.1086/595007>
- Loera, J. y Banda, J. (2017). Industria lechera en México: parámetros de la producción de leche y abasto del mercado interno. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(4), 419-426. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2313-29572017000400008&script=sci_arttext&tlng=pt
- Machado, P. F., Pereira, A. R., and Sarríes, G. A. (2000). Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 1883-1886.
- Mamani, J. (2010). Calidad de leche: Evaluación de la calidad higiénica de las muestras de leche cruda de establos en el servicio oficial de calidad lechera - Majes- 2009, por el método de tiempo de reducción de azul de metileno-TRAM. (Perú).
- Mariscal, P. C. A. e Ibañez, R. A. (2013). Características microbiológicas de leche cruda de vaca en mercados de abasto de trinidad, Bolivia. *Agrociencias Amazonía*, 1(2), 18-24.
- Martínez-Vasallo, A., Ribot-Enríquez, A., Villoch-Cambas, A., Montes de Oca, N., Remón-Díaz, D. y Ponce-Ceballo, P. (2017). Calidad e inocuidad de la leche cruda en las condiciones actuales de Cuba. *Revista de Salud Animal*, 39(1), 51-61.
- Martínez G. C. G., Rayas A. A. A., Anaya O. J. P., Martínez C. F. E., Espinoza O. A., Prospero B. F., and Arriaga J. C. M. (2015). Performance of small-scale dairy farms in the highlands of central Mexico during the dry season under traditional feeding strategies. *Tropical Animal Health and Production*, 47(2), 331-337.
- Mataix, V. (2013). Enfermedades más frecuentes producidas por el consumo de alimentos contaminados. *Nutrición para educadores*. Ediciones Díaz de Santos, 629p.
- Maza, P. y Legorreta, C. (2011). Generalidades de la leche y los productos lácteos. El libro blanco de la leche y los productos lácteos. CANILEC. 26p. https://www.uv.mx/personal/pcervantes/files/2012/05/libro_blanco_de_la_leche.pdf
- Méndez, G., Flores, R. y Palacios, M. S. (1995). Presencia de Pb, Cr, Co y Cd en suelos regados con aguas residuales en el Distrito de Riego 030, Tecamachalco, Edo. de Puebla. In: *Memorias del XXVI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*. Cd. Victoria, Tamps, México. 36 p.
- Méndez, G, T., Rodríguez, D. L. y Palacios, M. S. (2000). Impacto del riego con aguas contaminadas, evaluado a través de la presencia de metales pesados en suelos.

- Mhone, T., Matope, G. and Saidi, P. (2011). Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology* 151(2): 223–228.
- Montes, G. M. de los Á. (2021). Determinación de la calidad de la leche cruda producida por pequeños ganaderos del Cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha por medio de análisis automáticos. Universidad Central del Ecuador. Tesis de Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 86p.
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/25415/1/UCE-FMVZ-SUB-MONTES%20MARIA.pdf>
- Mota, F.J.M, F. Implvo, S.C. Cunha, M. Beatriz and P.P. Oliveira. 2003. Optimization of extraction procedures for analysis of benzoic and sorbic acids in foodstuffs. *Food Chemistry* 3 (82), 469-473.
- Munguía, V. (2015). Calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche en sistemas familiares de la microcuenca Zahuapan en el estado de Tlaxcala. Tesis de Maestría en Ciencias de Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional. Colegio de Postgraduados Campus Puebla.
- Negri, L. M. (2005). El pH y la acidez de la leche. En: Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. 2° ed. INTA. 155-161pp.
<https://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/pH-y-acidez-en-leche2.pdf>
- Neumann, C.G., D.M. Harris and L.M. Rogers. 2002. Contribution of animal source foods in improving diet quality and function in children in the developing world. *Nutrition Research*, (22), 193-220.
- NMX-F-700-COFOCALEC. 2012. Sistema producto leche, alimento, lácteo, leche cruda de vaca especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5337639&fecha=20/03/2014&print=true
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995
- Norma Oficial Mexicana Nom-109-SSA1-1994, Bienes y servicios, Procedimientos para la Toma, manejo y transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69533.pdf>

- Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995
- Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69535.pdf>
- Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69536.pdf>
- Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la determinación de *salmonella* en alimentos.
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69538.pdf>
- NORMA Oficial Mexicana NOM-115-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de *S. aureus* en alimentos.
<http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69539.pdf>
- Norma Oficial Mexicana NOM-143-SSA1-1995, Bienes y servicios. Método de prueba microbiológico para alimentos. Determinación de *listeria monocytogenes*.
http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4901269&fecha=19/11/1997
- Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos.
<http://dof.gob.mx/normasOficiales/4156/salud2a/salud2a.htm>
- Olivas E. y Alarcón M. 2012. Manual de Prácticas. Laboratorio de Microbiología Médica.
<http://bivir.uacj.mx/Reserva/Documentos/rva2011298.pdf>
- Orberá, R. T. D. L. M. (2004). Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Revista Cubana de salud pública*, vol. 30, no 3, p. 0.
- Osorio, M. A. (2010). Producción de la leche en la Zona Alta de Veracruz. Primer Foro sobre Ganadería lechera de la Zona alta de Veracruz. 1-11pp.
- Panorama Agroalimentario. (2021). Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 213 p.
https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2021/Panorama-Agroalimentario-2021
- Paixao. R.L.C. y Bertotti, M. 2009. Fabrication of disposable voltammetric electronic tongues by using Prussian Blue films electrodeposited onto CD-R gold surfaces and recognition of milk adulteration. *Sensors and Actuators B* 137 pp 266-273
- Pérez, W. R., Lozano, W. G., y Rincon, P. A. G. (2011). Variación de parámetros fisicoquímicos en leche cruda adulterada. *Momentos de Ciencia*, 8(2).

- Pérez, L. M. (2011). La producción de leche. El libro blanco de la leche y los productos lácteos. CANILEC. 10p.
[https://www.uv.mx/personal/pcervantes/files/2012/05/libro blanco de la leche.pdf](https://www.uv.mx/personal/pcervantes/files/2012/05/libro_blanco_de_la_leche.pdf)
- Pérez, C. G. (2019). Calidad del agua del río Atoyac en el Valle de Puebla y el riesgo en la salud de la población Emilio Portes Gil, municipio de Ocoyucan, Puebla. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de doctorado. 101p.
<https://hdl.handle.net/20.500.12371/4624>
- Pilamunga, A. C. A. (2017). Evaluación higiénico – sanitaria de la quesera artesanal COD.Q 1 ubicada en la parroquia Químiag del cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. Tesis de Licenciatura de Bioquímica Farmacéutica 1-106p.
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6937/1/56T00739.pdf>
- Rappo Míguez, S. (1997). *ganadería bovina en Puebla y México*. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Economía, Centro de Investigaciones y Estudios de Posgrado en Economía, Dirección General de Fomento Editorial.
- Ramírez, G. (2008). Estudio de la Leche.
https://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/44598/mod_resource/content/0/Lechesyderivados2008.pdf
- Rebollar, R.S., Callejas, J. N., Hernández, M. J., Gómez, T. G. y Guzmán, S. E. (2016). Isocuanza de la producción de leche semi intensiva en una región del Estado de México. CIENCIA ergo-sum. *Revista científica multidisciplinaria de la Universidad Autónoma del Estado de México*, 23(2), 171-177.
- Revilla, A. (1982). *Tecnología de la leche: procesamiento, manufactura y análisis*. lica. 2da edición 20-40pp.
- Reyes, A. y Soltero, G. (2004). Microbiología de la leche cruda de vaca.
<http://infolactea.com/biblioteca/microbiologia-de-la-leche-cruda-de-vaca/>
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz, M. y González, E. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo*. 16 (2), 66-77.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6096110>
- Ribas, N. P., Hartmann, W., Monardes, H. G., y Andrade, U. V. C. D. (2004). Sólidos totales de leche en muestras de tanques en los estados de Paraná, Santa Catarina y São Paulo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33, 2343-2350.
- Rodríguez, R. y Magro, S. (2008). Bases de la alimentación humana. Editorial Netbiblo, S.L. La Coruña. 110p.
- Rodríguez-Pérez, W. R., Lozano, W. G., and Rincon, P. A. G. (2011). Variación de parámetros fisicoquímicos en leche cruda adulterada. *Momentos de Ciencia*, 8(2).

- Romero, C. (2007). Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Editorial panamericana. Tercera edición. 108p.
- Sadat, A., Mustajab, P. and Khan, I. A. 2006. Determining the adulteration of natural milk with synthetic milk using ac conductance measurement. Journal of Food Engineering 77 pp472-477
- Santos, P. M., Pereira-Filho, E. R., & Rodriguez-Saona, L. E. (2013). Rapid detection and quantification of milk adulteration using infrared microspectroscopy and chemometrics analysis. Food Chemistry, 138, 19–24.
- Salas, S. (2008). Normas de higiene y seguridad alimentaria. Nutrición y dietética Elsevier España. 2da Edición. 51-53 pp.
- Saldaña, F. P, Alcocer, Y. V. H., Lerdo de Tejada, B. A. y Gómez, B. M. A. (2002). Calidad del Agua en Colectores de la Ciudad de Puebla y la Aplicación de Análisis de Toxicidad. Memoria XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. 1-5pp. <https://1library.co/document/ydkvgk1q-calidad-del-agua-en-colectores-de-la-ciudad-de-puebla-y-la-aplicacion-de-analisis-de-toxicidad.html>
- Santiago, F. (2011). Determinación de proteínas por el método Kjeldahl. 312-315pp. https://scholar.google.com.mx/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Santiago%2C+F.+%282011%29.+Determinaci%C3%B3n+de+prote%C3%ADnas+por+el+m%C3%A9todo+Kjeldahl.+312-315pp&btnG=#d=gs_cit&t=1668619855281&u=%2Fscholar%3Fq%3Dinfo%3AMI ZW3A5J-p0J%3Ascholar.google.com%2F%26output%3Dcite%26scirp%3D0%26hl%3Des
- Secretaría de Salud. 1998. Ley General de Salud. Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario, de actividades, establecimientos, productos y servicios. 15ª Ed. México: Porrúa, p. 173-238.
- SDR. Secretaria de Desarrollo Rural. (2021). <http://sdr.puebla.gob.mx/#>
- SE. Secretaría de Economía. 2003. Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones físicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación.
- SE. Secretaría de Economía. (2012). Análisis del sector lácteo en México. Dirección General de Industrias Básicas. México, D.F. 29p. https://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf
- Senevirathne, P., Mangalika U., Adikari, A., and Nayananjalie, W. (2016). Evaluation of cow factors and milk composition on freezing point depression of cow milk. International Journal of Livestock Research, 6(5), 61-67. DOI:10.5455/ijlr.20160512114121d

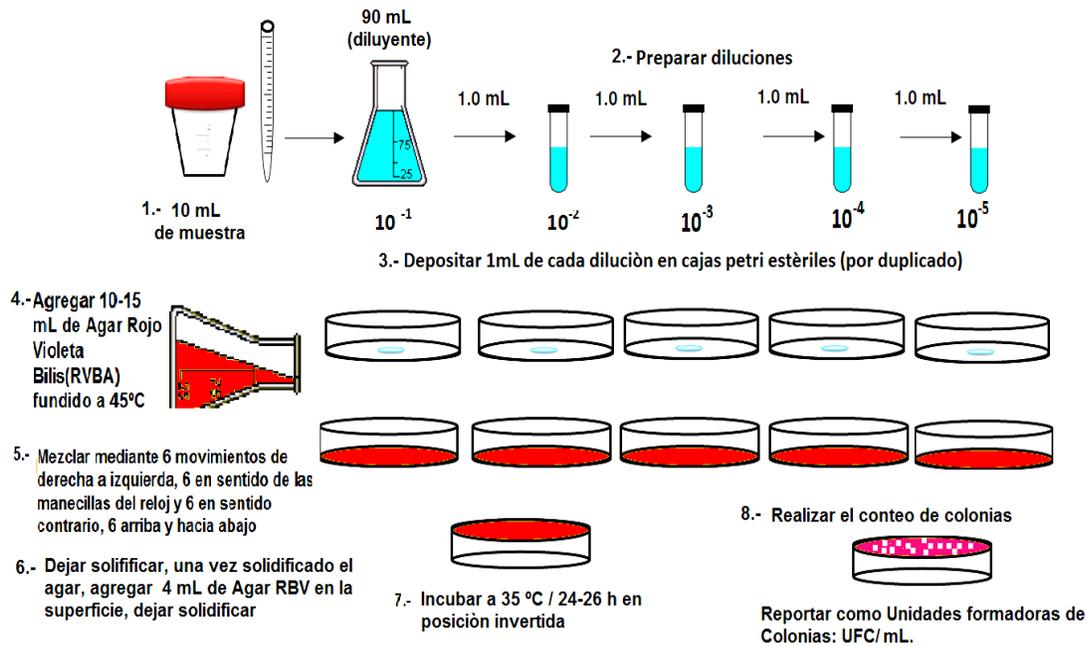
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021). Resumen Estatal Pecuario. México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap>
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2022). Resumen Estatal Pecuario. México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap>
- Spreer, E. (1998). Milk and Dairy Product Technology; CRC Press; Alemania; cap 2, 11-22pp.
- Torres, K. J., Sierra, S. C., Poutou, R. A., Vera, H., Carrascal, A. K. y Mercado, M. (2004). Incidencia y diagnóstico de *Listeria monocytogenes*; microorganismo zoonótico emergente en la industria de alimentos. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica* 7(1), 27-39.
- UNAD. (2011). Definición, composición, estructura y propiedades de la leche. <https://silo.tips/download/definicion-composicion-estructura-y-propiedades-de-la-leche>
- Universidad del Zulia. (2003). Introducción al control de calidad de la leche cruda. Guía Práctica. Maracaibo. Facultad de ciencias veterinarias. Departamento de producción e industria animal cátedra de ciencia y tecnología de la leche. 9p. <http://www.agroca.com.ve/pdf/calidad.de.leche/e6.leche.cruda.pdf>
- Valdivia, C. J. A. (2017). Cambios físicos químicos, sensoriales y nutricionales, debido a la evaporación de la leche fresca entera. Universidad Nacional Agraria La Molina. 59p. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3101/valdivia-calixto-jorge-andres.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Valero-Leal, K., Rivera-Salazar, J., Valbuena, E., Boscán, L., Valeris, R., Castro, G., y Briñez, W. (2012). Caracterización bioquímica y producción de enterotoxinas de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche cruda y queso fresco artesanal en fincas del estado Zulia. *Revista Científica*, 22(4), 303-314.
- Vásquez, C. K. K. (2018). Caracterización Físicoquímica y Organoléptica de leche entera ultrapasteurizada (UHT) procesadas en las empresas lácteas establecidas en Nicaragua. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. 132p. <https://repositorio.unan.edu.ni/10759/1/99979.pdf>
- Villegas, D. G., Bolaños, M. A. y Olgún, P. L. (2011). La ganadería en México. En: Colección Temas Selectos de Geografía de México. Instituto de Geografía. UNAM. México, D.F.
- WingChing-Jones, R. y Mora-Chaves, E. (2013). Composición de la leche entera cruda de bovinos antes y después del filtrado. *Agronomía Mesoamericana*, 24(1), 203-207.

- WingChing-Jones, R. y Mora-Chaves, E. (2014). Composición de la leche entera cruda de bovinos antes y después del filtrado. *Agronomía Mesoamericana*, 24(1), 203-207. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43726204019>
- WingChing-Jones, R. y Mora-Chaves, E. (2019). Efecto de agregar agua sobre el punto crioscópico y componentes de la leche cruda de vacas Jersey y Holstein, *UNED Research Journal* Vol. 11(3): 313-319
- Yong-Ning, W. U., Yun-Feng, Z. H. A. O., Jin-Guang, L. I., and Melamine Analysis Group. (2009). A survey on occurrence of melamine and its analogues in tainted infant formula in China. *Biomedical and Environmental Sciences*, 22(2), 95-99. Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H. y Soto-Padilla, M. Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25(3), 129-143. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
- Zhang, L.-G., Zhang, X., Ni, L.-J., Xue, Z.-B., Gu, X., and Huang, S.-X. (2014). Rapid identification of adulterated cow milk by non-linear pattern recognition methods based on near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 145, 342–348.
- Zhao, K., Liu, Y., y Zhang, Q. (2019). Dielectric behavior of adulterated milk with urea and water. *Journal of Molecular Liquids*, 273, 37-44.

IX ANEXOS

Determinación de Coliformes Totales (CT): para determinar el número de microorganismos coliformes presentes en las muestras de leche se utilizó la técnica de cuenta en placa descrita en la NOM 113- SSA1- 1994 (Figura 34).

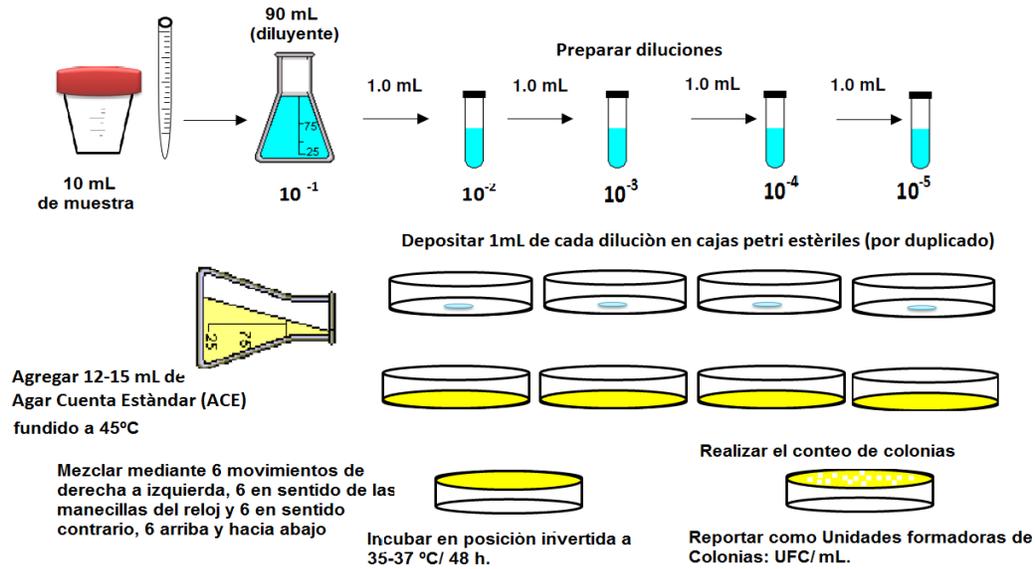
Figura 34. Recuento de bacterias coliformes totales en placa



Fuente: NOM 113- SSA1- 1994

Técnica de vertido en placa tal y como lo describe la NOM 092- SSA1-1994 (Figura 35).

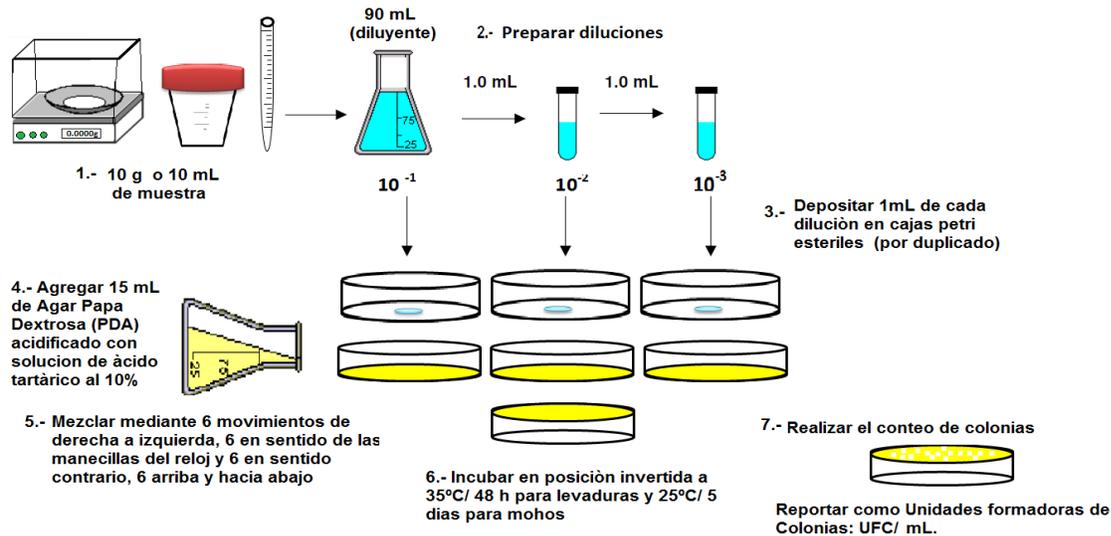
Figura 35. Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias



Fuente: NOM-109-SSA1-1994

Determinación de hongos y levaduras: Se utilizó el procedimiento de la NOM-111-SSA1-1994 (Figura 36).

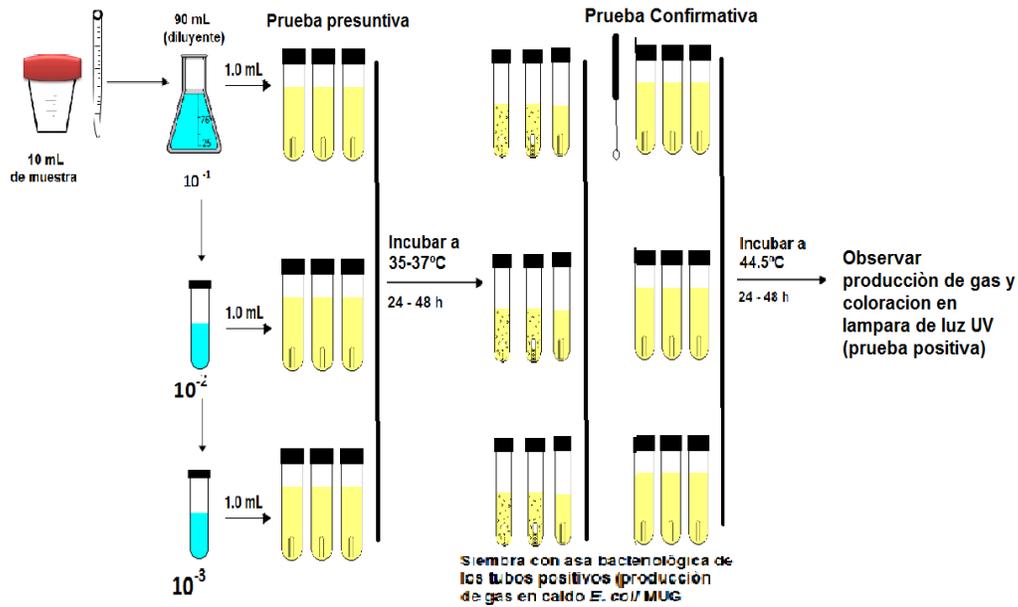
Figura 36. Conteo de hongos y levaduras.



Fuente: NOM-111-SSA1-1994

Determinación de *E. coli*: se realizó mediante el método de Prueba CCAYAC- M-004/8 que permite establecer la estimación de la densidad de coliformes fecales y presencia de *E. coli* mediante la técnica del número más probable (NMP) (Figura 37).

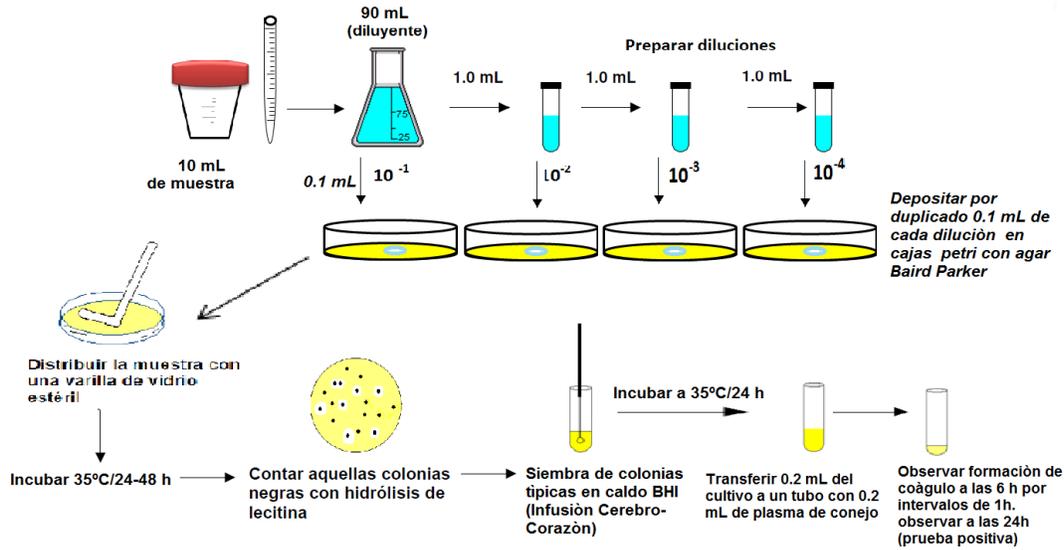
Figura 37. Recuento de *E. coli* por la técnica del NMP (CCAYAC-M-004/8).



Fuente: NOM-109-SSA1-1994

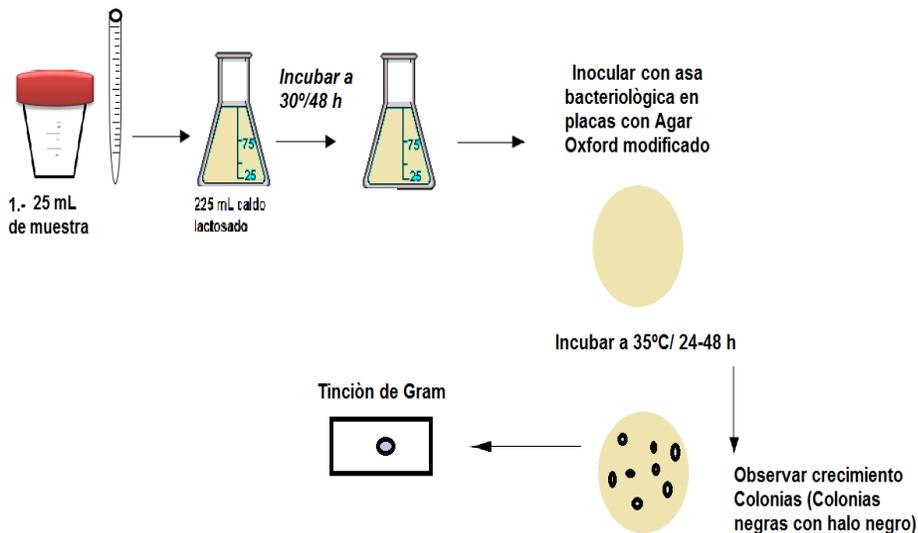
Determinación de *S. aureus*: el método permite estimar el contenido de este agente microbiano en placas de medio selectivo y diferencial mediante la confirmación con la prueba de coagulasa; esta determinación se realizó conforme al procedimiento de la NOM 115-SSA1- 1994 (Figura 38).

Figura 38. Determinación del *Listeria spp.*



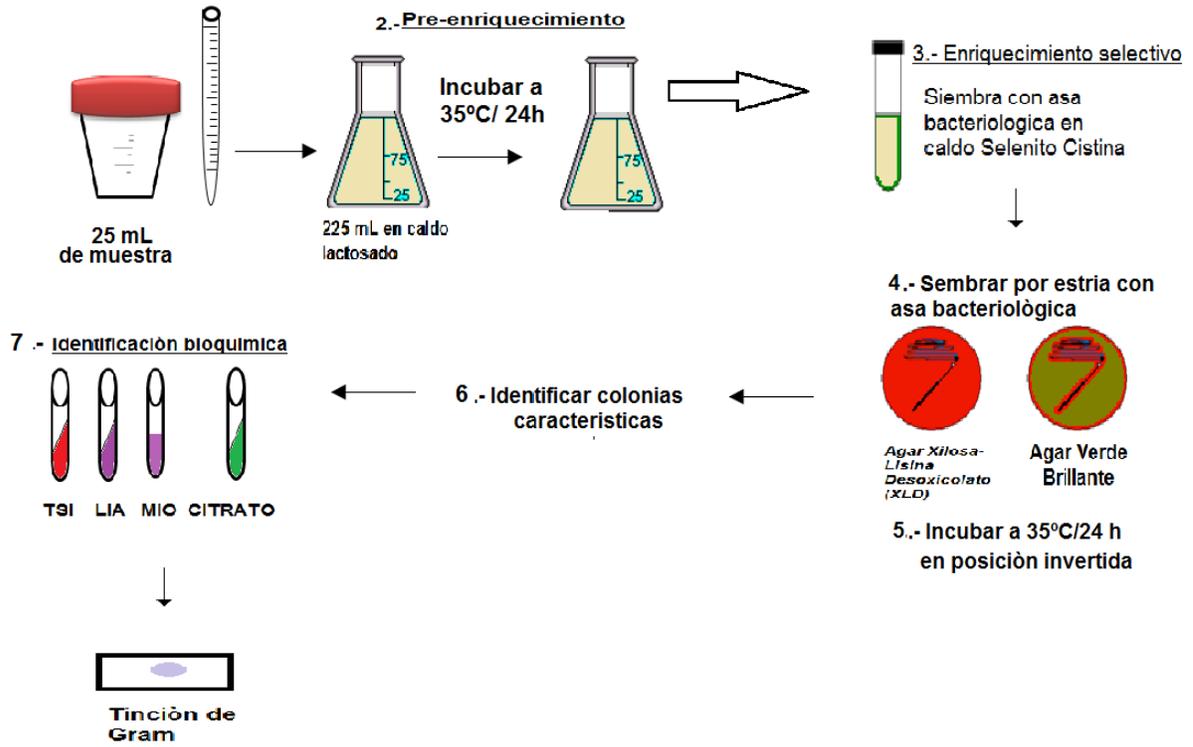
Determinación de *Listeria spp.*: el método para detectar la presencia de *Listeria spp.* se basa en el aislamiento y la diferenciación de especies principalmente por la fermentación de carbohidratos y la actividad hemolítica de los miembros de este género. Este análisis se realizó mediante el procedimiento descrito en la NOM-143-SSA1-1995 (Figura 39).

Figura 39. Determinación de *Salmonella spp.*



Determinación de *Salmonella spp.*: se realizó empleando la técnica indicada en la NOM 114-SSA1-1994 (Figura 40).

Figura 40. Determinación detallada de *Salmonella* spp.



Fuente: NOM 114-SSA1-19