

# **Evaluación de un activador (STABILAK<sup>®</sup>) del sistema lactoperoxidasa para preservar la leche cruda**

**Norman Fitzgerald García Oliva**

# **ZAMORANO**

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria.

Diciembre, 2000

**ZAMORANO**  
**Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria**

**Evaluación de un activador (STABILAK<sup>®</sup>) del sistema  
lactoperoxidasa para preservar la leche cruda**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado  
Académico de Licenciatura.

Presentado por  
Norman Fitzgerald García Oliva

Zamorano-Honduras  
Diciembre, 2000

El autor concede a Zamorano permiso  
para reproducir y distribuir copias de este  
trabajo para fines educativos. Para otras personas  
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

---

Norman Fitzgerald García Oliva

Zamorano- Honduras.  
Diciembre, 2000

# **Evaluación de un activador (STABILAK<sup>®</sup>) del sistema lactoperoxidasa para preservar la leche cruda**

Presentado por

Norman Fitzgerald García Oliva

Aprobada:

---

Dr. Isidro Matamoros  
Asesor Principal

---

Dr. Miguel Vélez  
Coordinador de Area Temática

---

Dr. John Jairo Hincapié  
Asesor Secundario

---

Ing. Jorge Iván Restrepo  
Coordinador de Carrera de Ciencia y  
Producción Agropecuaria

---

Ing. Manuel Morales  
Asesor Secundario

---

Dr. Antonio Flores  
Decano Académico

---

Dr. Miguel Vélez  
Asesor Secundario

---

Dr. Keith L. Andrews  
Director General

---

Dr. John Jairo Hincapié  
Coordinador PIA Zootecnia

## **DEDICATORIA**

A Dios todopoderoso por ser el creador de mi vida, el cual ha puesto todos los medios para que este triunfo se lleve a cabo.

A mi querida madre, Astrid, que ha luchado mucho para que este sueño sea una realidad.

Te quiero mami.



## **AGRADECIMIENTOS**

Al licenciado Virgilio Umanzor, que ayudó a obtener ayuda financiar para el cuarto año.

Al Dr. Isidro Matamoros, quien ha sido como un padre, durante estos últimos tres años, además de intruirme y orientarme en las decisiones de mi estudio.

Al Dr. John Jairo Hincapié, quien ha sido de mucha ayuda en cuanto a los consejos y medios que facilitaron la realización del estudio

A mi viejo, Santos, quien ha sido copartícipe de mis logros y me ha apoyado mucho.

A mi tía Lubina, quien ha sido una segunda madre para mí.

A mis hermanos Soren, Alejandro, Bernice y mi pequeño Amed. Gracias por el cariño que me han dado.

A mi abuela María, quien siempre se preocupa por mí.

A Salvador, Magdiel, Aleyda, Diana , Marleny y Diana Carolina que han sido personas que han participado de mis alegrías durante estos años.

Al Ing. Manuel Morales que me facilito el uso del laboratorio de lacteos.

A los trabajadores del departamento de Zootecnia: Alba, Martha, Sonia, Fabiola, Elena y José, quienes me apoyaron durante estuve en el departamento.

A los amigos de la planta de lácteos: Rigo Rubio, Rigo Silva, Alfredo, Fredil, Francisco, Máximo y en especial a Juan.

A mis compañeros Waldo Torrez, Juan Paredes y Enrique Alvarado.

A todos mis amigos, que han compartido conmigo durante estos cuatro años en Zamorano.

### **AGRADECIMIENTOS A PATROCINADORES**

A mis padres que han financiado parte de mis estudios. Que con su lucha se ha logrado culminar mis estudios en Zamorano.

A mi tía Lubina, por financiarme cuando lo necesite y lo solicite.

A la Secretaria de Agricultura y Ganaderia (SAG), de la república de Honduras, la cual financió parte de mis estudios en Zamorano para el Programa de Ingenierio Agrónomo.

A la Escuela Agrícola Panamericana, por proporcionarme una beca parcial durante el Programa de Agrónomo.



## RESUMEN

García, Norman. 2000. Evaluación de un activador (STABILAK<sup>®</sup>) del sistema lactoperoxidasa para preservar la leche cruda. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 14 p.

La leche es una materia prima fácilmente perecedera. Las bacterias que la contaminan pueden multiplicarse muy rápido y hacerla no apta para el consumo. En lugares donde es imposible mantener la leche mediante refrigeración, se presenta la opción de usar peróxido de hidrógeno (PH) y el sistema lactoperoxidasa (LPS). El PH se usa a concentraciones de 300-1000 ppm dependiendo de la calidad de la leche, pero presenta inconvenientes en el manejo y los productos procesados. El LPS consiste en la oxidación del ión tiocianato en presencia de peróxido de hidrógeno. Dichos iones intervienen en el metabolismo normal de las bacterias. Entre julio y noviembre se realizaron dos estudios para probar la efectividad de STABILAK<sup>®</sup> como activador del LPS. En el estudio de laboratorio se usaron tres tratamientos: leche a temperatura ambiente (L-ambiente), leche a temperatura ambiente + STABILAK<sup>®</sup> (L-stabilak) y leche a 10°C (L-10°C). Se evaluaron las unidades formadoras de colonias (UFC/cm<sup>3</sup>) y acidez titulable expresada como ácido láctico (ATECAL) durante 3, 6, 9, 12 y 15 horas pos ordeño. Las UFCs difirieron estadísticamente (P=0.0001) entre L-ambiente (98,071 millones) y los tratamientos L-stabilak (8.48 millones) y L-10°C (0.376 millones) a las 15 horas pos ordeño. La ATECAL inicial fue de 0.15% y difirió significativamente (P=0.0001), alcanzando 0.18% el L-ambiente (9 horas), el L-stabilak (>15 horas) y el L-10°C (>15 horas). En campo se utilizó tres tratamientos: leche activada (L-activada), leche reactivada (L-reactivada) y leche con peróxido (L-peróxido). Se midió la variable ATECAL. La ATECAL inicial fue de 0.16% y se alcanzó 0.18% en 12 horas, >15 horas y >15 horas para la L-

activada, L-reactivada y L-con peróxido respectivamente. La activación del LPS mantiene la leche por periodos de 12-18 horas, según la calidad de la leche.

**Palabras claves:** Acidez titulable, iones tiocianato, peróxido de hidrógeno, UFC

---

Dr. Abelino Pitty

## **NOTA DE PRENSA**

### **METODOS ALTERNATIVOS PARA LA PRESERVACION DE LECHE**

En la costa norte, los ganaderos que practican dos ordeños diarios y no cuentan con un sistema de refrigeración, usan peróxido de hidrógeno para alargar la vida útil de la leche hasta que se recolecta en las plantas procesadoras.

El efecto aséptico que produce el uso del peróxido hace que los productores descuiden la higiene del ordeño y el manejo de la leche, ya que no toman las medidas higiénicas necesarias. Por otra parte, el peróxido se usa en concentraciones muy altas (alrededor de 1250 ppm) superiores a las establecidas por la FAO, que pueden producir daños en el intestino del ser humano.

Entre los meses de julio y noviembre del año 2000, se realizaron dos estudios, en diferentes condiciones de ordeño, para probar si el uso del sistema lactoperoxidasa (LPS) podría sustituir el uso del peróxido de hidrógeno para preservar la leche, por periodos de tiempo mayores a 15 horas hasta que la leche fuese enfriada o procesada, entre los productos activadores de este sistema se encuentra el STABILAK<sup>®</sup>

El sistema LPS es un método para mantener la leche de 8-24 horas según la calidad del producto y la temperatura ambiental. El LPS consiste en la adición de pequeñas cantidades de tiocianato (14 mg/l ó 14ppm) y de peróxido de hidrógeno (8-12ppm), con ello hay producción de iones que retrasan el crecimiento bacteriano dando mayor tiempo a la leche.

En las pruebas realizadas en Zamorano, la leche tratada con STABILAK<sup>®</sup> fue diferente de la leche que estaba a temperatura ambiente, pero no lo fue con la leche enfriada a 10°C. La leche a temperatura ambiente duró 9 horas, en cambio la leche con STABILAK<sup>®</sup> se mantuvo más de 15 horas.

Mientras tanto en el estudio que se llevó a cabo en la comunidad de Ocotes Altos, Colón, se encontró que la leche activada con STABILAK<sup>®</sup> se mantuvo 10 horas, mientras que la leche reactivada se preservó más de 15 horas, el mismo resultado se presentó al utilizar peróxido.

Los resultados muestran que el uso de STABILAK<sup>®</sup> es recomendable para preservar la leche, sin embargo, su utilización se debe limitar a condiciones donde no sea factible la refrigeración. Además, se sugiere mantener buenas prácticas de higiene en el ordeño.

---

Lic. Sobeyda Álvarez

## CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría.....	ii
	Páginas de firmas.....	iii
	Dedicatoria.....	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimiento a patrocinadores.....	vi
	Resumen.....	vii
	Nota de prensa.....	viii
	Contenido.....	ix
	Indice de Cuadros.....	x
	Indice de Anexos.....	xi
<b>1.</b>	<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>5</b>
2.1	Localización.....	5
2.2	Estudio de laboratorio.....	5
2.2.1	Preparación de materiales.....	5
2.2.2	Tratamientos.....	5
2.2.3	VARIABLES A MEDIR.....	5
2.2.4	Manejo en laboratorio.....	6
2.3	Estudio de campo.....	6
2.3.1	Metodología.....	7
2.3.2	Tratamientos.....	7
2.3.3	VARIABLES A MEDIR.....	7
2.3.4	Manejo en campo.....	7
2.4	Análisis estadístico.....	8

<b>3.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>9</b>
3.1	Resultados de laboratorio.....	9
3.1.1	Cómputo bacteriano.....	9
3.1.2	ATECAL.....	9
3.2	Resultados de campo.....	10
3.3	Costos de activación del sistema lactoperoxidasa.....	11
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>12</b>
<b>5.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>13</b>
<b>6.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>14</b>
<b>7.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>15</b>

## INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Enfermedades en humanos causadas por microorganismos y virus transmisibles por la leche. ....	1
2. Compuestos activadores del sistema lactoperoxidasa.....	3
3. Contenido de microbios no patógenos en la leche de consumo.....	6

4. Comparación de medias para la variable UFC(000/cm <sup>3</sup> ) en 5 tiempos pos ordeño..	9
5. Comparación de medias para la variable de acidez titulable (%) en 6 tiempos pos ordeño.....	10
6. Acidez titulable en la leche activada, reactivada y tratada con peróxido de ordeño.....	10
7. Costo de preservar leche por medio de peróxido de hidrógeno y STABILAK.....	11

## INDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
1. Analisis de Varianza para la variable unidades formadoras de colonias (UFC).....	15
2. Analisis de Varianza para la variable acidez titulable en forma de ácido láctico (%)...	16
3. Conteos bacterianos y acidez en la primera repetición.....	17
4. Conteos bacterianos y acidez en la segunda repetición.....	18
5. Conteos bacterianos y acidez en la tercera repetición.....	19
6. Conteos bacterianos y acidez en la cuarta repetición.....	20
7. Conteos bacterianos y acidez en la quinta repetición.....	21
8. Conteos bacterianos y acidez en la sexta repetición.....	22
9. Conteos bacterianos y acidez en la séptima repetición.....	23

## **1. INTRODUCCION**

La leche es rica en nutrientes y por lo mismo es un excelente medio de cultivo para muchos microorganismos, los cuales pueden descomponerla o incluso causar una enfermedad en el humano. Las principales enfermedades transmisibles al hombre por la leche se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Enfermedades en humanos causadas por microorganismos y virus transmisibles por la leche.

---

Fuente animal	Fuente humana	Indirectas
Tuberculosis Bovina	Tuberculosis Humana	Mastitis
		<b>Staphylococcus aureus</b>
Brucelosis	Difteria	
Aftosa	Fiebre escarlata	<i>Bacillus cereus</i>
Antrax	Disentería	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhoid</i>	
<i>Campylobacter jejuni</i>		
Fiebre Q		

Fuente: Berg, 1988

Las formas de conservar la leche son: enfriamiento, pasteurización, adición de peróxido de hidrógeno y activación del sistema lactoperoxidasa.

En países con una industria lechera avanzada, la leche es mantenida por refrigeración en finca y durante el transporte. En los países en donde la producción lechera está en sus comienzos existe dificultades para aplicar la refrigeración (Barabás, 1994). Lo que favorece el ataque microbiológico causando deterioro y disminución de la calidad de la leche.

En estos países existe una tendencia de adoptar las reglas de países avanzados en producción lechera, introduciendo legislación que demanda el uso de refrigeración en áreas con ninguna posibilidad técnica o económica. Esto no solo impide el desarrollo en la producción lechera, sino que, anima el consumo de leche tratada con químicos que pueden ser dañinos para los consumidores (Barabás, 1994).

La leche en la ubre de un animal sano tiene un número de bacterias muy bajos, usualmente menores a 500/cm<sup>3</sup>. Después que la leche deja la ubre la contaminación ocurre en el ordeño, manejo de leche, transporte y almacenaje y los microorganismos comienzan a crecer rápidamente después de que ha pasado la fase germicida (Berg, 1988).

La FAO admite el uso de peróxido de hidrógeno para conservar la leche cruda destinada al consumo humano en donde es imposible usar la refrigeración. La cantidad a adicionar fluctúa entre 300-1,000 ppm, en dependencia de la calidad de la leche. El agua oxigenada es difícil de dosificar, irritante de la piel, causa cambios en el sabor de la leche y tiene efectos oxidativos sobre las grasas, entre otros (Censa, 1999).

Como alternativa para el mantenimiento de la leche se ha trabajado en el sistema lactoperoxidasa (LPS) como medio natural de mantenimiento de la leche; Ochenta países le han pedido a FAO que realice ensayos de LPS en sus países (University Of Reading, 1998)

La lactoperoxidasa se encuentra en la leche del bovino y del búfalo en concentraciones relativamente altas, ésta oxida al tiocianato en presencia de peróxido de hidrógeno y permite transformar el tiocianato en ácido hipotiosianoso (HOSCN). Con el pH de la leche, el ácido se disocia en iones de hipotiocianato (OSCN<sup>-</sup>) y reacciona específicamente con los grupos sulfídricos libres, inactivando así las varias enzimas vitales para el metabolismo bacteriano (FAO/OMS, 1991)



Los iones producidos en el sistema, principalmente hipotiocianato (OSCN<sup>-</sup>) reaccionan con la pared de bacteria, actuando como bactericida o bacteriostático contra un espectro de microorganismos. El efecto antibacteriano depende de la especie y la cepa. Según la Universidad de La Trobe (2000), puede controlar bacterias gram negativas y es un bacteriostático contra las bacterias gram positivas. Se ha comprobado que controla *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *E. Coli* y *S. typhimurium*.

El tiocianato y el peróxido, están presentes en la leche en cantidades que solo preservan la leche por dos a tres horas. Con la adición de pequeñas concentraciones de peróxido se estimula el sistema, pero, con un exceso de peróxido (300-800 ppm) se inactiva la enzima lactoperoxidasa e impide la oxidación del tiocianato. En este caso el efecto antibacteriano se debe al peróxido y no al tiocianato.

El sistema se activa con la adición de tiocianato de sodio y se debe añadir percarbonato de sodio como precursor de peróxido de hidrógeno. Según la FAO/OMS (1991), se debe de añadir 14 mg de tiocianato de sodio y 30 mg de percarbonato de sodio, por cada litro de leche. Se puede reforzar el sistema con la adición de 30 mg de percarbonato de sodio, 8 horas después de la primera aplicación. Las especificaciones técnicas para el tiocianato de sodio y percarbonato de sodio se presentan en el cuadro 2:

Cuadro 2. Compuestos activadores del sistema lactoperoxidasa.

Propiedades	Tiocianato de Sodio	Percarbonato de Sodio
Fórmula química	NaSCN	2Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 3H <sub>2</sub> O
Peso molecular	81.1	314
Pureza	98-99%	85%
Humedad	1-2%	
Metales pesados(Pb)	<2 ppm	<10 ppm
Arsénico (As)		<3 ppm

Según la FAO/OMS (1991), los niveles de tiocianato resultantes no son superiores a los niveles fisiológicos presentes en la saliva humana y ciertas hortalizas como las coles y la coliflor. La leche tratada con este método no interfiere en la absorción de yodo por la glándula tiroides.

La Comisión de Expertos en la Calidad de la Leche convino en subrayar que el sistema de la lactoperoxidasa no debería aplicarse a los productos destinados al comercio internacional ni como sustitutivo de la refrigeración (Codex Alimentarius, 1991).

El Codex Alimentarius establece un límite máximo de tiocianato en la leche de 0.25 mmol/l y de 32 mg/l de percarbonato de sodio. Estudios realizados en Cuba por Ponce *et al.*, (1991), indican que la concentración de tiocianato varía de 0.108 a 0.144 mmol/l, los cuales se ajustan a los valores internacionales.

El efecto del sistema lactoperoxidasa depende de:

- Calidad de la leche.
- Temperatura ambiente.
- Higiene en la manipulación.
- Limpieza del depósito de conservación.

Además, no protege contra hongos y es termolabil (Roper, 1997).

En Cuba se produce STABILAK<sup>®</sup>, el cual tiene como ingrediente activo tiocianato de sodio y peróxido de hidrógeno en un medio incipiente que le confiere estabilidad (percarbonato de sodio) y que junto con la lactoperoxidasa de la leche, conforman el sistema.

Cada dosis de STABILAK<sup>®</sup> esta constituida por dos formulaciones: STABILAK 1 y STABILAK 2, que se adicionan a la leche en ese orden. El alargamiento de la capacidad de conservación de la leche se puede obtener con la reactivación del sistema LP, utilizando solamente la formulación STABILAK 2, una vez realizada la activación inicial (Censa, 1999)

Por lo anterior se decidió probar la posibilidad de usar STABILAK<sup>®</sup> para preservar la leche bajo las condiciones de Honduras.

Realizando una investigación, la cual tuvo como objetivo general evaluar STABILAK<sup>®</sup> como activador del sistema lactoperoxidasa para mantener la leche y como objetivos específicos evaluar la efectividad del sistema (producto comercial STABILAK<sup>®</sup>) en condiciones de laboratorio y de campo, considerando variaciones de tiempo y calidad inicial de la leche y analizar costos de aplicación para los pequeños productores.



## **2. MATERIALES Y METODOS**

### **2.1 LOCALIZACION**

Se realizaron dos estudios.

Uno en el laboratorio microbiológico de la planta de lácteos de Zamorano, a 30 kms de Tegucigalpa, con una temperatura media anual de 24°C, a una altitud de 800 msnm y una precipitación media anual de 1,100 mm.

Otro en la aldea de Ocotes Altos, a 25 kms al norte de Tocoa, Colón, con una temperatura media anual de 26°C, una precipitación anual promedio de 1,200 mm y a una altura de 20 msnm.

### **2.2 ESTUDIO DE LABORATORIO**

Se presenta el procedimiento realizado en el laboratorio

#### **2.2.1 Preparacion de materiales**

La preparación del medio de cultivo y el agua de dilución se hizo según instrucciones de Revilla (1996).

#### **2.2.2 Tratamientos**

El estudio estuvo compuesto de tres tratamientos, estructurados de la siguiente manera:

T1= Leche cruda a temperatura ambiente	(LC-AMBIENTE)
T2= Leche cruda + STABILAK <sup>®</sup> a temperatura ambiente	(LC-STABILAK)
T3= Leche cruda en refrigeración 10°C	(LC-FRIA)

### 2.2.3 Variables a medir

Se midieron dos variables:

- Acidez titulable expresada como ácido láctico (ATECAL). (Revilla, 1996)
- Unidades formadoras de colonias (UFC).

Tomando en cuenta las unidades formadoras de colonias se puede clasificar la leche como se presenta en el cuadro 3.

Cuadro 3. Contenido de microbios no patógenos en la leche de consumo.

		Unidades Formadoras de Colonias (UFC/cm <sup>3</sup> )
Leche pasteurizada		< 50,000
Antes de pasteurizar	Clase A	0 - 400,000
	Clase B	400,000 - 1,000,000
	Clase C	> 1,000,000

Fuente: Revilla, 1996

### 2.2.4 Manejo en laboratorio

Durante el ordeño de la mañana se recolectó la muestra de leche en los tambos de cinco galones. Se hizo siete repeticiones por tratamiento. La leche tenía una temperatura inicial de 34 °C.

La leche de los tratamientos 1 (LC-AMBIENTE) y 2 (LC-STABILAK) se colocó en el laboratorio a una temperatura de 27°C. La leche del tratamiento 3 (LC-FRIA) se colocó en un cuarto frío que tenía una temperatura de 10°C.

Al tratamiento LC-STABILAK, se le añadió la formulación STABILAK 1 (una pastilla), se agitó por tres minutos y se le agregó la

formulación STABILAK 2 (un sobrecito), y se agitó por tres minutos más.

Se hicieron cómputos bacteriológicos a las 0, 3, 6, 9 y 12 horas pos ordeño. Para cada cómputo se realizó el procedimiento de cómputo bacteriano estándar (Revilla, 1996).

La acidez se midió a las 0, 3, 6, 9, 12 y 15 horas pos ordeño para cada tratamiento, por el método de ATECAL.

## **2.3 ESTUDIO DE CAMPO**

Se realizó en Ocotes Altos, Tocoa, Colón.

El hato en ordeño es de 49 vacas, las cuales son ordeñadas dos veces al día. Son vacas criollas que se ordeñan con la presencia del ternero. El ordeño por la mañana comienza a las 4:00 a.m., los animales vienen sucios, con lodo en patas y la ubre. No existe limpieza del ganado, ni de los empleados.

Obtienen alrededor de 180 litros de leche en el ordeño de la mañana y 110 litros por la tarde. El ordeño de la tarde comienza a las 3:00 p.m. y la leche que se obtiene se aplica peróxido.

La leche es recogida a las 7:00 a.m., un intermediario lleva la leche a un centro de acopio en Bonito Oriental, a unos 30 kms. Al momento de que recogen la leche le añaden 25 cm<sup>3</sup> de peróxido de hidrógeno al 50%.

### **2.3.1 Metodología**

Se evaluó STABILAK<sup>®</sup>, midiendo la acidez titulable expresada como ácido láctico (ATECAL) según instrucciones de Revilla (1996).

### **2.3.2 Tratamientos**

Tratamiento 1: Leche activada con STABILAK® en agua.  
(L-ACTIVADA)

Tratamiento 2: Leche activada y reforzada con STABILAK 2 en agua.  
(L-REACTIVADA)

**Tratamiento 3: Leche tratada con 50 cm<sup>3</sup> de peróxido de hidrógeno al 50% por 50 litros.  
(L-PEROXIDO)**

### 2.3.3 Variables a medir

Se midió una variable:

- Acidez titulable expresada como ácido láctico (ATECAL).

### 2.3.4 Manejo en campo

Durante el ordeño de la tarde se recolectó la leche en tambos de 50 litros. Se hicieron dos repeticiones por tratamiento. La leche tenía una temperatura inicial de 35 °C.

A los tratamientos L-ACTIVADA y L-REACTIVADA, se le añadió la formulación STABILAK 1 (una pastilla), se agitó por tres minutos y se le agregó la formulación STABILAK 2 (un sobrecito), y se agitó por tres minutos más.

**Al tratamiento L-REACTIVADA se le agregó STABILAK 2, ocho horas después de haber activado el sistema.**

**Al tratamiento L-PEROXIDO se le aplicó 25 cm<sup>3</sup> de peróxido de hidrógeno al 50%, al momento de depositar la leche en los tambos y a las cinco horas (8:00 p.m.) se aplicó otros 25 cm<sup>3</sup>.**

Los tres tratamientos fueron colocados en una pila con agua, para disminuir la temperatura de la leche a 24°C.

La acidez se midió a las 0, 3, 6, 9, 12 y 15 horas pos ordeño para cada tratamiento, por el método de ATECAL.

#### **2.4 ANALISIS ESTADISTICO**

Para las pruebas de laboratorio se hizo un análisis de medidas repetidas en tiempo para un diseño completo al azar (DCA). Para el análisis se uso el paquete estadístico “Statical Analisis System” (SAS). Se hizo un análisis de varianza (ANDEVA).

### **3. RESULTADOS Y DISCUSION**

#### **3.1 RESULTADOS DE LABORATORIO**

Se presentan los resultados y discusión de los análisis que se realizaron en el laboratorio.

### 3.1.1 Cómputo bacteriano

Los resultados se obtuvieron del mes de julio al mes de octubre.

No hubo diferencia en los tratamientos en la primera hora después del ordeño, debido a que la leche que se tomó estaba homogénea. A partir de la tercera hora hay diferencia ( $P=0.0001$ ) entre el tratamiento LC-AMBIENTE y los tratamientos LC-STABILAK y LC-FRÍA. Los tratamientos LC-STABILAK y LC-FRIA, no presentaron diferencias en la variable UFC, en las horas pos ordeño LC-STABILAK fue mayor que el promedio DE LC-FRIA (cuadro 3).

A las 15 horas pos ordeño el tratamiento LC-AMBIENTE presentó 12 veces más UFCs que el tratamiento LC-STABILAK. El tratamiento LC-AMBIENTE presentó 15 veces el número de UFCs que el tratamiento LC-FRIA.

Cuadro 4. Comparación de medias para la variable UFC(000/cm<sup>3</sup>) en 5 tiempos pos ordeño.

Tratamientos	Horas pos ordeño				
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas
	-----UFC(000/cm <sup>3</sup> )-----				
LC-AMBIENTE	23.84 <sup>a</sup>	169.57 <sup>a</sup>	3,270.0 <sup>a</sup>	26,493 <sup>a</sup>	98,071 <sup>a</sup>
LC-STABILAK	23.84 <sup>a</sup>	91.29 <sup>b</sup>	168.9 <sup>b</sup>	1,246 <sup>b</sup>	8,486 <sup>b</sup>
LC-FRIA (10 °C)	23.84 <sup>a</sup>	60.64 <sup>b</sup>	100.5 <sup>b</sup>	464 <sup>b</sup>	376 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Medias con diferente letra difieren entre sí ( $P=0.0001$ )

### 3.1.2 ATECAL

Hay diferencia (P=0.0001) entre el tratamiento Lc-AMBIENTE (0.258%) y los tratamientos Lc-STABILAK (0.162%) y Lc-fría (0.158%). No hay diferencia entre el tratamiento Lc-STABILAK (0.162%) y Lc-fría(0.158%)

Cuadro 5. Comparación de medias para la variable de acidez titulable (%) en 6 tiempos pos ordeño

Tratamientos	Horas pos ordeño					
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	15 horas
	-----%-----					
LC-AMBIENTE	0.150 <sup>a</sup>	0.157 <sup>a</sup>	0.163 <sup>a</sup>	0.174 <sup>a</sup>	0.201 <sup>a</sup>	0.258 <sup>a</sup>
LC-STABILAK	0.150 <sup>a</sup>	0.150 <sup>b</sup>	0.153 <sup>b</sup>	0.156 <sup>b</sup>	0.157 <sup>b</sup>	0.162 <sup>b</sup>
LC-FRIA (10 °C)	0.150 <sup>a</sup>	0.150 <sup>b</sup>	0.151 <sup>b</sup>	0.151 <sup>b</sup>	0.156 <sup>b</sup>	0.158 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Medias con diferente letra difieren entre sí (P=0.0001)

### 3.2 RESULTADOS DE CAMPO

El estudio de campo se realizó en el mes de Octubre del 2000.

No se hizo un análisis estadístico por tener solo dos repeticiones.

La acidez inicial fue de 0.16%.

La leche activada duró entre 9-12 horas hasta que alcanza una acidez de 0.18%. La leche reactivada duró mas de 15 horas, con una acidez de 0.17%, siendo igual al tratamiento del peróxido que llegó a las 15 horas con 0.17% de acidez (Cuadro 6).

Cuadro 6. Acidez titulable en la leche activada, reactivada y tratada con peróxido, durante 5 tiempos pos ordeño.

	Horas pos ordeño.					
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	15 horas
T1 (Lc-activada)	0.16	0.16	0.16	0.17	0.19	0.21
	0.16	0.16	0.16	0.17	0.18	0.20
T2 (Lc-reativada)	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17	0.17
	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17	0.17
<b>Peróxido</b>	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17
	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.17

### 3.3 COSTOS DE ACTIVACION DEL SISTEMA LACTOPEROXIDASA

El costo de mantener un litro de leche con el sistema lactoperoxidasa es ligeramente menor que el de mantener con peróxido.

Cuadro 7. Costo de preservar leche por medio de peróxido de hidrógeno y STABILAK.

	STABILAK	Peróxido de hidrógeno
Costo	\$10.00 / Caja	\$1.72 / Litro
Litros que preserva	2500	500
Costo por litro preservado	\$ 0.004	\$ 0.0044



#### **4. CONCLUSIONES.**

Se encontró diferencia significativa ( $P=0.0001$ ) entre el tratamiento LC-AMBIENTE y el tratamiento LC-STABILAK, pero no hubo diferencia significativa entre LC-STABILAK y LC-FRIA.

Los conteos bacterianos en la leche tratada con STABILAK<sup>®</sup> fueron menores que los encontrados en la leche a temperatura ambiente ( $27^{\circ}\text{C}$ ), pero mayores que los presentes en la leche fría ( $10^{\circ}\text{C}$ ).

La acidez titulable en el tratamiento con STABILAK<sup>®</sup> fue menor que los tratamientos de leche fría ( $10^{\circ}\text{C}$ ) y leche a temperatura ambiente ( $27^{\circ}\text{C}$ ).

El costo de aplicar STABILAK es ligeramente menor que usar peróxido de hidrógeno y no es alto, tomando en cuenta el valor de la leche.

## **5. RECOMENDACIONES.**

STABILAK<sup>®</sup> como preservante debe ser implementado en aquellos lugares donde no puede tener refrigeración y no solo para abaratar el costo de conservación de la leche.

Debe explicarse como reactivar el sistema para evitar niveles muy altos de tiocianato en la leche.

Debe mejorarse la higiene en el ordeño y manejo de la leche, para lograr preservar la leche por periodos mayores a 10 horas con solo activar el sistema.

Activar el sistema LP en las primeras 2 horas después del ordeño, si no se hace así, el sistema no preservará por mucho tiempo.

En lo posible disminuir la temperatura de la leche para disminuir la tasa de crecimiento de los microorganismos.

## **6. BIBLIOGRAFIA**

BERG, J.C.T. 1988. Dairy technology in tropics and subtropics. Pudoc Wageningen, Wageningen, Netherlands. 290p.

BARABAS, J. 1994. An alternative method of milk treatment (online). Disponible en: [www.fao.org/docrep/v6200t/v6200T0t.htm](http://www.fao.org/docrep/v6200t/v6200T0t.htm)

CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA. CENSA. (CUBA). 1999. Producción y calidad de la leche bajo condiciones del Trópico Americano. La Habana, Cuba. 83p.

CODEX ALIMENTARIUS. 1991. Nineteenth session of codex alimentarius commission (online). Disponible en <http://www.fao.org/docrep/U5900t/u5900t0b.htm>

FAO/OMS. 1991. Directrices para la conservación de la leche cruda mediante el sistema de la lactoperoxidasa. 19 sesión de la comisión del Codex Alimentarius, Roma, 1-10 julio de 1991.

LA TROBE UNIVERSITY SCHOOL OF MICROBIOLOGY. 2000. Molecular Biology: Tables of Antimicrobial Factors And Microbial contaminants in Human Milk (online). Disponible en <http://www.latrobe.edu.au/www/microbio/table1.html>

PONCE, P.; CANDEVILLA, J.; ALFONSO, H.; LÓPEZ, M.; LEÓN, R.; TABOADA, A. 1991. Conservación de la Leche en Cuba mediante la activación del sistema lactoperoxidasa (online). Disponible en <http://www.fao.org/livestock/agap/war/warall/u8750b/u8750b0g.htm>

REVILLA, A. 1996. Tecnología de la Leche. Ed. Por Ercilia Romero. 3 ed. rev. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras, Centroamérica. 396p.

ROPER, D. 1997. Milking nature's resources (online). Disponible en [http://www.dotfinechem.com/incos/sections/features/jul\\_aug/preserve/index.htm](http://www.dotfinechem.com/incos/sections/features/jul_aug/preserve/index.htm)

THE UNIVERSITY OF READING (UNITED KINGTON). 1998. Food Law (online). Disponible en <http://www.fst.rdg.ac.uk/foodlaw/fao-97-8.htm>

## 7. ANEXOS.

Anexo 1. Analisis de Varianza para la variable unidades formadoras de colonias (UFC).

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>P&gt;F</b>
Modelo	32	66,904,453,943.88	2,090,764,185.74	25.73	0.0001
Error	72	5,449,677,633.10	812,455,222.68		
Total	104	72,754,131,576.98			

<b>R<sup>2</sup></b>	<b>CV</b>	<b>MSE</b>	<b>UFC promedio</b>
0.9195	97.22	9013.62	71,263

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC tipo III</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>P&gt;F</b>
TRT	2	14,061,572,174.30	7,030,786,087.15	86.54	0.0001
REP(TRT)	18	3,097,891,497.18	172,105,083.17	2.12	0.0133

TIEMPO	4	19,541,161,958.00	4,885,290,489.50	60.13	0.0001
TRT*TIEMPO	8	30,203,828,314.38	3,775,478,539.28	46.47	0.0001

---

Anexo 2. Analisis de Varianza para la variable acidez titulable en forma de ácido láctico (%).

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>P&gt;F</b>
Modelo	35	0.079961	0.022846	29.82	0.0001
Error	87	0.006665	0.000077		
Total	122	0.086626			

**R<sup>2</sup>**      **CV**                      **MSE**                      **Acidez promedio**  
 0.92306  
 1              5.3667                      0.00875262                      0.1631

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC tipo III</b>	<b>CM</b>	<b>Valor F</b>	<b>P&gt;F</b>
TRT	2	0.024792	0.011230	161.81	0.0001
REP(TRT)	18	0.004323	0.000303	3.14	0.0002
TIEMPO	5	0.024291	0.004858	63.42	0.0001
TRT*TIEMPO	10	0.027758	0.002776	36.23	0.0001

Anexo 3. Conteos bacterianos y acidez en la primera repetición.

TRATAMIENTO 1

Tipo de Leche                      Cruda                      Fecha                      21/7/2000  
 Temperatura                      ambiente

	Horas pos ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22.500	138.000	2.810.000	20.850.000	123.500.000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.16	0.17	0.17	0.19	

TRATAMIENTO 2

Tipo de Leche                      Cruda                      ambiente + STABILAK  
 Temperatura

	Horas post ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22.500	48.500	134.500	1.975.000	5.800.000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	

TRATAMIENTO 3

Tipo de Leche                      Cruda                      10 grados centigrados  
 Temperatura

	Horas pos ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22.500	61.000	118.500	426.000	44.500	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	

Anexo 4. Conteos bacterianos y acidez en la segunda repetición.

TRATAMIENTO 1

Tipo de Leche  
Temperatura

Cruda  
ambiente

Fecha

8/24/00

	Horas pos ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22,000	204,000	5,500,000	38,000,000	127,000,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.16	0.16	0.18	0.23	0.32

TRATAMIENTO 2

Tipo de Leche  
Temperatura

Cruda  
ambiente + STABILAK

	Horas pos ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22,000	85,000	112,000	2,490,000	25,300,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.17

TRATAMIENTO 3

Tipo de Leche  
Temperatura

Cruda  
10 grados centigrados

	Horas pos ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22,000	89,000	230,000	840,000	310,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16

Anexo 5. Conteos bacterianos y acidez en la tercera repetición.

TRATAMIENTO 1

PARAMETRO	Tipo de Leche		Cruda			Fecha
	Temperatura		ambiente			<u>8/25/00</u>
	Horas pos ordeño					
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	23,000	181,000	5,800,000	45,000,000	120,000,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.16	0.16	0.18	0.21	0.28

TRATAMIENTO 2

PARAMETRO	Tipo de Leche		Cruda			
	Temperatura		ambiente + STABILAK			
	Horas pos ordeño					
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	23,000	67,000	109,000	2,460,000	6,700,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.17

TRATAMIENTO 3

PARAMETRO	Tipo de Leche		Cruda			
	Temperatura		10 grados centigrados			
	Horas pos ordeño					
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	23,000	74,000	92,000	1,100,000	420,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16	0.16



Anexo 7. Conteos bacterianos y acidez en la quinta repetición.

TRATAMIENTO 1

PARAMETRO	Tipo de Leche		Cruda			Fecha
	Temperatura		ambiente			<u>11/10/00</u>
	Horas pos ordeño					
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	24,800	231,000	3,800,000	31,700,000	103,000,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.16	0.17	0.18	0.21	0.26

TRATAMIENTO 2

PARAMETRO	Tipo de Leche		Cruda			
	Temperatura		ambiente + STABILAK			
	Horas pos ordeño					
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	24,800	101,000	140,000	260,000	6,200,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16

TRATAMIENTO 3

PARAMETRO	Tipo de Leche		Cruda			
	Temperatura		10 grados centigrados			
	Horas pos ordeño					
	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	24,800	107,000	219,000	750,000	740,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.15	0.16	0.16	0.16

Anexo 8. Conteos bacterianos y acidez en la sexta repetición.

TRATAMIENTO 1						
	Tipo de Leche	Cruda			Fecha	<u>12/10/00</u>
	Temperatura	ambiente				
	Horas pos ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22,100	106,000	760,000	7,100,000	49,000,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.16	0.16	0.18	0.21

TRATAMIENTO 2						
	Tipo de Leche	Cruda				
	Temperatura	ambiente + STABILAK				
	Horas pos ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22,100	7,800	29,000	620,000	5,900,000	
ACIDEZ TITULABLE	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15

TRATAMIENTO 3						
	Tipo de Leche	Cruda				
	Temperatura	10 grados centigrados				
	Horas pos ordeño					
PARAMETRO	0 horas	3 horas	6 horas	9 horas	12 horas	
UFC	22,100	89,000	142,000	180,000	190,000	

