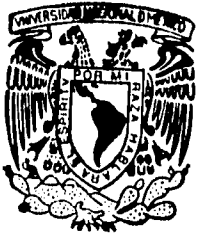


184
reg.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**DETECCION DE RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS
EN LECHE CRUDA PROVENIENTE DE ESTABLOS
DEL SUR DE SONORA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A ;
SAUL WONG GONZALEZ



MEXICO, D. F.



**FACULTAD DE CIENCIAS
DIRECCION ESCOLAR**

1995

FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVANZADA DE
MEXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE

Jefe de la División de Estudios Profesionales

Facultad de Ciencias

Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron el pasante(s) SAUL WONG GONZALEZ

con número de cuenta 7853137-2 con el título:

"DETECCION DE RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS EN LECHE CRUDA PROVENIENTE DE ESTABLOS DEL SUR DE SONORA"

Otorgamos nuestro Voto Aprobatorio y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de BIOLOGO

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS		
M. EN A.	JAIME	LOPEZ	CERVANTES	
Director de Tesis	DR.	RENE	CARDENAS VAZQUEZ	
M.V.Z.	MARTO JAVIER	SORIANO	BAUTISTA	
DRA.	JUANA ALBA	LUIS	DIAZ	
Suplente	BIOI.	CARLOS ALBERTO	CASTILLO POMPEYO	
Suplente				

**Al Dios Todo Poderoso, Jehova de los ejércitos, Rey de Reyes y Señor de Señores.
"El principio de la sabiduría es el temor de Jehova". Pr. 1:7**

A mi madre, por su inagotable espíritu de trabajo y de lucha por la educación de sus hijos.

A mi padre, por su apoyo.

A mi esposa e hijos, por su paciencia y comprensión.

A mis hermanos.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero y profundo agradecimiento al Ing. F. César Mexía Favela, Gerente General de Cremería del Yaqui, S.A. de C.V. por su apoyo incondicional para la realización de éste trabajo, así como, por sus valiosos consejos tan atinados como siempre.

También expreso mi gratitud y respeto al Ing. Jaime López Cervantes, maestro de tiempo completo de Química e Ingeniería Química del Instituto Tecnológico de Sonora por haber dirigido el presente trabajo con gran acierto y responsabilidad.

A la Ing. Dalia I. Sánchez Machado, por el tiempo dedicado y los comentarios vertidos en la revisión de ésta tesis.

Al Dr. Rene Cárdenas Vázquez, al M.V.Z. Mario Soriano Bautista, a la Dra. Juana Alba Luis Díaz y al Biol. Carlos Alberto Castillo Poinpeyo, maestros de tiempo completo de la facultad de Ciencias-UNAM, por haber revisado en forma crítica y constructiva este trabajo.

Agradezco también a Cremería del Yaqui, S.A. de C.V. y al Instituto Tecnológico de Sonora por haberme facilitado sus instalaciones para la realización de este trabajo.

CONTENIDO

INDICE DE TABLAS	v
INDICE DE FIGURAS	vi
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCION	1
II. CARACTERIZACION DE LA LECHE	5
2.1 Definición	5
2.2 Composición	5
2.2.1 Factores que afectan la producción y composición de la leche	5
2.2.2 Constituyentes químicos	9
2.2.2.1 Materia grasa	9
2.2.2.1.1 Estructura química de la grasa de la leche	10
2.2.2.1.2 Propiedades físicas de la grasa de la leche	15
2.2.2.2 Proteínas	16
2.2.2.3 Lactosa	19
2.2.2.4 Sales	21
2.2.2.5 Enzimas	21
2.2.2.5.1 Propiedades de las enzimas	22
2.2.2.5.2 Lactoperoxidasa	23
2.2.2.5.3 Reductasa aldehídica	23
2.2.2.5.4 Catalasa	24
2.2.2.5.5 Lipasa	24
2.2.2.5.6 Fosfatasa	25
2.2.2.5.7 Proteasa	26

2.2.2.5.8 Amilasa	26
2.2.2.6 Vitaminas	26
2.2.2.6.1 Liposolubles (A, D y E)	27
2.2.2.6.2 Hidrosolubles (B ₁ , B ₂ , B ₁₂ , C)	27
2.2.2.7 Pigmentos	28
2.2.2.8 Contaminantes	28
2.2.2.8.1 Químicos	29
2.2.2.8.2 Biológicos	29
2.3 Importancia	30
2.4 Propiedades fisicoquímicas	30
2.4.1 Apariencia	30
2.4.2 Olor	30
2.4.3 Sabor	31
2.4.4 Densidad	31
2.4.5 Acidez	32
2.4.6 pH	32
2.4.7 Viscosidad	33
2.4.8 Punto de congelación	33
2.4.9 Punto de ebullición	34
2.4.10 Conductividad eléctrica	34
2.4.12 Índice de refracción	35
III. GENERALIDADES DE LOS ANTIBIOTICOS	36
3.1 Definición	36
3.2 Importancia	37
3.3 Clasificación y origen	37
3.4 Características y propiedades	39
3.5 Uso de los antibióticos	40
3.6 Normas establecidas para el uso de antibióticos	41
3.7 Acción tóxica de los antibióticos	42

3.7.1 Factores que influyen en la exposición de los antibióticos	42
3.7.2 Vías de entrada de antibióticos	43
3.7.3 Absorción de antibióticos	43
3.7.4 Distribución de los antibióticos	44
3.7.5 Excreción de los antibióticos	45
3.7.6 Mecanismo de acción de los antibióticos	46
3.7.7 Reacción de hipersensibilidad a los antibióticos	47
3.7.8 Reacción tóxica de los antibióticos	48
4.8 Fármacos antimicrobianos utilizados en ganado lechero	48
4.9 Pruebas de detección de residuos de antibióticos	51
IV. OBJETIVOS	55
V. MATERIAL Y METODOS	56
5.1 Explicación del diseño experimental	56
5.1.1 Plan de muestreo	58
5.2 Análisis fisicoquímico	60
5.2.1 Determinación de acidez	60
5.2.2 Determinación de densidad	61
5.2.3 Determinación de grasa	61
5.2.4 Determinación del índice crioscópico	62
5.3 Determinación de residuos de antibióticos	62
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	64
6.1 Acidez	64
6.2 Grasa	67
6.3 Índice crioscópico	68
6.4 Densidad	71
6.5 Residuos de antibióticos	71

VII. CONCLUSIONES	79
VIII. BIBLIOGRAFIA	80

INDICE DE TABLAS

TABLA	PAG.
1 Composición química de las leches de diferentes vacas	8
2 Composición cuantitativa de la leche de vaca	8
3 Acidos grasos de la leche de vaca	12
4 Distribución de las principales sustancias nitrogenadas de la leche de vaca	16
5 Composición porcentual de aminoácidos de la proteína de leche de vaca	17
6 Proporción de las diferentes sales en la leche	21
7 Fármacos antimicrobianos utilizados en ganado lechero	50
8 Parámetros de calidad para cada establo	65
9 Valores de referencia de leche cruda para el destino de la misma en las diferentes categorías	74

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PAG.
1 Fundamento de la prueba Charm	54
2 Localización geográfica del área muestreada para la detección de residuos de antibióticos	59
3 Determinación de acidez por establo	66
4 Determinación de grasa por establo	69
5 Determinación de índice crioscópico por establo	70
6 Determinación de densidad por establo	72
7 Frecuencia de muestras positivas de residuos de antibióticos por establo	73

RESUMEN

La leche es un alimento humano de primera necesidad dado su valor nutritivo; desde el punto de vista legal se define, como el producto del ordeño higiénico, efectuado completa y profundamente en una o más hembras de ganado lechero bien alimentado y en buen estado de salud. La contaminación de la leche fluida destinada al consumo humano constituye un grave problema a nivel mundial. En México diversos estudios han documentado la gravedad del problema, particularmente en cuanto a presencia de residuos de antibióticos. Los métodos más comunes para detección de residuos de antibióticos son, el ensayo de cilindro en placa con Sarcina lutea, ensayo en disco con Bacillus stearothermophilus, Delvotest-SP, y la prueba Charm. En este trabajo el método utilizado fue el Delvotest-SP. El marco de muestreo estuvo constituido por todas las vacas productoras de leche que se capta en la planta pasteurizadora de la región del Sur

de Sonora Cremería del Yaqui, S.A. de C.V.; consta de 1,600 vacas de las cuales el 75% se encuentran en establos formales (ganado especializado) y el 25% restante en establos informales (ganado no especializado). El muestreo abarcó los establos del sur de Sonora que comprende los Municipios de Cajeme, Bécum, Etchojoa, Huatabampo, Navojoa y una porción Sur del Municipio de Guaymas. De un total de 310 vacas muestreadas se obtuvieron 44 muestras positivas lo cual da un porcentaje de incidencia de 8.19% teniendo un grado de confianza del 95% y un nivel de precisión de 0.05. Las muestras positivas que se obtuvieron son indicadoras de la presencia de algún residuo de antibiótico de penicilina y/o sulfonamidas de acuerdo a la especificidad de la prueba utilizada en este trabajo. Se muestrearon 11 establos formales de los cuales, sólo tres resultaron negativos; de los cinco establos informales tres resultaron con alguna muestra positiva y dos negativas. Se encontró contaminación de residuos de antibióticos en cinco de los seis Municipios muestreados en el Sur de Sonora.

I. INTRODUCCION

La contaminación de la leche fluida destinada al consumo humano constituye un grave problema a nivel mundial. En México, diversos estudios han documentado la gravedad del problema, particularmente en cuanto a presencia de residuos de antibióticos. En un estudio reciente (Ramírez, 1991) realizado en la Ciudad de Guadalajara se informó que un 25.5% de las muestras de leche estuvieron contaminadas con algún residuo de agentes antimicrobianos, habiéndose detectado estreptomycin, cloramfenicol, tetraciclina y Beta-lactámicos, entre otros. Asimismo, Velázquez y Col. (1980) analizaron muestras de leche fluida distribuida en la Ciudad de México durante los meses de enero a septiembre de 1979 encontrando una frecuencia de contaminación superior al 90%. En ese trabajo también se detectó que la mayoría de las muestras estaban contaminadas con más de un residuo en niveles muy por encima de los tolerables de acuerdo a la reglamentación de la Secretaría de Salud.

Higuera-Ciapara (1988) realizó un muestreo en el Noroeste de México en 1986-1987 analizando residuos de antibióticos en 43 muestras de cada una de las marcas comerciales de leche pasteurizada, encontrando un 33% de contaminación en algunas de ellas.

Desde hace varios años la presencia de residuos de antibióticos en la leche se ha convertido en un tema de importancia en literatura científica, habiendo sido señalado los principales problemas que ocasionan, entre ellos se encuentran los siguientes:

- a). Facilitar la evolución de resistencia en bacterias patógenas o potencialmente dañinas a la salud del consumidor.
- b). Inducción de reacciones alérgicas en individuos sensibles.
- c). Toxicidad.
- d). Rechazo por parte del consumidor.

Entre los compuestos antimicrobianos que han causado gran controversia en los últimos cuatro años, destacan las sulfonamidas, que han jugado un papel muy importante en la reducción de la morbilidad y la mortalidad causadas por enfermedades infecciosas. En estudios realizados por Vázquez y Col. en 1990 en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), se detectó un 27% de contaminación tanto de leche fluida como de leche en polvo con estos compuestos.

La situación descrita anteriormente no ha sido privativa del país. En U. S. A. la noticia de que un 38% de las muestras de leche fluida se encontraron contaminadas con sulfonamidas causó gran conmoción en la industria de los productos lácteos a principios de 1990 (Kimbrell, 1990). En Canadá también se han realizado varios estudios y aunque la frecuencia de contaminación es mucho más reducida (7%) el problema también se ha documentado (Larocque, 1990).

La situación se vuelve todavía más compleja en virtud de evidencia reciente demostrando que algunas sulfas tienen propiedades carcinogénicas, particularmente la sulfametazina, uno de los compuestos más comunmente detectados como contaminantes de la leche (Littlefield and Gaylor, 1989).

Por otro lado, desde el punto de vista de la producción de leche se estima que en México en 1993, el consumo de leche fluida fue de alrededor de 3,240,000 litros diarios, de los cuales 504,000 se consumen como leche pasteurizada a granel, 1,584,000 pasteurizada en envase de cartón polietilizado, 684,000 pasteurizada en envase de plástico y 468,000 en envase aséptico del tipo ultrapasteurizada. (Comisión Nacional de la Leche, Consejo Nacional de la Industria de Pasteurización Láctea y Unión Nacional Ganadera; 1993)

En el estado de Sonora (Comisión Estatal de la Leche) se producen, procesan y comercializan dos categorías de leche pasteurizada de acuerdo a la clasificación sanitaria que establece el reglamento de la "Ley general de salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios" de la Secretaría de Salud, siendo las categorías preferente y preferente especial.

Sonora registró en el año de 1993 una producción promedio de 82,206 litros diarios de leche fluida destinada a las diferentes plantas pasteurizadoras del estado, siendo esta producción menor que la registrada en el año de 1992 en sus diferentes categorías; aproximadamente el 67% de la leche producida proviene de ganado especializado (establos formales) y el 33% de ganado no especializado (establos informales).

En el sur de Sonora, durante la mayor época de producción se comercializan alrededor de 50,000 litros diarios (Asociación Ganadera Local de Productores de Leche del Valle del Yaqui A. C. y Comisión Estatal de la Leche) de los cuales aproximadamente el 66% se destina a la planta pasteurizadora para procesarse y comercializarse como

leche fluida envasada, y el 34% restante a industrias queseras de la región, además parte de esta leche se utiliza para la fabricación de quesos a nivel casero por muchos de los pequeños productores (ganado no especializado) y también para la venta de leche bronca a granel.

II. CARACTERIZACION DE LA LECHE

2.1 Definición.

Desde el punto de vista técnico, se define como el producto del ordeño higiénico, efectuado completa y profundamente en una o más hembras de ganado lechero bien alimentado y en buen estado de salud (Keating, 1986), bajo el concepto fisiológico, es la secreción de las glándulas mamarias.

2.2 Composición.

2.2.1. Factores que afectan la producción y composición de la leche

Las diferentes especies de mamíferos producen leches que varían ampliamente en su composición y, como consecuencia, tienen propiedades muy diferentes.

Todas las leches contienen caseína; pero algunas en mayor cantidad que otras, como ocurre en los rumiantes; éstas son leches que coagulan fácilmente con el cuajo y no por ebullición. Por otro lado, existen leches con bajo contenido en caseínas, como las de gata, perra, etc.; la materia grasa se encuentra en proporción elevada en leche de mamíferos de regiones frías. La leche humana es más rica en lactosa, pero es relativamente pobre en elementos nutritivos, lo mismo ocurre con la leche de burra y de yegua. (Santos, 1987)

La cantidad y composición de la leche que produce una vaca presenta variaciones importantes; esto trae como consecuencia que no todas las leches tengan las propiedades ideales para la elaboración de quesos y mantequillas, ni el mismo valor nutritivo.

La producción diaria de leche y su composición varían en el curso de la lactación. Algunas vacas presentan una producción máxima entre el primer y el tercer mes, seguido de una disminución rápida; algunas vacas mantienen uniformemente su producción durante la lactancia; ésta última es la más importante característica desde el punto de vista económico.

En relación con la variación de los componentes principales de la leche, el comportamiento de producción de lactosa es similar a la de producción de leche; sin embargo, el de materia nitrogenada y grasa es muy diferente, ya que disminuye rápidamente durante el primer mes y tienden a aumentar al final de la lactación.

Inmediatamente después del parto y durante los primeros siete días, la mama segrega un líquido amarillo, viscoso, amargo y ácido llamado calostro, cuya composición y aspecto son muy diferentes de los de la leche. En la primera ordeña, la parte nitrogenada está formada por 8% de globulina, 4% de albúminas, 3% de caseína y 1% de sustancias no proteicas pero ésta composición varía con el tiempo.

Desde el punto de vista de alimentación varios factores determinan la producción y composición de la leche, como lo es la reducción brusca y temporal del alimento que provoca un descenso en la producción y un aumento en el extracto seco de la leche; cuando esta reducción se prolonga, la producción disminuye; el contenido de grasa sólo disminuye si se reducen simultáneamente los carbohidratos y el material nitrogenado.

La insuficiencia o ausencia de celulosa o paja en el régimen de vegetales, tiernos y concentrados, provoca un descenso en el contenido graso, debido a que la fermentación en el rumen es defectuosa y disminuye la producción de ácido acético y otros ácidos volátiles, principales formadores de ácidos grasos. Contrariamente a lo que se cree, la ración de grasa en el alimento no tiene gran influencia en la composición de la leche; un alto contenido de material nitrogenado no modifica la cantidad de proteínas en la leche, pero si aumenta el nitrógeno no proteico, como es el contenido de urea.

Los factores climáticos también tienen influencia sobre la composición de la leche. Durante el verano (junio, julio y agosto) la riqueza de la leche en materia grasa y sólidos totales es mínima, y máxima al final del otoño (octubre, noviembre y diciembre).

El contenido de grasa en la leche se eleva en el curso de la ordeña, por lo que la leche de una ordeña incompleta, puede estar semidescremada. Para tener una buena ordeña es necesario realizar la ordeña completa ya que, de lo contrario, se inhibe la secreción. Si no se realiza la ordeña, la leche se retiene o se inhibe la síntesis, lo que a su vez, ocasiona una reducción permanente de la capacidad de producción de la mama; por otro lado favorece que la glándula se infecte.

Si transcurren intervalos largos entre las ordeñas se obtiene una mayor producción de leche, que es menos rica en materia grasa; por el contrario, la leche contiene más grasa y es menos abundante si los intervalos entre las ordeñas son cortas. Hasta cierto

punto, la producción de leche depende del número de ordeñas que se efectúen puesto que éstas estimulan la producción. Por razones económicas se realizan generalmente de dos a tres ordeñas diarias. (Santos, 1987).

Otro factor muy importante en cuanto a la producción y composición de la leche es la raza de la vaca, cuyo rendimiento anual de una raza respecto a otra puede ser el doble o el triple. En la tabla 1 se representa la composición química de las leches de diferentes razas de vacas.

Los constituyentes de la leche se encuentran en tres estados físicos: solución, dispersión coloidal y emulsión. La leche está compuesta por agua, grasas, proteínas, azúcares (carbohidratos) y minerales, además de otras sustancias que están presentes en menor concentración tales como, vitaminas. En la tabla 2, se muestran los valores de la composición cuantitativa de la leche de vaca.

Tabla 1
Composición química de las leches de diferentes vacas (%)

Raza	Agua	Grasa	Proteínas	Lactosa	Cenizas
Holstein	88.12	3.44	3.11	4.61	0.71
Airshire	87.39	3.93	3.47	4.48	0.73
Suiza Café	87.31	3.97	3.37	4.63	0.72
Guernsey	86.36	4.50	3.60	4.79	0.75
Jersey	85.66	5.15	3.70	4.75	0.75

Fuente: Alfa-Laval (1990)

Tabla 2
Composición cuantitativa de la leche de vaca

Constituyente principal	Límites de variación (%)	Valor medio (%)
Agua	85.5 - 89.5	87.5
Sólidos totales	10.5 - 14.5	13.0
Grasa	2.5 - 6.0	3.9
Proteínas	2.9 - 5.0	3.4
Lactosa	3.6 - 5.5	4.8
Minerales	0.6 - 0.9	0.8

Fuente: Keating, (1986)

2.2.2 Constituyentes químicos.

La leche está formada de aproximadamente 87.5% de agua y 12.5% de sólidos o materia seca total.

a) Agua:

El agua constituye la fase continua de la leche y es el medio de soporte para sus componentes sólidos y gaseosos, se encuentra en dos estados: Agua libre (intersticial), la cual representa la mayor parte del líquido que mantiene en solución a la lactosa y las sales, es ésta el agua que sale de la cuajada en forma de suero, y el agua de enlace, que es el elemento de cohesión de los diversos componentes no solubles y es absorbida a la superficie de estos compuestos.

b) Materia seca:

La materia seca está formada por los compuestos sólidos, que en la leche de vaca constituye en promedio el 12.5% de la leche, pueden ser determinados directamente por la aplicación de calor para evaporar la fase acuosa (Keating, 1986).

2.2.2.1. Materia grasa.

La grasa se encuentra en la leche bajo la forma de pequeños glóbulos dispersos en emulsión en la fase acuosa. Estos glóbulos tienden a subir debido a su baja densidad (0.92) que es inferior a la leche descremada (1.035). Los glóbulos en su ascenso a la superficie de la leche se juntan más rápidamente cuanto más grande es su diámetro, constituyen las partículas más grandes presentes en la leche. Sus diámetros oscilan entre 0.1 y 22 micras (1 micra = 0.001mm). El tamaño medio es de 3.4 micras.

El número de glóbulos grasos en la leche varía de 1.5 a 3.0 billones por centímetro cúbico de leche. (Revilla, 1981). El glóbulo graso está rodeado de una membrana proteíca, la cual se mantiene fija ya sea por adsorción o atracción de la superficie del glóbulo, esta membrana es un factor que permite la estabilidad del glóbulo en emulsión (Revilla, 1981).

2.2.2.1.1. Estructura química de la grasa de la leche.

Las características de la grasa contenida en la leche se tomaron de Santos (1987). La grasa de la leche se compone de triglicéridos, que resulta de la unión de un glicerol con tres ácidos grasos (Revilla, 1981). Esta grasa tiene tres características muy importantes:

- a). Gran variedad de ácidos grasos; mediante las técnicas modernas se han logrado identificar 150, aunque solo 15 de ellos se encuentran en cantidades notables. (Tabla 3).
- b). Los ácidos grasos saturados constituyen entre el 55 y el 60% y los insaturados, entre el 30 y 35%, por eso la mantequilla es sólida a temperatura ambiente.
- c). Tiene una gran proporción de ácidos grasos volátiles de bajo peso molecular y, en especial de ácido butírico, característica que le confiere un elevado índice de saponificación, particular de la leche de vaca; las demás leches, a excepción de la de oveja, tienen poco ácido butírico.

Dentro de una misma especie, la composición de la grasa varía poco según la raza; sin embargo, la grasa de la leche Jersey tiene más ácidos grasos volátiles que la de leche Holstein, Ayrshire o Shorthorns. Las leches de Holstein y Shorthorns contienen más

ácido oleico que la de Jersey, lo que ocasiona que el punto de fusión de la grasa de las primeras sea más bajo.

La determinación de ácidos grasos se hace actualmente con el cromatógrafo de gases; hacerlo mediante métodos químicos es muy difícil, pero pueden indentificarse fácilmente mediante los índices analíticos, los cuales, a su vez, pueden emplearse para detectar adulteraciones en la grasa.

Tabla 3
Acidos grasos de la leche de vaca

Categorías	Acido graso	Núm. de átomos de carbono	Porcentaje	Estado fisico (temperatura de fusión)
I. Acidos saturados				
Volátiles solubles				
	Butírico	C ₄		líquido (- 8°C)
	Caproico		5 a 6	
	(poco soluble)	C ₆		líquido (- 2°C)
Volátiles insolubles				
	Caprílico	C ₈		Interfase líquido - sólido (16°C)
	Cáprico	C ₁₀	5 a 6	sólido (30°C)
	Láurico	C ₁₂		sólido (40°C)
Fijos				
	Mirístico	C ₁₄	10	sólido (54°C)
	Palmítico	C ₁₆	30	sólido (62°C)
	Estearico	C ₁₈	10	sólido (70°C)
	Araquídico	C ₂₀	1	sólido
II. Acidos insaturados				
Monoenos				
(una doble ligadura)				
	Decenoico	C ₁₀	5	líquido
	Oleico (cis)	C ₁₈	25	Interfase sólido - líquido (14°C)
	Vacénico (trans)	C ₁₈	5	sólido 39°C
Polinsaturados				
No conjugados				
(dienos)	Linoleico	C ₁₈	1	líquido
(trienos)	Linolénico	C ₁₈	0.5	líquido
(tetraenos)	Araquidónico	C ₂₀	0.3	líquido

Fuente: Santos, (1987)

En el caso del índice de Reichert Meissel, que indica el contenido de ácidos grasos de cadena corta y solubles en agua, puede verse que los valores más altos corresponden a la grasa de leche de vaca y de oveja, debido a su alto contenido de ácido butírico. En el caso del índice de Polenske, que indica el contenido de ácidos grasos insolubles en agua, puede apreciarse que en la grasa de leche de vaca es más bajo que en las de cabra, oveja, etc., debido al poco contenido de ácido caprílico, cáprico y laúrico. El índice de yodo indica el número de insaturaciones en los ácidos grasos; en la grasa de la leche de vaca es más bajo que en los aceites vegetales y grasas animales. El índice de saponificación de la grasa de leche de vaca es alto por el elevado contenido de ácidos grasos de cadena corta.

Ácidos grasos saturados de la grasa de leche:

A pesar de que los ácidos grasos solubles en agua representan el 5% del total, constituyen la parte más característica de la leche de los rumiantes y, principalmente, de la de vaca.

A pesar de que cuantitativamente representan una pequeña cantidad de los ácidos grasos saturados (menos del 10%), la proporción de ácidos grasos afecta el punto de fusión de las grasas, ya que sus glicéridos son líquidos; el resto de los ácidos grasos saturados forman una sola masa sólida. El olor de los ácidos grasos volátiles es fuerte y puede decirse que es una característica de la rancidez hidrolítica.

Los ácidos caprílico y cáprico constituyen la parte esencial de la fracción de ácidos grasos insolubles en agua. En la leche de vaca, los valores de estos ácidos son bajos en relación con los de cabra y oveja. La anterior es la característica principal de éstas especies y se utiliza para detectar adulteraciones de la grasa de leche de vaca, con grasas de leches de cabra y oveja, empleando el índice de Polenske.

Ácidos grasos insaturados de grasas de leche.

Una gran variedad de éstos ácidos grasos se encuentran en las leches y presentan de uno a seis dobles enlaces; pero solo uno está en proporción importante, el oleico, que es un ácido monoinsaturado de 18 carbonos y que constituye el 75% de los ácidos grasos insaturados y, en general de todos los de cadena larga, varía con la alimentación. La cantidad de ácidos grasos de más de 18 carbonos disminuye cuando la vaca tiene una dieta libre de protefnas. Las grasas vegetales constituyen la fuente de ácidos grasos de 18 o más carbonos; la grasa de la hierba contiene aproximadamente 60% de ácido linoléico (dieno) que se hidrogena en el rumen y produce ácido oleico de forma "cis" así como una proporción menor del derivado "trans" o ácido vaccénico, que tiene propiedades muy diferentes, ya que éste es sólido, mientras que los derivados "cis" son líquidos. El ácido araquidónico (tetraeno) no existe en la alimentación de la vaca, pero se sintetiza a partir del ácido linoléico.

Las propiedades químicas más importantes de los ácidos grasos insaturados son las siguientes:

- a). Fijan el oxígeno y forman óxidos de sabor muy desagradable.
- b). Fijan halógenos; ésta propiedad se emplea para calcular el índice de yodo, que constituye el principal método químico para determinar el grado de insaturación.

Los ácidos grasos insaturados de forma "cis", que constituyen el 80% del total de los ácidos grasos insaturados, tienen un punto de fusión bajo; por lo tanto, cuanto más abundan, más blanda es la grasa, lo cual es muy importante respecto de las propiedades reológicas de la mantequilla. Algunos ácidos polinsaturados no conjugados se consideran esenciales para los animales debido a que no pueden ser sintetizados. Las investigaciones que se han realizado al respecto indican que el único ácido graso esencial indispensable es el linoleico (Alais, 1980).

2.2.2.1.2 Propiedades físicas de las grasas de leche.

Las propiedades físicas de la grasa no son muy estables, existen variaciones amplias, lo que demuestra que se trata de una mezcla de triglicéridos, su densidad varía según la composición de los ácidos grasos de los triglicéridos, la naturaleza, y la cantidad de la materia insaponificable presente así como la temperatura; la densidad es inversamente proporcional a la temperatura.

Los puntos de fusión y de solidificación de la leche no están bien definidos, pues el cambio de estado se produce en un margen de 5°C. Este límite tan amplio indica que en la leche hay glicéridos líquidos a 0°C y otros que se funden a temperaturas superiores a 60°C, lo que resulta en una solución de grasas de alto punto de fusión. La temperatura a la cual la licuación es total no puede considerarse como punto de fusión debido a que las grasas menos solubles se disuelven en el líquido que se forma a una temperatura más baja.

El índice de refracción, a pesar de sus variaciones, puede utilizarse como medida de adulteración con otras grasas, ya que, la mayor parte de sus grasas tiene un índice de refracción diferente del de la mantequilla.

La materia grasa pura es blanca, si tiene un color amarillo se debe a la presencia de carotenoides. Como todas las grasas la de la leche es insoluble en agua, poco soluble en alcohol y muy soluble en los disolventes orgánicos, como éter etílico, éter de petróleo, benceno, acetona, hexano, etc... (Santos, 1987).

2.2.2.2. Proteínas.

Son las más complejas de los compuestos orgánicos, las proteínas se caracterizan principalmente por contener nitrógeno. Las proteínas desempeñan una gran variedad de funciones que van desde la estructura hasta la reproducción de todo ser viviente. Entre las proteínas de la leche, la caseína es la más común y representa el 80% de las proteínas, esta proteína es exclusiva de la secreción de la glándula mamaria (Revilla, 1981). La proteína de la leche juega el papel más importante en la elaboración de quesos, de los cuales el tipo de Cheddar contiene aproximadamente 33%.

La tabla 4, muestra la distribución de las principales sustancias nitrogenadas de la leche de vaca.

Tabla No. 4

Distribución de las principales sustancias nitrogenadas de la leche de vaca

Sustancia	Porcentaje	Porcentaje Relativo
Proteínas totales	100	
Caseína entera	78	100
Caseína α_1		40
Caseína β		30
Caseína k		15
Caseína v		15
Proteínas del suero	17	100
β -lactoglobulina		50
α -lactoalbúmina		22
Inmunoglobulina		12
Seroalbúmina		5
Sustancias nitrogenadas no proteicas.	5	

Fuente: Santos, (1987)

En la leche de vaca, las proteínas comprenden el 95% del total de las sustancias nitrogenadas y varían según la especie; las leche de coneja y perra contienen más, le siguen las leches de rumiantes y contienen menos la humana y las de yegua y burra. El contenido de proteínas en la leche de vaca depende de muchos factores fisiológicos y bioquímicos, varía entre 3.32 y 3.92% según la raza y la estación del año, es mayor en Jersey que en Holstein y Shorthorn, el contenido proteico es menor durante el verano que durante el invierno.

Desde el punto de vista nutricional, las proteínas de la leche pueden compararse con otras fuentes proteicas para el hombre; con excepción del huevo, la leche tiene los valores más elevados. En relación con el contenido de aminoácidos, las proteínas de la leche son semejantes a las proteínas de res, trigo, huevo y soya (Santos, 1987).

Composición de las proteínas.

Las proteínas son polímeros de alfa-aminoácidos, algunos contienen compuestos que no son aminoácidos, pero su estructura básica está formada por aminoácidos, solo veinte ocurren regularmente en las proteínas.

En la tabla 5 se muestra la composición porcentual de aminoácidos de la proteína total de leche de vaca.

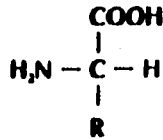
Tabla 5

Composición porcentual de aminoácidos de la proteína total de leche de vaca

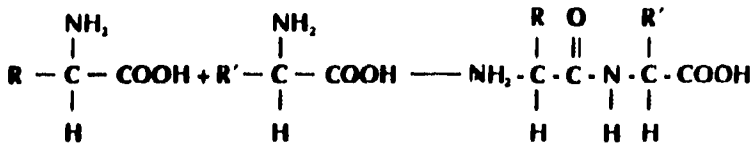
1. Glicina	2.0	10. Arginina	3.7
2. Alanina	3.5	11. Histidina	2.7
3. Valina	7.0	12. Lisina	7.9
4. Leucina	10.0	13. Cistina	1.8
5. Isoleucina	6.5	14. Metionina	2.5
6. Serina	6.0	15. Fenilalanina	4.9
7. Treonina	4.7	16. Tirosina	5.2
8. Acido aspártico	7.4	17. Triptófano	1.4
9. Acido glutámico	23.9		

Fuente: (Santos, 1987)

La fórmula general de los L-alfa-aminoácidos es:



El enlace de unión de los aminoácidos es denominado unión peptídica, que es formada por la reacción del grupo amino con el grupo carboxílico (Revilla, 1981).



Las sustancias nitrogenadas de la leche se encuentran en forma de micelas dispersas en suspensión coloidal y la mayor parte pertenece al grupo de prótidos, divididos en dos grupos:

Haloprótidos

a). Lactoalbúminas: que representan el 0.05% y cuya proporción puede aumentar en la leche de animales enfermos de mastitis (inflamación de la ubre de vaca) y en las leches calostradas, etc.; el punto isoelectrico es de pH 4.5. La Lactoalbúmina es rica en Iisina y triptófano. Esta sustancia es muy importante en la alimentación de los niños. No coagula por acción del cuajo, o de los ácidos, pero lo hace por efecto del calor. La razón es que su estabilidad depende del agua de "hidratación" y no de las cargas eléctricas que caracterizan a las micelas de la caseína.

b). Lactoglobulina: su contenido en la leche no sobrepasa los 5 gr. por litro (0.5%), y precipita a los 70°C.

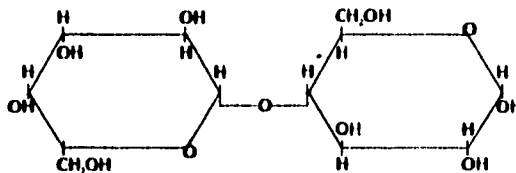
Heteroprótidos

La caseína es el principal heteroprótido de la leche, y está compuesta de 20 aminoácidos. La caseína tiene su punto isoeléctrico a un pH de 4.6, esto es, a este nivel las cargas electronegativas de las micelas se encuentran neutralizadas, ya sea por la acción de un ácido o una sal, teniendo como consecuencia que las micelas se aglomeran entre sí y se precipitan. Este fenómeno se acelera con la adición de un agente deshidratante; el calor o alcohol. Estos resultados se deben a que las fuerzas que mantienen en estado coloidal a la caseína se neutralizan, con sólo agregar a una muestra de leche volumen igual de alcohol, prueba que se aplica para determinar la estabilidad de la leche al calor.

El contenido de caseína en la leche es de aproximadamente 27 gramos por litro y representa un 78% de los prótidos. Además puede ser precipitada por la acción de una enzima, la renina. Otra forma de coagular la caseína es mediante el calor, es decir, a temperaturas superiores a 130°C y mantenida por varias horas. Las albúminas en cambio, coagulan a los 72°C (Keating, 1986).

2.2.2.3 Lactosa.

Es el más importante carbohidrato de la leche, formado de una molécula de glucosa y otra de galactosa, las cuales por hidrólisis pueden ser separadas (Revilla, 1981).



FORMULA ESTRUCTURAL
α LACTOSA

La lactosa se encuentra en dispersión molecular y representa del 4.7 al 5.2% en la leche, es entre los componentes el menos variable. La lactosa es fermentada por bacterias lácticas al producir ácido láctico principalmente, el porcentaje de acidez de la leche se expresa, por lo tanto, en términos de éste ácido, y se determina por titulación con hidróxido de sodio. Es poco soluble en agua, teniendo un máximo de solubilidad de 16.9 gramos en 100 gramos de agua a 15°C, por lo tanto, una concentración de la leche de más de tres litros a uno, inducirá la cristalización de la lactosa.

Existen dos formas químicas de la lactosa: alfa-lactosa (37%) y beta-lactosa (63%). Esta cristalización ocurre cuando se sobrepasa el contenido de la beta-lactosa, transformándose la diferencia a alfa-lactosa que es propiamente la que cristaliza.

El calor afecta a la lactosa a temperaturas arriba de 110°C. A esta temperatura la lactosa hidratada (alfa-lactosa) pierde su agua y se transforma en lactosa anhidra. A temperatura superior a los 130°C se produce su caramelización, pero tiende igualmente a combinarse con los compuestos nitrogenados de la leche, conociéndose éste fenómeno como "reacción de Maillard". Esta reacción produce un pardeamiento de la leche y puede observarse en leches esterilizadas.

Una propiedad física de la lactosa es su índice de refracción, su valor en el suero (lacto-suero-cálcico) varía de 37.5 a 42° correspondiendo a una densidad del suero de la leche de 1.0244 a 1.0290.

En la fermentación de la lactosa por bacterias lácticas puede producirse ácido láctico (Keating, 1986).

2.2.2.4 Sales.

La leche contiene un cierto número de sales minerales, su concentración total es inferior al 1% (tabla 6). Estas se encuentran disueltas en el suero de la leche ó formando compuestos con la caseína. Los más importantes son el calcio, sodio, potasio y magnesio. Se encuentran como fosfatos, cloruros, citratos y caseinatos. Las sales de potasio y calcio son las más abundantes en la leche. La cantidad de sales presentes en la misma no es constante. Hacia el final de la lactación, y aún más en el caso de ubres enfermas, el contenido en cloruro sódico aumenta y da a la leche un sabor salado, mientras que las cantidades de otras sales se ven reducidas en una forma proporcional (Alfa-laval, 1990).

Tabla 6
Proporción de las diferentes sales en la leche

Fosfato de potasio, calcio y magnesio	0.33%
Cloruros de sodio y potasio	0.20%
Citratos de sodio, potasio, calcio y magnesio	0.32%
Sulfato de potasio y sodio	0.018%
Carbonatos de potasio y sodio	0.025%

Fuente: (Keating, 1986)

2.2.2.5 Enzimas.

La leche contiene varias enzimas relacionadas con el grupo de las albúminas, con las cuales generalmente precipitan, algunas de éstas enzimas se encuentran concentradas en la membrana superficial de los glóbulos de grasa y son arrastrados por

la crema (reductasa aldehídica, fosfatasa); otras precipitan con la caseína a pH 4.6 (proteasa, catalasa, etc.).

El origen de la leche explica la presencia de estas enzimas, existentes en numerosas células y especialmente en los leucocitos de la sangre, que emigran a través del tejido mamario, se les puede considerar, por lo tanto, como productos de excreción.

A veces es difícil determinar su origen, ya que las bacterias, que frecuentemente se encuentran en la leche, producen enzimas del mismo tipo; el desarrollo de estas bacterias, aumenta por consiguiente, la cantidad de enzimas presentes o aportan otras nuevas, probablemente existan ocho de estas enzimas en la leche a la salida de la mama; dos se han aislado en estado puro, la lactoperoxidasa y la reductasa aldehídica (xantina-oxidasa).

La cantidad de estas enzimas en la leche es escasa, pero su actividad como catalizadores bioquímicos es tal que producen importantes modificaciones a muy baja concentración. Esta actividad depende estrechamente del pH y la temperatura; la elevación de esta última provoca su destrucción que, en general es rápida por encima de los 70°C (Alais, 1984).

2.2.2.5.1 Propiedades de las enzimas.

La importancia de las enzimas de la leche deriva de cinco propiedades principales:

- Algunos son factores de degradación que tienen importancia tecnológica, tales como la lipasa, factor de la rancidez y la proteasa que provoca la hidrólisis de la caseína, etc.

- Su sensibilidad al calor permite el control por calentamiento de la leche en la zona de las temperaturas de pasteurización.

- La cantidad de enzimas depende para algunas de ellas, del número de leucocitos o bacterias que se encuentran en la leche, de esta manera se pueden obtener datos sobre la calidad higiénica de la leche.

- El contenido de enzimas tiene actividad bactericida y constituyen por ello una protección, desde luego limitada; es el caso de la lactoperoxidasa y la lisozima.

2.2.2.5.2 Lactoperoxidasa.

Es la primera enzima descubierta en la leche y también la única que se ha purificado y cristalizado, constituye un ejemplo de obtención bioquímica laboriosa y de muy bajo rendimiento; es preciso tratar 100 litros de leche para obtener 0.2 gramos de enzima cristalizada. La leche de vaca contiene alrededor de 0.07 gramos de peroxidasa por litro, lo que representa el 0.02% del total proteico. Se trata de una proteína hémica que contiene un átomo de hierro por molécula, cuyo peso es de 85,000 daltons, parece ser diferente de la peroxidasa de los leucocitos, resiste relativamente bien el calentamiento, pues es preciso mantener los 75°C durante 30 minutos o los 80°C durante 30 segundos para conseguir su destrucción. Es también una enzima de oxidación indirecta, porque libera oxígeno de los peróxidos como el agua oxigenada, pero se trata de oxígeno atómico, que puede ser aceptado por alguna sustancia presente en el medio.

2.2.2.5.3 Reductasa aldehídica.

Se trata de la enzima de Schardinger, que es idéntica a la xantina oxidasa y da lugar a varias reacciones de oxido-reducción. Se pone de manifiesto mediante la reducción del azul de metileno en presencia de un aldehído, por ejemplo, formol; el colorante se reduce a la forma de leucoderivado incoloro; el aldehído es oxidado.

No hay que confundir esta enzima con la denominada reductasa de la leche, que representa un sistema complejo de propiedades reductoras, y que comprende además de esta enzima las de las bacterias y leucocitos.

La xantina-oxidasa tiene su punto isoeléctrico a pH 6.2; su peso molecular es de 74,000 daltons. Se destruye por calentamiento a 80°C durante 10 segundos. Se encuentra fuertemente asociada a la membrana protectora de los glóbulos grasos; la leche desnatada presenta una débil capacidad de reducción, se obtiene en un estado avanzado de pureza a partir de la crema.

La leche humana no contiene esta enzima, por lo cual se ha implementado una prueba basada sobre esta propiedad para distinguir la leche humana de la leche de vaca.

2.2.2.5.4 Catalasa.

Esta enzima descompone el agua oxigenada en oxígeno molecular que se libera. Cuando aumenta el contenido de la leche en leucocitos o en bacterias, se sigue invariablemente una elevación del contenido en ella. La medición del índice de ésta es un método de operación directa de la calidad higiénica de la leche; las leches patológicas (mastíticas) y las leches anormales (calostro) tienen una actividad catalásica elevada.

2.2.2.5.5 Lipasa.

La leche contiene una enzima lipolítica que hidroliza los glicéridos en glicerol y ácidos grasos, por lo que constituye un factor de rancidez.

La lipasa de la leche se parece a la lipasa pancreática, una acidez elevada la inhibe fuertemente, lo mismo que los metales pesados, los fluoruros y el agua oxigenada. Es una enzima muy sensible al calor y por encima de los 60°C su destrucción es rápida. En la leche se encuentra acompañada de las lipasas bacterianas, por lo que son más resistentes al calor, la luz solar destruye rápidamente la lipasa de la leche. Las lipasas están ligadas fuertemente a la caseína de la leche

La materia grasa de las leches del final de la lactación presenta una predisposición a la rancidez. El mismo fenómeno se ha señalado en las leches mastíticas. No se ha comprobado que éste fenómeno tenga relación con el aumento del contenido de la lipasa normal de la leche; por el contrario, la leche de vaca con alteraciones ováricas contiene una lipasa anormal (Alais, 1984).

2.2.2.5.6 Fosfatasa.

La leche contiene dos enzimas que hidrolizan a los ésteres fosfóricos:

- Fosfatasa alcalina con un máximo de actividad a pH 8.
- Fosfatasa ácida con un máximo de actividad a pH 4.

La fosfatasa alcalina es la más interesante en razón de su sensibilidad al calor, que sirve de base a una prueba analítica importante. Se trata de una metalo-proteína, que contiene zinc y está ligada a la materia grasa, desaparece completamente de la leche desnatada y se concentra en la crema, constituye una parte importante de la capa absorbida sobre los glóbulos grasos. La resistencia al calor de esta enzima es ligeramente superior a la de las bacterias patógenas que pueden existir en la leche, por este motivo es posible efectuar el control de la pasteurización cualquiera que sea el método empleado (alta o baja).

2.2.2.5.7 Proteasa.

En la leche existe invariablemente una enzima proteolítica que probablemente no procede de las bacterias, es de la naturaleza de la tripsina y degrada las proteínas más allá del estado de peptonas.

Casi toda la actividad proteolítica de estas enzimas se halla ligada a la caseína y precipita a pH 4.6. Los métodos usuales de purificación de la caseína no la eliminan enteramente, es preciso calentar a 80°C durante 10 minutos para tener la seguridad de la desaparición de ésta proteasa.

2.2.2.5.8 Amilasa.

Es la enzima más constante, en proporción en la leche, sacarifica el almidón; la reacción puede seguirse con el yodo; 100c.c. de leche normal a 25°C, hidroliza 22.5 gramos de almidón soluble en una hora. El pH óptimo a 30°C se sitúa en 6. Un calentamiento de una hora a 60°C, o de 30 minutos a 65°C la destruye. La proporción de amilasa se eleva en el calostro y en las leches patológicas (mastíticas). En gran parte, esta enzima precipita con la caseína (Alais, 1984).

2.2.2.6 Vitaminas.

Son componentes medios de la leche, cuya importancia radica fundamentalmente en la calidad nutricional de la misma. Algunas vitaminas suelen sufrir inactivación por algunos de los procesos a los que la leche se ve sometida, ya sea como fluido o en los productos derivados de la misma, como en el queso. Las pérdidas principales se reflejan en la vitamina C, para las leches procesadas (Pérez, 1984).

2.2.2.6.1 Vitaminas liposolubles (A, D y E).

Van asociadas a la materia grasa, por ésta razón se encuentran en la crema y en la mantequilla tras el desnatado, y no se hallan en la leche desnatada ni en el lactosuero. Su contenido obedece a la influencia de factores exógenos: alimentación y radiaciones solares; por lo tanto es muy variable. Es sabido que los ácidos grasos polinsaturados tienen también una acción vitamínica, especialmente el ácido linoléico.

2.2.2.6.2 Vitaminas hidrosolubles (B₁, B₂, B₁₂, C).

Se encuentran en la fase acuosa: leche desnatada y lactosuero (la mantequilla no las contiene). La riqueza de la leche en éstas vitaminas depende poco de las influencias exteriores; por ellos su contenido varía relativamente poco. Las vitaminas del grupo B que se encuentran en la biosíntesis de las bacterias del rumen.

El calostro es más rico en vitaminas que la leche. Las diferencias en la composición vitamínica de las leches de los diversos rumiantes son poco importantes, pero no ocurre así cuando se comparan con la leche humana; ésta última es más rica que la de la vaca en vitaminas E y C principalmente, pero el grupo B está mejor representado en la leche de vaca. Algunas vitaminas se inactivan por el calor, la oxidación o la fotólisis (efecto de la luz solar y las radiaciones). La actividad vitamínica de la leche puede por ello reducirse en el curso de los tratamientos industriales, pero éstos tratamientos se limitan a algunas vitaminas (Pérez, 1984).

2.2.2.7 Pigmentos.

Los pigmentos que imparten las coloraciones amarillas en la grasa, y verde azulosa al queso son las alfa y betacarotenos para la primera y riboflavina para el segundo.

El color es muy importante, ya que es el primer contacto que se tiene con los alimentos; el consumidor los juzga primeramente por su apariencia (color, forma, etc.) y a continuación por su textura y su sabor. La mayoría de los alimentos, tanto en forma natural como procesada, tienen un color característico y bien definido por medio del cual, el consumidor los identifica.

La leche, debe su color característico al efecto de dispersión de la luz que causan tanto los glóbulos de grasa como las micelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal, aunque también influye la presencia de carotenos y riboflavina. Cuanto más pequeños sean los glóbulos de grasa (principales responsables de la dispersión de la luz) será mejor el efecto de la dispersión y mayor la blancura de la leche; esto puede verse en la leche homogenizada que es más blanca que la recién ordeñada pues contiene un número más elevado de pequeños glóbulos de grasa. Cuando éstos se aglomeran se reduce su blancura, lo que se observará claramente en el color que adquiere la caseína de la leche. (Badui, 1984).

2.2.2.8 Contaminantes.

El valor nutritivo de la leche puede ser contrarrestado con la existencia accidental de diversos tipos de contaminantes. Keating, 1986, menciona que pueden dividirse en dos grupos: contaminantes químicos y contaminantes biológicos.

2.2.2.8.1 Contaminantes químicos.

Los más frecuentemente detectados son: insecticidas (DDT, Aldrin, Dieldrin, Heptacloro), fungicidas, herbicidas, higienizantes, (yodo, cloro, peróxido de hidrógeno; amoníaco, cuaternarios) y el grupo de antibióticos (penicilina, estreptomina, clorotetraciclina), y sulfonamidas.

2.2.2.8.2 Contaminantes biológicos.

La leche, desde el momento mismo de su producción, está expuesta a que se le agreguen un sin número de agentes microbianos. La cantidad y clase de éstos agentes está en función de las prácticas de higiene y sanidad observadas con el manejo del producto durante su producción, transporte, procesamiento y venta. Entre los grupos de contaminantes biológicos encontrados en la leche tenemos a las bacterias, los hongos, las rickettsias, los virus y las amibas. De éstos unos son patógenos para el hombre y otros saprófitos. La importancia de éstos últimos estriba en el deterioro que causan a la calidad de la leche y sus productos. La presencia de los primeros refleja la sanidad, y la de los segundos expresa el tratamiento higiénico de la leche (Keating, 1986).

2.3 Importancia.

La leche es un alimento humano de primera necesidad (Revilla, 1981). Su función primordial es la de alimentar a las crías durante el período crítico posterior al nacimiento, cuando el desarrollo es rápido y no puede sustituirse por otro alimento (Santos, 1987); además, éste alimento como tal o en las distintas formas en que se industrializa ocupa un destacado lugar en la nutrición. Sus propiedades en éste sentido son el resultado de su peculiar composición química: proteínas de alta calidad, carbohidratos y lípidos en una proporción bien balanceada, sales minerales y vitaminas casi todas en cantidad adecuada para permitir una dieta equilibrada con éste producto en el recién nacido y duplicar el peso corporal humano en solo meses de vida. (Manual de Laboratorio de Microbiología Sanitaria, 1993)

2.4 Propiedades fisicoquímicas

2.4.1 Apariencia.

El aspecto de la leche es debido a su contenido en partículas suspendidas de grasa, proteínas y ciertas sales minerales. El color varía desde blanco a amarillo, según la coloración de la grasa. La leche desnatada es más transparente, con un ligero tinte azulado (Alfa Laval 1990).

2.4.2 Olor.

Debido a la presencia de la grasa, la leche conserva con mucha facilidad los olores del ambiente o de los recipientes en los que se le guarda. La acidificación le da un olor especial a la leche y el desarrollo de bacterias coliformes un olor a establo o a heces de vaca.

2.4.3 Sabor.

La leche fresca y limpia tiene un sabor medio dulce y neutro por la lactosa que contiene, y adquiere, por contacto, fácilmente sabores a ensilaje, establo, hierba, etcétera (Keating 1986).

El sabor es uno de los papeles más importantes que tiene la grasa en los productos lácteos, el sabroso y agradable sabor que la grasa de la leche tiene no puede ser imitado o duplicado por ninguna otra clase de grasas (Revilla, 1981).

2.4.4 Densidad.

La densidad de la leche es igual al peso en kilogramos de un litro de leche a una temperatura de 15°C. La densidad generalmente se expresa en grados de densidad, fluctuando éstos valores de 1.028 a 1.034, con un promedio de 1.031/32. La densidad de la leche depende de la combinación de densidades entre sus diferentes componentes.

Agua	1.000
Grasa	0.931
Proteína	1.346
Lactosa	1.666
Minerales	5.500
Sólidos no grasos	1.616

De aquí que una leche entera tendría una densidad promedio de 1.032, mientras que una leche descremada 1.036. Una leche aguada reportaría valores menores de 1.029 (Keating, 1986).

2.4.5 Acidez.

Cuando la leche es titulada con una solución alcalina, usando fenoftaleína como indicador, da una acidez de 0.1 a 0.26%, expresado como ácido láctico (promedio de acidez 0.14 a 0.18%), pero la leche fresca no contiene ácido láctico y la acidez es debida a: Fosfatos, Proteínas, Condiciones anormales de la ubre.

Se practica la titulación porque es sabido que cuando la acidez sobrepasa de 0.18 a 0.20%, ésta se debe al ácido resultante de la acción bacterial.

Existe una variación muy amplia en la acidez de la leche fresca y se le puede atribuir a las siguientes causas:

- Estado de lactancia
- Composición de la leche.
- Condiciones anormales de la ubre.

El calostro es una secreción viscosa, amarillenta y amarga de la mama que aparece durante un período de 6 a 7 días después del parto (Keating, 1986) y tiene una acidez alta de 0.5%; la leche mastitica puede llegar hasta 0.05% de ácido láctico (Revilla, 1981).

2.4.6 pH.

En general, la leche tiene una reacción iónica cercana a la neutralidad, La leche de vaca tiene una reacción débilmente ácida, con un pH comprendido entre 6.6 y 6.8, como consecuencia de la presencia de caseína y de los aniones fosfóricos y cítrico,

principalmente. El pH no es un valor constante, sino que puede variar en el curso del ciclo de la lactación y bajo la influencia de la alimentación (Alais, 1980).

2.4.7 Viscosidad.

La leche es un líquido más viscoso que el agua; ésta viscosidad es debida a la materia grasa en emulsión y a las proteínas de la fase coloidal.

La viscosidad varía en general entre 1.7 y 2.2 centipoises. La viscosidad de la leche entera a 20°C es de 2.2 y el de la leche descremada a 1.2 centipoises. A ésta misma temperatura la viscosidad del agua es de 1.005 (Keating, 1986). La viscosidad disminuye con la elevación de la temperatura; toda modificación o alteración que actúe sobre la grasa o las proteínas, tendrá un efecto sobre esta propiedad.

La contaminación de ciertos microbios aumenta la viscosidad de la leche, especialmente los estreptococos lácticos (Alais, 1984).

2.4.8 Punto de congelación.

Una de las características más constantes de la leche es el punto de congelación que, en general, es de -0.539°H (Horvet)* como valores promedios, teniendo un rango que va de -0.530 a -0.560° (Reglamento de la Ley General de Salud, 1988).

* °H: Nomenclatura utilizada como referencia en la calibración de crióscopos y osmómetros, empleando soluciones estandar de sacarosa de -0.422° y -0.621° que equivalen a -0.408° y -0.600°C

Esta propiedad permite utilizarla para detectar la adición de agua ya que ésta, al congelarse a 0°C, influye para que el valor del punto de congelación de la leche se aproxime al del agua.

Las sales y la lactosa son los componentes de la leche que, por encontrarse en solución viscosa, influye en el punto de congelación. El resto de los componentes no influyen sobre ésta propiedad (Keating, 1986).

2.4.9 Punto de ebullición.

La leche hierve por encima de los 100°C; entre 100.17 y 100.15°C, pero en el curso del calentamiento se producen cambios en el equilibrio de los estados (Alais, 1980).

2.4.10 Conductividad eléctrica.

El agua ofrece una resistencia considerable al paso de la corriente eléctrica; su conductividad específica es pequeña: 0.5×10^{-6} mhos.

La presencia de electrolitos minerales en la leche (cloruros, fosfatos y citratos), principalmente, y de iones coloidales, secundariamente, disminuyen la resistencia al paso de la corriente.

La conductividad de la leche varía con la temperatura; normalmente se le mide a 25°C. Sus valores medios se sitúan entre: 40×10^{-4} y 50×10^{-4} mhos (Alais, 1980).

2.4.11 Índice de refracción.

Es el valor que expresa el ángulo de desviación de la luz al pasar del aire a la leche. Este valor fluctúa entre 1.3440 y 1.3485 y es el resultante de la combinación de los índices de refracción de todos los componentes de la fase discontinua (solutos) y continua (agua) de la leche. Cuando la proporción normal entre solutos y solventes se altera, por la adición de agua o sólidos extraños, el índice de refracción disminuye o aumenta respectivamente. El índice de refracción del agua es de 1.33249 (Keating, 1986).

III. GENERALIDADES DE LOS ANTIBIOTICOS.

El desarrollo de los antibióticos surgió de la necesidad de encontrar sustancias inofensivas para el organismo, pero que destruyeran los microorganismos productores de enfermedades. En 1929 Fleming fue el primero en observar que ciertos microorganismos producían sustancias que inhibían a otros microorganismos al analizar el hongo Penicillium notatum. Desde 1940 los investigadores se han dedicado a la búsqueda de bacterias y hongos productores de antibióticos (Lawrie, 1967; Sanz, 1969; Sumano/Ocampo, 1990).

3.1 Definición.

Los antibióticos son sustancias que pueden ser de origen natural producidos por microorganismos (bacterias y hongos), y también semisintéticos y sintéticos que en

pequeñas concentraciones y por diferentes mecanismos inhiben el crecimiento de microorganismos o pueden incluso llegar a destruirlos (Korolkovas/Burchalter, 1979; Languré y Sumano/Ocampo, 1990).

3.2 Importancia.

Los antibióticos tienen gran importancia en la reducción de la incidencia y mortalidad de enfermedades infecciosas en humanos y animales, para incrementar el crecimiento y mejorar la eficacia en la conversión de los alimentos por los animales. También se han utilizado en conservación de alimentos como: aves, pescados, carnes, frutas y verduras frescas, leche y sus productos y alimentos enlatados (Russell, 1982; Bermudes, 1988; Languré y Vázquez, 1990).

3.3 Clasificación y origen.

Existen diferentes criterios para clasificar a los antibióticos:

* De acuerdo a su actividad principal en la célula microbiana se clasifican en:

- a). Aquellos que inhiben la síntesis de la producción celular: penicilinas, cefalosporinas, cicloserinas, bacitracina, etc.
- b). Aquellos que afectan la permeabilidad de la membrana celular: polimixinas, nistatina, anfotericina.
- c). Aquellos que inhiben la síntesis proteica.
- d). Aquellos que afectan el metabolismo de los ácidos nucleicos: ácido nalidíxico (Korolkovas/Burchalter, 1979; Sumano/Ocampo, 1990).

De acuerdo a su estructura química se clasifican en:

- a). Aminoglicósidos: estreptomina, kanamicina, gentamicina.
- b). Cloramfenicol: cloramfenicol.
- c). Macrólidos: eritromicina.
- d). Péptidos: penicilina G, penicilina V.
- e). Tetraciclina: oxitetraciclina, tetraciclina, doxiciclina, minociclina.

Fuente: (Barry, 1976)

* También se pueden clasificar de acuerdo a su espectro de actividad:
Amplio, reducido e intermedio (Sumano/Ocampo, 1990).

La producción de antibióticos caracteriza el metabolismo de muchos microorganismos, la mayoría de los cuales son extraídos del suelo. La penicilina era obtenida anteriormente del hongo Penicillium notatum, en la actualidad se obtiene de cultivos de Penicillium chrysogenum irradiado en tanques, lo que hace más fácil su producción (Meyer, 1982).

El género streptomyces, perteneciente al orden de las bacterias de actinomicetales, representa la fuente más rica de antibióticos utilizables para combatir las enfermedades bacterianas. La estreptomina es un antibiótico aislado del Streptomyces griseus, se produce en tanques de fermentación en cultivos aerobios sumergidos; la estreptomina se absorbe por medio del carbón activado del cual se recoge después por medio de elución, de los cuales se pueden obtener estreptomina A, B y otra no caracterizada; de las cuales se produce industrialmente la A por ser más efectiva (Meyer, 1982; Sumano/Ocampo, 1990).

La neomicina se obtiene a partir del hongo Streptomyces fradiae fue descubierta por Waksman y Lechevalier en 1949.

La eritromicina es un antibiótico producido por una cepa de Streptomyces erythreus bacteria del suelo hallada en las Islas Filipinas (Meyers/Jawetz, 1986; Sumano/Ocampo, 1990).

La clorotetraciclina es producida por Streptomyces rimous. También se pueden obtener por deshalogenación catalítica de la clorotetraciclina. La tetraciclina es semisintética y se aísla del streptomyces libre de crecimiento (Sumano/Ocampo, 1990).

La bacitracina es un polipéptido producido por Bacillus subtilis, aislado a partir de la herida contaminada de un paciente, de la cual se obtuvieron los tipos A, B, C y F; siendo la A la que se emplea terapéuticamente (Sumano/Ocampo, 1990).

Las sulfonamidas fueron los primeros agentes quimioterápicos efectivos que fueron empleados en forma sistémica para la prevención y curación de las infecciones bacterianas en el hombre. En 1932 Farbenindustrie produjo una patente alemana para Klarer y Mietzsch que cubría el PRONTOSIL y varias otras a azoanilinas que contenían un grupo de sulfonamida. Domagk, un director investigador observó que el PRONTOSIL podría proteger a los ratones con infecciones estreptocócicas y otros, correspondiéndole el crédito del descubrimiento, motivo que le valió el Premio Nobel de medicina en 1938 (Goodman/Gilman, 1981).

3.4 Características y propiedades.

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por microorganismos o derivados de éstos y actualmente se obtienen en forma sintética; los cuales pueden tener dos efectos; bactericidas o bacteriostáticos. El efecto bacteriostático se utiliza principalmente en prevenir la multiplicación de microorganismos patógenos (Spinelli/Reed, 1986; Barry, 1987; Bermudes, 1988; Languré/Ocampo, 1990).

Cada antibiótico posee características y propiedades diferentes, algunos de ellos tienen efectos contra bacterias gram positivas o gram negativas, o para ambas; pueden actuar contra hongos o levaduras (Meyer, 1982; Barry 1987, Bermudes 1988, Sumano/Ocampo, 1990).

Las penicilinas son inestables o sufren deterioro rápido en presencia de ácido o álcalis; la velocidad de alteración se incrementa conforme aumenta la temperatura. También pueden ser afectadas por agentes oxidantes y reductores; así como metales pesados como el cobre, mercurio, hierro y zinc que afectan al anillo tiazolidina (Calderón, 1981; Spinelli/Reed, 1986; Sumano/Ocampo, 1990).

Se conocen varios tipos de penicilinas, todas tienen la misma estructura general y varían solo por la naturaleza de la cadena lateral. Se conocen cuatro naturales (F, G, X y K) y dos sintéticas (O,V); se producen otras penicilinas pero no han sido identificadas (Meyer, 1982).

La eritromicina, tilosina, lincomicina y oleandomicina son antibióticos del grupo de los macrólidos que se caracterizan químicamente por poseer un anillo lactónico el cual está unido a azúcares. En la eritromicina el anillo lactónico está unido a un aminoazúcar con la presencia de una cetona. Mientras que la tilosina está unida a dos azúcares, uno de los cuales es un aminoazúcar (Sumano/Ocampo, 1990).

3.5 Usos de los antibióticos.

Los antibióticos tienen múltiples usos, son utilizados por el hombre para conservar la salud, así como para preservar sus alimentos. De una manera similar ocurre con los animales, en los que son utilizados para controlar infecciones. La utilización racional de los antibióticos como método preventivo y como tratamiento de muchas enferme-

dades de los animales, es una forma favorable de elevar la producción (Kirk/Othermer, 1961; Lück, 1981).

Las tetraciclinas se utilizan terapéuticamente para el tratamiento de las infecciones causadas por numerosas especies de bacterias gram positivas y Gram negativas, espiroquetas, rickettsias y ciertos virus. También se utilizan con fines no terapéuticos como lo son la conservación de alimentos y control microbiológico de fermentaciones (Meyer, 1982; Sumano/Ocampo, 1990)

3.6 Normas establecidas para el uso de los antibióticos.

El uso de los antibióticos está estrictamente regulado, la responsabilidad para el acatamiento de las regulaciones es establecida por el Centro de Medicina Veterinaria (CMV) y la Administración de Alimentos y Drogas (FDA). En donde la tolerancia y proporción es basada en los resultados de pruebas extensas para toxicidad, tolerancia y carcinogenicidad (Franco, 1990).

La FDA ha aprobado 21 agentes antimicrobianos para ser utilizados como aditivos en la alimentación animal o como agentes terapéuticos entre los cuales se encuentran clorotetraciclina, oxitetraciclina, eritromicina, bacitracina, tetraciclina y penicilina, todos ellos empleados en la medicina clínica (Bermudes, 1988; Languré, 1990).

Branen y Davidson mencionan que la FDA estableció límites para el contenido de penicilina, no importando el método de análisis de detección (en el rango de 0.005 a 0.01 U.I./ml para el contenido en leche de vaca) por tres razones:

- a). La leche conteniendo residuos de penicilina tiene un fuerte potencial para producir reacciones alérgicas.
- b). La leche conteniendo residuos proviene de vacas con una fuerte infección (principalmente mastitis) y de ahí que pueda contener microorganismos

patógenos.

- c). Residuos de antibióticos pueden interferir en la producción de productos lácteos por la inhibición de cultivos iniciadores.

Posiblemente el yogurt es el producto más sensible, con solo proporciones de penicilina de 0.02 U.I./ml en la leche se puede inhibir al cultivo inicial produciendo aroma y aspecto inaceptable.

Higuera y Kosikowski mencionan que Friend y Shahani publicaron los niveles máximos aceptables en leche fluída de acuerdo a la FAO/WHO los cuales fueron para penicilina 0.006ppm. En Estados Unidos la tolerancia máxima para penicilina en la leche es de cero p.p.m. (Higuera, 1990).

En nuestro país se considera contaminada la leche cuando contiene residuos de antibióticos (Reglamento Ley General de Salud, 1988), o sea, la permitida es 0 p.p.m. como es E.U.A.

3.7 Acción tóxica.

El efecto tóxico de los antibióticos depende de una serie de procesos en donde se llevan a cabo diferentes interacciones químicas (Ariens/Lehmann, 1981; Aiach/Devissaguet, 1983).

3.7.1 Factores que influyen en la toxicidad de los antibióticos.

Las penicilinas son destruidas por el pH del estómago es por eso que no se recomienda su aplicación por vía oral. La combinación de la penicilina con

aminoglicósidos produce un notable sinergismo especialmente contra *P. aeruginosa* y varias enterobacterias (Sumano/Ocampo, 1990)

La eritromicina puede ser destruída por el pH del estómago, la cual se puede evitar utilizando capas entéricas (Meyer, 1982; Sumano/Ocampo, 1990).

3.7.2 Vías de entrada de antibióticos.

Los antibióticos pueden tener diferentes vías de entrada al organismo. Su aplicación depende de la capacidad de absorción de cada uno de ellos y el grado de enfermedad a tratar (Meyer, 1982; Meyers/Jawetz, 1986).

Las penicilinas naturales se administran por vía parenteral y no se recomiendan por vía oral, ya que pueden ser destruídas sin lograr su finalidad (Meyer, 1982).

La estreptomina se puede aplicar por vía oral, intramuscular, intratecal, intraperitoneal y raramente endovenosa (Sumano/Ocampo, 1990).

Las tetraciclinas se administran por vía oral, intravenosa e intramuscular. La clorotetraciclina no es adecuada para la aplicación por vía intramuscular debido a que es muy irritante (Meyers/Jawetz, 1986).

3.7.3 Absorción de los antibióticos.

Por vía intramuscular las penicilinas alcanzan niveles terapéuticos mínimos en sangre (superiores a 0.003 mg/ml) en 30 minutos. La absorción se retarda si se aplica penicilina G procainica o sal benzatínica, la desaparición de las penicilinas de la

corriente sanguínea es casi tan rápida como la absorción y no se absorben bien por las mucosas, ni por la piel (Meyers/Jawetz, 1986; Sumano/Ocampo, 1990).

La estreptomicina se absorbe rápido y bien por vía parenteral (Goodman/Gilman, 1981; Meyer, 1982).

La neomicina se absorbe rápidamente por vía intramuscular (Sumano/Ocampo, 1990).

Por vía oral las tetraciclinas se absorben en el estómago y en la porción inicial del intestino delgado. Por vía intravenosa las tetraciclinas persisten en la sangre hasta 36 horas (Goodman/Gilman, 1981; Meyers/Jawetz, 1985).

La eritromicina se absorbe bien en la parte inicial del intestino delgado difundándose rápidamente hacia los tejidos (Meyer, 1982; Sumano/Ocampo, 1990).

3.7.4 Distribución de los antibióticos.

Las penicilinas se difunden con rapidez y facilidad por todo el cuerpo, pero las concentraciones difieren notablemente en los diversos líquidos y tejidos. En bovinos y ovinos la ampicilina tiene mayor volumen de distribución que la bencipenicilina, fenoximetil penicilina y cloxacilina (Meyer, 1982; Meyers/Jawetz, 1986; Sumano/Ocampo, 1990).

La estreptomicina se distribuye ampliamente en los líquidos y tejidos corporales, localizándose su máxima concentración en hígado, músculo y tiroides (Goodman/Gilman, 1981; Meyer 1982; Sumano/Ocampo, 1990).

La neomicina se distribuye ampliamente en los tejidos y líquidos orgánicos (Goodman/Gilman, 1981; Meyers/Jawetz, 1986).

Las tetraciclinas se difunden en todo el cuerpo pero principalmente en bazo, hígado y pulmones (Goodman/Gilman, 1981; Sumano/Ocampo, 1990).

3.7.5 Excreción de los antibióticos.

Las penicilinas se excretan en un 80% aproximadamente por vía renal sin biotransformación. El 20% de éste total se excreta por filtración glomerular y el 80% mediante transporte tubular activo (Goodman/Gilman, 1981; Meyers/Jawetz, 1986).

La estreptomicina se excreta principalmente por la orina, se elimina por filtración glomerular de 50 a 60% y al parecer el resto se almacena en diferentes tejidos del organismo. Se excreta por la leche de 0.05 a 0.11 $\mu\text{g/ml}$ (Goodman/Gilman, 1981; Meyer 1982).

Las tetraciclinas se excretan principalmente por los riñones y se realiza lentamente (Goodman/Gilman, 1981).

Las neomicinas son rápidamente excretadas por la orina por filtración glomerular (Meyer, 1982; Sumano/Ocampo, 1990).

Las eritromicinas son excretadas en gran parte por la bilis (Meyers/Jawetz, 1986; Sumano/Ocampo, 1990).

3.7.6 Mecanismo de acción de los antibióticos.

Las penicilinas inhiben la síntesis de las paredes celulares de las bacterias que contienen un mucopéptido complejo (peptidoglucano). Inhiben el entrecruzamiento terminal de los glucopéptidos ("transpeptidación"), evitando en esa forma la constitución de una pared rígida. Esto lleva a la lisis de la célula en un medio isotónico y la formación de variedades con "pared celular deficiente" (Goodman/Gilman, 1981; Krupp, 1979).

La mayoría de los antibióticos inhiben la síntesis proteica actuando en las subunidades ribosómicas 30S (estreptomycina, tilosina y neomicina) y 50S (eritromicina, oleandomicina y lincomicina). La estreptomycina se une a una proteína S_{12} de la unidad ribosomal inhibiendo la síntesis de proteína evitando la polimerización de los aminoácidos lo que provoca la muerte de las bacterias y disminuye la fidelidad de la traducción del código genético. Las bacterias sensibles acumulan concentraciones altas de estreptomycina, la cual se une con gran afinidad a los ribosomas produciendo cambios en la membrana, así mismo, la neomicina penetra en el microorganismo bacteriano para producir proteínas deficientes o alteradas (Goodman/Gilman, 1981; Meyers/Jawetz, 1986).

La eritromicina y oleandomicina tienen igual mecanismo de acción, las cuales se combinan con la subunidad ribosomal 50S bloqueando ó disminuyendo la unión RNA-t-fenilalanina, con complejos ribosomales evitando la polimerización de la fenilalanina hacia los m-RNAs poliridílicos (Goodman/Gilman, 1981; Meyer, 1982).

La lincomicina y la clindamicina se unen en forma exclusiva a la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos y suprimen la síntesis proteica. Aunque no existe una relación estructural entre clindamicina, eritromicina y cloramfenicol, todos ellos actúan en este sitio y la unión de uno de estos antibióticos al ribosoma puede inhibir la interacción del otro (Goodman/Gilman, 1981).

Las sulfonamidas son analogos estructurales y antagonistas competitivos del ácido paraaminobenzoico (PABA), evitando así la utilización bacteriana normal de PABA para la síntesis de ácido fólico. En forma más específica, las sulfonamidas son inhibidores competitivos de la dihidropteroato sintetasa, enzima bacteriana responsable de la incorporación de PABA en el ácido dihidropteroico, precursor inmediato del ácido fólico (Goodman/Gilman, 1981).

3.7.7 Reacción de hipersensibilidad a los antibióticos.

El mecanismo de la alergia a los antibióticos es esencialmente el mismo que el de otras alergias; la reacción es la hipersensibilización por el antígeno, lo cual provoca la formación de anticuerpos específicos, que circulan o se fijan en los tejidos. Este antígeno reacciona con el anticuerpo. La reacción antígeno-anticuerpo finalmente libera mediadores que inducen manifestaciones ocasionalmente fatales (Scaky, 1983).

Antibióticos como la penicilina, estreptomycin, cloramfenicol y la novobiocina son causantes de reacciones de hipersensibilidad en individuos sensibles (Bermudes, 1986; Sumano/Ocampo, 1990).

Con la utilización de cualquier penicilina existe la posibilidad de enfrentarse a una reacción alérgica que puede ir desde urticaria, diarrea, edema generalizado y otros signos que no amenazan la vida del paciente, hasta choque anafiláctico agudo de consecuencias fatales (Meyer, 1982; Sumano/Ocampo, 1990).

3.7.8 Reacción tóxica a los antibióticos.

Las penicilinas y las tetraciclinas se consideran atóxicas (Meyer, 1982; Sumano/Ocampo, 1990).

El efecto tóxico de la estreptomina puede ser el trastorno de la función vestibular, en el sistema nervioso central. Los síntomas de intoxicación aguda después de la administración de estreptomina por vía intravenosa o subcutánea son: inquietud, respiración trabajosa, pérdida del conocimiento y coma (Sumano/Ocampo, 1990).

La neomicina es altamente nefrotóxica y lesiona el octavo paracraneal, causando sordera relativa cuando es administrada parenteralmente durante tiempo prolongado (Meyer, 1982; Meyers/Jawetz, 1986; Sumano/Ocampo, 1990).

La bacitracina es nefrotóxica y produce proteinuria, hematuria y retención de nitrógeno (Meyer, 1982; Sumano/Ocampo, 1990).

3.8 Fármacos antimicrobianos utilizados en ganado lechero.

Los fármacos antimicrobianos son medicamentos principalmente usados para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias y otros microbios. Estos productos no son efectivos para tratar infecciones virales o fúngicas, pero algunas veces son usados para tratar infecciones bacterianas secundarias que se presentan simultáneamente con infecciones virales o fúngicas.

Entre las infecciones bacterianas más comunes en ganado lechero se encuentran, la mastitis (infección mamaria), metritis (infección uterina), neumonía (infección respiratoria), algunas infecciones diarreicas, putrefacción de las patas, y con poca

frecuencia encefalitis. Estos productos son usados para tratar abscesos, heridas y para prevenir o tratar infecciones originadas en cirugías.

La tabla 7 muestra los diferentes tipos de fármacos antimicrobianos empleados en el tratamiento de enfermedades del ganado lechero.

Las sulfonamidas, particularmente la sulfametazina (SMZ), han recibido una gran atención en los últimos años ya que ha sido utilizada en medicina veterinaria en varias especies animales por más de 25 años. Las sulfonamidas han sido ampliamente usadas en medicina humana por más de 40 años.

Estudios dirigidos por el Centro Nacional para Investigaciones Toxicológicas [National Center for Toxicological Research (NCTR)], han mostrado que la SMZ en altas dosis causa tumores tiroidales en ratas y ratones.

Las penicilinas continúan considerándose entre los más importantes antibióticos disponibles debido a su excelente actividad antimicrobiana, relativa seguridad y bajo costo. Su espectro es principalmente sobre bacterias gram positivas.

El cloramfenicol no está aprobado para ser usado en animales productores de alimentos, se ha demostrado que el cloramfenicol causa anemia aplásica fatal en humanos.

Los macrólidos son un grupo de antibióticos estructuralmente relacionados, pero se ha encontrado que sólo algunos de ellos son clínicamente utilizables. Su espectro de actividad es esencialmente contra organismos gram positivos. Algunas cepas de bacterias gram negativas así como micoplasma, clamidia, rickettsia y actinomicetos pueden ser susceptibles.

Tabla 7
Fármacos antimicrobianos utilizados en
ganado lechero

Fármacos	Antibióticos
Sulfonamidas	Sulfafiazol, Sulfamerazina, Sulfabromometazina, Sulfatoxipiridazina, Sulfadimetoxina, Sulfaclopiridazina, Sulfonidamina.
Beta - Lactámicos	Penicilina G (Procainica, Potásica y Benzatínica), Cloxacilina, Ampicilina, Hetacilina, Amoxicilina, Ticarcilina.
Cefalosporinas	Cefapirina, Cefiofur
Tetraciclina	Tetraciclina, Oxitetraciclina, Clortetraciclina
Cloramfenicol	Cloramfenicol
Aminoglucósidos	Neomicina, Estreptomina/Dihidroestreptomina, Gentamicina, Kanamicina, Amikacina.
Espectinomina	Espectinomina.
Macrólidos	Eritromicina, Tilosina, Fosfato de Tilmicosina, Lincomicina, Clindamicina.
Polimixinas	Polimixinas.
Novobiocina	Novobiocina.
Bacitracina	Bacitracina.
Rifamicinas	Rifampina, Rifanida.
Nitrofuranos	Furazolidona, Nitrofurazona.

Fuente: Manual para granjas lecheras, sanidad e inspección bária, curso No. 306
 Secretaría de Salud, 1994.

La lincomicina ha sido empleada en cerdos y vacunos en infecciones sistémicas. Este antibiótico es principalmente bacteriostático y posee un espectro antimicrobiano que incluye sólo organismos gram positivos, varios anaerobios y algunas especies de micoplasma.

Las polimixinas han sido usadas para el tratamiento de enteritis en becerros y puercos jóvenes y en mastitis bovina, así como irrigación prepucial de toros. Esta clase de antibióticos son un poco tóxicos y raramente se emplean sistemáticamente.

La novobiocina es un antibiótico de espectro estrecho con una acción bacteriostática contra organismos gram negativos. Su principal uso en medicina veterinaria es en el tratamiento intermamario de mastitis bovina.

Los derivados de nitrofuranos son un grupo pequeño de medicamentos antimicrobianos con actividad principalmente contra bacterias gram negativas; incluyendo Salmonella, aunque también son a menudo efectivas contra algunos organismos gram - positivos, hongos y protozoarios (coccidia). Con la excepción de preparaciones en aerosol tópicas y oftálmicas, los medicamentos de nitrofurano son ilegales para su uso en animales que producen alimentos. Se sospecha que éstos medicamentos son carcinógenos (Manual para Granjas Lecheras, Sanidad e Inspección Básica, Secretaría de Salud, 1994).

3.9 Pruebas de detección de residuos de antibióticos.

(Higuera, 1990) menciona que la presencia de residuos de antibióticos en productos destinados al consumo humano es indeseable y constituye una violación a la ley.

Es importante contar con un buen sistema de análisis que permita garantizar que los alimentos de origen animal lleguen al consumidor con un mínimo de residuos de antibióticos (Bermudes, 1988; Languré, 1990).

Existen pruebas de detección que pueden ser químicas y microbiológicas. Las pruebas químicas son más útiles para preparaciones comerciales, pero, debido a los bajos niveles de residuos de antibióticos en alimentos son más efectivos los análisis microbiológicos, aunque éstos, no identifican el tipo de antibiótico o sustancia inhibidora presente.

Entre las pruebas más comunes para determinar residuos de antibióticos en la leche están: ensayo de cilindro en placa con Sarcina lutea, ensayo en disco con Bacillus stearothermophilus, Delvotest-SP y la prueba de Charm.

El ensayo del cilindro en placa con Sarcina lutea, es altamente sensible a la penicilina (0.0125 U.I./ml de leche). Es un método barato, ya que los reactivos utilizados al igual que el microorganismo son de uso común en cualquier laboratorio. El proceso completo para esta prueba lleva más de 16 horas, lo que representa mucho tiempo para ser realizada en la industria como análisis de rutina (Bermudes, 1988; Languré, 1990).

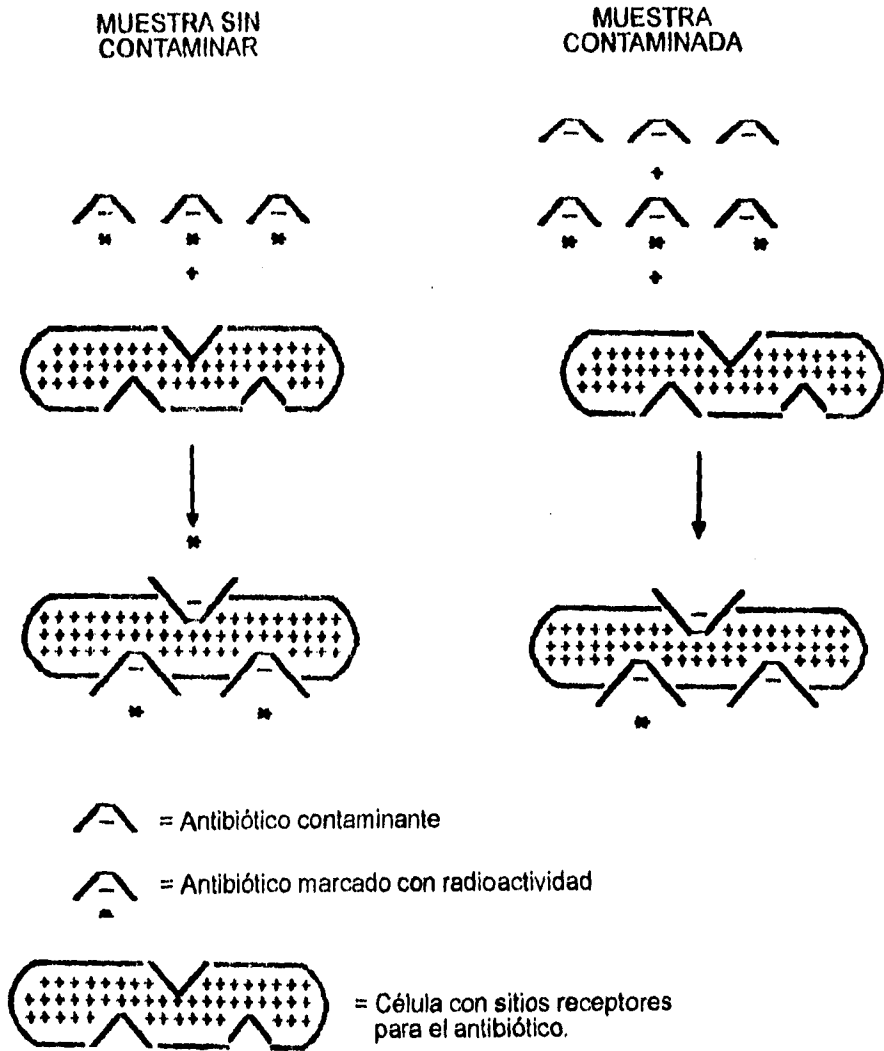
El ensayo de disco con Bacillus stearothermophilus, es el método más comúnmente usado para detectar antibióticos. Tienen una alta sensibilidad en la detección de penicilina (0.005 U.I./ml de leche). Desde 1982 se considera como el método oficial en los Estados Unidos. Esta prueba es fácil y no se necesita personal muy especializado. Los reactivos son de uso común en cualquier laboratorio. Se puede utilizar también el microorganismo Bacillus subtilis. Esta prueba está aprobada por la FDA y es una de las aprobadas también por la Secretaría de Salud de México. Es el método más largo teniendo una duración mayor de 24 horas (Bermudes, 1988; Higuera y Languré, 1990).

El Delvotest-SP, es una prueba cualitativa que permite detectar la presencia o ausencia de residuos de antibióticos, basada en la producción de ácidos como producto del metabolismo durante el crecimiento del Bacillus stearothermophilus, variedad calidolactis. El comportamiento de la coloración del medio utilizado para ésta prueba es determinante para la interpretación de los resultados positivos o negativos. Sin embargo, el fabricante de éstos reactivos, considera que pueden calcularse las concentraciones aproximadas de los residuos de penicilina y sulfonamidas en el caso de ser detectados (Gist-brocades, 1994).

Esta prueba es el método oficial utilizado actualmente por el "Laboratorio Estatal de Salud Pública" de la Secretaría de Salud del Gobierno del Estado de Sonora para la leche cruda y pasteurizada. Es un método relativamente rápido y sencillo cuyo proceso lleva tres horas, además, es barato ya que los reactivos son de uso común en el laboratorio (Escobar, 1980; Bermudes, 1988; Langurú, 1990).

La prueba Charm es el método más sensible (0.002 mcg/ml para penicilina) en la detección de residuos de antibióticos de los alimentos y específicamente de leche. Este es un ensayo biológico que permite la determinación cualitativa y cuantitativa de ocho familias de antibióticos en muy corto tiempo (8 a 12 mln.). Este método es de un alto costo en sus reactivos y equipo, y además ésta técnica requiere de personal especializado para su realización (Higuera, 1990). Este método se basa en una reacción de competencia de un antibiótico marcado con radioactividad y el antibiótico contaminante presente en la muestra, donde ambos compiten por receptores de una célula. El antibiótico contaminante compite por un sitio receptor en la célula evitando que el antibiótico se una a los sitios. Este efecto se puede ver por la medición de trazas de antibióticos ligados a las células, mediante un contador de centelleo (figura 1).

Figura 1
Fundamento de la Prueba Charm



IV. OBJETIVO GENERAL

Detectar la presencia de residuos de antibióticos en la leche cruda proveniente de establos del Sur de Sonora que comprende los Municipios de Cajeme, Bácum, Etchojoa, Huatabampo, Navojoa y una porción sur del Municipio de Guymas, con la finalidad de conocer el grado de contaminación existente, se analizarán las consecuencias de esta contaminación y se propondrán alternativas para disminuir el uso irracional de estos compuestos.

Objetivos Específicos

- 1.- Evaluar la incidencia de la contaminación.
- 2.- Analizar la problemática socioeconómica del uso de los antibióticos en la producción de la leche.
- 3.- Analizar la problemática de salud pública generada por el uso irracional de antibióticos.
- 4.- Proponer alternativas de solución para eliminar la presencia de residuos de antibióticos en leche.

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 Explicación del diseño experimental.

a). Estimación del tamaño de la muestra.

Para el cálculo del tamaño de la muestra se requiere haber fijado la precisión (d) y el margen de error (a) y al aplicar la expresión del intervalo de confianza para (Y) se tiene:

$$n_0 = \frac{t^2 pq}{d^2}$$

$$n = \frac{n_0}{1 + n_0/N}$$

Para la utilización de esta fórmula se requiere conocer (pq), lo cual se obtiene de datos preliminares.

Nivel de precisión $d=0.05$

Confianza $a=95\%$

Tablas estadísticas $t=1.96$

b). Marco de muestreo

El marco de muestreo está constituido por todas las vacas productoras de la leche que se recibe en Cremería del Yaqui, S.A. de C.V., este marco de muestreo consta de 1600 vacas.

c). Selección de la muestra.

Dado que la población se considera homogénea se efectuó un muestreo aleatorio irrestricto; como ya se tiene la información acerca de las características de interés, para la estimación de (pq).

$$p= 0.5$$

$$q= 0.5$$

$$\text{Varianza} = pq = 0.25$$

Con este valor y con la información de la precisión y confianza deseado se calcula el tamaño de la muestra.

$$n_0 = (1.96)^2 (0.25 / (0.05)^2) = 384.16$$

$$n = 384.16 / (1 + (384.16/1600)) = 309.78 \text{ 310}$$

Tamaño de la muestra: 310 vacas

d). Organización del trabajo de campo

De las 1,600 vacas productoras de leche, el 75% se encuentra en establos formales, el 25% son productores informales que también fueron muestreados, por lo que la distribución del muestreo se hizo de la siguiente manera.

310 vacas	100% de la muestra
x= 224	75%
y= 86	25%

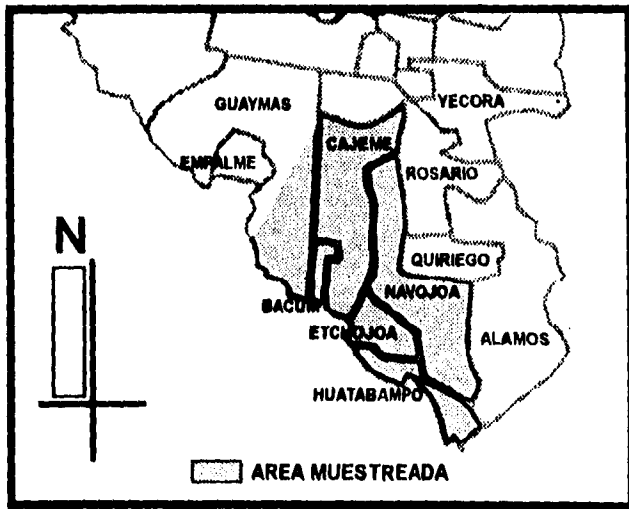
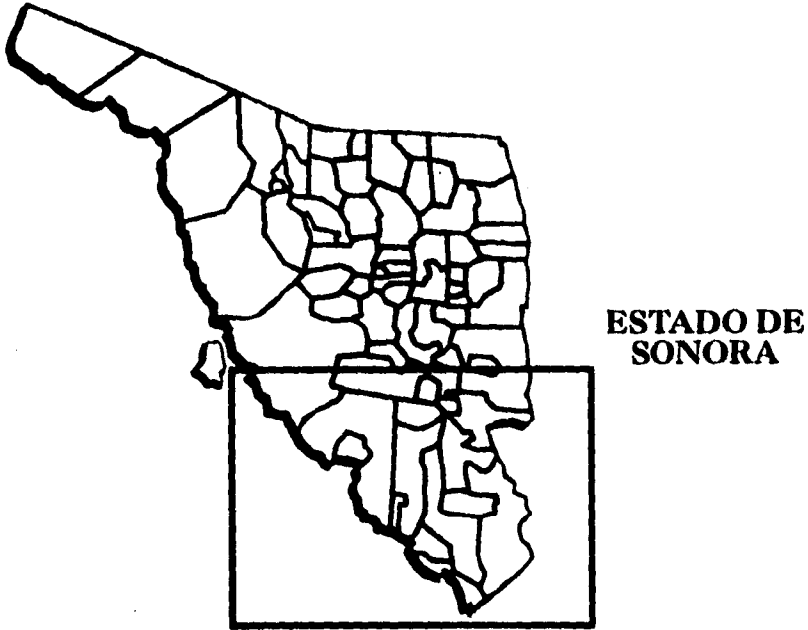
- Establos formales 224 vacas muestreadas de una población de 1,200, los cuales se enumeraron del 1 al 11.
- Establos informales 86 vacas muestreadas de una población de 400, del 12 al 16.

5.1.1 Plan de muestreo.

El muestreo abarcó los establos del Sur de Sonora que comprende los Municipios de Cajeme, Bâcum, Etchojoa, Huatabampo, Navojoa y una porción Sur del Municipio de Guaymas (Figura 2).

Se realizó en la época de verano, durante los meses de julio, agosto y septiembre.

La toma de muestras se realizó en establos durante la ordeña de la tarde a las 16:00 horas y para mayor confiabilidad, éstas se tomaron directamente de la vaca en el momento mismo de la ordeña. Para esto, se consideró la distribución geográfica de los diferentes establos, tomando muestras representativas y en forma proporcional al número de animales que poseen.



SUR DE SONORA

Localización geográfica del área muestreada para la detección de residuos de antibióticos

Se utilizaron frascos de vidrio de 250 ml. con tapón de rosca, previamente esterilizados en autoclave (marca Barnstead serie C2239B) y la cantidad de muestra fue de 200 ml. de leche por cada animal. Se colocaron inmediatamente en un baño de agua fría a una temperatura aproximada de 2°C para su conservación. De ahí se trasladaron al laboratorio de control de calidad de la planta pasteurizadora de leche Cremería del Yaqui, S.A. de C.V., en un tiempo no mayor de dos horas para su análisis correspondiente.

5.2 Análisis fisicoquímico.

Se evaluaron cada una de las muestras de leche mediante la determinación de análisis fisicoquímicos para comprobar su calidad antes de someterla a la determinación de residuos de antibióticos.

5.2.1 Determinación de acidez.

Se tomaron 20 ml. de muestra en un matraz y se diluyó con dos veces su volumen con agua libre de CO₂. Se añadieron 2 ml. de fenolftaleína y se tituló con hidróxido de sodio 0.1N, hasta la aparición de un color rosado persistente cuando menos por un minuto. (Manual de técnicas y procedimientos para análisis fisicoquímicos, S.S.A., 1988).

Cálculos:

$$\text{Acidez g/l (ácido láctico)} = \frac{V \times N \times 0.09 \times 1000}{M}$$

Donde:

V= ml de NaOH 0.1 gastados en la titulación

N= normalidad de la solución de NaOH

M= volumen de la muestra

0.09= Meq. de ácido láctico

5.2.2 Determinación de densidad.

Se calculó con el lactodensímetro Quevene. Este consta de dos escalas; una que da unidades Quevene (unidades de densidad) y la otra da °C.

Se sumerge el lactodensímetro en una probeta de 250 ml. que contenga la muestra de leche, la resistencia que oponga la leche a que el lactodensímetro se sumerja se registra en la escala (15-45 Q) de Quevene, y además se toma la temperatura en °C. (Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico S.S.A., 1988).

Cálculo: Se ajusta la lectura de Q a 15°C.

Cuando la temperatura de la muestra sea diferente a 15°C, la corrección se obtiene sumando o restando 0.002 a la densidad hallada, por cada grado de temperatura respectivamente, superior o inferior a 15°C.

5.2.3 Determinación de grasa.

Se utilizó el método de GERBER, que consiste en medir 10 ml. de ácido sulfúrico en el butirómetro evitando bañar las paredes internas del cuello; se le añade lentamente resbalando por las paredes y sin mezclar 11 ml. de leche, de modo que se

forme un estrato de leche sobre el ácido, inmediatamente agregar 1.0 ml. de alcohol isoamílico. Cerrar con el tapón y agitar enérgicamente, con lo que se produce un fuerte calentamiento y la disolución en ácido de los albuminoides de la leche; se coloca el butirómetro en un baño de agua caliente y se mantiene a 65°-70°C por 10 minutos. Centrifugar 2 minutos, a 1,100 rpm y colocarlo por último en el baño de agua caliente durante 4-5 minutos. Leer el espesor de la capa de grasa acumulada en la parte superior; como el tapón queda hacia abajo, éste debe movilizarse cuidadosamente hasta colocar los límites de la capa de grasa dentro de la escala, la cual expresa directamente la cantidad en por ciento de grasa contenida en la leche (Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico S.S.A., 1988).

5.2.4 Determinación del índice crioscópico.

Se utilizó un equipo Advanced Model MS Cryoscope. Se miden 2 ml. de la muestra dentro de un tubo, el cual es colocado en el contenedor del elevador y se presiona el botón (head control). Se lee y anota la lectura obtenida. Se reporta directamente la lectura obtenida en la pantalla en -m°C ó -m°H (Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico, S.S.A., 1988).

5.3 Determinación de residuos de antibióticos.

En esta prueba la producción de ácido se observa por un cambio de color en el medio, tomando como referencia un testigo como prueba control, al cual previamente se le aplicó un antibiótico comercial (penicilina) asegurando su presencia y para utilizarlo como prueba de comparación de color; si el resultado de la muestra es de color amarillo la prueba indica negativa y si es de color púrpura positiva y, siendo el resultado de la inhibición de la producción de ácido (Bermudes, 1981; Languré, 1990).

Se realizó mediante el método de DELVOTEST SP, de la siguiente manera:

Se utilizó para cada muestra de leche una ampolleta conteniendo el Bacillus stearothermophilus Var. calido-factis en un medio sólido. La ampolleta se fijó en una gradilla de tal manera que ésta se pudiera meter en un baño María. Enseguida se abrió la ampolla y se le introdujo una tableta nutritiva en el medio sólido. Se colocó una pipeta desechable a una jeringa dosificadora. Se oprimió el émbolo completamente y se introdujo el extremo de la pipeta 1 centímetro aproximadamente, en la muestra de leche a examinar. Se dejó que el émbolo retornara de nuevo lentamente, bajo la presión del resorte. Posteriormente se depositó la muestra de leche en la pipeta (aproximadamente 0.1 ml.) en la ampolla sobre el agar y la tableta. Se utilizó para cada muestra de leche una pipeta nueva desechable. Se incubó la ampolleta o ampolletas en un baño María (marca Ríos Rocha, S.A. modelo BM 120 T) a una temperatura de 64°C (+/- 0.1°C) en el cual el nivel del líquido de la muestra debe estar medio centímetro por debajo del nivel del agua, de tal manera que las ampollas floten. La temperatura del agua fue controlada al nivel del medio sólido en las ampollas. Cada muestra de leche fue analizada por triplicado para mayor confiabilidad.

Los resultados de la prueba se leyeron después de 3 horas de incubación. El color amarillo del medio sólido indica que los residuos de antibióticos o de sulfonamidas no sobrepasaron el límite de detección, que es como máximo de 0.003 U.I./ml para la penicilina y de 0.3 mcg/ml para la sulfonamidas. El color purpúreo del medio sólido indica que los residuos de antibióticos o de sulfonamidas si han sobrepasado el límite de detección, que es como mínimo de 0.005 U.I./ml para la penicilina y de 0.8 mcg/ml para la sulfonamidas. Un color parcialmente amarillo y purpúreo del medio sólido indica que contiene residuos de antibióticos o de sulfonamidas en una concentración próxima al límite de detección, que es de 0.004 U.I./ml para la penicilina y de 0.5 mcg/ml para la sulfonamidas. (Gist-brocades, 1994).

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

Con el objeto de facilitar su discusión, se presentarán por separado, los resultados de los parámetros de calidad considerados en este trabajo y cuyos valores promedio se concentran en la tabla 8.

6.1 Acidez.

Solo los establos formales, en su mayoría, presentaron un porcentaje de acidez bajo con respecto al límite inferior que establece el "Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios" (Tabla 9), de la Secretaría de Salud, como se observa en la figura 3 que muestra los valores promedio del porcentaje de acidez para cada uno de los establos muestreados.

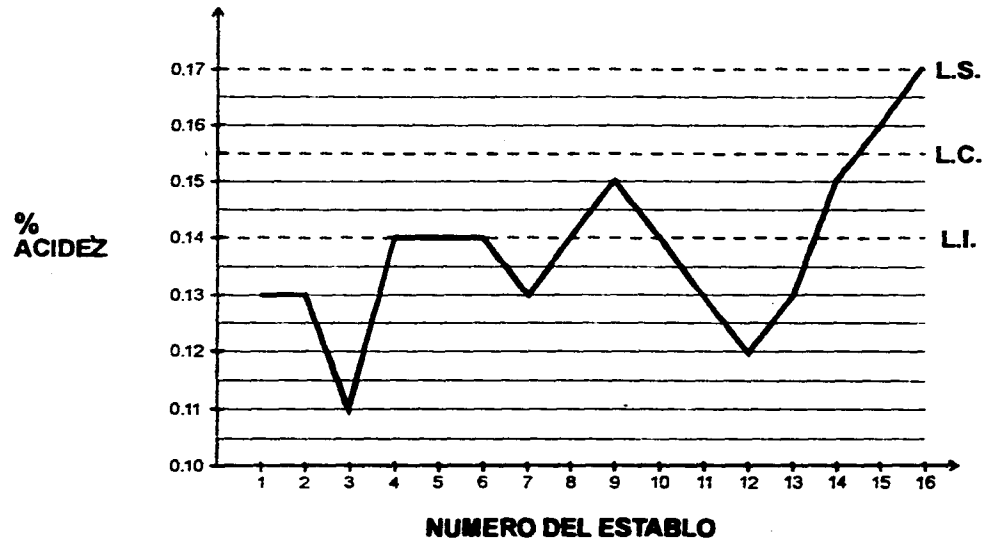
Tabla 8
Parámetros de calidad para cada establo*

PARAMETROS ESTABLOS	ACIDEZ %	GRASA %	INDICE CRIOSCOPICO °H	DENSIDAD g/cm ³	No. DE MUESTRAS CON ANTIBIOTICOS POSITIVOS	TAMAÑO DE MUESTRA	MUNICIPIO
1	0.13 ± 0.01	2.2 ± 0.6	-0.536 ± 0.006	1.030 ± 0.0005	0	23	CAJEME
2	0.13 ± 0.01	1.8 ± 0.5	-0.544 ± 0.007	1.032 ± 0.0006	2	29	CAJEME
3	0.11 ± 0.01	2.6 ± 1.9	-0.549 ± 0.009	1.028 ± 0.0005	3	13	CAJEME
4	0.14 ± 0.02	1.8 ± 1.0	-0.559 ± 0.009	1.0326 ± 0.001	1	17	CAJEME
5	0.14 ± 0.02	1.7 ± 0.6	-0.553 ± 0.009	1.0318 ± 0.0007	2	29	CAJEME
6	0.14 ± 0.03	1.8 ± 0.4	-0.548 ± 0.01	1.0320 ± 0.0005	0	7	CAJEME
7	0.13 ± 0.009	3.7 ± 1.1	-0.540 ± 0.005	1.0276 ± 0.001	0	6	BACUM
8	0.14 ± 0.01	2.5 ± 1.3	-0.552 ± 0.007	1.0330 ± 0.001	1	40	CAJEME
9	0.15 ± 0.03	2.1 ± 1.0	-0.549 ± 0.01	1.0328 ± 0.001	2	8	ETCHOJOA
10	0.14 ± 0.01	3.0 ± 1.3	-0.553 ± 0.01	1.0306 ± 0.0008	2	26	HUATABAMPO
11	0.13 ± 0.01	3.0 ± 1.6	-0.547 ± 0.007	1.0296 ± 0.001	25	26	CAJEME
12	0.12 ± 0.03	4.0 ± 1.2	-0.548 ± 0.01	1.0258 ± 0.001	2	9	CAJEME
13	0.13 ± 0.01	2.3 ± 1.2	-0.533 ± 0.009	1.0302 ± 0.0009	1	17	GUAYMAS
14	0.15 ± 0.01	3.7 ± 1.1	-0.557 ± 0.008	1.0304 ± 0.001	3	12	NAVOJOA
15	0.16 ± 0.006	3.7 ± 0.6	-0.518 ± 0.01	1.0286 ± 0.001	0	24	GUAYMAS
16	0.17 ± 0.01	4.0 ± 1.9	-0.546 ± 0.008	1.0312 ± 0.0007	0	24	BACUM

* Media ± D.S.

FIGURA 3

DETERMINACION DE ACIDEZ POR ESTABLO



No obstante, que la media para este parámetro de calidad que registra la planta pasteurizadora de la región (Cremería del Yaqui, S.A. de C.V.) es de 0.15% para dichos establos. De acuerdo a las condiciones en las que fue realizado el muestreo, por razones de confiabilidad de resultados, es factible obtener valores más bajos de lo normal, tal como lo menciona Ajenjo C. (1956), que al iniciarse el ordeño baja la acidez de la leche obtenida en los primeros chorros de aquél, resultando inferior al total del conjunto de la secreción láctea.

Por otro lado, la leche proveniente de los establos informales (14, 15 y 16), presenta niveles de acidez más altos que los formales como puede observarse gráficamente en la figura 3 dadas las condiciones rudimentarias e insalubres en las que se maneja el ganado y en las que se obtiene la leche durante el proceso de ordeño. Una vez ordeñada, su acidez se incrementa como consecuencia del desarrollo de los microorganismos que están presentes en la ubre de la vaca y en los utensilios que entran en contacto con la leche como los son cántaros, tamices, vasijas, etc. No se aprecia ninguna relación entre el resultado de acidez y la presencia de residuos de antibióticos.

6.2 Grasa.

Ajenjo C (1956) menciona que los primeros chorros de leche que se obtienen al iniciar el ordeño son más pobres en grasa que los últimos, explicándose por el hecho de que la presión interna es más intensa momentos antes de principiar la extracción de la leche, deteniéndose durante ella la rotura de las células epiteliales, a la que se debe con frecuencia la formación de la grasa que no puede atravesar las paredes de las mismas. A medida que el ordeño se va realizando, vaciándose los alvéolos y reduciéndose la presión que reina en ellos, la materia grasa pasa con mayor facilidad a su interior y de esta manera los últimos chorros de leche mediante un ordeño completo son los de mayor riqueza butírica.

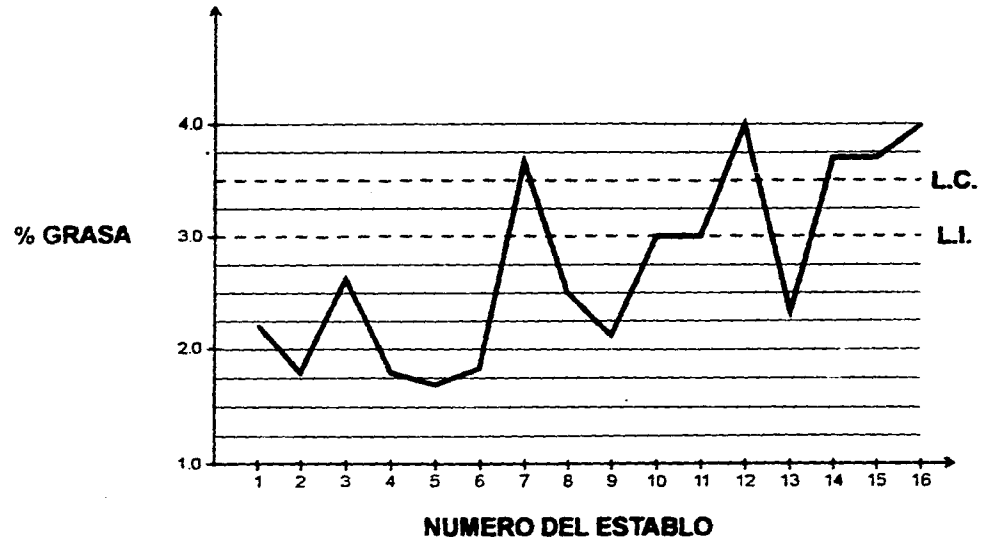
Este dato coincide con el comportamiento del porcentaje de grasa obtenido como se observa en la Figura 4, resultando un bajo contenido de grasa para la mayoría de los establos formales con excepción de (7, 10 y 11), con respecto al límite inferior establecido por la Secretaría de Salud que es de 3.0%. La media del porcentaje de grasa para éstos mismos establos en la planta pasteurizadora de la región (Cremería del Yaqui, S.A. de C.V.). Es de 3.3%.

En el caso de los establos informales y particularmente del 12, 14, 15 y 16, presentaron un contenido mayor de grasa que la media establecida y esto debido muy probablemente al régimen de alimentación de éste tipo de ganado, no especializado, la cual es pobre en nutrientes y en cantidad ya que se basa primordialmente en hierbas silvestres, heno, etc.; mientras que el ganado especializado se alimenta balanceadamente a base de concentrados de granos mezclados con forrajes. Al igual que la acidez, en grasa no se aprecia ninguna relación, entre los resultados de ésta y la presencia de residuos de antibióticos.

6.3 Índice crioscópico.

El comportamiento para este parámetro de calidad fue muy estable, como se muestra gráficamente en la Figura 5, resultando todos los establos dentro de la normatividad de la Secretaría de Salud, lo que da la seguridad en éste trabajo de haber colectado muestras puras sin ninguna interferencia de humedad o de impurezas que pudiera haber alterado su composición original y a la vez afectado el resultado de la prueba de detección de presencia de residuos de antibióticos. No se aprecia ninguna relación entre éstos y el índice crioscópico obtenido.

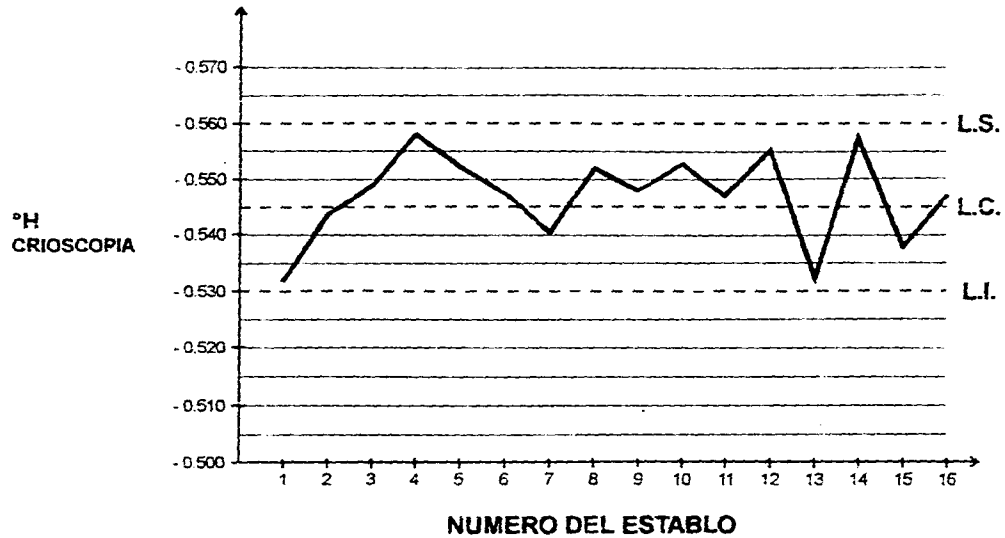
FIGURA 4
DETERMINACION DE GRASA POR ESTABLO



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

FIGURA 5

DETERMINACION DEL INDICE CRIOSCOPICO POR ESTABLO



6.4 Densidad.

De la misma manera que para el índice crioscópico, la densidad permaneció en el rango permisible que establece la Secretaría de Salud según lo muestra la Figura 6, no apreciándose variaciones significativas que pudieran relacionar cambios en la densidad de la leche con respecto a la presencia de residuos de antibióticos.

6.5 Residuos de antibióticos.

De un total de 310 vacas muestreadas en el sur de Sonora, las cuales representan una población de 1,600 diseminadas en los diferentes municipios de la región y cuya leche es procesada en Cremería del Yaqui, S.A. de C.V., resultaron 44 muestras positivas, lo cual da un porcentaje de incidencia de 8.19% teniendo un grado de confianza del 95% y un nivel de precisión de 0.05. Las muestras positivas obtenidas como se observa en la figura 7, indican la presencia de algún residuo de antibiótico de penicilina y/o Sulfonamidas de acuerdo a la especificidad de la prueba utilizada en éste trabajo.

La normatividad vigente que establece el reglamento de la ley general de salud, (ver tabla 9) considera que la presencia de inhibidores bacterianos en leche, incluyendo entre éstos los antisépticos, sustancias conservadoras y residuos de antibióticos, invalida por completo los resultados de las cuentas bacterianas, además, dicha normatividad considera los residuos de antibióticos como contaminantes, cuando éstos, están presentes en la leche cruda ó procesada, es decir, se considera contaminada la leche cuando contiene residuos de antibióticos entre otros como, microorganismos patógenos, cuerpos extraños, hormonas pesticidas, etc. Por lo tanto, la presencia de dichas sustancias y en especial de los residuos de antibióticos en cualquiera de las concentraciones detectadas; indica que la leche ha sido obtenida de animales enfermos sometidos a tratamientos con antibióticos. Higuera-Ciapara (1988) reporta haber encontrado un

FIGURA 6
DETERMINACION DE DENSIDAD POR ESTABLO

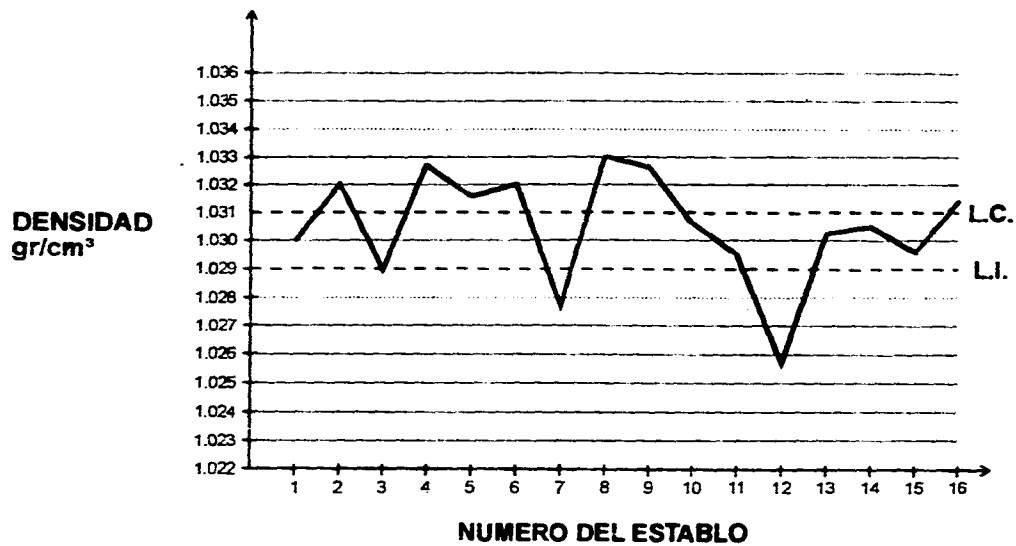


FIGURA 7

**FRECUENCIA DE MUESTRAS POSITIVAS
DE RESIDUOS DE ANTIBIOTICOS POR ESTABLOS**

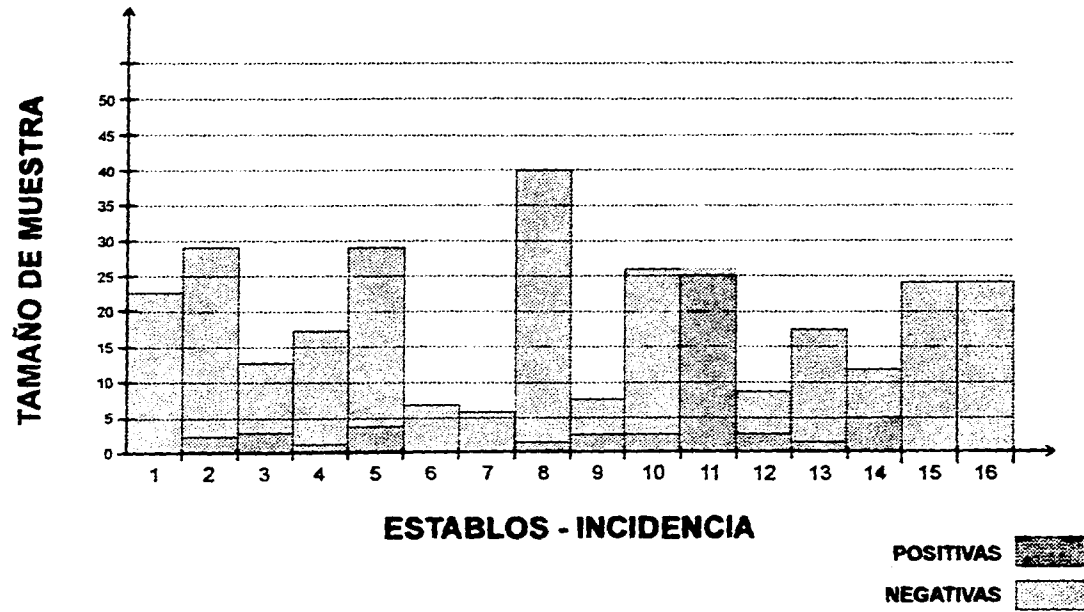


Tabla 9
Valores de referencia de leche cruda
para el destino de la misma en las diferentes categorías

ANALISIS	PASTEURIZADA	P. PREFERENTE	P.P. ESPECIAL	ALTA CALIDAD
Mesofilicos Col./ml	< 2,000,000	< 300,000	< 300,000	< 150,000
Inhibidores bacterianos	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Vibrio cholerae	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Proteinas g/l	>30	>30	>30	>33
Solidos totales g/l	115 - 125	115 - 125	115 - 125	115 - 125
Lactosa g/l	43 - 60	43 - 60	43 - 60	43 - 60
Oxidantes	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Solidos no grasos g/l	NO < 83	NO < 83	NO < 83	NO < 84
Densidad	NO < 1.029	NO < 1.029	NO < 1.029	NO < 1.029
Acidez g/l	1.4 - 1.7	1.4 - 1.7	1.4 - 1.7	1.4 - 1.7
Grasa g/l	NO < 30	NO < 30	NO < 30	NO < 35
Almidón	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
pH	6.4 - 6.9	6.4 - 6.9	6.4 - 6.9	6.4 - 6.9
Grado refractómetro	37 - 39	37 - 39	37 - 39	37 - 39
Prueba del OH al 68%	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Prueba del OH al 96%	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Sales cuaternarias NH ₄	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Agentes neutralizantes	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Identificación de grasa	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL

Fuente: *Artículos: 249, 253, 259, 255 y 256 del reglamento de la ley general de Salud en materia de Control Sanitario de actividades de establecimientos, productos y servicios. Laboratorio Estatal de Salud Pública.

33% de contaminación de residuos de antibióticos en 43 muestras de diferentes marcas comerciales de leche pasteurizada en el noroeste de México. De igual manera en este trabajo, se encontró contaminación en un 8.19% solo que para leche cruda, que de alguna manera refleja los resultados aportados con anterioridad por diversos investigadores en leches procesadas ya que parte de la materia prima que ha sido procesada para industrializarla procede de la leche en estudio en el presente trabajo, producida por los establos del sur de Sonora.

El municipio de Cajeme es donde se encuentra localizada la mayor parte de la población de ganado lechero y específicamente los establos formales; por lo que en esta zona se muestreó el mayor número de animales, dando como resultado el mayor número de muestras positivas.

Se muestrearon 11 establos formales en este trabajo (tabla 8), de los cuales, sólo el 27.3% resultaron negativos (1, 6 y 7), correspondiendo a los establos 1 y 6 del Municipio de Cajeme y al establo 7 de Bácum; el 72.7% de estos establos resultaron con alguna muestra positiva.

El establo número 11, ubicado en el municipio de Cajeme, fue el que presentó el mayor número de muestras positivas, 25 de un tamaño de muestra de 26, según se observa en la Figura 7. Las condiciones climáticas imperantes en la región durante la época en que se llevó a cabo este trabajo, caracterizado por temperaturas por arriba de los 40°C, humedad excesiva y las constantes lluvias que remueven el lodo y el estiércol en los corrales de los establos, aunado además, a la falta de higiene en el manejo del ganado previo al ordeño, provocan enfermedades en el mismo, dando como resultado el tratamiento médico a base de antibióticos.

De los 5 establos informales muestreados, el 60% resultaron positivos (12, 13 y 14) y el 40% negativos (15 y 16). Es importante resaltar que los primeros son establos que aunque están clasificados como informales cuentan con mayores recursos e infraestruc

tura que los segundos; no obstante que cuentan con esta pequeña infraestructura, no les es posible obtener la clasificación de acuerdo a la normatividad vigente, ya que poseen una mezcla de ganado especializado y no especializado en sus hatos; sin embargo, cuentan con los recursos económicos necesarios para tratar el ganado contra las enfermedades que pueden ser controladas con algún antibiótico. Por otro lado, en los establos 15 y 16 no se detectaron residuos, muy probablemente debido a la falta de recursos de estos productores que no aplican antibióticos.

La utilización de los antibióticos con fines terapéuticos en el control de enfermedades del ganado lechero, es contradictoria y puede ocasionar graves problemas socioeconómicos, ya que por un lado estos fármacos son indispensables para mantener la población de los hatos lecheros y por lo tanto, la producción de éste producto. Por otro lado, la presencia de residuos de antibióticos existentes puede alcanzar una concentración suficiente para impedir la utilización normal de la leche principalmente en queserías y fábricas de yogurth.

Debido a que la penicilina es el antibiótico más empleado en este tipo de actividad, ya que la sulfonamidas no se utilizan con tanta frecuencia de acuerdo a la Asociación Ganadera Local de Productores de Leche del Valle del Yaqui, es muy probable que todas las muestras positivas obtenidas presentaran este antibiótico.

El empleo desmedido e irracional de los antibióticos, puede ocasionar grandes pérdidas de éste alimento para el productor, debido a que con el desarrollo de nuevas técnicas de detección, el producto no podrá ser comercializado, provocando a su vez desequilibrio económico y social en la región y además se puede correr el riesgo de que desaparezca la actividad lechera si no se toman las medidas necesarias.

La obtención de resultados que confirman la presencia de residuos de antibióticos en la leche cruda que se produce en los establos del Sur de Sonora, puede interpretarse desde el punto de vista legal, de acuerdo al reglamento vigente de la ley general de salud,

como presencia de contaminantes. Por lo tanto; éste resultado debe cobrar la debida importancia, dado que se detectaron residuos de penicilina y/o sulfonamidas.

Como ha sido señalado por diversos investigadores, la presencia de éstos contaminantes puede causar problemas serios de salud pública, siendo el más relevante, la facilitación del desarrollo de bacterias resistentes a los antibióticos en microorganismos patógenos para el hombre, además de que puede provocar también un serio problema ecológico, ya que la presión selectiva de los antibióticos hacia la bacteria está creando cepas multiresistentes que a su vez están siendo esparcidas al medio ambiente.

Esta problemática de salud pública, debe ser tomada con gran responsabilidad tanto por las autoridades sanitarias como por las agropecuarias, con el fin de establecer los mecanismos a seguir para controlar el uso de fármacos antimicrobianos en el tratamiento de enfermedades infecciosas en el ganado lechero de la región.

Una de las enfermedades infecciosas que se presentan con mayor frecuencia en el ganado lechero en el sur de Sonora es la mastitis (Asociación Local de Productores de Leche del Valle del Yaqui, A.C.), la cual es favorecida por el clima extremadamente caluroso y húmedo imperante la mayor parte del año en ésta región. Las buenas prácticas higiénicas de la producción de leche deberían llevar a la desaparición de las infecciones mamarias y al abandono de los antibióticos, por lo que se propone, se establezcan programas de limpieza y desinfección en los establos, implementando normas de higiene para todo el personal involucrado en la producción de leche desde el mayordomo hasta el ordeñador y el granjero. Por otro lado, también deben implementarse cursos de capacitación a los responsables técnicos del establo con asesorías de profesionales en la materia, sobre tratamiento de enfermedades infecciosas con el fin de que los antibióticos sean utilizados racionalmente.

Otra alternativa que puede ayudar a la eliminación de los residuos de antibióticos es no mezclando la leche procedente de vacas enfermas con el resto de la leche producida, por lo menos tres días después de la última inyección (persistencia normal de las soluciones acuosas).

Estudios de investigación relativamente recientes aportan propuestas más avanzadas, tal es el caso de los investigadores Kosikowski y Flores (1987), los cuales patentaron el uso de la ultrafiltración para la eliminación de antibióticos farmacéuticos, particularmente penicilina G en leche; y estudios subsecuentes sobre éste mismo tema (Higuera - Ciapara, 1990) han demostrado la factibilidad de implementar dicho proceso a nivel industrial para reducir la contaminación con niveles elevados de otros antibióticos y de utilizar los productos finales para la elaboración de quesos maduros.

El resultado de este trabajo de investigación pone de manifiesto la urgente necesidad de tomar medidas preventivas y correctivas por parte de las autoridades sanitarias correspondientes, quienes tienen la responsabilidad y la autoridad para aplicarlas, mediante inspecciones periódicas y toma de muestras en los establos que les permita monitorear la calidad antes de ser comercializada. Por otro lado, las plantas procesadoras de lácteos, no deben permanecer al margen de la responsabilidad que tienen de comprobar la calidad de la materia prima antes de su procesamiento; para esto, es necesario que dichas plantas cuenten con equipo de detección de residuos de antibióticos rápido y confiable que les permita decidir si la leche es apta o no para su consumo.

Se propone realizar estudios posteriores para conocer específicamente cuales son los antibióticos presentes en leche cruda y pasteurizada, y cuales son los niveles encontrados, es decir, pasar del estudio cualitativo al cuantitativo, utilizando métodos como el de Charm.

VII. CONCLUSIONES

1. Se detectó la presencia de residuos de antibióticos de penicilina y/o sulfonamidas en la leche cruda proveniente de los establos del Sur de Sonora, en cinco de seis municipios muestreados.
2. La incidencia de contaminación encontrada fue de 8.19%, hayandose mayor contaminación en los establos formales, principalmente en el municipio de Cajeme, que es el que tiene concentrada la mayor población de ganado lechero del Sur de Sonora.

VIII. BIBLIOGRAFIA

Aiche J. y J. Devissaguet (1983): *Biofarmacia*; 2ª Edición; Ed. El Manual Moderno, México, Págs. 3-73.

Ajenjo C. (1956): *Enciclopedia de la leche*; Ed. Espasa Calpe; Madrid, España; Págs. 237, 470.

Alais Ch. (1980): *Ciencia de la leche*; 1ra. Edición; Ed. C.E.C.S.A.; México; Págs. 163-175, 177-189.

Badui D. (1984): *Química de los alimentos*. Ed. Alhambra Mexicana, S.A. de C.V. México, D.F.

Barry A. (1976): *The Antimicrobial Susceptibility Test: Principle and Practice*; Ed. Lea And Febiger; Philadelphia; Págs. 3-58.

Bermudes C. (Dic. 1988): *Detección de residuos de antibióticos de tejidos de bovino y pollo adquiridos en la Ciudad de Hermosillo, Sonora*. Tesis de la Universidad Autónoma de Sonora.

Calderón E. (1981): *Aplicación Clínica de Antibióticos y Quimioterápicos*; 4ª Edición; Ed. Centeotl; México; Págs. 190-200.

Carpenter P. (1969): *Microbiología* 2da. Edición, Editorial Interamericana, Pág. 218.

Delvotest[®] SP (1994): *Prueba de difusión estándar para la determinación de residuos de antibióticos y sulfonamidas en leche*; Royal Gist-brocades, Food Ingredients Division; Holland.

Equipo Técnico de Alfa-Laval, (1990). Manual de Industrias Lácteas. Ed. Mundi-prensa libros, S.A. Madrid (España)

Franco D. (Febrero 1990): Antibiotic and sulfonamides residues in meat: Implications for human health; Journal of food protection; Volumen 53; No. 2; Págs. 178-185.

Goodman A. y A. Gilman (1981): Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica; 6ª Edición; Ed. Panamericana; México; Págs. 1158-1172.

Granja lechera, sanidad e inspección básica, curso # 306 (1994): Secretaría de Salud; Págs. 95-100.

Higuera-Ciapara, I. (1988): Detección y eliminación de antibióticos en leche. Industria Alimentaria (México). En prensa.

Higuera C. y F. Kosikowski (1991): -Lácteos Mexicanos+; Revista Industrial Especializada; Vol. 5; No. 6; Diciembre-Enero; México; Págs. 3-9.

Keating F. (1986): Introducción a la lactología; 1ra. Edición; Ed. Limusa; México; Págs. 15-26.

Kirk A. y Othmer A. (1961): Enciclopedia de Tecnología Química; Ed. UTHEA; Vol. II; México; Pág. 537.

Korolkovas A. y J. Burchalter (1979): Compendio Esencial de Química Farmacéutica; Editorial Reverté; Barcelona, España; Págs. 625-673.

Kosikowski, F. V. and Jiménez-Flores, R. (1987): Method for removal of pharmaceutical antibiotics from contaminated milks, U.S. Patent No. 4,689,151. August 25.

Krupp, M. (1979): Diagnóstico clínico y tratamiento; Editorial El Manual Moderno, S.A., México. Pág. 1027

Languré A. (Noviembre 1990): Detección de antibióticos y presencia de bacterias resistentes en muestras de pollos adquiridos en la Ciudad de Hermosillo, Sonora. Disertación de la Universidad Autónoma de Sonora.

Laroque L., G. Carignan and S. Sved (1990): Sulphamethazine residues in Canadian consumer milk. *Journal Assoc. of Anal. Chem.*; Vol. 73; No. 3; pp. 365-367.

Lawrie R. (1967): Ciencia de la carne; Ed. Acribia; Zaragoza, España; Pág. 61.

Littlefield, N.A., D.W. Gaylor B.N. Blackwell and R.R. Allen. (1989): Chronic Toxicity/ Carcinogenicity Studies of sulphamethazine en B6C3F1 Mice. *Food and Chem. Toxicology*; Vol. 27; No. 7; pp. 455-463.

Lück E. (1981): Conservación química de los alimentos; Ed. Acribia; Zaragoza, España; Págs. 196-198.

Manual de Laboratorio de Microbiología Sanitaria (1983); Instituto Politécnico Nacional. 1ra. Edición.

Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Físico-Químico de leche pasteurizada (1988); Secretaría de Salud; México, D.F. Págs. 10-38.

Marshall, R. T. (1992): Standar methods for the examination of daily products; 16th edition; PHD, Editor; Washington, D. C. Págs. 347-372.

Meyer J. (1982): Farmacología y Terapéutica Veterinarias; Ed. UTHEA; México; Págs. 378-500.

Meyers F. y E. Jawetz (1986): Manual de Farmacología Clínica; 2ª edición; Ed. El Manual Moderno; México; Págs. 587-606.

Pérez G. (1984): Bioquímica y Microbiología de la Leche; Ed. Limusa; México, D.F.

Ramírez A. (1991): Identificación de antibióticos residuales en leche y tejidos comestibles de vacas enviadas al rastro. Resumen publicado en memorias del Congreso Panamericano de la Leche. Guadalajara, Jalisco; 22-24 Abril; Pág. 115.

Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios. (1988): Diario Oficial de la Federación. 18 de Enero. Primera sección; Pág. 31.

Revilla r. (1981): Tecnología de la Leche; 6ta. Edición; Ed. Herrero Hermanos Sucesores, S.A.; México; Págs. 11-12.

Russell A. (1982): Principles and Practice of Desinfection, Preservation and Sterilization; Ed. Blackwell Scientific; Oxford; Págs. 330-334.

Santos M. (1987): Leche y sus derivados; 1ra. Edición; Ed. Trillas; México; Págs 27-48.

Sanz C. (1967): Enciclopedia de la Carne; 2ª edición; Ed. Espasa-Calpe; Madrid; Págs. 951-953.

Scaky T. (1983): Introducción a la Farmacología General; Ed. Salvat; Barcelona, España; Págs. 119-180.

Spinelli J. y Reed E. (1986): Manual de Farmacología Veterinaria; Ed. Interamericana; Tomo I; México; Págs. 34-49.

Sumano H. y L. Ocampo (1990): *Farmacología Veterinaria*; Ed. McGraw Hill; México; Págs. 113-197.

Vázquez M. (1990): -Antibiotics residues and drugs resistant. Bacteria in beef and chicken tissues+; *Journal of food science*; Vol. 55; No. 3; Págs. 632-634.

Vázquez Moreno, L. I. Higuera-Ciajara y M.C. Bermudes (1990): Detección de antibióticos en muestras de leche fluida y en polvo adquiridas en la Ciudad de Hermosillo, Sonora. Trabajo presentado en el IV Simposio de Nutrición de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Velázquez, F., M. Pérez y R. González (1980): Investigación de residuos de antibióticos en leche pasteurizada y envasada que se consume en el área metropolitana. *Salud Pública de México*. Epoca V; Volumen XXII; No. 1; Enero-Febrero; pp. 91-99.