

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

UAG

- Análisis Químico Bacteriológico de la Leche de la Ciudad de Guadalajara.

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
p r e s e n t a :
ANA LUISA NUÑEZ YAÑEZ





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

A mis padres con cariño y gratitud:

Sr. Prof Salvador Núñez Ramos

Sra. Emilia Yáñez de Núñez.

A mis hermanos:

Olga Esther, Gracia del Carmen, Esthela
Emilia y Salvador.

A mis cuñados, sobrinos, tíos y primos.

Al Sr. Dr. Salvador Hermosillo Hernández y
Srita Q.F.B. Beatriz Pérez Vargas,
directores de ésta tesis.

Al Sr. Dr. Joaquín Ramos Santos,
Director de la Facultad de Ciencias
Químicas.

Al H. Club de Damas Profesionistas y de Negocios de Tijuana, Baja, Calif.

A mis maestros y compañeras.

I N T R O D U C C I O N .

La leche representa un importante factor social, habiéndose sustentado, y con razón, que se puede aquilatar el grado de civilización de un pueblo basándose en la cantidad de leche y sus derivados, consumidos por habitante.

Con seguridad, el índice de salud y robustez de un país son directamente proporcionales a la cantidad de leche que consume,--siendo indudable que uno de los índices mejores de la civilización lo representa el grado de salubridad y robustez de su pueblo.

En nuestro país, es la leche uno de los pocos alimentos que se encuentran al alcance de todas las clases sociales; siendo de un alto valor nutritivo es de sumo interés conocer la calidad de la leche que consumimos diariamente, tanto desde el punto de vista de su composición en elementos nutritivos, como en su estado sanitario.

GENERALIDADES SOBRE LACTOLOGIA.
NORMAS SOBRE LECHE Y LACTICINIOS.

LECHE.- Es el producto obtenido por el ordeño regular y completo, perfectamente mezclado, de una o de varias vacas sanas, - bien alimentadas, cuidadas higiénicamente, de uno o más ordeños, al cual nada se le ha añadido, ni quitado, excluyendo el producto segregado los quince días antes y los cinco días después del parto.

Sólo se deben considerar como leche las clases descritas a continuación:

1.- Leche pura.- Ha de tener los caracteres mínimos normales de su composición, sobre todo en lo relativo a la proporción de grasa y a la densidad, y si no se han legislado éstos valores mínimos, que no sean muy inferiores a los valores normales de la comarca respectiva. La leche pobre en grasa es la que no alcanza el valor mínimo fijado por las autoridades sanitarias, o bien, - cuando no se ha legislado tales valores mínimos, si dista mucho de llegar a la composición normal de la leche ordinaria en la comarca de producción.

2.- Leche de primera calidad.- Es la obtenida con todo rigor higiénico, en cuanto a las condiciones del establo, salud de las vacas, ordeño, vigilancia de la salud del personal, y a su composición (proporción de grasa, densidad), embotellado y remisión.

Las leches preparadas tan sólo son: la leche homogenizada y la leche calentada.

a).- Leche homogenizada, o sea, la que por división mecánica

de sus glóbulos de grasa ésta queda tan finamente dividida, que a las 24 horas de su preparación todavía no ha separado en absoluto la nata.

b).- Leche calentada, o sea, la leche hervida o la calentada hasta la ebullición; y la leche pasteurizada, la que, a más tardar, dentro de las 22 horas siguientes a su ordeño (si fué mantenida refrigerada), tras de una limpieza eficiente, se calentó en un aparato pasteurizador, aceptado por las autoridades, y sin pérdida de tiempo se enfrió debidamente. Por razones especiales, las autoridades especiales pueden abreviar el citado plazo máximo de 22 horas, hasta 3 horas, con lo cual se previenen los efectos nocivos de ciertas alteraciones de la leche sobrevenidas antes de la pasteurización.

CLASES DE LECHE PURA.

No reina un acuerdo internacional sobre la calidad de la leche pero ciertas autoridades sanitarias suelen emplear determinados grados para la clasificación láctea. En la mayor parte del Canadá y de los Estados Unidos de Norteamérica, la leche de mejor calidad se califica "Leche certificada", producida bajo una escrupulosa vigilancia y dirección de una comisión médica lechera que actúa según su reglamento minuciosamente definido. Las leches producidas bajo una vigilancia menos estricta suelen clasificarse en A, B y C, de acuerdo con las condiciones higiénicas de su producción y atendiendo a su contenido bacteriano.

1.- Leche certificada.- Es el producto de lecherías elaborado de acuerdo con métodos patrones adoptados de ordinario por la

American Association of Medical Milk Commissions Inc., y bajo la vigilancia directa de la Medical Milk Commissions locales u otras comisiones aprobadas por la American Association of Medical Milk Commissions Inc. Los métodos, uniformados para todos los Estados Unidos, tienden especialmente a justipreciar los edificios y -- equipos, el cuidado tenido con los animales, ordeño, leche, su -- transporte y distribución, así como la vigilancia médica etc., -- del personal.

El número máximo de gérmenes comprobado por las placas de -- Patri permitido para la leche certificada cruda, es de 10'000 -- por c.c., y para la leche certificada pasteurizada, de 500 por -- c.c., y, en caso de no tener mención especial en el rótulo, ha -- de contener un promedio del 4% de grasa; su densidad no ha de -- ser inferior a 1.029, y su extracto seco no será menor de 12%.

2.- Clase A de leche.- Esta clase de leche del mercado, con -- tiene, por lo menos, el 3.25% de grasa, pudiéndose vender cruda -- o pasteurizada con un número máximo de gérmenes de 50'000 por c. -- c.. Se han de hacer pruebas especiales con los animales productores -- para confirmar su sanidad. La leche cruda de la clase A se -- ha de producir y embotellar en la propia granja, mientras que la -- leche A pasteurizada, el producto puede transportarse a la leche -- ría urbana para ser pasteurizada o embotellada.

3.- Leche de clase regular o patrón.- El resto de la leche -- del mercado carece de denominación peculiar, soliendo clasificar -- se de clase regular o patrón. Esta leche se puede vender cruda -- o pasterurizada, según la ley del estado, siempre que su composi

ción no alcance los límites de adulteración. En ocasiones, las or
denanzas locales son mas rigurosas que la ley del estado, impo- -
niendo ésta que la leche sea pasteurizada, y por lo común se re--
quiere que su recuento bacteriano sea de 50'000 o menos por c.c.

DICTAMEN SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE.

Consideraciones generales.- La leche de buenas cualidades - para el consumo, es la producida por vacas sanas y limpias, ordeñadas en una atmósfera aseada y pura, por personas exentas de enfermedades o de gérmenes (que sería lo ideal) patógenos y recogida en recipientes limpios y conservada por el frío hasta su aporte al consumidor.

Los elementos de juicio son, por tanto: el valor nutritivo, la ausencia de gérmenes patógenos, la higiene y la cualidad de su conservación.

CLASIFICACION DE LA LECHE DEL MERCADO.

Cualidad	Elementos de juicio.
Leche especial, certificada o pasteurizada.....	<p><u>Valor nutritivo.</u>- Proporción de grasa dentro de lo requerido por la ley.</p> <p><u>Sanidad.</u>- Inspección sanitaria de las personas y de los animales, en caso de la leche cruda o pasteurizada.</p> <p><u>Higiene.</u>- Sedimento sólo en indicios.</p> <p><u>Conservación.</u>- Excelente.</p>
Leche ordinaria.....	<p><u>Valor nutritivo.</u>- Excelente.</p> <p><u>Sanidad.</u>- Leche pasteurizada.</p> <p><u>Higiene.</u>- Sedimento en escasa cantidad.</p> <p><u>Conservación.</u>- Buena.</p>
Leche hervida.....	<p><u>Valor nutritivo.</u>- Bueno.</p> <p><u>Sanidad.</u>- Hervida.</p> <p><u>Higiene.</u>- Insuficiente para considerarse leche ordinaria.</p> <p><u>Conservación.</u>- Insuficiente para considerarse leche ordinaria.</p>

COMPOSICION NORMAL DE LA LECHE.

Fisiológicamente, la leche es el líquido segregado por las glándulas mamarias de las hembras de los animales mamíferos, --- aproximadamente a los siete días de haber parido, y destinada a la alimentación natural de sus hijos en la primera fase de la vida extrauterina.

Prescindiendo de las pequeñas variaciones inherentes a cada especie de mamífero, organolépticamente, la leche es un líquido blanco mate o un poco esmerillento, más blanco en algunos mamíferos (cabra) que en otros, más o menos azucarado y graso, con olor peculiar agradable y sabor típico.

Desde el punto de vista físico es un líquido opaco, más o menos fluido, con la densidad y el punto crioscópico variables con la especie de procedencia, pero siempre superiores a los mismos caracteres del agua. Sus componentes se encuentran simultáneamente en solución genuina, emulsionados y en suspensión coloidal.

Damos a continuación las normales de la leche de vaca, que es la que interesa en éste estudio, de sus macrocomponentes según diferentes autores.

AUTOR	AGUA	GRASA	CENIZAS	EXTRACTO SECO.
Van Slyke	87.1 %	3.9 %	0.70 %	12.9 %
Babcock	87.3 %	3.6 %	0.70 %	12.7 %
Willoughby	87.0 %	3.8 %	0.70 %	13.0 %
Oliver	87.6 %	3.25%	0.75 %	12.4 %
Richmond	87.1 %	3.9 %	0.75 %	12.9 %
Rogers	87.25%	3.66%	0.69 %	12.73%
Focher	87.25%	3.95%	0.70 %	12.75%
Cranfield	87.54%	3.71%	0.76 %	12.46%
Faningthewoll	87.40%	3.70%	0.70 %	12.6 %
Cornerin	87.75%	3.30%	0.75 %	12.75%
Goldring y col.	87.21%	3.88%	0.77 %	12.79%
Fleischmann	87.60%	3.40%	0.75 %	12.40%
Thieulin	89.00%	3.5 %	0.75 %	12.0 %

Acidez.- .16 - .19% (Expresada en ácido láctico). 16°- 19° Dornic.

Densidad a 15°C.- 1.028 - 1.034

Capacidad Reductora.- Más de cinco horas y media.

Contenido microbiano.- La leche certificada y pasteurizada de buena calidad, no debe contener más de 30'000 bacterias por centímetro cúbico.

En leches crudas de buena calidad no debe contenerse más de 100'000 bacterias por centímetro cúbico.

No debe contener bacterias patógenas, y sus caracteres organoléticos no deben estar alterados perceptiblemente.

ANALISIS DE LA LECHE.

Comprenderá los siguientes análisis: Físico, Químico y Bacteriológico.

ANALISIS FISICO.	Caracteres organolépticos.	Sabor. Color. Espuma.
	Temperatura.	
	Densidad.	
	Extracto seco.	
	Cenizas.	
	Acidéz.	
ANALISIS QUIMICO	Determinación de la grasa.	
	Prueba de la reductasa microbiana (prueba del azul de Metileno).	
	Acidéz elevada como prueba de la contaminación de la leche.	Prueba del alcohol. Prueba de la ebullición.
	Adulteraciones de la leche, su comprobación.	Desnatado y adición de leche desnatada. Aguado. Adición de grasas extrañas. Adición de conservadores: Agua Oxigenada. Formaldehído. Acido Salicílico. Acido Benzoico. Acido Bórico. Bicarbonatos. Carbonatos. Embellecimiento: Cromatos y bicromatos.

Anaranjado III.
Annatto.
Colorantes de al--
quitrón de hulla.

Determinación del contenido Microbiano
total.

Investigación de la presencia de Gérmenes
acidificantes.

Mycobacterium Tuber-
culosis.

Investigación de la
Presencia de Bruce-
llas.

Streptococcus Aga--
lactiae.

Stafilococcus Aureus.
Stafilococcus Albus.

Salmonella Enteridi-
tis y Shigella Dy--
senteriae.

Corynbacterium - --
Diphtheriae.

ANALISIS BACTERIOLO-
GICO.

Investigación de
Bacterias Patógenas.

M E T O D O S D E A N A L I S I S .

ANALISIS FISICO.- Determinación de los caracteres organolépticos: Sabor, Color, Olor y Espuma.- Determinados en el momento de la toma de la muestra y al momento del análisis. Preferentemente a temperatura normal para el primer caso, y calentada a temperatura entre 50° y 70° C., y enfriando a 15° C. durante 15 minutos empleando recipientes amplios y limpios, después de lo cual se olerá la leche contenida en una copa muy limpia; se saboreará durante unos segundos y, a continuación, se escupe. Algunos sabores y olores anormales se perciben inmediatamente, otros se notan después de haber escupido la leche.

Temperatura.- La termometría tiene suma importancia, pues nos informa con certeza sobre la temperatura exacta de la leche, dato de gran valor para justipreciar las operaciones a que fué sometida y para prever su riqueza bacteriana y su conservabilidad. El termómetro cuyo empleo debe generalizarse, sustituye a la apreciación organoléptica táctil, muy común entre los lecheros.

Densidad.- Para tomar en consideración la temperatura se emplean lactodensímetros de Quevenne adicionados de termómetro o sin él, pero siempre debe tomarse la temperatura de la muestra de leche.

Se revuelve bien la leche que esté a unos 15° C., no a menos de 10° ni a más de 20° C., se hecha en una probeta de manera que no forme espuma, se hunde el lactodensímetro hasta la señal de 30 y se le deja libre. Cuando quede en reposo se lee la escala a nivel de la parte alta del menisco, no a nivel de la superficie de

la leche. La escala sólo expresa las cifras de los decimales segundo y tercero, teniéndose que completar anteponiéndoles 1.0 . Se corrige el resultado de acuerdo con la temperatura, por cada grado menos de 15^o, se resta 0.2 de la escala, y por cada grado mayor de 15^oC. se ha de añadir 0.2 de la escala, o bien, hacer las correcciones consultando una tabla de correcciones que se encuentra en todos los libros de lactología.

Extracto seco.— Su determinación se realiza en cápsulas planas en las que se pone arena bien calcinada, hasta, más o menos, su mitad y se deseca a 110^oC. hasta obtener su peso constante. En tonces se deja enfriar y se pesa. En éste punto con una pipeta se echan 5 c.c. de la leche sobre la arena procurando una distribución uniforme, se pesa para por diferencia conocer el peso de la muestra. Las cápsulas así dispuestas se introducen en la estufa y se desecan hasta peso constante. Se calcula la cantidad de extracto seco en porcentaje.

Cenizas.— Se toman 50 c.c. de leche, poniéndolos en una cápsula limpia, seca y tarada. Se evapora a baño maría, se cueva la grasa y se calcina en la mufla al rojo no muy vivo para evitar la volatilización de los cloruros.

Obtenidas las cenizas, se enfría la cápsula en el desecador y se pesa. La diferencia entre el peso inicial y esta pesada ulterior es la cantidad de cenizas correspondientes a los 50 c.c. de leche, valor que multiplicado por 20 expresa la cantidad de cenizas por litro. (Los resultados preferentemente se expresan en porcentaje).

ANÁLISIS QUÍMICO.

DETERMINACION DE LA ACIDEZ.- Se mezcla bien la leche, se miden 10 c.c., se ponen en una cápsula o en un vaso de cristal, se le añaden 2 ó 3 gotas de fenolftaleína al 1%, y después se añade por medio de bureta, la solución valorada de sosa (.1N) hasta que la leche adquiera un color rosa pálido persistente a la agitación durante medio minuto. Los resultados se expresan en porciento de ácido láctico o en grados Tornic.

Determinación de la grasa.- En el proyecto de tesis se señaló el procedimiento de Soxhlet para la determinación de la grasa, pero en la práctica resultó poco práctico y lento, prefiriéndose el de Babcock recomendado por ser el más moderno y rápido.

Técnica.- Se ponen en el matraz de Babcock 17.5 c.c. de leche y se le añaden 17.5 c.c. de ácido sulfúrico (Densidad 1.820-1.823). Se agita hasta que se disuelva el coágulo formado, se centrifuga durante 4 minutos y se agrega agua hirviendo hasta que el nivel de la mezcla alcance la escala. Se vuelve a centrifugar, se pone en el baño maría calentando a 57°- 60°C. y con un compás se lee el resultado que expresa la cantidad de grasa por 100 gramos de leche.

Capacidad reductora de la leche como indicador de su grado de conservación.- Prueba del Azul de Metileno.- Prueba de gran importancia, al igual que la de resazarina, habiéndose preferido a ésta por ser una substancia conocida y fácil de hallar en el mercado; la resazarina no se encontró en el mercado local.

Técnica.- En tubos debidamente esterilizados, se introducen,

medidos con toda exactitud 0.02 c.c. de la solución al 0.02% de azul de metileno y 5 c.c. de leche o cantidades proporcionalmente mayores.

Ambos líquidos se mezclan muy bien de suerte que su totalidad tenga un color uniforme y se les añade parafina líquida esterilizada, esto es indispensable para evitar la acción reoxidante del aire. Se calienta a la estufa, o mejor aún, en el baño maría a 37°C. (6 - 5°C.) de modo que el nivel del agua rebalse al de la leche contenida en los tubos. Después deben cerrarse éstos con tapones de caucho o tapas de aluminio esterilizadas y se mantienen al abrigo de la luz.

La digestión se prosigue hasta que se decolore la leche, examinándose la leche cada media hora y registrando cuánto tiempo tardaron en decolorarse. Se consideran decolorados los tubos que tienen por lo menos 4/5 partes de su superficie decolorada.

Se necesita poner pruebas testigo.

Acidez elevada como prueba de la contaminación de la leche.- Prueba del Alcohol.- Reactivo.- Solución alcohólica, hecha diluyendo hasta 100 c.c. con agua destilada 72 c.c. de alcohol etílico neutralizado de 95°.

Técnica.- Se ponen 2 c.c. de leche en un tubo de ensayo y se le añade otro tanto de la solución de alcohol, lo cual se facilitará mucho marcando los tubos en los puntos correspondientes a 2 y 4 c.c. Se mezcla el contenido del tubo de ensayo cerrándolo con la yema del pulgar e invirtiéndolo, sin agitar mucho, una o dos veces, o agitándolo con cuidado para que la le-

che y el alcohol se mezclan bien.

Tanto la leche como el alcohol han de tener una temperatura de unos 16° a 25° C. En caso positivo se presenta floculación o coagulación más o menos acentuada según sea la acidez de la muestra.

Prueba de la ebullición.— En un tubo muy limpio se introduce un poco de leche y se calienta a fuego directo hasta que hierva, en éste momento se observa el aspecto de la leche deslizando a lo largo de la pared del tubo, circular y longitudinalmente. La coagulación de la leche o el comienzo de su floculación son indicios de su elevada acidez y, por lo tanto, de su poca conservación y de no ser apropiada para el tratamiento por el calor.

ADULTERACIONES.—

Desnatado y adición de leche desnatada.— Determinando el contenido en grasa y el extracto seco se descubre ésta falsificación aplicando la siguiente fórmula que da el fraude en porcentaje:

$$\text{DESNATADO} = 100 \left(1 - \frac{g' \times E}{g \times E'} \right)$$

Representando: E y E', los extractos desgrasados; y g y g', la grasa, respectivamente de las leches muestra y problema.

Aguado.— Determinando la densidad, extracto seco, grasa y el agua, aplicando la fórmula siguiente obtenemos el aguado cuantitativo.

$$\text{AGUADO} = \frac{E}{E'} (A' - A)$$

Representando E y E' los extractos desgrasados y A y A', el agua, respectivamente de las leches muestra y problema.

Adición de grasas extrañas.- La extracción de la grasa por la técnica antes descrita y su análisis en lo referente a su identificación por los diversos índices, permite justipreciar si la grasa pertenece o no a la leche.

Los métodos más sencillos, pero también más groseros, pueden revelar la presencia de grasa extraña que se separa más fácilmente tanto por el sulfuro de carbono como por el reposo y enfriamiento consecutivos a la ebullición de la leche.

Adición de conservadores.-

Agua Oxigenada.- Reacción de Scheris-Schellhaze.- El reactivo empleado tiene la composición siguiente:

Guayacol puro cristalizado	10 gr.
Resina de Guayaco	10 "
Alcohol absoluto	80 c.c.

Preparado por separado, es decir, el guayacol se disuelve en 40 c.c. de alcohol, y aparte, la resina con el resto del alcohol.- En el momento de usarlo basta mezclar volúmenes iguales de las dos soluciones. La reacción positiva produce color azul intenso.

FORMALDEHIDO.- Prueba de Mehner (oficial).- En un tubo de ensayo se ponen unos 10 c.c. de leche y se les agrega, aproximadamente la mitad de su volumen de ácido sulfúrico concentrado comercial, con cuidado, deslizándolo por la pared del tubo de ensayo inclinado, de suerte que se reúnan en el fondo del mismo sin mezclarse con la leche.

Si en el plano de contacto de ambos líquidos se forma una -

capa de color violeta o azul, descubre la presencia de formaldehído. Se asocia ésta determinación a la de la grasa por el método - descrito antes, fijándose si aparece color violeta al agregar el ácido sulfúrico concentrado a la leche en el butirómetro.

ACIDO SALICILICO.- Oficial.- Se toman 100 c.c. de leche, se acidifican con 5 c.c. de ácido clorhídrico (diluído al 1.3), agitando hasta que se coagule. Se filtra y se extrae con unos 50 a - 100 c.c. de éter. La capa de éter se lava con dos porciones de -- agua de 5 c.c., se evapora la mayor parte de éter en una cápsula de porcelana en baño maría calentado por vapor de agua, y el resto se deja evaporar espontáneamente; agregando una gota de cloruro férrico al 0.5%. Si la leche contiene ácido salicílico, se produce un color violeta.

ACIDO BENZOICO.- Se prepara el residuo de la misma forma que para el ácido salicílico.

En la cápsula con el residuo se añade ácido nítrico concentrado y se calienta, hasta que adquiera consistencia sirupsosa. Se alcaliniza con amoníaco, con lo cuál desarrolla color rojo en caso positivo.

ACIDO BÓRICO.- Una tira de papel de cúrcuma se sumerge en la muestra de leche acidificada con ácido clorhídrico a razón de 7 c. c. de ácido concentrado por 100 c.c. de leche y se deja que el papel reactivo seque espontáneamente. Si la leche contiene bórax o ácido bórico el papel reactivo desarrolla un típico color rojo - que el hidróxido de amonio vira al verde azulado oscuro, pero se restablece el color anterior por acción del ácido.

BICARBONATO.- Se toman 20 c.c. de leche y se les agrega 30 c.c. de alcohol metílico puro, agitando la mezcla tres veces. Si la leche es pura coagula pronto y elimina un suero claro, cuya acidez media entre pH 6.3 y 6.5; mientras que la leche neutralizada no coagula sino que queda homogénea durante varios días y, por filtración se separa un suero turbio, lechoso, cuyo pH es superior a 6.5, pudiendo llegar a 7.5 si se agregó abundante bicarbonato sódico.

CARBONATOS.- En un tubo de ensayo se ponen unos 10 c.c. de leche, 10 c.c. de alcohol y una gota de solución acuosa de ácido rosálico al 1%, mezclando el conjunto. En caso de haber carbonato se produce color rojo rosáceo, mientras que la leche pura se vuelve sólo parduzca.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE COLORANTES.

CROMATOS Y BICROMATOS.- Tratando una muestra de leche con nitrato de plata, que, en caso positivo desarrolla un color rojo ladrillo.

ANARANJADO III.- Produce un color rosa intenso si se añade ácido clorhídrico a la leche que lo contenga.

OTROS COLORANTES EXTRAÑOS.- ANNATTO.- Unos 150 c.c. de leche se calientan en una cápsula de porcelana sobre la llama y se les agrega, más o menos, 5 c.c. de ácido acético diluido (al 1 por 3), se sigue calentando poco a poco, sin dejar de revolver, hasta la proximidad del punto de ebullición. Si es posible, se reúne el coágulo en una masa por medio de la varilla y se vierte el suero de la leche. La cuajada se exprime para expulsar el lí-

quido que se le adhiera, se coloca en un frasquito, se macera varias horas (preferiblemente toda la noche) en unos 50 c.c. de éter, teniendo el frasco bien tapado con un corcho y agitándolo de vez en cuando. Se decanta el extracto etéreo en una cápsula, se elimina el éter por evaporación, se alcaliniza el residuo con sosa y se vierte sobre un papel filtro pequeño y humedecido. Si la leche contiene annatto, el papel filtro absorbe el color, por lo cuál lavándolo con un fino chorro de agua, al secarse mostrará color amarillo paja. Se seca el filtro y se le añade una gota de solución de cloruro estannoso. Si el color vira a rojizo, se confirma la presencia de annatto.

COLORES DE ALQUITRAN DE HULLA.- La cuajada de una leche sin teñir es del todo blanca después de su completa extracción etérea, lo mismo que la leche teñida con annatto. Si el coágulo extraído y exento de grasa muestra patente color anaranjado o amarillo, se ha coloreado con un tinte de alquitrá de hulla. En muchos casos, poniendo en un tubo de ensayo una porción del coágulo desgrasado con un poco de ácido clorhídrico concentrado, vira a color rosa, revelador de un tinte parecido al amarillo de anilina, amarillo de mantequilla o quizás uno de los amarillos o anaranjados de los ácidos azoicos. En ocasiones, la presencia de colorantes de alquitrán de hulla se descubre tratando directamente unos 10 c.c. de leche con otro tanto de ácido clorhídrico (1.18 de densidad), en una cápsula de porcelana a la cuál se le imprime un ligero movimiento rotatorio. La presencia de ciertos tintes determina la aparición de color rosa.

EXAMEN BACTERIOLOGICO.

DETERMINACION DEL CONTENIDO MICROBIANO TOTAL.- METODO DE -- BREED.- TECNICA.- Un portaobjetos, muy limpio y flameado, se coloca sobre el patrón de cartón o lámina metálica y se fijan con una pinza. (Lámina metálica, de cartón o de cualquier otro material, con ventanas cuadradas recortadas de 1 cm. de lado).

Se homogeneiza perfectamente la leche, para lo cuál se coge el frasco de modo que quede horizontal y con su parte media apoyada en la palma de la mano, mientras se mantiene firme el tapón -- con el dedo índice, y se agita 25 veces en la dirección de su eje longitudinal, con recorridos de unos 30 cm. y en un plazo aproximado de doce segundos. Si el frasco está completamente lleno de -- leche, se invierte 25 veces mediante un rápido giro y en sentido alternante . Sobre poco más o menos, se trasiega la cuarta parte de la leche a un recipiente esterilizado, se tapa el frasco y la leche restante se agite del modo antes descrito.

Después se le agrega la porción que se retiró antes y de nuevo se agita la totalidad de la leche. Asimismo se puede trasegar toda la leche a un frasco de mayor capacidad, esterilizado, que -- se cierra con un tapón de caucho estéril y se agita del modo antes expuesto.

Se aspira leche con una pipeta, esterilizada y graduada en -- 0.01 de c.c., de la cual solo se sumerge la punta que se seca -- con papel filtro esterilizado, y el nivel superior se enrasa con una división de 0.01 c.c.

Se deja fluir 0.01 c.c. de leche, que forma una gota pendiente de la pipeta, y se deposita en el centro de uno de los cuadros (que se destacan por la superposición de las dos láminas) aproximándole la punta de la pipeta. Esta gota se extiende uniformemente por toda la superficie de la ventana cortada, con un alambre de platino o de otro metal previamente flameado. Con la misma pipeta lavada con éter, alcohol de 95° o con lejía de potasa al 3% en el intervalo de dos exámenes seguidos, se puede realizar toda una serie de análisis. Asimismo las pipetas se conservan permanentemente en una probeta con la mezcla recomendada para la limpieza de los portaobjetos, enjuagándolas con agua destilada antes de cada análisis y después de él.

El portaobjetos con la extensión de leche se seca a una temperatura que no sobrepase los 40°C., operación que no debe durar más de 5 minutos.

A continuación se tinte con azul de metileno siguiendo la técnica pertinente, previo desgrasado con xilol durante 1-5 minutos, y después con alcohol de 90° durante 1 minuto, lo cuál sirve incluso de fijador.

La preparación se seca con aire caliente, nunca con papel filtro y se examina con objetivo de inmersión, procurando que el examen se haga a lo largo de una diagonal del cuadrado.

Recontados los gérmenes de un número dispar de campos, según sea la riqueza microbiana de la leche, el total se multiplica por un factor basado en el volúmen de la leche y en la extensión superficial del campo microscópico.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE GERMENES ACIDIFICANTES.— Se emplearon siembras de leche en medio de cultivo dotado de un indicador de pH, uno con Azul de China y otro medio de Bromotímol.

En el primer caso se trata de un medio de agar ordinario -- neutro o patrón, al que se ha añadido, antes de esterilizarlo el 2% de lactosa y 5 a 7 gotas de solución acuosa saturada de Azul de China a 100 c.c. de agar licuado, se siembra y vierte en placas de Petri del modo ordinario o bien en estrías. Incubándose por 48 horas a 37°.

El otro medio empleado fué para determinar las bacterias alcalígenas con mayor precisión; el medio se preparó agregando 2 c. c. solución acuosa saturada de azul de Bromotímol a 1 litro de -- agar ordinario neutro lactosado. Se hicieron siembras en cajas de Petri por estrías, se incubaron a 37° C. por 48 horas.

INVESTIGACION DE BACTERIAS PATOGENAS.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS.— Exámen microscópico directo.—

En un tubo de centrífuga provisto de tapón y de caperuza de caucho se ponen 10 c.c. de leche y se le agrega 0.5 c.c. de solución de tripsina (solución tripsínica de Allen y Hanbury). Se incubaba a 56° C., durante 3 horas, o a 37° C. durante 6 horas. Se enfría y se le añaden 5 c.c. de éter. Se cierra el tubo convenientemente y se agita unas 200 veces.

Se centrifuga 20 minutos a 4000 revoluciones por minuto, con lo cual el contenido del tubo se divide en tres capas: una superficial, que contiene la manteca disuelta en éter; otra profunda,

gelatinosa, que debe contener las bacterias resistentes al alcohol y a los ácidos, y entre ambas un fluido claro.

Se hace una extensión de la capa gelatinosa diluida en agua, se seca a la temperatura ambiente y se desengresa con una mezcla de alcohol y éter durante dos horas. Se tiñe por el método de Ziehl Neelsen para los gérmenes alcoholresistentes y ácidosresistentes. Se examina al microscopio con objetivo de inmersión; la presencia de éstos gérmenes se descubre por el hallazgo de bacilos teñidos de rojo sobre un fondo azul destacando perfectamente.

Además se siguió otra técnica más segura y de resultados más positivos para el hallazgo de éstos gérmenes, según las experiencias de Maurice Thomas que fué la siguiente:

Se mezcla la leche con una solución alcohólica de amoníaco a partes iguales (Alcohol de 70°, 1000 c.c.; amoníaco con 22° Beaumé 120 c.c.), y se deja en contacto durante 2 horas.

Se centrifuga a 5000 revoluciones por minuto, durante una hora. Se decanta y se deja escurrir. Se le agregan al sedimento 0.25 a 0.5 c.c. de solución salina fisiológica y se emulsiona. Se aspira la emulsión y se extiende en portaobjetos en capa delgada. Se seca y se tiñe por el procedimiento de Ziehl-Neelsen.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE BRUCELLAS.- Prueba por Cultivos.- Se centrifugan 50 c.c. de leche y al sedimento se le añaden 1 c.c. de agua destilada. Con una asa se siembran, 10, 5, 2 y 1 gotas de ésta emulsión en tubos conteniendo el medio siguiente:

Infusión de hígado 20 gr.

Peptona 10 gr.
 Cloruro sódico 5 "
 Agar 20 "
 Agua destilada 1000 c.c.
 Su pH se gradúa a 7.2 y se le agrega :
 Solución alcohólica saturada de violeta de
 genciana 0.1 c.c.

Se esteriliza tres días seguidos a 100°C. durante 30 minutos.

Una vez efectuadas las siembras se incuban a 37°C., durante 3 a 4 días, en una atmósfera cuyo 5 a 10% se ha sustituido por ácido carbónico, consiguiéndose ésta sustitución quemando dentro de la cámara 0.15 c.c. de alcohol absoluto por cada tres litros de su capacidad. En cuanto a los tubos, después de sembrarlos se cuemó en su interior un poco de algodón que se utilizó para taponear.

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE.— Se toman 10 c.c. de leche, recogida asépticamente, se pone en un tubo de centrifuga esterilizado y se centrifuga. Con el sedimento se hace una extensión y se tiñe por el método de Newman, con azul de metileno y por el método de Gram.

En vista de que por centrifugación se destruyen las cadenas de éste germen, se hicieron extensiones con el sedimento de leche previamente incubada a 37°C. durante 24 a 48 horas.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y STAPHYLOCOCCUS ALBUS.— Se hicieron cultivos en cajas de Petri, en medio de agar glucosado. Se incubaron durante 48 horas a una temperatura de 37°C. Distinguiéndose sus colonias con relativa facilidad por ser grandes y fácilmente distinguibles por el color: amarillo oro para el Aureus y blanco para el Albus. Se hicieron extensiones y tinciones por el método de Gram.

ANALISIS QUIMICO BACTERIOLOGICO DE LA LECHE DE LA CIUDAD
DE GUADALAJARA.

- 1.- INTRODUCCION
- 2.- GENERALIDADES SOBRE LACTOLOGIA.
- 3.- COMPOSICION NORMAL DE LA LECHE.
- 4.- ANALISIS DE LA LECHE.
- 5.- METODOS DE ANALISIS.
- 6.- RESULTADOS.
- 7.- CONCLUSIONES.
- 8.- BIBLIOGRAFIA.

SALMONELLA ENTERITIDIS Y SHIGELLA DYSENTERIAE.- Se emplearon medios de cultivo que, además de bacteriostáticos, permiten diferenciar las colonias de los gérmenes del grupo coliforme, - de las desarrolladas por las salmonelas.

Se empleó el medio de cultivo de Kauffmann, que es un medio empleado para enriquecer los cultivos de salmonelas, de composición:

Caldo peptonado (con pH 7.5)	450 c.c.
Carbonato cálcico	22.5 gr.
Hiposulfito sódico al 50%	50 c.c.
Sol. al 20% de yodo y al 25% de IK	10 c.c.
Verde Brillante purísimo	1 gr.
Bilis aséptica	25 "

No dando éste medio los resultados esperados, se hicieron cultivos en S I M medium (Facto), habiéndose obtenido resultados superiores al medio anterior, de más fácil técnica y de manejo más sencillo, tanto para la esterilización como para la siembra.

STREPTOCOCCUS PYOGENES.- Se sembró la leche en un medio de agar sangre de Brown y Smith, previa incubación de aquella en medio de Muckensie.

AGAR SANGRE DE BROWN Y SMITH.

Agua	1000 c.c.
Carne de ternera	500 gr.
Peptona	10 "
Cloruro sódico	5 "

Agar 15 Gr.

Se regula el pH de 7.2 a 7.3, se esteriliza a 115°C., durante 30 minutos. En el momento de emplearlo, a cada 10 c.c. se le agregan 0.6 c.c. de sangre desfibrinada aséptica de caballo o cernero.

De las colonias se hicieron extensiones que se colorearon con Gram.

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE. - Se empleó como medio de cultivo un medio bacteriostático con telurito potásico, empleándose el Bacto Tellurite Flood Solution (Bifco). Identificándose sus colonias por sus características, son regulares, con el centro negro y la periferia cenicienta, y pasados 3 o 4 días se vuelven cenicientas, negruzcas.

Además se hicieron extensiones de las colonias, que se colorearon por el azul de metileno para su reconocimiento.

RESULTADO DEL ANALISIS.

CARACTERES ORGANOLEPTICOS.

OLOR.- A simple apreciación la mayoría de las leches presentaron olores normales, no alterados ni por el calentamiento, sólo en las leches con un grado de acidez mayor de 19°, pudo apreciarse después de la ebullición un franco olor a ácido (Leche agria). Después de los 21° Dornic el olor agrio era perceptible a temperatura normal.

SABOR.- Como en el caso anterior, el sabor anormal predominante fué el de las leches con una acidez superior a 21° Dornic, facilmente perceptible a temperatura normal.

COLOR.- Se encontró una variedad de aspectos en las leches analizadas, dependiendo éstos de sus componentes, variando desde el opaco, blanco amarillento, hasta el azulado y transparente indicador de un agudo fraudulento.

ESPUMA.- En pocas muestras se pudo apreciar espuma, debida casi en su mayoría a la agitación sufrida en el transporte de la muestra, desapareciendo ésta por el reposo.

TEMPERATURA.- Siempre superiores a 15°C. hasta 25°C. Temperaturas que demuestran la falta de refrigeración adecuada en los expendios; facilitando el desarrollo de toda clase de microorganismos y haciendo su conservación casi nula.

DENSIDAD, EXTRACTO SECO, CENIZAS Y ACIDEZ.- En las tablas de resultados siguientes, se puede observar las variantes de estos componentes. Todos los resultados expresados en porcentaje, son el promedio diario de muestras tanto matutina como vespertina.

RESULTADOS DE LAS LECHE ANALIZADAS

SECTOR REFORMA.

NORMALES	1.028-1.034	.16-.19%	3.5%	87.50%	12.5 %	0.70%	0%	0%	0%	Más de 530 hrs.
MUESTRA	D. a 15°C	ACIDEZ	GRASA	AGUA	EXT.SECO	CENIZAS	AGUA DE LECHE NATURO	DESNATURO	F.TOTAL	C. RELECTORA.
I	1.029	.14%	2.9 %	87.5 %	12.45 %	0.74%	-	27.0 %	27.0 %	5.45
II	1.0282	.17%	3.25%	87.1 %	12.9 %	0.73%	-	-	-	5.30
III	1.027	.14 %	2.75%	90.2 %	9.8 %	0.63%	21.0 %	22.0 %	43.0 %	4.25
IV	1.032	.16 %	2.98%	89.7 %	10.3 %	0.71%	17.0 %	4.0 %	21.0 %	3.45
V	1.029	.153%	3.45%	86.8 %	13.2 %	0.77%	-	-	-	5.50
VI	1.0292	.164%	3.5 %	88.2 %	11.8 %	0.69%	13.0 %	-	13.0 %	6.50
VII	1.0312	.15 %	3.21%	85.6 %	14.4 %	0.83%	-	6.9 %	6.9 %	5.38
VIII	1.028	.14 %	3.07%	87.54%	12.46 %	0.76%	-	11.01%	11.01%	4.15
IX	1.030	.161%	3.0 %	87.7 %	12.3 %	0.65%	-	13.0 %	13.0 %	6.50
X	1.0262	.16 %	2.68%	87.24%	12.76 %	0.70%	-	22.0 %	22.0 %	7.05

SECTOR LIBERTAD.

I	1.0292	.15 %	3.07%	89.1 %	10.9 %	0.72%	14.0 %	11.01%	25.01%	5.20
II	1.0312	.153%	4.22%	87.6 %	12.4 %	0.75%	-	-	-	6.30
III	1.0265	.126%	2.83%	88.4 %	11.6 %	0.67%	7.0 %	17.97%	24.97%	2.45
IV	1.0274	.15 %	3.66%	87.55%	12.45 %	0.63%	-	-	-	5.25
V	1.0328	.18 %	2.87%	84.11%	15.89 %	0.92%	-	16.81%	16.81%	7.30
VI	1.0271	.15 %	3.12%	88.91%	11.09 %	0.68%	10.35%	9.5 %	19.85%	6.45
VII	1.0296	.18 %	3.33%	86.57%	13.43 %	0.74%	-	-	-	5.55
VIII	1.0318	.12 %	2.012	83.43%	16.82 %	0.76%	-	15.59%	15.59%	1.35
IX	1.027	.16 %	3.32%	89.73%	10.27 %	0.71%	17.0 %	1.48%	18.48%	6.45
X	1.028	.17 %	3.80%	88.2 %	11.8 %	0.69%	4.61%	-	4.61%	5.40

RESULTADOS DE LAS LECHE ANALIZADAS.

SECTOR HIDALGO.

NORMALES	1.028-1.034	.16-.19%	3.5%	87.50%	10.50%	0.70%	0%	0%	0%	Má de 5.30 hrs.
MUESTRA	L.a 15° C.	ACIDEZ	GRASA	AGUA	EXT. SECO	GENIZAS	AGUALO	DEFATADO	F. TOTAL	C. REDUCTORA.
I	1.0314	.14 %	2.159%	89.55%	10.407%	0.63%	15.87%	21.43%	37.30%	5.30
II	1.0298	.135%	3.108%	88.47%	11.522%	0.66%	7.67%	2.13%	9.80%	3.35
III	1.0262	.139%	2.513%	90.05%	9.941%	0.65%	19.64%	2.7 %	29.34%	3.15
IV	1.027	.15 %	3.710%	88.87%	11.122%	0.69%	10.09%	-	10.09%	5.45
V	1.029	.153%	3.521%	87.53%	12.46 %	0.71%	-	-	-	5.45
VI	1.032	.18 %	2.742%	89.61%	10.386%	0.62%	16.04%	3.3 %	19.34%	6.30
VII	1.0284	.139%	2.963%	89.18%	10.816%	0.69%	12.56%	2.9 %	15.46%	4.30
VIII	1.029	.16 %	3.063%	87.57%	12.43 %	0.70%	-	12.0 %	12.0 %	6.30
IX	1.030	.16 %	3.08 %	87.58%	12.42 %	0.70%	6.0 %	18.9 %	24.60%	4.55
X	1.029	.144%	2.651%	88.26%	11.732%	0.67%	-	12.0 %	12.0 %	5.50

SECTOR JUAREZ.

I	1.032	.171%	2.931%	91.84%	8.155%	0.62%	35.0 %	23.0 %	58.0 %	6.30
II	1.029	.18 %	3.352%	88.52%	11.480%	0.70%	6.0 %	-	8.0 %	6.30
III	1.0284	.214%	3.021%	88.81%	11.188%	0.68%	9.6 %	4.0 %	13.60%	4.50
IV	1.029	.148%	2.582%	87.68%	12.32 %	0.73%	8.6 %	15.0 %	23.6 %	5.50
V	1.026	.16 %	2.364%	89.51%	10.485%	0.61%	16.0 %	14.0 %	30.0 %	5.15
VI	1.0272	.15 %	3.0 %	88.138%	11.862%	0.65%	4.1 %	6.9 %	11.0 %	5.15
VII	1.030	.17 %	3.410%	88.21%	11.784%	0.71%	5.0 %	-	5.0 %	4.15
VIII	1.032	.14 %	2.273%	89.36%	10.64 %	0.65%	14.0 %	24.0 %	38.0 %	3.30
IX	1.029	.172%	3.042%	87.54%	12.451%	0.72%	-	13.0 %	13.0 %	4.30
X	1.033	.132%	2.263%	90.57%	9.43 %	0.65%	24.0 %	14.0 %	38.0 %	2.30

COLOMIA DEL FRESNO.

NOEMALES	1.028-1.034	.16-.19%	3.5%	87.50%	12.50%	0.70%	0%	0%	0%	0%	Más de 5.30 hrs.
MUESTRA	D. a 15° C.	ACIDEZ	GRASA	AGUA	EXT. SECO	CENIZAS	AGUAICO	DESRATAO	F. TOTAL	C. REDUCTORA.	
I	1.0286	.185%	2.75 %	87.76%	12.230 %	0.68%	1.2 %	21.2 %	22.2 %	4.30	
II	1.026	.16 %	2.538%	91.66%	8.338 %	0.65%	32.6 %	8.5 %	41.1 %	5.15	
III	1.0317	.14 %	2.352%	90.72%	9.275 %	0.57%	25.1 %	9.1 %	34.2 %	4.45	
IV	1.0306	.21 %	3.248%	88.11%	11.884 %	0.69%	4.0 %	2.0 %	6.0 %	4.0	
V	1.0289	.17 %	3.55 %	88.03%	11.965 %	0.71%	3.3 %	-	3.3 %	5.30	
VI	1.0299	.19 %	2.983%	88.64%	11.352 %	0.67%	8.3 %	1.92%	10.22%	5.30	
VII	1.031	.23 %	3.6 %	87.63%	12.362 %	0.70%	-	-	-		
VIII	1.0302	.18 %	2.76 %	88.62%	11.372 %	0.67%	3.1 %	14.1 %	22.2 %	5.15	
IX	1.0266	.19 %	3.0 %	89.46%	10.54 %	0.66%	14.8 %	2.3 %	17.1 %	5.15	
X	1.027	.21 %	2.582%	89.04%	10.953 %	0.64%	11.5 %	15.0 %	26.5 %	4.45	

ESTABLOS INDEPENDIENTES.

I	1.025	.125%	2.631%	88.11%	11.881 %	0.69%	4.0 %	19.6 %	23.6 %	3.45
II	1.0284	.13 %	3.963%	88.38%	11.618 %	0.70%	7.9 %	-	7.9 %	4.15
III	1.026	.153%	2.975%	87.53%	12.463 %	0.73%	-	11.5 %	11.5 %	5.0
IV	1.030	.17 %	3.320%	89.85%	10.142 %	0.65%	18.1 %	14.8 %	32.9 %	5.30
V	1.0294	.16 %	3.231%	87.42%	12.573 %	0.72%	-	8.0 %	8.0 %	5.30

T LA QUE PA QUE.

I	1.0292	.15 %	3.268%	87.96%	12.032 %	0.69%	2.9 %	2.4 %	5.3 %	3.45
II	1.0282	.145%	3.46 %	88.64%	11.352 %	0.73%	8.2 %	-	8.2 %	4.30
III	1.029	.153%	3.582%	87.56%	12.439 %	0.71%	-	-	-	5.14
IV	1.032	.18 %	2.864%	88.83%	11.170 %	0.65%	9.8 %	2.9 %	12.7 %	4.0
V	1.025	.13 %	2.456%	85.39%	11.170 %	0.77%	30.0 %	-	-30.0 %	2.45

Z A P O P A N.

NOEMALES	1.028-1.034	.16-.19%	3.5%	87.50%	12.50%	0.70%	0%	0%	0%	Más de 5.30 hrs.
MUESTRA	D. a 15° C.	ACILEZ	GRASA	AGUA	EXT. SECC	CENIZAS	AGUADE	DESNATADO	F. TOTAL	C. REDUCTORA.
I	1.0314	.162%	2.963%	87.74%	12.251%	0.67%	1.0 %	12.2 %	13.2 %	5.15
II	1.0252	.15 %	3.0 %	86.61%	13.385%	0.71%	-	19.7 %	19.7 %	5.18
III	1.030	.17 %	2.584%	88.37%	11.624%	0.67%	6.1 %	20.3 %	26.4 %	5.45
IV	1.032	.16 %	2.35 %	89.15%	10.843%	0.64%	12.4 %	20.6 %	33.0 %	6.15
V	1.028	.15 %	2.976%	87.73%	12.264%	0.69%	1.0 %	13.0 %	14.0 %	4.30

A T E M A J A C.

I	1.028	.17 %	2.93 %	87.38%	12.32 %	0.67%	1.0 %	14.8 %	15.8 %	3.30
II	1.032	.15 %	2.33 %	88.39%	11.61 %	0.65%	7.0 %	28.1 %	35.7 %	4.45
III	1.026	.16 %	3.35 %	89.08%	10.92 %	0.62%	11.8 %	7.0 %	18.8 %	6.55
IV	1.029	.17 %	3.09 %	87.71%	12.29 %	0.70%	1.0 %	9.0 %	10.0 %	6.15
V	1.030	.14 %	2.21 %	86.58%	11.42 %	0.64%	8.5 %	31.2 %	39.7 %	5.30

CAPACIDAD REDUCTORA DE LA LECHE COMO INDICADOR DE SU GRADO DE CONSERVACION.

Todas las células vivas, incluyendo los microorganismos, poseen poder reductor, puesto de manifiesto por su acción sobre el azul de metileno. Por eso, la rapidez con que la leche decolora el azul de Metileno, guarda relación con su riqueza microbiana, detallada sobre el cual se basa la prueba de la reductasa que Barthel descubrió en 1907 y después fué objeto de investigaciones por parte de Barthel y Orla-Jensen (1909).

Es opinión generalizada que el plazo de decoloración determinado por la prueba de la reductasa con leches, proporciona resultados tan satisfactorios como el recuento microbiano en placas de Petri.

La prueba de la reductasa revela la proliferación microbiana antes de que ésta haya determinado una modificación notable en su medio de cultivo, por lo cual es un método eficiente para clasificar las leches destinadas a su consumo en estado natural o a la fabricación de lacteicinos.

Clasificación de la leche o evaluación del contenido microbiano según los resultados de la prueba de la reductasa:

LECHE	REDUCTASA HRS.	BACTERIAS EN PLACAS	CONSERVACION
Muy mala	De 1 a 0.30 hrs ó menos.	5 millones o más	de 14 ó más hrs.
Mala	De 2 a 3.30 hrs.	De 700'000 a 5 millones.	de 15 a 22 hrs.
Buena	De 4 a 5.30 hrs.	De 200'000 a 700'000	de 23 a 32 hrs.
Muy buena.	De 6 horas y más.	Hasta 200'000	Más de 32 hrs.

LA ACIDEZ ELEVADA COMO INDICADOR DE LA CONTAMINACION DE LA LECHE.

PRUEBA DEL ALCOHOL.— La leche de vaca normal no se altera -- con ésta prueba. El resultado positivo se pone de manifiesto por masas grandes, medianas o pequeñas de cuajada, formadas en la pared del tubo de ensayo. Si la leche no se modifica, la prueba es negativa, indicando que resistirá bien la esterilización. Los coágulos grandes suelen revelar que la leche tiene una acidez que rebasa el .20% y otras circunstancias anormales.

Si la leche tiene reacción normal, se puede calentar a 40°C. y por el anticipo de su coagulación se descubre si está alterada. Toda leche en buenas condiciones higiénicas sólo coagula transcurridas de 4 a 6 horas.

De las muestras analizadas se observó que aquellas con una acidez mayor del .19% (19° Dornic), se formaba floculación leve, en pequeños copos que se ponían de manifiesto deslizando la leche por las paredes del tubo; entre los 21° y 23° (que fué el grado mayor de acidez presentado en el exámen), la floculación se acentuó.

Se considera que el límite mínimo de la acidez de la leche de vaca con su prueba de alcohol positiva, es de 22° a 23° Dornic. En cuanto a la leche de oveja, según ésta determinación, empieza a coagularse con una acidez de 25° a 26° Dornic, desechándose por lo tanto la probabilidad de una adulteración por leche de oveja.

PRUEBA DE LA EBULLICION.— Según diversos autores, los límites

de la acidéz de la leche de vaca que tolera la ebullición están comprendidos entre: 25° y 30° Dornic (MONVOISIN), 24° y 26° -- Dornic (ROSELL), 26° y 27° Dornic (FLEISCHMANN), 27° Dornic (GERBER), 17° y 22° Dornic (DORNIC), 22.5° Dornic (DOPNER).

Según nuestra experiencia, los límites de la acidez tolerada por la ebullición fué entre 18.5° y 21° Dornic.

Pasando de éstos límites se apreció la floculación de la leche expuesta a la ebullición, por su elevada acidez, determinándose por lo tanto, su mala conservación y de no ser apropiada para el tratamiento por el calor.

ADULTERACIONES DE LA LECHE.

AGUALO Y DESNATADO.- Los porcentajes de éstas adulteraciones se exponen en las tablas incluídas a continuación,

ADICION DE CONSERVADORES.- El único fraude de ésta naturaleza encontrado fué la adición de neutralizantes, carbonato y bicarbonato alcalinos.

En la muestra VIII del Sector Reforma se encontraron indicios de carbonato de sodio, siendo una leche cuyos componentes primordiales estaban entre los límites normales, la adición de carbonato la hizo desechable; además se encontró éste fraude en las muestras: III, VIII (Sector Libertad), II (Sector Hidalgo), X (Sector Juárez), V (Tlacuenaque), II (Establos Independientes).

La formación de lactato de sodio es causa de diarreas y malestares gástricos, además la inhibición del ácido láctico da lugar a un mayor desarrollo de bacterias.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE COLORANTES.

Cromatos y Bicromatos.- Negativa.

Amaranjado III.- Negativa.

Annatto.- Negativa.

Colorantes de Alquitrán de Hulla.- Negativa.

EXAMEN BACTERIOLOGICO.

RECUEENTO MICROBIANO TOTAL.- Por el método de Breed y comprobado por el de las Placas de Petri.

Los resultados obtenidos en las leches analizadas fué el siguiente:

SECTOR REFORMA.- La cantidad de bacterias por centímetro cúbico fluctuó entre 75'000 y 1'000'000 de bacterias por centímetro cúbico.

Concordando éstos datos con los de la acidez y capacidad reductora de las muestras; las muestras I a VI e IX - V fueron las únicas con cantidades de bacterias dentro de los límites normales mínimos.

SECTOR LIBERTAD.- 62'000 y 2'750'000 bacterias por c.c. valores mínimo y máximo.

Las muestras II - V - VI - VII - IX se encontraron entre los valores aceptables con un promedio de 70'000 bacterias por centímetro cúbico.

SECTOR HIPALGO.- Valores entre 93'000 y 700'000 bacterias por centímetro cúbico.

Muestras VI - VIII fueron las dos únicas muestras aceptables con un valor promedio de 93'200 bacterias por centímetro cúbico.

SECTOR JUAREZ.- Valores promedio entre 90'000 y 2'300'000 bacterias por c.c.

Muestras I - II con un promedio de 90'000 bacterias por

centímetro cúbico, entre los límites normales; cabe indicar aquí que en todos los sectores de la ciudad se puso de manifiesto, la ausencia total de medios de refrigeración adecuada para la conservación de la leche, durando ésta varias horas en recipientes descubiertos en los que la limpieza es casi nula.

COLONIA DEL PUESNO.- En ésta colonia no se encontró una sola muestra que pudiera clasificarse ni como aceptable, todas las muestras analizadas rebasaron las 250'000 bacterias por c.c., -- siendo el valor mínimo el de 263'000 bacterias por c.c. y el --- máximo el de 1'200'000 bacterias por c.c.

ESTABLOS INDEPENDIENTES.- Límites entre 75'000 y 700'000.

En éstas muestras incluída una de leche pasteurizada que -- fué la muestra IV con 75'000 bacterias por c.c., sobrepasaba el límite máximo para una leche pasteurizada de buena calidad dando tando el descuido en el proceso y envasado de la muestra.

TLAQUEPAQUE.- Valores entre 175'000 y 3'000'000 de bacte--- rias por c.c.

No encontrándose ni una sola muestra dentro de los valores normales requeridos.

ZAPOPAN.- Valores entre 35'000 y 5000'000 bacterias por c.c.

La muestra IV con 85'000 bacterias por c.c. fué la única si tuada entre los límites normales.

ATEMAJAC.- Valores entre 60'000 y 1'900'000 bacterias por c.

c.

Muestras III y IV con valores de 60'000 y 75'000 bacterias por c.c., son las únicas muestras que lograron clasificar como le

ches de buena calidad en cuanto a su contenido microbiano,

Como se observa en los resultados del análisis bacteriológico los valores normales de bacterias en la leche, no obstante de haberse tomado las muestras de la mañana en las primeras horas de su venta e igualmente por la tarde, el alto contenido microbiano se debe ante todo al deficiente control sanitario, desde el momento del ordeño, transporte y venta, hasta llegar a las manos del consumidor; siendo nulas las precauciones tomadas para la buena conservación de la leche.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE GERMESES ACIDIFICANTES.-

Todos los cultivos desarrollaron colonias, fácilmente diferenciables por su coloración. Esta investigación se emplea en la determinación de la presencia de gérmenes lactacidógenos, principalmente los grupos del *Streptococcus Lactis* y *Streptococcus Cremoris*, para fines industriales; asimismo la diferenciación de las bacterias acidógenas de los gérmenes alcalígenos.

En el medio de cultivo de Henneberg, los gérmenes lactacidógenos se diferencian con facilidad y perfectamente de los demás gérmenes. Los *S. Lactis* y *S. Cremoris*, desarrollan colonias pequeñas, puntiformes, redondeadas, de color azul oscuro; los bacilos lácticos de éstas colonias son todavía un poco más azules, pequeños, pero observados al microscopio se descubre que son colonias planas de ondulado irregular.

Este agar lactosado y con Azul de China permite diferenciar con facilidad otros tipos bacterianos:

- a) Los gérmenes que no fermentan la lactosa desarrollan co-

lonias incoloras.

b) Si desarrollan alcalinidad (Bact. fecalis alcaligenes) de terminan decoloración.

c) Los bacilos Coli, que también fermentan la lactosa, constituyen colonias menos intensamente azules y mayores, y en las colonias profundas, o las desarrolladas entre dos capas de agar - (vertiendo una segunda capa de agar licuado aséptico o bien agar licuado y sembrado sobre una capa de agar sin sembrar previamente solidificado, con lo cual se establecen unas condiciones semianaerobias), se puede comprobar el desarrollo de gases a partir de la lactosa por agrietarse o despejarse el agar en las inmediaciones de las colonias.

En el medio con azul de Bromotimol, se hicieron cultivos para diferenciar las bacterias alcalígenas. El medio neutro es de color verde, y las bacterias alcalígenas producen colonias profundas de un color azul intenso.

B A C T E R I A S P A T O G E N A S.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS.- Se hicieron exámenes por el método directo y el método de Mauricio Thomas, pero en ninguna muestra el resultado fué positivo.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE BRUCELLAS.- En las muestras del Sector Hidalgo (II) y la muestra de Tlaquepaque (V), se encontró esta clase de bacteria.

Se incubó el tubo con el medio de agar sembrado a 37°C., por cuatro días, en ese plazo se desarrollaron colonias muy pequeñas

de 1 a 2 mm. de diámetro, constituidas por bacilos cortos y gram negativos.

Se hicieron siembras para aislar el bacilo, en agar, con una atmósfera de ácido carbónico (como se describió en la técnica), se hicieron quince resiembras hasta que se desarrollaron las colonias en medio aerobio. Las colonias obtenidas tenían forma esférica, color azulado, tenue y translúcidas, su tamaño media entre 3 y 5 mm. de diámetro. Miradas desde arriba las colonias de la superficie de los tubos inclinados tenían el aspecto de húmedas o mantecosas, a la semana las colonias se volvieron pardas, propagándose el color por todo el medio de cultivo. En las extensiones teñidas por el método de Gram se observaron bacterias en forma coccide, gramnegativas, inmóviles y con cápsula. Por las características de sus colonias y su morfología se dedujo se trataba de la *Brucella Melitensis*.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE.-

En las muestras IV (Sector Reforma), VIII (Sector Libertad), I (Atzacpac), IV y VII (Colonia del Fresno), se encontró esta bacteria.

Con el sedimento obtenido de la centrifugación se hicieron extensiones, teñidas por el método de Neumann y el de Gram.

Se reconoció por su morfología microscópica, forma de coco, de 0.4 a 1.2 micras, dispuestos en cadenas, de ordinario muy largas. Sus elementos son alargadas, con el eje mayor, por lo general perpendicular al eje de la cadena.

En las extensiones se observó la presencia de leucocitos --

predominando los polinucleares, en poca cantidad, con algunos es trectococos.

Este Streptococcus Agalactiae es conocido como el germen de la mastitis.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DEL STAFILOCOCCUS ALBUS Y DEL STAFILOCOCCUS AUREUS.- En un 10% de las muestras analizadas se encontró el Stafilococcus Albus, tras una incubación de 48 horas a 37°C. en medio de Agar, se desarrollaron colonias relativamente grandes de 3 a 5 mm. de diámetro de un color característico - blanco. Licuando la gelatina, sus elementos son grampositivos, - dispuestos en masas arrojadas.

El Stafilococcus Aureus, se encontró sólo en las muestras: III (Sector Hidalgo), X (Colonia del Fresno). Reconociéndose - por el color característico de sus colonias, color amarillo oro.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE SALMONELLA ENTERIDITIS Y - DE LA SHIGELLA DYSENTERIAE.- La Samonella enteriditis es un bacilo esporulado, gramnegativo, movable, midiendo de 2 a 3 micras - de longitud por 0.6 a 0.7 micras de espesor. Después de aislado por sospechoso del medio de cultivo bacteriostático, se identifi có por sus propiedades características: no licúa la gelatina, no fermenta la lactosa ni la sacarosa, por no acidificar ni liberar gas de la lactosa; pero en cambio fermentó la xilosa con produc- ción de acidez y de gas. A la leche ternasolada, primero la aci- difica y después la alcaliniza. Se demostró su presencia en las muestras VIII (Sector Hidalgo) y III (Colonia del Fresno).

De la Shigella Dysenteriae no hubo ningún caso positivo.

INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DEL CORYNEACTERIUM DIPHTERIAE.-

En las muestras: Colonia del Fresno (II), Sector Libertad -- (IX), Sector Juárez (I). Sus colonias características, primero -- tienen brillo metálico, son regulares con el centro negro y la pe riferie ceniciento y negruzcas en su totalidad. Son pequeñas de -- estructura granulosa, con los bordes irregulares y algunas veces rugosas, con una papila central.

Son bacilos rectos o un poco incurvados, que a menudo mues-- tran dilatado uno o ambos extremos, en forma de porra. Teñidos -- por el azul de Metileno, muestran bandas teñidas y sin teñir, -- poseen granuleciones metacromáticas, son inmóviles, grampositivas y de dimensiones dispares. No licúan la gelatina ni alteran la le che tornasolada.

C O N C L U S I O N E S.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DEL ANALISIS DE LA LECHE.-

En la práctica corriente, los principales elementos de juicio de que se dispone para averiguar la calidad de la leche, son su densidad, extracto seco, contenido en grasa y acidez. Disponiendo de laboratorio, comparando los resultados obtenidos con la misma leche en varios días, se puede basar un criterio más válido. Mientras no se tenga la absoluta seguridad de un fraude, es preferible abstenerse de emitir una opinión categórica, prosiguiendo una vigilancia rigurosa, con lo cuál se confía el proveedor aumentando el fraude hasta el punto de disiparse por completo las dudas.

La leche normal y pura suele tener, una densidad que media entre 1.028 y 1.034, más de 30 gr. de grasa por litro y extracto seco calculado mayor que 115 a 125 gramos por litro, o sea 11.5 a 12.5%.

Son excepcionales las leches puras de densidad inferior a 1.028 y menos de 30 gramos de grasa por litro. Por último, la acidez de la leche fresca suele estar comprendida entre 16°- 19° Dornic. Desde luego estos valores varían con la raza vacuna, el ordeño, el número de las vacas que proporcionan la mezcla láctea, etc.

La leche desnatada tiene una densidad bastante grande y escaso contenido en grasa, pero cuando el fraude no consiste en la mezcla de leche desnatada, no cabe emitir opinión sin proseguir algún tiempo el exámen de la leche. Por lo general, los proveedores desnatán la leche del ordeño vespertino cuando no disponen de

desnatadoras, o bien cuando sólo recogen la leche una vez al día. En estos casos la leche del ordeño vespertino contiene menos grasa que la del ordeño matutino, aun cuando produzca menos leche y que el intervalo entre los ordeños sea mayor el nocturno que el diurno. Por otra parte, las variaciones en el contenido en grasa son mucho mayores por la tarde que por la mañana, el fraude es muy irregular, a veces incluso imposible por cualquier estorbo, presencia de personas ajenas, llegada del transporte lechero antes de lo ordinario, pero generalmente es en los expendios en donde se adultera.

La leche aguada tiene escasa densidad, acidez inferior a 16° Bernic estando fresca, y menor contenido en todos los elementos nutritivos. Las leches de densidad inferior a 1.027 suelen estar aguadas exceptuando si su riqueza en grasa es grande, lo cual se suele conocer, por los hábitos, considerando el aspecto relativamente viscoso y opaco de la leche pura, mientras que las leches aguadas llaman la atención por su excesiva fluidez y transparencia; por otra parte el análisis de la grasa informa, claramente, sobre este extremo.

La leche desnatada y aguada puede tener la densidad normal, por lo común es que sea escasa, y su contenido en grasa es siempre inferior a lo normal.

Es común entre los inspectores destacados para el examen periódico de la leche, en nuestra ciudad, la toma de densidad únicamente tratando de dilucidar con éste dato las adulteraciones efectuadas en las leches; es imposible como se demuestra en nuestra

experiencia, que con sólo este dato se pueda dar una opinión acerca en cuanto a la calidad de la leche. Es necesario, por lo menos, además de la densidad, determinar el contenido en grasa y el extracto seco varios días seguidos, tomando muestras matutina y vespertina, y de este modo dar el veredicto apoyado con datos que lo reafirmen.

VALOR NUTRITIVO.- Tomando en cuenta el resultado del análisis deducimos el bajo poder alimenticio y nutritivo de las leches consumidas en la ciudad, dado su contenido en grasa, menor, en un 75% de los casos, del mínimo admitido por los códigos sanitarios en una leche de buena calidad.

Esta merma del contenido en grasa, es debida al fraudulento-descremado a que se somete la leche, generalmente con el afán de lucrar al público obteniendo el doble de ganancias vendiendo "leche" y derivados siendo única víctima el consumidor.

De su conservación, la leche de la ciudad por lo general se conserva poco tiempo, determinándose éste por la contaminación bacteriana a que está expuesta; en todos los expendios visitados la ausencia de medios de conservación fué notoria. Por lo general la leche se expende en grandes tinas, destapadas, en las cuales la dependienta introduce sus medidas tomadas con la mano, que por lo general ésta queda dentro de la leche al momento de llenar la medida, todos los utensilios empleados como medida de higiene sólo se someten a un enjuagado con agua corriente y sin más se emplean para recibir nuevas cantidades de leche.

De esa manera es natural que la leche se encuentre expuesta

a toda clase de contaminaciones, y su conservación sea tan deficiente que no dure aun más de 12 horas en condiciones sanitarias que lo hagan apto para el consumo.

Es natural, pues, que su alto contenido microbiano esté en relación con la mala conservación que se le dedica, la ausencia total de refrigeración y las condiciones antes descritas, hacen a la leche un medio de cultivo óptimo para el desarrollo de microorganismos, predominando bacterias lactacidógenas y alcalígenas que en breve tiempo le comunican a la leche sus características.

Además el empleo de sustancias conservadoras es totalmente desconocido entre los expendedores de leche, siendo únicamente la adición de carbonato y bicarbonato alcalinos, empleada en contados casos como neutralizante, siendo su empleo además de un fraude, nocivo para la salud pues es causa de trastornos gástricos graves.

Es pues menester ante todo, emplear medidas de control sanitarias periódicas, tanto en los expendios de leche como en las ordeñas, para determinar no sólo su estado sanitario sino su valor alimenticio, poder de conservación y los fraudes a que ha podido ser sometida.

Damos a continuación una marcha analítica, con métodos prácticos y de una certeza tal, que sus resultados nos dan datos suficientes para poder dictar un veredicto certero sobre la calidad y estado sanitario de la leche.

ANÁLISIS MAS IMPORTANTES Y DE TECNICA MAS SENCILLA PARA
DETERMINAR SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE.

- 1.- Temperatura.
- 2.- Densidad.
- 3.- Extracto seco.
- 4.- Determinación de la acidez.- (Método volumétrico).
- 5.- Determinación de la grasa.- (Método de Babcock).
- 6.- Capacidad reductora de la leche.- (Método del Azul de Metileno).
- 7.- Prueba del Alcohol.
- 8.- Prueba de la Ebullición.
- 9.- Determinación del contenido microbiano total.- (Método de Breed).

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Métodos Analíticos de Laboratorio Lactológico.- Tomo I.-
Dr. José Ma. Rosell - Sr. Ignacio Dos Santos.
- 2.- Métodos Analíticos de Laboratorio Lactológico.- Tomo II-
Microbiología de las Industrias Lácteas.- Dr. José Ma.
Rosell - Sr. Ignacio Dos Santos.
- 3.- Química Analítica.- Villavequia.
- 4.- Lecherías e Industrias Derivadas.- P. Oliver.
- 5.- Boletín de la American Association of Medical Milk
Commissions Inc.