

**EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD MICROBIOLÓGICOS,
FISICOQUÍMICOS Y PRESENCIA DE GLICOMACROPÉPTIDO DE CASEÍNA (cGMP) EN
LECHE CRUDA DE LA EMPRESA DE LÁCTEOS LA ESMERALDA UBICADA EN MADRID-
CUNDINAMARCA.**

DAYANID MORENO RAMIREZ

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA**

2024

**EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD MICROBIOLÓGICOS,
FISICOQUÍMICOS Y PRESENCIA DE GLICOMACROPÉPTIDO DE CASEÍNA (cGMP) EN
LECHE CRUDA DE LA EMPRESA DE LÁCTEOS LA ESMERALDA UBICADA EN MADRID-
CUNDINAMARCA.**

DAYANID MORENO RAMIREZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE MICROBIÓLOGO

Msc. DÉBORA ELIZABETH HERNÁNDEZ PÉREZ

ASESOR ACADÉMICO

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA

2024

Agradecimientos.

Agradezco a Dios por haberme guiado en este camino y darme la fuerza suficiente para perseverar, expreso mi más sincero agradecimiento a mi padre Jose Omar Moreno por su apoyo incondicional, por creer en mi y darme tanto en la vida, a mi madre Marta Cecilia Ramirez por amarme tanto llevarme en sus oraciones siempre, a mis hermanos Yuliana, Lisivel y Harold Moreno por darme siempre una palabra de aliento. A mi sobrino Johan Kaleth Moreno por ser mi luz en la vida, a mi compañero de vida Edgar Fajardo Artunduaga, por nunca soltar mi mano, ser mi lugar seguro en todo este proceso.

Agradecerles a todos mis compañeros los cuales muchos de ellos se han convertido en mis amigos y cómplices. Gracias por las horas compartidas, los trabajos realizados en conjunto y las historias vividas.

Por ultimo Agradecer a mi tutora la docente Debora Elizabeth Hernandez por su compromiso, guía y el acompañamiento brindado, a la universidad de Pamplona que forjaron mi camino en el aprendizaje, a mis tutoras empresariales Angela Viviana Lizcano y Ruth Montañez por brindarme la oportunidad de hacer parte del equipo Lacteos La esmeralda por todos los conocimientos compartidos.

Resumen.

El sector lácteo a nivel mundial constituye uno de los sistemas agroalimentarios de mayor demanda. No obstante, la leche es considerada uno de los alimentos con mayor índice de adulteración debido a su composición. Dentro de los adulterantes más comunes de la leche se encuentran el agua, neutralizantes para camuflar los niveles de acidez y el lactosuero que altera los valores de densidad y proteína en la leche. Sobre esta base, en Lácteos La Esmeralda, una empresa dedicada a la fabricación de leche UHT, se llevó a cabo una evaluación de los principales parámetros de calidad fisicoquímicos y microbiológicos en siete rutas de leche cruda ingresadas a la planta de procesamiento durante los meses marzo, abril y mayo de 2024. A nivel fisicoquímico se analizaron aspectos como; densidad, contenido de grasa, acidez titulable y contenido de proteína, estos se determinaron manualmente y también con ayuda de un Ekomilk. De otra parte, entre los parámetros biológicos se incluyó el recuento de aerobios mesófilos, la prueba de reductasa y el recuento de células somáticas. Finalmente, se efectuó la identificación de la presencia de glicomacropéptido de caseína (cGMP) a nivel cualitativo con el uso de un kit de detección rápida, así como su determinación cuantitativa mediante análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con el apoyo de un laboratorio externo. Los resultados demuestran que la leche cruda objeto de análisis cumple con los requisitos fisicoquímicos establecidos por el Decreto 616 de 2006. El recuento de aerobios mesófilos evidenció que el 29% de las rutas cumplieron con altos estándares de calidad. La prueba de reductasa mostró que el 38% de las rutas presentaron leche de buena calidad. Por último, el 43% de las rutas presentaron niveles satisfactorios en el recuento de células somáticas. En conclusión, estos resultados indican que la calidad global de la leche es aceptable, pero se requiere vigilancia y medidas correctivas en términos de calidad microbiológica.

Palabras Claves: adulteración, glicomacropéptido, leche cruda, seguridad alimentaria.

Abstract.

The dairy sector worldwide is one of the most in-demand agri-food systems. However, milk is considered one of the foods with the highest rate of adulteration due to its composition. Among the most common adulterants in milk are water, neutralizers to camouflage acidity levels, and whey, which alters the density and protein values in milk. On this basis, Lácteos La Esmeralda, a company dedicated to the manufacture of UHT milk, carried out an evaluation of the main physicochemical and microbiological quality parameters in seven routes of raw milk entering the processing plant during the months of March, April and May 2024. At the physicochemical level, aspects such as density, fat content, titratable acidity and protein content were analyzed, these were determined manually and with the help of an Ekomilk. On the other hand, the microbiological parameters included the mesophilic aerobic count, the reductase test and the somatic cell count. Finally, the presence of casein glycomacropeptide (cGMP) was identified qualitatively using a rapid detection kit and its quantitative determination by high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis with the support of an external laboratory. The results showed that the raw milk analyzed complies with the physicochemical requirements established by decree 616 of 2006. The mesophilic aerobic count showed that only 29% of the routes met the quality standards. The reductase test indicated that 38% of the routes presented good quality milk. Likewise, 43% of the routes presented low somatic cell counts. In conclusion, these results indicate that the overall quality of milk is acceptable, but monitoring and corrective measures are required in terms of microbiological quality.

Keywords: glycomacropeptide, raw milk, food safety, adulteration.

Tabla De Contenido.

1. Introducción.....	11
2. Objetivos.....	15
2.1. Objetivo General	15
2.2. Objetivos Específicos.....	15
3. Justificación	16
4. Marco Teórico.....	18
4.1. Características de la Leche Cruda	18
4.2. Composición Química de la Leche	19
4.1.1. Proteínas.....	20
4.1.2. Lípidos	20
4.1.3. Carbohidratos.....	20
4.1.4. Vitaminas y Minerales.	20
4.1.5. Enzimas.....	21
4.2. Propiedades Físicas y Químicas de la Leche.	21
4.3. Análisis Fisicoquímicos Aplicados a la Leche.....	22
4.3.1. Prueba de Acidez.	23
4.3.2. Prueba de Alcohol.....	24
4.3.3. Método de Gerber para Determinación del Contenido en Grasa.	24
4.3.4. Determinación de Sólidos Totales.	24
4.3.5. Prueba de Densidad o Gravedad Específica.	25
4.4. Microbiología de la Leche Cruda.....	25
4.4.1. Microorganismos Patógenos en la Leche.	25
4.4.2. Microorganismos Alterantes de la Leche Cruda.....	27
4.4.3. Microorganismos Productores de Mastitis.....	27
4.5. El Lactosuero: Subproducto Lácteo.	28
4.5.1. Componentes y Aprovechamiento del Lactosuero.	29
4.5.2. Regulaciones y Buenas Prácticas.....	29
4.5.3. Impacto Ambiental y Gestión Sostenible.	30

4.6.	Cromatografía de Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).....	30
4.6.1.	Fundamentos de la HPLC.	31
4.6.2.	Componentes y Tipos de HPLC.	31
4.6.3.	Aplicaciones de la HPLC.....	32
4.6.4.	Ventajas de la HPLC.....	32
4.7.	Métodos Rápidos Para la Detección de cGMP.	32
5.	Marco Legal.....	34
5.1.	Decreto 616 de 2006.	34
5.2.	Norma Técnica Colombiana 5819 de 2010.....	34
5.3.	Norma Técnica Colombiana 4978 de 2001.....	34
5.4.	Resolución 2270 de 2023 del Ministerio de Salud.....	35
6.	Metodología.....	36
6.1.	Determinación de los Parámetros Fisicoquímicos de Calidad de Leche Cruda de las Rutas que Ingresan a la Planta de Lácteos la Esmeralda.....	36
6.1.1.	Calibración de Equipos	36
6.1.2.	Análisis Fisicoquímicos en Leche Cruda Acorde a la Metodología Tradicional. ..	36
6.1.2.4.	Determinación de Acidez Mediante Titulación.	37
6.2.	Determinación de Indicadores de Calidad Microbiológica en las Rutas de Leche Cruda Que Ingresan a la Planta de Lácteos La Esmeralda.	39
6.2.1.	Recuento de Aerobios Mesófilos.	39
6.2.2.	Prueba de Reductasa.	39
6.2.3.	Recuento de Células Somáticas.	40
6.3.	Identificación de la Presencia De Glicomacropéptido de Caseína (cGMP) en las Rutas de Leche Cruda que Abastecen la Planta de Lácteos la Esmeralda Mediante el uso del Test Inmunocromatográfico STICK CGMP.	40
6.4.	Determinación de la Concentración de Glicomacropéptido de Caseína (CGMP) en las Rutas de Leche Cruda que Abastecen la Planta de Lácteos la Esmeralda Mediante el Uso de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).	41
7.	Cronograma de Actividades.	43
7.1.	Descripción de Actividades.....	43
8.	Resultados y Análisis de Resultados	44

8.1. Determinación de los Parámetros Fisicoquímicos en las Rutas de Leche Cruda Que Ingresan a la Planta de Lácteos la Esmeralda.	44
8.1.1. Calibración de Equipos.	45
8.1.2. Análisis Fisicoquímicos en Leche Cruda Acorde a la Metodología Tradicional ...	47
8.2. Determinación de Indicadores de Calidad Microbiológica en las Rutas de Leche Cruda Que Ingresan a la Planta de Lácteos la Esmeralda.	55
8.2.1. Recuento de Aerobios Mesófilos.	56
8.2.2. Prueba de Reductasa.	59
8.2.3. Recuento de Células Somáticas.	61
8.3. Identificación de la Presencia de Glicomacropéptido de Caseína (cGMP) en las Rutas de Leche Cruda Que Abastecen la Planta de Lácteos la Esmeralda Mediante el uso del Test Inmunocromatográfico STICK cGMP.	63
8.4. Determinación de la Concentración de Glicomacropéptido de Caseína (cGMP) en las Rutas de Leche Cruda Que Abastecen la Planta de Lácteos la Esmeralda Mediante el uso de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).	67
9. Conclusiones.	70
10. Sugerencias o Recomendaciones.	72
11. Referencias Bibliográficas.	73
12. Anexos	86

Índice de Tablas.

Tabla 1. Características de la leche cruda	23
Tabla 2. Cronograma de actividades	43
Tabla 3. Resultados obtenidos en la calibración del Lactoscan.	46
Tabla 4. Interpretación de resultados de la prueba de reductasa.	60
Tabla 5. Resultado semanal de la prueba de reductasa	60
Tabla 6. Recuento de células somáticas en las rutas analizadas	62
Tabla 7. Resultados de la determinación de cGMP con el uso del kit inmucromatografico Stick cGMP.	65
Tabla 8. Resultados obtenidos en el laboratorio de Biotrends para la determinación de cGMP mediante la técnica HPLC	68

Índice de Figuras.

Figura 1. Determinacion del promedio mensual de la densidad en las rutas de leche analizadas.	48
Figura 2. Determinación del promedio mensual del porcentaje de grasa en las rutas de leche analizadas.....	50
Figura 3. Determinacion del promedio mensual de acidez titulable en las rutas de leche analizadas.....	52
Figura 4. Determinación del promedio mensual del contenido de proteína en las rutas de leche analizadas.....	54
Figura 5. Recuento de aerobios mesófilos en las rutas de leche analizadas en el mes de mayo. .	57
Figura 6. Resultados negativos de cGMP mediante el kit inmuno stick CGMP	67

1. Introducción

La leche es un alimento completo, fuente esencial de nutrientes, incluyendo proteínas, calcio y vitaminas vitales (A, C, D, E, K, B1, B2, B6 y B12) para una dieta equilibrada en el ser humano; Debido a su composición, es una materia prima costosa (Fernández et al., 2015). El sector lácteo a nivel mundial constituye uno de los sistemas agroalimentarios de mayor demanda y competitividad. En tal sentido, el control de calidad de la leche cruda en las plantas de procesamiento resulta crucial para garantizar la seguridad y la salud de los consumidores. Lo anterior asegura que la leche cumpla con los estándares microbiológicos y de composición necesarios para prevenir enfermedades y mantener el valor nutricional de los productos lácteos. Además, un control riguroso de calidad protege la reputación de las marcas, reduce pérdidas económicas por productos no conformes y promueve prácticas sostenibles en toda la cadena de suministro (Cuesta de Santos, 2018).

En la última década, la industria láctea ha enfrentado nuevos desafíos frente a la acción fraudulenta de aditivos alimentarios. La leche es considerada uno de los alimentos con mayor índice de adulteración debido a su composición (Aquino et al., 2014). Dentro de los adulterantes más comunes de la leche se encuentran el agua, neutralizantes para camuflar los niveles de acidez, sal, azúcar, almidones, entre otras sustancias como el lactosuero que ayudan a corregir los valores de densidad y proteína en la leche (Santos et al., 2013).

A raíz de esta problemática, se han adoptado un conjunto de procedimientos fisicoquímicos cruciales en el análisis de calidad de la leche. Estas pruebas abarcan diversos aspectos por ejemplo, contaminantes microbiológicos (Guerrero, 2012). Actualmente, en Colombia, los parámetros de calidad para el procesamiento de leche cruda son establecidos por el Decreto 616 de 2006. En efecto, esta normativa presenta las directrices de obtención y procesamiento no solo de la leche

cruda, sino de derivados lácteos. Entre los parámetros mencionados por el mismo se destacan el contenido de proteína, contenido de grasa, acidez titulable, punto de crioscopia y límites para el recuento de bacterias en aerobios mesófilos, células somáticas y prueba de reductasa (Decreto 616., 2006), (NTC 399, 2002).

El control en los parámetros antes mencionados son una vía de aseguramiento de calidad, reduciendo el riesgo de intoxicaciones alimentarias al consumir el producto final, se sabe que la leche es una vía potencial para el crecimiento de bacterias patógenas como *Salmonella* *E.coli*, entre otros microorganismos alterantes, que no solo son un riesgo de salud pública si no que afectan también las características organolépticas de la leche cruda ocasionando pérdidas económicas notables.

Sin embargo, a pesar de estas regulaciones, se presentan prácticas desleales, como la adición de suero. Este último es un subproducto resultado de la precipitación de la leche durante la elaboración del queso, que contiene también un alto valor nutricional. Cuando se agrega de forma fraudulenta en una etapa de la cadena de producción láctea, representa un problema en temas de seguridad alimentaria, dado que se desconocen las características de su producción y compromete la calidad microbiológica del producto terminado, generando además un engaño al consumidor (Hernandez & Peña, 2016).

En Colombia, la industria láctea representa un comercio de rápida expansión, pero con vacíos notables en investigación para mitigar la problemática en mención, lo cual ha sido motivo de controversia. Como el suero es un componente natural de la leche y no puede diferenciarse fácilmente con pruebas básicas de control, el nuevo reto para las industrias ha sido la búsqueda de técnicas precisas y rápidas para su detección en la leche (Murcia et al., 2021).

En cuanto a la composición proteica del suero, se evidencia un amplio repertorio de proteínas que son de gran interés en aplicaciones como alimentos funcionales y suplementos. De modo que lo que antes era considerado como un desecho, hoy en día aporta muchos beneficios a la salud del ser humano (Bernal, 2022). Partiendo de esto, al analizar dichas proteínas, se destaca que corresponden a un sinfín de proteínas individuales presentes de forma natural, a excepción del glicomacropéptido de caseína (cGMP), el cual se produce durante el primer paso del procesamiento del queso (Galindo et al., 2006). Por lo tanto, ha sido considerado como indicador de adición de lactosuero en leche. Dado que el cGMP se libera por la acción del cuajo sobre la kappa-caseína, es único entre las proteínas séricas solubles y por su estructura rica en aminoácidos los métodos analíticos se han basado en la determinación de esta proteína (Murcia et al., 2021).

En este contexto, el uso de cromatografía líquida de alta definición (High-Performance Liquid Chromatography) ha sido bien aceptado en la detección y cuantificación de glicomacropéptido, sin desconocer el hecho de que una fracción de esta proteína se genera por acción microbiana o procesos enzimáticos originados por prácticas de manipulación y almacenamiento de la materia prima (Murcia et al., 2021). Esta técnica ha sido descrita recientemente por el Ministerio de Salud en la nueva Resolución 2270 de 2023 como el procedimiento a seguir para establecer valores de referencia de 30 $\mu\text{g-mg/ml}$ de lactosuero en leche cruda (Resolución 2270, 2023).

Ahora bien, las medianas empresas lácteas han contrastado los resultados de la implementación de técnicas inmunocromatográficas que pueden realizarse de manera rápida y sencilla en su espacio de recepción de materia primas, con análisis realizados por HPLC en laboratorios externos, puesto que es una técnica muy efectiva en cuantificación de glicomacropéptido (Martín et al., 2009).

En consecuencia, este trabajo tuvo por objetivo evaluar los parámetros de calidad fisicoquímicos, microbiológicos y la presencia de glicomacropéptido de caseína (cGMP) en leche cruda de la empresa de lácteos La Esmeralda ubicada en Madrid-Cundinamarca.

2. Objetivos

2.1.Objetivo General

Evaluar los parámetros de calidad microbiológicos, fisicoquímicos y presencia de glicomacropéptido de caseína (cGMP) en leche cruda de la empresa de lácteos La Esmeralda ubicada en Madrid-Cundinamarca.

2.2.Objetivos Específicos

- Determinar la condición microbiológica y fisicoquímica de la leche cruda de las rutas que ingresan a la planta de lácteos La Esmeralda.
- Identificar la presencia de glicomacropéptido de caseína (cGMP) en las rutas de leche cruda que abastecen la planta de lácteos La Esmeralda mediante el uso del test inmunocromatográfico Stick cGMP.
- Cuantificar la concentración de glicomacropéptido de caseína (cGMP) en las rutas de leche cruda que abastecen la planta de lácteos La Esmeralda mediante el uso de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

3. Justificación

La calidad microbiológica y fisicoquímica de la leche cruda es esencial para garantizar la seguridad y el valor nutricional de los productos lácteos. Un control adecuado de estos parámetros previene la presencia de patógenos y contaminantes, asegurando que la leche sea segura para el consumo. Además, la calidad fisicoquímica, determina las propiedades funcionales y sensoriales de los productos finales (Cuesta de Santos, 2018).

En la actualidad la adulteración de la leche constituye una problemática que ha generado gran preocupación en el sector lácteo. En tal sentido, los entes reguladores de la industria láctea en Colombia han establecido estrategias en la compra y venta de leche de manera que se regulen una serie de parámetros fisicoquímicos en los que destacan la densidad, grasa, proteína, acidez, crioscopia, presencia de la enzima peroxidasa, agentes neutralizantes, ausencia de antibióticos, entre otros, que se rigen por valores establecidos en el Decreto 616 de 2006, normativa colombiana que establece los requisitos que debe cumplir la leche para consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercialice, expendi, importe o exporte en el país.

En este contexto, la leche cruda como materia prima se ajusta a la normativa con la finalidad de garantizar la calidad en cualquier proceso de la cadena de producción. En consecuencia, la variación de estos parámetros se refleja en los precios de compra por parte de las empresas a los ganaderos, motivo que ha llevado a los productores de leche a realizar prácticas fraudulentas como lo es la adición de sustancias que incrementarían su valor o que harían la leche no apta para el consumo humano (Haug et al., 2007).

La adición de lactosuero no solo amenaza la salud y seguridad alimentaria, sino que también genera un engaño al consumidor al recibir un producto que no es auténtico en su formulación (Murcia et al., 2021). De igual manera, su detección atiende a una problemática

compleja puesto que, al tratarse de un subproducto lácteo, se torna casi indetectable en la leche cruda. El mejor método que se ha dispuesto con tal propósito a nivel mundial atiende al uso de la técnica de HPLC. Sin embargo, este método requiere equipos con elevado costo, resultando todo esto en una desventaja para las pequeñas industrias que no disponen de la tecnología necesaria para llevar a cabo el control de lactosueros en sus materias primas.

Es así como la empresa de lácteos La Esmeralda con la puesta en marcha de los objetivos propuestos en este trabajo, persigue evaluar el cumplimiento de los diferentes parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de calidad de la leche cruda, y mitigar el ingreso de la misma adulterada con lactosueros (cGMP) a la planta de procesamiento, mediante la aplicación de la técnica de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y el uso de un kit comercial para la detección rápida de este compuesto, valorando una mayor practicidad y la obtención de resultados en un menor tiempo a partir del uso de pruebas rápidas, al establecer una comparación entre los resultados arrojados por estos dos métodos.

4. Marco Teórico

4.1. Características de la Leche Cruda

La leche es el fluido que se obtiene a través de un proceso higiénico de ordeño de los bovinos, resultante de la secreción de sus glándulas mamarias (Decreto 2437, 1983). Su composición química es compleja y contiene una variedad de nutrientes esenciales. Es ampliamente reconocida como uno de los alimentos naturales más completos debido a la diversidad de sus componentes, que incluyen proteínas, lípidos, carbohidratos, minerales, vitaminas y enzimas, los cuales varían de acuerdo con factores como la raza, el tipo de alimentación y el estado sanitario del animal (Guetouache et al., 2014).

La leche es única por su compleja estructura química y por la variedad de nutrientes en proporciones equilibradas que aporta, lo cual la convierte en un alimento completo y fundamental en la dieta humana. En términos de proteínas, la leche de bovino es rica en caseínas y proteínas del suero, con la caseína representando aproximadamente el 80% del contenido proteico total. Este tipo de proteína no solo es esencial para la producción de derivados lácteos, sino que también proporciona aminoácidos clave para el crecimiento y mantenimiento muscular (Fox & McSweeney, 2015). Las proteínas del suero, que constituyen el 20% restante, incluyen lactoalbúmina y lactoglobulina, las cuales poseen propiedades inmunológicas y contribuyen a la regeneración celular y la función muscular (Walstra et al., 2005).

En cuanto a los lípidos, la leche contiene una diversidad de ácidos grasos, principalmente en forma de triglicéridos. Aproximadamente el 98% de los lípidos son triglicéridos, mientras que el 2% restante incluye fosfolípidos y colesterol. Estos lípidos no solo aportan energía, sino que también participan en la absorción de vitaminas liposolubles como las vitaminas A y D, fundamentales para la visión y el sistema inmune, respectivamente (Jensen, 2002). Los ácidos

grasos de la leche varían en su longitud y saturación, e incluyen ácidos grasos de cadena corta, como el ácido butírico, que son rápidamente metabolizados y ofrecen beneficios digestivos (FAO, 2010).

El principal carbohidrato en la leche es la lactosa, un disacárido compuesto de glucosa y galactosa que constituye aproximadamente el 4.8% de la leche. La lactosa no solo provee energía rápida, sino que facilita la absorción de minerales como el calcio y el magnesio, elementos clave para el desarrollo óseo y la función metabólica (Cabrera, 2016). Adicionalmente, la lactosa juega un papel importante en la formación de bacterias beneficiosas en el sistema digestivo, contribuyendo a la salud intestinal (McGee, 2004).

Además de estos macronutrientes, la leche es una fuente valiosa de vitaminas y minerales. Contiene vitaminas liposolubles, como las vitaminas A, D, E y K, así como vitaminas hidrosolubles como la riboflavina (B2) y la vitamina B12, necesarias para la salud celular y la producción de energía (Goff, 2006). Entre los minerales, el calcio y el fósforo se destacan por su alta disponibilidad y papel en el mantenimiento de la salud ósea (Haug et al., 2007).

4.2. Composición Química de la Leche

La leche es un alimento fundamental, rico en nutrientes esenciales. Además de su alto valor nutricional, la leche es una materia prima extremadamente versátil. Consumida a lo largo de la historia y en diferentes culturas, la leche sigue siendo un componente esencial de la dieta humana, ofreciendo beneficios tanto para niños como para adultos. La leche está compuesta aproximadamente por un 87% de agua y un 13% de sólidos, entre los cuales se incluyen proteínas, grasas, lactosa (carbohidratos), vitaminas y minerales. Estos sólidos son fundamentales para el valor nutricional y las propiedades funcionales de la leche (Padilla & Zambrano, 2021).

4.1.1. Proteínas

La leche contiene entre un 3% y 4% de proteínas, que se dividen en dos tipos principales: caseínas y proteínas del suero. Las caseínas constituyen alrededor del 80% de las proteínas totales y son esenciales para la formación de la cuajada en la producción de queso (Fox & McSweeney, 2015). Las proteínas del suero, como la lactoalbúmina y la lactoglobulina, representan el 20% restante y son solubles en el agua de la leche, aportando beneficios inmunológicos y ayudando en el crecimiento muscular y la reparación de tejidos (Walstra et al., 2006).

4.1.2. Lípidos

La leche contiene entre un 3% y un 5% de grasa, principalmente en forma de triglicéridos, que representan hasta el 98% de los lípidos de la leche. También están presentes en menores cantidades fosfolípidos, ácidos grasos libres y colesterol. Los ácidos grasos de cadena corta y media, como el ácido butírico y el ácido caproico, son fácilmente digeribles y energéticamente eficientes (Jensen, 2002). La proporción de lípidos en la leche puede variar dependiendo de la dieta y genética del animal (Smithers, 2015).

4.1.3. Carbohidratos

La lactosa es el principal carbohidrato en la leche, representando aproximadamente un 4.8% del contenido total. Este disacárido, compuesto por glucosa y galactosa, proporciona una fuente de energía rápida y facilita la absorción de calcio y otros minerales en el tracto digestivo (McGee, 2004). La lactosa es también un elemento fundamental en la digestibilidad de la leche, especialmente en las primeras etapas de la vida humana (Cabrera, 2016).

4.1.4. Vitaminas y Minerales.

La leche es rica en vitaminas liposolubles como las vitaminas A, D, E y K, y en vitaminas hidrosolubles como la riboflavina (B2), niacina (B3) y cobalamina (B12). Entre los minerales, el

calcio y el fósforo se encuentran en cantidades destacadas, con aproximadamente 125 mg de calcio y 95 mg de fósforo por cada 100 ml de leche, elementos fundamentales para la formación ósea y el metabolismo celular (Goff, 2006).

4.1.5. Enzimas.

La leche contiene diversas enzimas que desempeñan funciones clave en la digestión y procesamiento de los nutrientes. Entre ellas destacan la lipasa, que participa en la digestión de los lípidos, y la lactoperoxidasa, una enzima con propiedades antimicrobianas que ayuda a proteger la leche cruda de la proliferación bacteriana (Fox & McSweeney, 2015). También se encuentran presentes otras enzimas como la catalasa y la fosfatasa alcalina, que sirven como indicadores de la calidad y el tratamiento térmico de la leche (Haug et al., 2007).

4.2. Propiedades Físicas y Químicas de la Leche.

La leche presenta una variedad de propiedades físicas y químicas que son esenciales para determinar su calidad y funcionalidad en la industria alimentaria. A nivel organoléptico, el aroma y el sabor son los más característicos. El sabor de la leche se debe principalmente a la presencia de lactosa, grasas y ciertos minerales, mientras que su aroma deriva de compuestos volátiles como aldehídos y cetonas, los cuales pueden variar en función de la dieta del animal y el proceso de almacenamiento (Cabrera, 2016).

La gravedad específica de la leche, que suele oscilar entre 1.028 y 1.034 a 15 °C, es un parámetro que indica la concentración de sus sólidos, como proteínas y minerales. Este valor puede fluctuar en función de factores como la raza del bovino y su alimentación (Fox & McSweeney, 2015). El pH de la leche fresca es ligeramente ácido, con valores entre 6.6 y 6.8, debido a la presencia de ácido láctico y bicarbonatos. Este nivel de acidez es importante para la conservación

de la leche y para los procesos de coagulación durante la producción de derivados lácteos (Goff, 2006).

En términos de su viscosidad, la leche presenta una viscosidad mayor que el agua, en un rango de 1.5 a 2.0 mPa.s a 20 °C. Este valor depende de su contenido de grasa y proteínas, y es un factor importante en la sensación de cuerpo que proporciona al consumirla (Jensen, 2002). El punto de congelación de la leche se sitúa alrededor de -0.54 °C, ligeramente inferior al del agua debido a la concentración de solutos como lactosa y minerales. Este punto es un indicador utilizado para detectar adulteraciones en la leche, como la adición de agua (Smithers, 2015).

El punto de ebullición de la leche es de aproximadamente 100.2 °C, levemente superior al agua debido a su contenido de sólidos disueltos. Este punto de ebullición, aunque cercano al del agua, puede variar mínimamente dependiendo de la concentración de sales y otros componentes (Haug et al., 2007). Estas propiedades no solo determinan la calidad de la leche, sino que también son fundamentales para los procesos de pasteurización y esterilización, los cuales son necesarios para eliminar microorganismos patógenos y extender su vida útil.

4.3. Análisis Fisicoquímicos Aplicados a la Leche.

Para asegurar la calidad y seguridad de la leche, se realizan diversos análisis físico-químicos que permiten verificar la composición y el cumplimiento de los estándares de calidad. Estos análisis incluyen pruebas de acidez, contenido de grasa, sólidos totales y la prueba de alcohol, cada una de las cuales ofrece información sobre aspectos específicos de la leche.

Desde el punto de vista normativo los parámetros fisicoquímicos y sus límites permitidos se encuentran consignados en el Decreto 616 de 2006 en el Artículo 16 la leche cruda debe cumplir con las siguientes características:

Tabla 1. *Características de la leche cruda*

Componente	Rango de Concentración (%)	
Grasa %m/v	3.00	
Extracto seco total %m/m mínimo	11.30	
Extracto seco desengrasado %m/m mínimo	8.30	
	Min.	Max.
Densidad 15/15 °C g/ml	1.030	1.033
Índice lactométrico	8.40	
Acidez expresada como ácido láctico % m/v	0.13	0,17
Índice crioscópico °H.	-5.30	-5.10
	-5.50	-5.30

4.3.1. Prueba de Acidez.

La acidez de la leche es un parámetro que indica su frescura y calidad. La acidez natural de la leche se debe a la presencia de ácido láctico y otros componentes como proteínas y fosfatos. En leche fresca, el valor de acidez debe estar entre 0.13% y 0.17% de ácido láctico. El método más común para medir la acidez es la titulación con hidróxido de sodio (NaOH), utilizando fenolftaleína como indicador. Durante la titulación, el cambio de color señala el punto de neutralización, y el porcentaje de acidez se calcula a partir del volumen de NaOH utilizado (Cabrera, 2016). Si la acidez supera los valores recomendados, puede indicar un deterioro debido a la actividad bacteriana (Fox & McSweeney, 2015).

4.3.2. Prueba de Alcohol.

La prueba de alcohol es un análisis rápido que permite detectar alteraciones en la estabilidad de las proteínas de la leche, especialmente la caseína. Este ensayo consiste en mezclar la leche con una solución de alcohol al 68-70% y observar si se producen coágulos. La formación de coágulos indica una baja estabilidad proteica, lo cual puede estar relacionado con problemas de acidez elevada o defectos en la refrigeración de la leche. Esta prueba es importante para asegurar que la leche sea adecuada para procesos de pasteurización y transformación en productos derivados (Goff, 2006).

4.3.3. Método de Gerber para Determinación del Contenido en Grasa.

El contenido de grasa es uno de los componentes clave que determina el valor nutricional y comercial de la leche. Para determinarlo, se utiliza el método Gerber, que implica agregar ácido sulfúrico a la leche para liberar las grasas de su matriz natural. Luego, la muestra se centrifuga en un butirómetro especial, donde se observa el nivel de grasa separada, permitiendo una lectura directa del porcentaje de grasa en la muestra (Walstra et al., 2006). Según los estándares internacionales, el contenido de grasa en leche de vaca debe estar entre el 3.25% y el 4% (Jensen, 2002).

4.3.4. Determinación de Sólidos Totales.

Los sólidos totales incluyen todos los componentes de la leche excepto el agua, como proteínas, grasas, carbohidratos y minerales. Este parámetro se mide comúnmente mediante el método de secado en estufa o mediante refractometría. En el método de secado, la leche se deshidrata a una temperatura de 100-105°C hasta alcanzar un peso constante, lo cual permite calcular el porcentaje de sólidos totales (Cabrera, 2016). Los sólidos totales en leche de vaca deben

oscilar entre el 11% y el 13%, y una baja concentración puede sugerir adulteración o problemas en la alimentación del animal (Smithers, 2015).

4.3.5. Prueba de Densidad o Gravedad Específica.

La densidad de la leche es otro indicador de calidad y se mide utilizando un lactodensímetro. La densidad de la leche varía entre 1.028 y 1.034 g/mL a 15 °C. Valores por debajo de este rango pueden indicar adulteración con agua, mientras que valores elevados pueden reflejar concentraciones anómalas de sólidos (Fox & McSweeney, 2015). La densidad es fundamental para calcular el contenido de sólidos totales y la posible dilución del producto.

4.4. Microbiología de la Leche Cruda.

La leche cruda ha sido considerada una matriz rica en nutrientes, clasificándose como un alimento perecedero, puesto que, es un medio ideal para el crecimiento de microorganismos que pueden ser beneficiosos o perjudiciales tanto para la materia prima como para la salud del consumidor (Chedia et al., 2024). A su recorrido por la ubre, contacto con los equipos de ordeño, almacenamiento y transporte va adquiriendo una microbiota, razones necesarias que llevan a los entes normativos a implementar el uso obligatorio de buenas prácticas de higiene en todas las etapas de producción de la leche. El número de bacterias en el producto final refleja las condiciones sanitarias que presentaba la leche cruda en el momento de su procesamiento, variables como la temperatura de la leche durante la recogida, el almacenamiento y transportes, son primordiales para frenar la proliferación de carga microbiana, es necesario que llegue a la planta de procesamiento a una temperatura de 4°C (Armillá, 2009).

4.4.1. Microorganismos Patógenos en la Leche.

Uno de los principales riesgos que se asocian con el consumo de leche es la presencia de las bacterias patógenas que son causantes de la mayoría de enfermedades transmitidas por alimentos

(ETAS), pueden llegar de fuentes externas como el ambiente, contaminación cruzada, entre otras situaciones o de manera interna cuando se ordeñan vacas enfermas (Aguilera et al., 2014). Entre las más comunes destacan *Listeria monocytogenes*, patógeno que puede contaminar varios alimentos. Su presencia en los humanos puede causar problemas en el tracto gastrointestinal, y en mujeres embarazadas, ocasionar abortos. *Listeria monocytogenes* en la leche cruda proviene de contaminación fecal o del ambiente en la zona de ordeño, por animales infectados; entre otros posibles factores (Chiluisa et al., 2017). Otro patógeno importante en la leche cruda es *Escherichia coli*, bacilo Gram negativo que afecta las mucosas intestinales, las cepas virulentas de este patógeno que afectan el ser humano son *E. coli* de adherencia difusa (ECAD), *E. coli* enteroinvasivo (ECEI), y *E. coli* enteroagregativo (ECEA) que pueden causar enfermedades diarreicas. Su presencia en la leche cruda es debido a las malas prácticas de higiene que se presentan en cualquier etapa de procesamiento de la leche (Organizacion Mundial de la Salud, 2018). Por otra parte, se presentan también intoxicaciones alimentarias por la ingestión de toxinas producidas por microorganismos como *Staphylococcus aureus*; que usan proteínas para adquirir nutrientes del huésped para el desarrollo bacteriano, representando un peligro potencial en los consumidores. El género *Campylobacter sp.* por su parte, invade también la mucosa intestinal ocasionando enterocolitis, aunque sus síntomas más frecuentes están asociados a dolor abdominal, náuseas, fiebre entre otros; esta bacteria puede llegar a la leche cruda si el animal tiene una infección en la ubre o si la leche se expone a contaminación por heces (Organizacion Mundial de la Salud, 2020).

Dentro de este grupo de patógenos aun cabe mencionar otros como *Yersinia enterocolitica*, *Mycobacterium tuberculosis* (variedad *hominis* y variedad *bovis*) causantes de

tuberculosis en el hombre; *Brucella abortus* y *Brucella melitensis* causantes de brucelosis en el hombre (Aguilera et al., 2014).

4.4.2. Microorganismos Alterantes de la Leche Cruda.

Existe una amplia gama de microorganismos no deseados en la leche, bien sea por su patogenicidad o por su capacidad de producir alteraciones que generan cambios indeseables en la leche, como por ejemplo, la producción de ácido láctico que provoca el aumento de la acidez en la leche volviéndola inestable y ocasionando coagulación de la caseína. Esta alteración es producida por bacterias ácido lácticas que pertenecen a los géneros *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* (cocos) y *Lactobacillus* (bacilos) (Celis y Juarez, 2009). Las bacterias esporuladas termodúricas son los principales miembros responsables de las alteraciones en la leche, si se encuentran presentes en la leche cruda existe una alta probabilidad que se encuentren el producto final. Dentro de este grupo destacan *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Clostridium sp* estos pueden generar producción de gas, sabores amargos y/o olores pútridos (Shreya et al., 2024).

4.4.3. Microorganismos Productores de Mastitis.

La mastitis es una enfermedad bovina que se produce por la inflamación de las glándulas mamarias y puede generar un impacto negativo en la salud del animal, ya que puede causar dolor y molestias. En cuanto a la calidad de la leche cruda, la mastitis genera una reducción en la producción de leche y altera su composición, ocasionando un menor rendimiento en la producción de queso y una menor vida útil de los derivados lácteos que se elaboran (Andrade et al., 2017).

Las bacterias son el principal agente etiológico causante de este tipo de enfermedades y pueden residir principalmente en el hábitat normal de las vacas, ocasionando que las ubres entren en contacto con excremento, agua y tierra contaminada. Entre estas bacterias destacan *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* y los estreptococos ambientales, tales como *S. uberis* y *S. dysgalactiae*.

Existen también patógenos contagiosos que se transmiten de vaca en vaca, generalmente durante los ordeños, ya que las glándulas mamarias infectadas funcionan como el reservorio principal para dichos microbios. Entre estos patógenos se incluyen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Mycoplasma* spp. (Andrade et al., 2017).

Dentro de los métodos de detección de presencia y ausencia de mastitis se implementa el recuento de células somáticas (RCS). Las células somáticas son células blancas procedentes del organismo y pasan a la leche a través de la sangre y del tejido glandular. Su recuento en leche ha permitido conocer el estado sanitario de las ubres mamarias de las vacas. Una ubre sana, libre de mastitis, presenta pocas células somáticas (Gonzales et al., 2016)

La infección intramamaria es el principal factor causante de cambios en el recuento de células somáticas en la leche. Cuando los microorganismos causantes de mastitis invaden un cuarto de la ubre y empiezan a multiplicarse, o cuando el número de estos aumenta significativamente, el organismo de la vaca tiende a reclutar leucocitos para combatir dichos microorganismos.

4.5. El Lactosuero: Subproducto Lácteo.

El lactosuero, también conocido simplemente como suero lácteo, es el subproducto que queda después de la coagulación de la leche en el proceso de producción de queso. Esta coagulación está dada por acción de la enzima quimosina que rompe los enlaces peptídicos de la k-caseína, proteína de gran interés, que estabiliza las micelas de la leche y su presencia en abundancia en la leche genera un mayor rendimiento en la obtención de derivados lácteos (Hernandez & Peña, 2016). Es así, como se da origen al lactosuero y a las proteínas que lo conforman en las cuales se destaca el glicomacropéptido de caseína, proteína que se deriva de la precipitación de la k-caseína. Se destaca por ser un péptido hidrofílico que conforma el 15% de las proteínas del lactosuero, su estructura lo hace único debido a la presencia de un oligosacárido que

tiene unido a la cadena peptídica, aporte importante en fenilalanina triptófano serina, leucina y isoleucina (Murcia et al., 2021).

El lactosuero es rico en proteínas de alta calidad, lactosa, minerales y otros componentes bioactivos que poseen un alto valor nutritivo y que permiten su aprovechamiento en diversos sectores alimentarios y no alimentarios (Smithers, 2015).

4.5.1. Componentes y Aprovechamiento del Lactosuero.

El lactosuero contiene nutrientes como proteínas de alta calidad, entre las que se destacan las proteínas del suero, las cuales son reconocidas por su biodisponibilidad y beneficios para la salud muscular y la inmunidad. Además, contiene una cantidad significativa de lactosa, que puede utilizarse en productos como yogures y otros alimentos fermentados, y minerales esenciales como calcio y fósforo (Fox & McSweeney, 2015). Esta composición permite que el lactosuero sea utilizado en alimentos enriquecidos, suplementos dietéticos y productos funcionales, además de sus aplicaciones en la alimentación animal y en la producción de biocombustibles (Cabrera, 2016).

4.5.2. Regulaciones y Buenas Prácticas.

La Resolución 2270 de 2023 emitida por el Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia establece normas específicas para la regulación del lactosuero, con el fin de asegurar su aprovechamiento responsable y seguro en la industria alimentaria, y también para minimizar su impacto ambiental. La resolución define el marco normativo para el uso, almacenamiento y disposición del lactosuero, buscando mitigar su contaminación en fuentes hídricas y en suelos cuando no es tratado adecuadamente (Ministerio de Salud y Protección Social, 2023).

La Resolución 2270 de 2023 también establece criterios de calidad para el lactosuero que se destina al consumo humano. Estos criterios incluyen límites para la presencia de

microorganismos y contaminantes, asegurando que el lactosuero procesado sea seguro para su uso en la producción de alimentos y en la formulación de productos nutricionales (Ministerio de Salud y Protección Social, 2023). Además, la resolución promueve el desarrollo de buenas prácticas de manufactura (BPM) para las empresas que manipulan y transforman lactosuero, buscando reducir la generación de residuos y promover su uso sostenible.

4.5.3. *Impacto Ambiental y Gestión Sostenible.*

Uno de los aspectos más importantes que aborda la Resolución 2270 es el manejo ambiental del lactosuero, ya que este subproducto, cuando no es tratado, puede contribuir a la contaminación de aguas y suelos debido a su alta carga orgánica. Para mitigar estos efectos, la normativa exige que las empresas que generen lactosuero implementen métodos de tratamiento adecuados o lo destinen a aplicaciones sostenibles que eviten su desperdicio y protejan los ecosistemas locales (Ministerio de Salud y Protección Social, 2023).

4.6. *Cromatografía de Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).*

La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica avanzada ampliamente utilizada en química, biología y ciencias farmacéuticas para separar, identificar y cuantificar componentes presentes en mezclas complejas. La HPLC funciona bajo principios de adsorción y partición, donde los componentes de una muestra se separan al ser impulsados a través de una columna rellena con una fase estacionaria, utilizando una fase móvil líquida de alta presión (Snyder & Kirkland, 1979). Este método destaca por su precisión, sensibilidad y la capacidad de analizar componentes que son térmicamente inestables, como proteínas y otras moléculas biológicas.

4.6.1. Fundamentos de la HPLC.

La técnica de HPLC utiliza una fase móvil líquida que transporta la muestra a través de una columna de alta presión que contiene una fase estacionaria. Durante este proceso, cada compuesto de la muestra interactúa de forma única con la fase estacionaria, lo que provoca que se desplacen a diferentes velocidades y se separen gradualmente al pasar por la columna. Este sistema es particularmente útil para moléculas grandes o sensibles al calor, que no se pueden analizar mediante cromatografía de gases (Cheng et al., 2014).

4.6.2. Componentes y Tipos de HPLC.

Un sistema HPLC incluye componentes como la bomba, que genera la presión necesaria para mover la fase móvil; el inyector, que introduce la muestra en la columna; la columna de separación, que contiene la fase estacionaria; y el detector, que identifica y mide los compuestos una vez que se han separado. Dependiendo del tipo de fase estacionaria, se pueden distinguir varias modalidades de HPLC, como la cromatografía de fase reversa (RP-HPLC), de fase normal y la de exclusión por tamaño, cada una adecuada para diferentes tipos de muestras y objetivos analíticos (Klinkenberg et al., 2011).

- Fase Normal (NP-HPLC): Usa una fase estacionaria polar, ideal para compuestos no polares.
- Fase Reversa (RP-HPLC): Emplea una fase estacionaria no polar, utilizada para compuestos polares o ionizables.
- Exclusión por Tamaño: Separa moléculas según su tamaño, utilizada comúnmente en análisis de proteínas y polímeros.

4.6.3. Aplicaciones de la HPLC.

La HPLC es fundamental en la industria farmacéutica para la identificación y cuantificación de principios activos y en el control de calidad de medicamentos. También es clave en investigaciones clínicas, en la detección de biomarcadores y en estudios de metabolitos en fluidos biológicos, como sangre y orina. En el ámbito alimentario, permite el análisis de compuestos como azúcares, vitaminas y contaminantes en alimentos y bebidas, ayudando a garantizar la seguridad y calidad alimentaria (Kazakevich & LoBrutto, 2007).

4.6.4. Ventajas de la HPLC.

Las principales ventajas de la HPLC incluyen su alta sensibilidad y precisión, que permiten detectar y cuantificar componentes en concentraciones muy bajas. Además, es una técnica versátil que puede ser aplicada a una amplia gama de muestras, desde compuestos orgánicos hasta productos biológicos complejos. La capacidad de operar a temperaturas moderadas hace que sea especialmente adecuada para sustancias sensibles al calor (Snyder et al., 2012).

4.7. Métodos Rápidos Para la Detección de cGMP.

Otro método de detección de glicomacropéptido de caseína en leche cruda es la implementación de kits inmunocromatográficos que permiten la detección rápida de concentraciones de cGMP de manera rápida. Consisten en la reacción que se da entre la proteína cGMP y las partículas coloidales que han sido cubiertas con anticuerpos monoclonales (confieren la especificidad para determinación únicamente de cGMP) y se forma un complejo que migrará a través de la tira reactiva generando una línea azul si la muestra es negativa y una línea roja junto a la línea azul que indicaría un resultado positivo en la muestra analizada. Existen diferentes casas comerciales que reproducen ya estos kits, dentro de ellas se encuentra Operón con su kit stick

cGMP, describiéndose como un método sensible capaz de medir adulteraciones correspondientes al 4% de cGMP en leche cruda (Operon,2017).

5. Marco Legal.

Para el cumplimiento del perfil sanitario que ha sido establecido a nivel nacional para leche cruda, la empresa de lácteos LA ESMERALDA se acoge a las siguientes normativas para asegurar el ingreso de leche cruda de buena calidad a la planta:

5.1. Decreto 616 de 2006.

Mediante este decreto se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expendia, importe o exporte en el país”. Lácteos la Esmeralda se rige por los límites permitidos y establecidos en este decreto para los diferentes parámetros fisicoquímicos que debe cumplir una leche cruda.

Manual de Técnicas Sobre Análisis Fisicoquímicos y Microbiológicos de Leches de 1982.

El manual elaborado por el Instituto Nacional de Salud establece los procedimientos de referencia para la prueba de alcohol y la determinación de la densidad que se ejecuta en la empresa.

5.2. Norma Técnica Colombiana 5819 de 2010.

Especifica un método de rutina, el método Gerber para la determinación del contenido de grasa de la leche e incluye directrices sobre la determinación de la capacidad adecuada de la pipeta para leche sobre la determinación de las correcciones por aplicar.

5.3. Norma Técnica Colombiana 4978 de 2001.

Por la cual se establece determinación de la acidez titulable (método de referencia): esta norma específica el método de referencia para determinar la acidez titulable de: leche líquida, leche evaporada, leche condensada azucarada, leche en polvo, leche fermentada, leche fermentada en polvo, leche saborizada, suero en polvo, suero líquido y crema de leche.

5.4. Resolución 2270 de 2023 del Ministerio de Salud.

Establece que la concentración máxima permitida de lactosuero debe ser de 15 - 30mg por litro de leche. Este valor sirve como referencia para las labores de inspección, vigilancia y control adelantadas por el INVIMA. Para su elaboración, la autoridad sanitaria realizó muestreos de campo en la cadena productiva láctea, así como un ensayo analítico validado previamente por el Organismo Nacional de Acreditación (ONAC).

6. Metodología.

El presente trabajo fue realizado en la planta de lácteos LA ESMERALDA ubicada en el municipio de Madrid – Cundinamarca. En este fueron analizados los parámetros fisicoquímicos, de 7 rutas de leche cruda, durante los meses de marzo, abril y mayo. La determinación de calidad microbiológica y presencia de Glicomacropéptido de Caseína se realizaron únicamente en el mes de mayo. A continuación, se exponen las estrategias de trabajo empleadas:

6.1. Determinación de los Parámetros Fisicoquímicos de Calidad de Leche Cruda de las Rutas que Ingresan a la Planta de Lácteos la Esmeralda.

6.1.1. Calibración de Equipos

Con objeto de verificar los equipos se tomó una muestra de leche cruda proveniente del silo de almacenamiento, esta se procesó en un analizador de leche Lactoscan SP que evaluó el contenido de grasa, proteína y densidad. A partir de la misma muestra se realizó un análisis mediante el método tradicional para evaluar el contenido de grasa (método GERBER), proteína y densidad (análisis con lactodensímetro).

Con los resultados obtenidos entre el método tradicional y el Lactoscan SP, se estableció un margen de error. Teniendo en cuenta que los valores arrojados por el método tradicional son exactos, los resultados obtenidos del Lactoscan se ajustaron de acuerdo al margen de error para cada uno de las muestras analizadas.

6.1.2. Análisis Fisicoquímicos en Leche Cruda Acorde a la Metodología Tradicional.

6.1.2.1. Toma de muestras.

En el laboratorio de control de calidad se recolectaron diariamente dos muestras de cada una de las siete rutas de leche cruda, durante los meses de marzo, abril y mayo. De cada carrotanque que ingresaba a la zona de descargue, se realizó una previa homogeneización al tanque de

almacenamiento con ayuda de un agitador. Posteriormente, se recolecto mediante recipientes plásticos 1 litro de leche cruda la cual posteriormente se llevó al laboratorio, donde se realizó su respectivo análisis.

6.1.2.2.Determinación de la Densidad con Lactodensímetro.

Con objeto de determinar la densidad en cada una de las muestras de leche cruda se procedió a adicionar cada una de estas previamente homogenizada en una probeta de aluminio, luego se introdujo el termolactodensímetro evitando su adherencia a las paredes de la probeta y la formación de espuma. Posteriormente, se realizó la lectura de la densidad en un tiempo estimado de 30 segundos teniendo en cuenta que la muestra debe presentar una temperatura de 15°C (Munguía, 2020).

6.1.2.3.Determinación del Contenido de Grasa Mediante Método de GERBER.

El contenido de grasa se evaluó mediante el método de Gerber, que consistió en agregar 10 ml de ácido sulfúrico en un butirómetro. Posteriormente, se transfirieron 11 ml de leche sobre el ácido utilizando una pipeta, cuidando que las capas no se mezclaran. Luego, se añadió 1 ml de alcohol isoamílico y se colocó el tapón de seguridad con ayuda de una puntilla de hierro. La muestra se agitó lentamente hasta que todas las fases se homogenizaron y se llevó a la centrífuga por 5 minutos utilizando otro butirómetro como contrapeso para evitar un desbalance. La lectura se realizó en la columna de grasa, ajustando la línea en la escala mediante el movimiento del tapón (Norma Técnica Colombiana 5819, 2010).

6.1.2.4.Determinación de Acidez Mediante Titulación.

La prueba de acidez titulable se realizó utilizando un beaker de 50 ml, en el cual se transfirieron 9 ml de leche cruda y 5 gotas de fenolftaleína. La titulación se llevó a cabo con una bureta digital que contenía NaOH al 0,1 N, hasta obtener una coloración rosa pálido. El valor

obtenido en el tablero de la bureta digital correspondió al valor de acidez de cada muestra de leche cruda (NTC 4978, 2001).

6.1.2.5. Determinación del Contenido de Proteína Mediante el Método de Formol.

La proteína de la leche cruda se evaluó mediante titulación. Para este análisis, se tomaron 50 ml de leche cruda en una probeta de 100 ml, que luego se transfirió a un vaso de precipitado de 100 ml. Se añadieron 2 ml de oxalato de potasio y 5 gotas de fenolftaleína. La muestra se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) al 0,1N hasta obtener una coloración rosa pálido. A continuación, se añadieron 10 ml de formaldehído y se volvió a titular con NaOH hasta que se observó nuevamente la coloración rosa pálido (Artica, 2014). Finalmente, se registró el volumen de NaOH utilizado en la titulación y se empleó la fórmula correspondiente para calcular el porcentaje de proteína presente:

$$P = ml\ NaOH\ gastados\ en\ la\ segunda\ titulación \times 0.334 + 0.03$$

NOTA: el procedimiento estandarizado para la determinación de proteína es el método de formol y ha sido modificado por la empresa, motivo por el cual se desconocen los sustentos de adaptación de la formula o bajo que norma de procedimientos se rige por políticas de confidencialidad. Dentro de las modificaciones realizadas al metodo descrito por (Artica, 2014) se destaca el tiempo de espera para la titulacion, el reemplazo de la formalina por el formaldehido y claramente la formula con la que se calculo el porcentaje de proteina.

Adicional a esto, a las muestras de cada compartimento del carrotanque se le realizo crioscopia. Mediante la ayuda de una celda de vidrio se agregó la muestra y se llevó al equipo

(crioscopio multicampione cryostar) para ser leído en un tiempo estimado de 1 minuto 30 segundos.

6.2. Determinación de Indicadores de Calidad Microbiológica en las Rutas de Leche

Cruda Que Ingresan a la Planta de Lácteos La Esmeralda.

La calidad microbiológica de la leche cruda se analizó mediante el metodo cuantitativo de recuento en placa para aerobios mesofilos, estos microorganismos fueron establecidos como indicadores de calidad junto con la prueba de reductasa, ensayo cualitativo para evaluar la leche cruda que ingresa a la planta La Esmeralda.

6.2.1. Recuento de Aerobios Mesofilos.

Para el recuento de aerobios mesofilos se tomaron 10 ml de la leche de cada una de las muestras recolectadas para los analisis fisicoquimicos y pruebas de cGMP. En un tubo de ensayo que contenia 9ml de agua peptona estéril se transfirio 1 ml de la muestra de leche y se homogenizo, este procedimiento se utilizo para hacer diluciones seriadas hasta 10^{-4} , respectivamente. A partir de estas se sembro en profundidad utilizando cajas de petri vacias esteriles y agrengando 1ml de las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} por duplicado con Agar Plate Count. Se procedió a incubar a $30^{\circ}\text{C}/48$ horas y pasado este tiempo se hizo un recuento de las placas para observar el crecimiento obtenido y se reportaron los resultados en UFC/ mL (NTC 4519, 2009).

6.2.2. Prueba de Reductasa.

Para la prueba de reducción de azul de metileno, se transfirieron 10 ml de la muestra de leche a un tubo de ensayo. Se realizaron duplicados y se agregaron 0,5 ml de azul de metileno de manera suave para evitar que la leche se mezclara con el azul de metileno (Anexo 1). A continuación, los tubos se taparon y se introdujeron en un baño maría con una temperatura de 37°C junto con un control negativo (leche sin indicador azul de metileno). Cuando la muestra alcanzó

la misma temperatura del baño maría, se mezclaron por inversión los tubos. A partir de ese momento, se contabilizó el tiempo de reducción o desaparición del azul de metileno de los tubos y se registraron los resultados (Instituto Nacional de Colombia, 1982).

6.2.3. Recuento de Células Somáticas.

El recuento de células somáticas es un indicador clásico de calidad de la leche cruda que permite evaluar la presencia de mastitis y la salud de la glándula mamaria de donde proviene. Para este estudio, el análisis se realizó en laboratorios externos del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), debido a que el laboratorio de control de calidad de Lácteos La esmeralda no cuenta con un procedimiento estandarizado para el recuento de células somáticas. Las muestras se tomaron en la semana 1 del mes de mayo, se refrigeraron y se enviaron al laboratorio del ICA.

Nota: los recuentos de células somáticas solo se realizaron en la primera semana con el fin de contrastar los resultados obtenidos para las pruebas de reductasa y recuento en placa. Por causas económicas ajenas al desarrollo de este trabajo no se realizaron más análisis en lo que transcurrido del mes.

6.3. Identificación de la Presencia De Glicomacropéptido de Caseína (cGMP) en las Rutas de Leche Cruda que Abastecen la Planta de Lácteos la Esmeralda Mediante el uso del Test Inmunocromatográfico STICK CGMP.

La identificación de la presencia de glicomacropéptido de caseína en las muestras de leche cruda se realizó mediante el ensayo visual Immunostick c-GMP, que contiene anticuerpos monoclonales específicos para GMP. Para ello, se estableció un muestreo intencional (Técnica de investigación cualitativa que consiste en seleccionar a los participantes de forma deliberada, en función de los objetivos del estudio y las características de la población) en 7 rutas de acopio de leche cruda (Anexo 2). A partir de las muestras usadas en el análisis fisicoquímico estudiadas

anteriormente, se estableció un pretratamiento de la muestra que consistió en transferir 400 µl de ácido tricloroacético (TCA) en un vial de 2 ml. Luego se adicionaron 600 µl de leche y se homogeneizaron. Se dejó reposar la muestra 10 minutos con el fin de precipitar la caseína y demás proteínas. Posteriormente, se llevó a una microcentrífuga por 10 minutos a 5000 rpm. Pasado este tiempo, se retiró el sobrenadante con una jeringa y se filtró con ayuda de un filtro de 5 micras en un tubo eppendorf limpio. A continuación, se tomaron 3 nuevos tubos eppendorf y con una micropipeta, se les agregó 900 µl de tampón de dilución y 100 µl de la muestra filtrada para realizar 3 diluciones seriadas (dilución 1/10, 1/100, 1/1000). Se bombeó varias veces la muestra con ayuda de la micropipeta para mezclar bien. Para evaluar una concentración del 2% de GMP, se adicionaron en un nuevo vial 100 µl de tampón de dilución y 100 µl de la dilución 1/1000, y se mezcló. Luego se transfirió la muestra a un micropocillo, se introdujo la tira de reacción y se esperó 5 minutos para la interpretación del resultado (Anexo 3).

La interpretación del resultado se hizo de manera visual: la presencia de una línea azul en la zona de reacción de la tira indicó que el resultado es negativo, mientras que la presencia de una línea azul y una línea roja en la zona central indicaba la presencia de cGMP en la muestra (Operón, 2017).

6.4. Determinación de la Concentración de Glicomacropéptido de Caseína (CGMP) en las Rutas de Leche Cruda que Abastecen la Planta de Lácteos la Esmeralda Mediante el Uso de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).

Las muestras que se sometieron al análisis mediante HPLC se recolectaron en el laboratorio de control de calidad de La Esmeralda el mismo día que llevó a cabo la selección de las muestras usadas para el análisis con el kit stick cGMP, con el fin de establecer sincronización en los resultados obtenidos por ambos métodos. El muestreo se realizó en recipientes estériles de 1L de

capacidad y se incubaron a una temperatura de 4°C para luego ser entregadas al laboratorio externo para su respectivo análisis, puesto que el laboratorio de control de calidad de La Esmeralda no cuenta con los equipos requeridos para este análisis.

Una vez recibida la muestra en el laboratorio de Biotrends, esta se descongeló en un baño maría a 30°C, agitando varias veces. A continuación, se tomaron 10 ml de leche en un tubo y se le agregaron 5 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 24%. La muestra se llevó a sonificación por 20 minutos, proceso que ayudó a separar los componentes de la leche y permitir la extracción total del cGMP presente en la muestra. Transcurrido ese tiempo, la muestra se filtró con el uso de un papel filtro con tamaño de poro de 11 µm. Posteriormente, se tomaron 3 ml de esta muestra filtrada y se adicionaron a un vial para su cuantificación. Se realizó una selección de la fase móvil, que se consistió en una solución tampón pH 6,0 (fosfato dipotásico (KH_2PO_4), dihidrógenofosfato de potasio (KH_2PO_4), sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y agua calidad HPLC). Para optimizar la separación de los compuestos, se ajustó el pH de la fase móvil con ayuda de una solución de fosfato dipotásico. A continuación, esta se filtró por una membrana con un tamaño de poro de 0,45 µm hacia la columna, permitiendo así estabilizar las condiciones de la columna antes de pasar la muestra. Se utilizó un cromatógrafo líquido que estaba provisto de un muestreador automático que inyectaba de 20 µl a 100 µl de la muestra. Para la detección de la molécula, se empleó un detector de matriz de diodo a una longitud de onda de 205 nm. Este equipo proporcionó datos detallados de los espectros generados de la muestra. Las señales eléctricas que se originaron por el detector fueron procesadas mediante el software Chemstation B 03.01, permitiendo así el tratamiento de los datos y el cálculo de los parámetros de integración (Murcia et al., 2021).

7. Cronograma de Actividades.

Tabla 2. Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	MARZO				ABRIL				MAYO				JUNIO				JULIO				AGOSTO				SEPTIEMBRE				NOVIEMBRE				DICIEMBRE			
	SEMANA																																			
	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4					
I.																																				
II.																																				
III.																																				
IV.																																				
V.																																				
VI.																																				
VII.																																				
VIII.																																				
IX.																																				
X.																																				
XI.																																				

7.1. Descripción de Actividades.

I. Inducción en el laboratorio de control de calidad fisicoquímica y microbiológica de lácteos La Esmeralda.

II. Presentación de propuesta.

III. Entrega de avances propuesta de trabajo.

IV. Investigación de bases teóricas.

V. Descripción de metodologías empleadas.

VI. Análisis por HPLC de las muestras en laboratorio externo Biotrends.

VII. Registro de los resultados obtenidos.

VIII. Análisis fisicoquímicos, leche cruda /producto terminado. Control de calidad en sellado, almacenamiento y distribución de la producción.

IX. Análisis microbiológicos en producto terminado, muestreo de manipuladores, ambientes y agua potable.

X. Revisión final por el tutor.

XI. Entrega final y sustentación.

8. Resultados y Análisis de Resultados

8.1. Determinación de los Parámetros Fisicoquímicos en las Rutas de Leche Cruda Que Ingresan a la Planta de Lácteos la Esmeralda.

La leche representa un alimento de primera necesidad fundamental en la dieta de muchos hogares, debido a que es un alimento muy completo que aporta muchos beneficios nutricionales en la salud de sus consumidores, es rica en vitaminas, minerales, micronutrientes, asociando el consumo regular de esta en el tratamiento o prevención de enfermedades cardiovasculares, diabetes, concentraciones de colesterol, efecto sobre el peso corporal, entre otros (Visioli & Strata, 2014). La leche además de constituir un alimento de importancia considerable para el ser humano, resulta crucial para el sector campesino, ya que proporciona una fuente estable de ingresos y empleo. Además, fomenta el desarrollo rural al incentivar la producción local y mejorar la calidad de vida de las familias campesinas. La producción de leche promueve a su vez la diversificación de actividades agrícolas, lo que ayuda a mitigar riesgos económicos y a mantener la sostenibilidad de las comunidades rurales.

En Colombia el sector lácteo representa una parte importante de la economía del país, posicionándose competitivamente como un país con gran capacidad de producción lechera destacándose por contener los mejores porcentajes de proteína y grasa en comparación con otros países (Carrillo, 2021). El sector lácteo representa el 12% del PIB (producto interno bruto) del sector agropecuario brindando empleo a más 700.000 mil personas en diferentes áreas de la producción láctea generando un impacto social prometedor (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022). No obstante, pese al potencial que el país presenta para ser un gran productor de leche y derivados lácteos, se encuentra en un estancamiento que reúne varias problemáticas entre

las que se destacan en primer lugar, el estancamiento de los precios que se paga a los productores y el aumento de los costos de insumos y demás que implica esta actividad. De otra parte, el aumento de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) generadas por las malas prácticas en cualquier punto de la cadena de producción, ha dado lugar a que Colombia no alcance el nivel de competencia en el sector internacional de exportación (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022). De ello la importancia del control de calidad y el establecimiento de políticas de inocuidad que comprenden desde la salud del animal hasta el producto terminado que se genera; dichas políticas de inocuidad y seguridad alimentaria han sido definidas entre otras, mediante procedimientos prácticos que permiten evaluar las características fisicoquímicas de la leche.

La leche evaluada en el presente trabajo tenía como destino el producto terminado UHT resaltando la importancia de someter la misma a pruebas de plataforma que involucraran la evaluación de parámetros como densidad, porcentaje de grasa, acidez titulable, y porcentaje de proteína con el fin de asegurar su estabilidad y calidad durante el proceso térmico, tomando como referencia lo expuesto en el decreto 616 de 2006.

8.1.1. Calibración de Equipos.

La función del analizador de leche Lactoscan SP es realizar de manera rápida los análisis de parámetros fisicoquímicos de la leche (contenido de grasa, densidad, contenido de proteína, contenido de agua, temperatura; entre otros), permitiéndole al analista agilizar su proceso de control de calidad. Por tal motivo es de suma importancia que el equipo se encuentre calibrado para que pueda brindar datos exactos y precisos. Este proceso de calibración se llevó a cabo tomando como estándar de referencia el método tradicional y estableciendo una diferencia entre los valores arrojados por el analizador de leche y los métodos tradicionales para los parámetros en estudio. Por lo anterior, es relevante afirmar que la calibración del equipo garantiza que este pueda

detectar adulteraciones y se proceda a tomar decisiones encomendadas siempre a mantener la calidad de la leche cruda que se dirige a una cadena de producción que tendrá como resultado final leche UHT.

Tabla 3. Resultados obtenidos en la calibración del Lactoscan SP.

MES	VARIABLE	LACTOSCAN		METODO TRADICIONAL	ERROR ABSOLUTO
Marzo	% Grasa	V min	3,25	3,2	-0,05
		V máx.	3,74	3,7	-0,04
	Densidad	V min	28,59	29,7	1,11
		V máx.	29,93	30,7	0,77
	Proteína	V min	2,9	3,02	0,12
		V máx.	3,02	3,07	0,05
Abril	Grasa	V min	3,31	3,4	0,09
		V máx.	3,66	3,7	0,04
	Densidad	V min	28,43	30,2	1,77
		V máx.	29,48	30,7	1,22
	Proteína	V min	2,89	3,01	0,12
		V máx.	2,99	3,05	0,06
Mayo	Grasa	V min	3,41	3,5	0,09
		V máx.	3,7	3,65	-0,05
	Densidad	V min	28,46	30,2	1,74
		V máx.	29,64	30,2	0,56
	Proteína	V min	2,87	3,01	0,14
		V máx.	3,01	3,05	0,04

*V máx.: valor máximo.

*V min: valor mínimo.

El contenido de grasa en la leche para el mes de marzo indica que el método tradicional obtuvo un valor máximo de 3.7%, mientras que el Lactoscan SP registró un máximo levemente superior de 3.74%. Esta diferencia arroja un error absoluto de -0.04%, lo que indica una ligera subestimación por parte del Lactoscan SP.

Para el contenido mínimo de grasa, el método tradicional reportó un valor de 3.2%, en comparación con el 3.25% registrado por el Lactoscan SP. Esto generó un error absoluto de - 0.05%, nuevamente mostrando una pequeña discrepancia entre los dos métodos.

En cuanto al contenido de proteína, el método tradicional mostró un valor máximo de 3.07% y un mínimo de 3.02%. Por otro lado, el Lactoscan SP registró un máximo de 3.02% y un mínimo de 2.9%. Los errores absolutos en este caso fueron de 0.12% para el valor máximo y 0.05% para el valor mínimo, indicando una mayor variabilidad en las mediciones de proteína.

Para la densidad de la leche, el método tradicional registró un valor máximo de 1.031 g/cm³ y un mínimo de 1.030 g/cm³. El Lactoscan SP, por su parte, reportó un máximo de 1.030 g/cm³ y un mínimo de 1.029 g/cm³. Los errores absolutos en ambas mediciones de densidad fueron de 0.001 g/cm³, lo que sugiere una alta precisión del Lactoscan SP en este parámetro.

En general, estos errores absolutos son relativamente pequeños, lo que indica que el Lactoscan SP es bastante preciso al contrastarlo con los resultados del método tradicional. La consistencia de los valores entre ambos métodos sugiere que el Lactoscan SP puede ser confiable para mediciones rutinarias. Además, cumple con las especificaciones del manual de operaciones, que establece una exactitud de $\pm 0.01\%$ para la grasa, ± 0.003 g/cm³, para la densidad y $\pm 0.15\%$ para la proteína (Milkotronic Ltd, 2019).

8.1.2. Análisis Fisicoquímicos en Leche Cruda Acorde a la Metodología Tradicional

8.1.2.1. Determinación de la Densidad con Lactodensímetro.

A continuación, en la figura 1, se presentan los resultados de los promedios mensuales del parámetro de densidad obtenidos durante los meses de marzo, abril y mayo para las 7 rutas evaluadas: Arboles, Esmeralda, Facatativá 1, Alban, Duitama, Facatativá 2 y Bojacá.

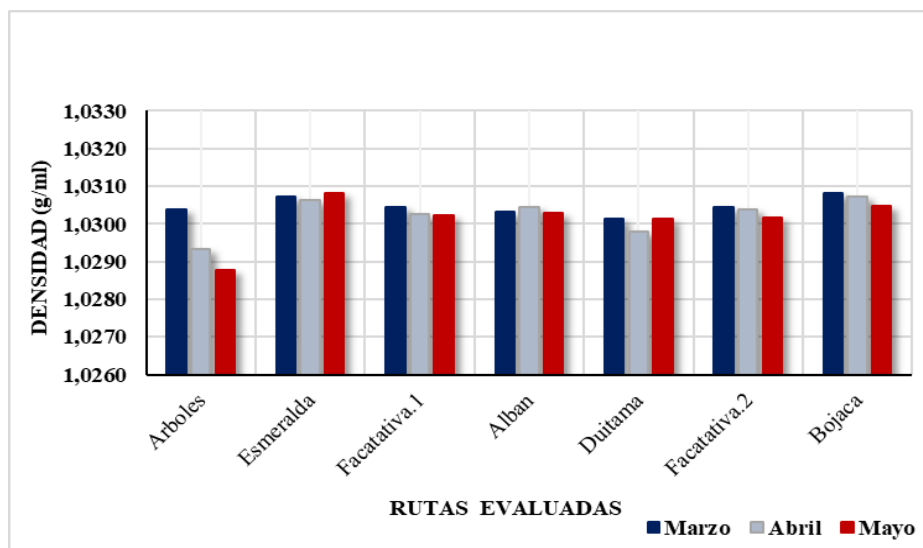


Figura 1. Determinación del promedio mensual de la densidad en las rutas de leche analizadas.

La figura 1 muestra que las rutas Esmeralda, Facatativá 1, Alban, Facatativá 2 y Bojacá se encuentran por encima de un valor de 1,030 g/ml durante los tres meses evaluados, cumpliendo así con los límites establecidos por el decreto 616 de 2006 (1,030 g/ml a 1,033 g/ml), que es la normativa encargada de regular los parámetros de calidad de la leche cruda. No obstante, se evidencian descensos en los valores de densidad de la ruta Arboles para el mes de abril, con un promedio de 1,0293 g/ml, y para el mes de mayo, con un promedio de 1,0288 g/ml. De manera similar, la ruta Duitama presentó cumplimiento para el mes de marzo, pero en abril presentó un descenso en la densidad con un promedio de 1,0298 g/ml. Esto indica que, para estos meses, las rutas Arboles y Duitama no cumplieron con el límite establecido por la normativa.

Teniendo en cuenta que la determinación de la densidad en la leche fresca se realiza con el fin de descartar algún tipo de adulteración, es importante resaltar que esta se puede ver afectada por distintos factores. Uno de ellos es la concentración de elementos disueltos y en suspensión (sólidos no grasos), la densidad varía directamente proporcional a esta concentración de sólidos

no grasos (Vásquez, 2018). Por ende, estos descensos repentinos durante algunos meses en la ruta de Árboles y Duitama pueden estar sujetos a prácticas fraudulentas, como la adición de sustancias como agua o el retiro de algunos de sus componentes. El agua, al presentar una densidad menor que la leche, diluye la concentración de dichos componentes cuando se agrega (Mercado et al., 2013).

De igual manera, en un estudio realizado en el municipio de Chipaque, Cundinamarca, sobre la composición química de la leche, se estableció que la densidad de la leche tiene una estrecha relación con sus componentes propios, como la grasa. Cuando esta se presenta en mayor cantidad, la densidad tiende a disminuir. Además, atribuyen las variaciones en la densidad a las fluctuaciones de temperatura a las que se expone la leche desde el momento del ordeño (Vanegas & Martínez, 2011). Como consecuencia de estas consideraciones, el Ministerio de Salud, mediante el manual de prácticas fisicoquímicas (1982), establece que la temperatura ideal para medir la densidad de la leche cruda debe ser de 15°C. Esta hipótesis se descarta en esta investigación, ya que las densidades se midieron a esta temperatura para contrarrestar este factor de variación.

8.1.2.2. Determinación del Contenido de Grasa Mediante Método de GERBER.

A continuación, en la figura 2 se presentan los resultados obtenidos para los promedios del porcentaje de grasa obtenidos en los meses de marzo, abril y mayo para las rutas de leche cruda evaluadas.

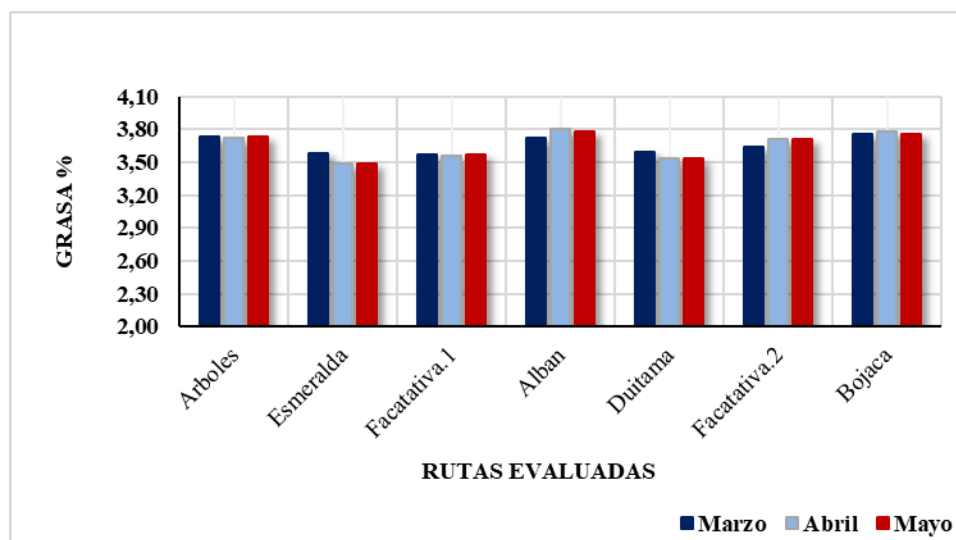


Figura 2. Determinación del promedio mensual del porcentaje de grasa en las rutas de leche analizadas.

Los resultados expuestos permiten determinar que las rutas que surten el centro de acopio de lácteos La Esmeralda se encuentran dentro del límite establecido para el porcentaje de grasa impuesto por el Decreto 616 de 2006. Este estipula que la leche cruda debe tener un porcentaje de grasa mínimo del 3%. Las variaciones en los porcentajes de grasa para las rutas difieren muy poco. Al realizar una comparación de cada ruta en los tres meses de seguimiento, se determinó que el contenido de grasa es constante. Estos resultados pueden contrastarse con el contenido promedio de grasa reportado en el trabajo realizado Por Manrique y colaboradores en el año 2016, quienes investigaron sobre la relación entre los sistemas de pastoreo y los cambios en el contenido de grasa de la leche. En este caso se evidenció que el porcentaje de grasa de las muestras en estudio puede variar en función del tipo de alimentación que reciben los animales.

También se evidenció que la ruta Esmeralda es la que presenta menores porcentajes de grasa en comparación con las demás rutas, estimando un 3,58% en el mes de marzo, 3,49% para abril y 3,48% en mayo. Aunque hubo un descenso, aún se encuentran dentro del rango establecido

por la normativa. Estos porcentajes de grasa en leche pueden deberse al tipo de raza del animal, su alimentación, su estado vital e incluso la etapa de lactancia en la que se encuentre el animal (Calvache & Navas, 2012). Aunque muchos factores influyen en el contenido de grasa de la leche el principal factor es la alimentación, por ende, una alimentación basada en forrajes altos en fibra favorece la estimulación de la rumia, la cual se encarga de producir acetato, principal precursor de la grasa láctea por acción microbiana (Urrutia & Muñoz, 2020). Asimismo, dentro de estos forrajes, el pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) conforma el 80% de las praderas de la sabana de Bogotá, debido a que se ha destacado como un excelente sobreviviente a clima frío y aporta muchos nutrientes a la dieta del animal. Se ha demostrado que el acondicionamiento de praderas mixtas, que involucran leguminosas y gramíneas, aumenta la producción de leche y, a su vez, mejora el perfil graso de la misma (Castro et al., 2008).

No obstante, es importante considerar el hecho de que se presentan casos en que la grasa de la leche es adulterada con matrices vegetales provocando cambios en las características naturales propias de la leche. Dado que la grasa de la leche es costosa, algunos fabricantes eliminan el contenido graso de la leche para usarla en otros procesos y obtener más ganancias reemplazándola por grasas vegetales (Tanzina & Shoeb, 2016). En el peor de los casos se han usado grasas animales como manteca de cerdo siendo estas las más difíciles de detectar y ocasionando un problema de seguridad alimentaria (Rebechi et al., 2016).

8.1.2.3. Determinación de Acidez Mediante Titulación.

Para la determinación de acidez expresada en porcentaje de ácido láctico se empleó el método de titulación ácido - base, mediante la valoración de un volumen conocido de leche cruda y el uso de fenolftaleína como indicador de pH, con el fin de conocer la concentración final de ácido láctico presente en la muestra. Este parámetro es crucial en la industria láctea para evaluar

la calidad de la leche cruda. Mantener los límites normativos que exige el Decreto 616 de 2006 (0,13% a 0,17% de ácido láctico) soporta la seguridad y calidad del producto final.

A continuación en la figura 3 se presentan los datos del promedio mensual de acidez para los meses de marzo, abril y mayo en las rutas de leche analizadas.

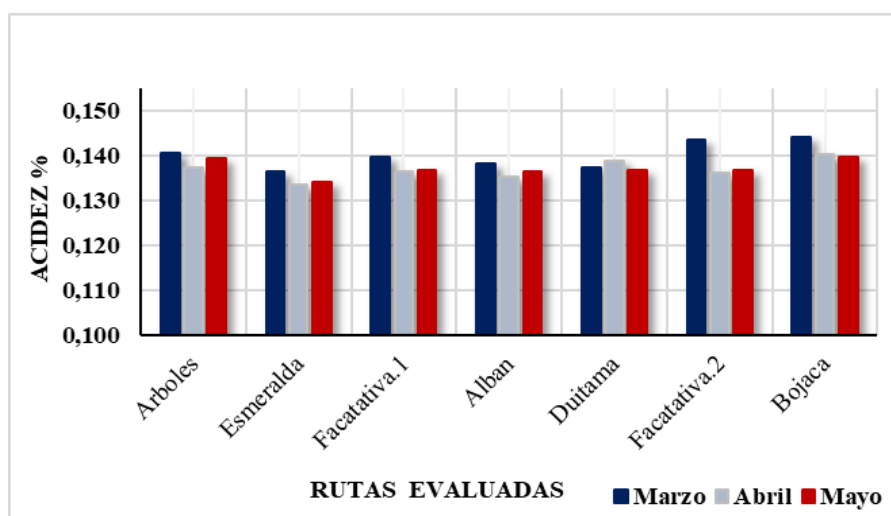


Figura 3. Determinación del promedio mensual de acidez titulable en las rutas de leche analizadas.

Conforme a la figura 3 puede observar que las rutas de leche que abastecen la empresa de Lácteos La Esmeralda cumplen con los porcentajes de acidez establecidos por el decreto 616 de 2006, lo cual facilita su transformación durante la cadena productiva. Sin embargo, se presentó una variación en el mes de marzo donde se obtuvieron los valores más elevados de acidez en las rutas de leche analizadas. Estos resultados ilustran la implicación de la presencia de carga microbiana y su estrecha relación con este parámetro fisicoquímico (Corzo et al., 2018). El aumento de microorganismos en la leche es directamente proporcional al aumento de acidez y puede darse por diferentes situaciones, entre ellas: una temperatura de almacenamiento no

adecuada, malas prácticas de ordeño que dan paso a la proliferación de microorganismos que degradan la lactosa y aumentan el porcentaje de ácido láctico, ocasionando que la leche se vuelva inestable térmicamente (Arrieta et al., 2019).

En función de todo lo anterior, estos datos pueden ser comparados con los resultados obtenidos por Calderón y colaboradores (2006), donde se demostró que los porcentajes de acidez evaluados en la sabana de Bogotá se encontraban en un rango de 0,10% y 0,165%, siendo menores en comparación con otras zonas del país como el Magdalena Medio. Los autores atribuyeron estas variaciones a la temperatura ambiental, puesto que las temperaturas de la sabana de Bogotá son frías. De igual forma, se ha reportado que el crecimiento microbiano en la leche con temperaturas frías es ralentizado (Jurado & Insuasty, 2021).

8.1.2.4. Determinación del Contenido de Proteína Mediante Método de Formol.

El contenido de proteína en la leche cruda está directamente relacionado con la cantidad de lactosuero. A continuación en la figura 4 se indican los promedios mensuales del porcentaje de proteína reportados para cada ruta analizada en los meses de marzo, abril y mayo. Según la normativa colombiana los valores estándares mínimos para el contenido de proteína en una leche cruda debe ser mayor a 2.9% (Decreto 616, 2006).

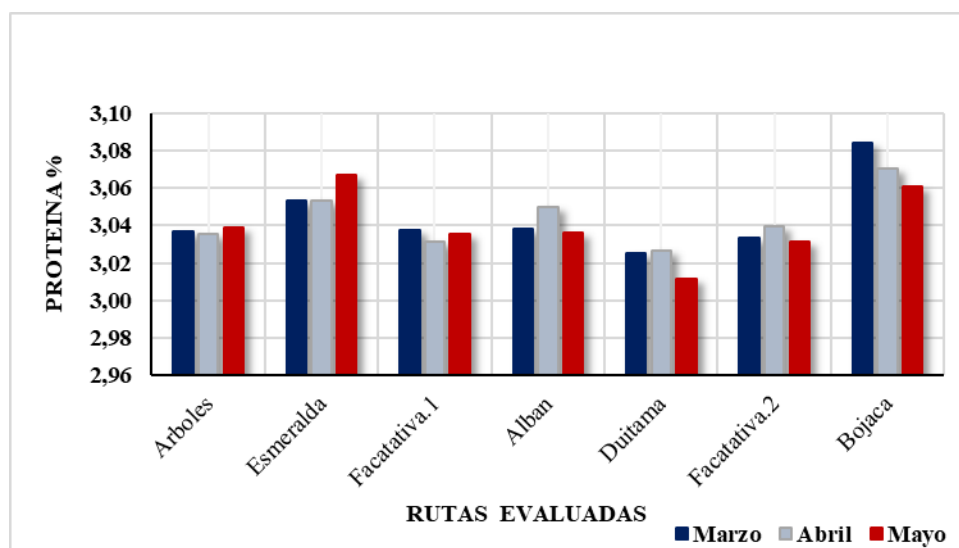


Figura 4. Determinación del promedio mensual del contenido de proteína en las rutas de leche analizadas

En la figura 4 se observa que todas las rutas analizadas cumplen con el estándar del contenido de porcentaje de proteína estipulado en el decreto 616 del 2006, específicamente para leche proveniente de bovinos que debe ser mayor al 2,9%. Se evidenció, además, que la ruta Duitama presentó leche de menor contenido proteico en el mes de mayo. En cuanto a las demás rutas, el porcentaje de proteína fue constante para todos los meses, siendo la ruta Bojacá la que presentó el mayor contenido proteico, durante los meses de marzo y abril. Dado que la proteína láctea está determinada por las caseínas propias de la leche, siendo estas las más abundantes, el porcentaje del contenido de proteína puede variar según factores como la raza del animal, dieta, fase de lactancia, salud del animal, entre otros (Manterola, 2014). Factores como el cambio climático hacen que los animales disminuyan el consumo de forraje e incrementen el consumo de agua; por lo tanto, el aporte nutricional no es suficiente y el porcentaje de la proteína en la leche tiende a disminuir (Blanco & Gonzales, 2021).

Un estudio realizado por Ormston y colaboradores (2022), demostró que las ganaderías compuestas por vacas de la raza Jersey cruzadas, producen leche con un alto contenido de proteína en comparación con otras razas, y de igual manera establecieron la relación existente entre la influencia del clima y eficiencia alimentaria con el contenido de proteína. Por otra parte, el estado de lactancia influye también en el aumento o disminución del contenido de porcentaje de proteína, debido a que la producción de leche se eleva notablemente a partir del día 1 del parto. Se encontró que la cantidad de proteína y grasa puede ser inversamente proporcional al volumen de leche que se produce por el animal (Calvache & Navas, 2012). Aunque, los resultados arrojados para las rutas de leche cruda de lácteos La Esmeralda no presentan bajos contenidos de proteína, se realiza un control de calidad diario para evitar un posible ingreso de leche adulterada.

8.2. Determinación de Indicadores de Calidad Microbiológica en las Rutas de Leche

Cruda Que Ingresan a la Planta de Lácteos la Esmeralda.

La calidad de la leche cruda depende de controles rigurosos y eficientes en cualquier etapa de la producción, que persiguen siempre garantizar la inocuidad del producto final y el cuidado de la salud del consumidor. Debido a la complejidad de la cadena láctea, la contaminación microbiana es muy difícil de controlar, obligando a las empresas y entes gubernamentales a establecer planes de monitoreo y control para contrarrestar esta problemática (Asociación Nacional de Empresarios de Colombia, 2020). Desde hace mucho tiempo se han investigado grupos microbianos en la leche cruda como indicadores de calidad de la misma. El grupo más relevante son los aerobios mesófilos; estos microorganismos presentes en la leche han permitido evaluar las condiciones sanitarias e higiénicas del ordeño, almacenamiento o transporte al que ha sido sometida la leche. Este grupo de microorganismos abarcan importantes patógenos que están asociados con el deterioro de la leche (Dutra et al., 2022). Estos pueden crecer en un rango de temperatura de 20°C a 40°C, siendo

32°C la temperatura óptima para su crecimiento. El conteo de aerobios mesófilos se realiza mediante el vertido de muestras diluidas en placas de agar con un medio de cultivo que les permita desarrollarse, seguido de su incubación y unas condiciones establecidas para su crecimiento (Freitas et al., 2009).

Otro de los indicadores de calidad más importantes en la leche es el recuento de células somáticas en la leche cruda (RCS). Este análisis es de suma importancia para conocer el estado sanitario de las ubres de las vacas. Las células somáticas comprenden glóbulos blancos y algunas células epiteliales que se desprenden del tejido mamario. Se usan como indicador de calidad, puesto que un recuento alto indica signos de mastitis, afectando la calidad de la leche y la salud del animal (Longrui et al., 2024). De igual manera se establecen metodos cualitativos como la prueba de reductasa que es un indicador de calidad sencillo de ejecutar y muy práctico en la industria láctea. Esta metodología se fundamenta en el tiempo de decoloracion del azul de metileno, colorante que es usado comunmente en este procedimiento. La rapidez con la que se da la decoloracion del azul de metileno en la leche se da en funcion del número de microorganismos que esta contenga; es decir, que entre mayor sea la carga microbiana menor tiempo de decoloracion presentará la muestra (Garcia et al., 2014),

8.2.1. Recuento de Aerobios Mesófilos.

El recuento de aerobios mesófilos es un indicador de calidad muy comun en alimentos, especialmente en materias primas como la leche cruda, al ser un medio rico y óptimo para la proliferacion de este grupo bacteriano. El recuento de estos microorganismos refleja las condiciones higiénicas a las que se ha sometido la leche cruda, desde su ordeño hasta su procesamiento. En la interpretación de este metodo es importante tener en cuenta que de los resultados arrojados por este indicador ciertamente dependerá la estimación de la vida útil del

producto. Es decir que un alimento que es altamente perecedero como la leche, si se manipula de forma correcta pero se almacena por un largo tiempo puede desarrollar contaminación por este grupo de microorganismos no por condicion de higiene si no por la vida útil del mismo que se deteriora (Diaz et al., 2014).

A continuacion en la figura 5, se presentan los resultados de los recuentos en placa obtenidos en el mes de mayo para las rutas de leche cruda que bastecen el centro de acopio de Lácteos La esmeralda (Lácteos la Esmeralda no realiza análisis microbiológicos rutinarios de leche cruda, por lo tanto, el análisis realizado en el mes de mayo tuvo como propósito conocer la calidad microbiológica de la leche que se destinó a pruebas de cGMP). En este análisis se ha tomando como normativa de referencia para el límite establecido de aerobios mesófilos la NTC 399 de 2002, la cual establece los requisitos generales y especificos que debe cumplir la leche cruda; estipula además, que el valor máximo permitido de aerobios mesófilos en leche cruda no debe ser mayor a 700,000 UFC/mL.

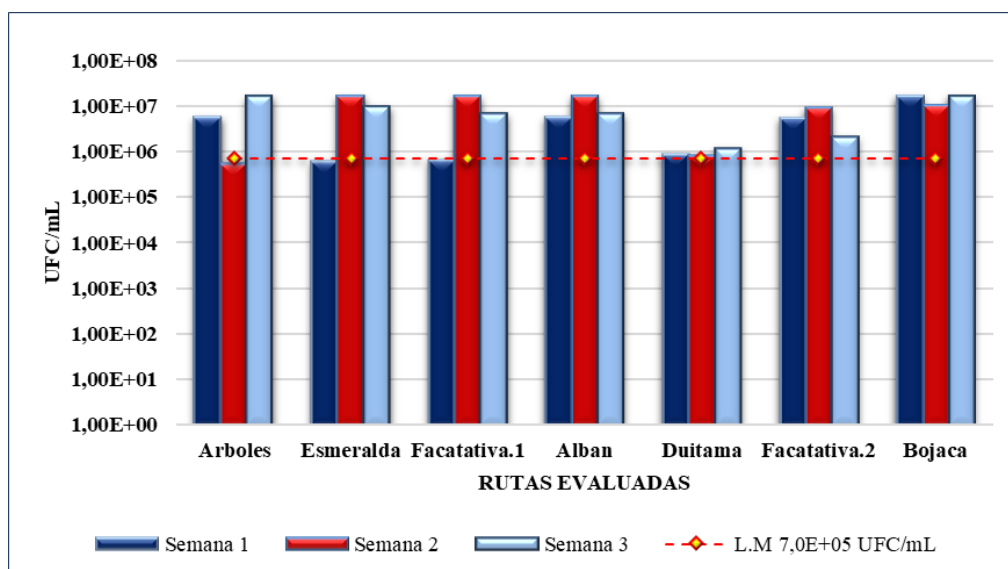


Figura 5. Recuento de aerobios mesófilos en las rutas de leche analizadas en el mes de mayo.

La gráfica 5 presenta los recuentos de aerobios mesófilos obtenidos en el mes de mayo. Donde se evidencio que ~~solo~~ el 29% de las rutas de leche cruda se encuentran en condiciones sanitarias aptas para consumo humano con recuentos que oscilan ente $5,40 \times 10^5$ UFC/mL y $6,20 \times 10^5$ UFC/mL, segun lo establecido por la Norma Tecnica Colombiana 399 de 2002 que estipula que el recuento de aerobios mesófilos debe ser $< 7 \times 10^5$ UFC/mL. Por el contrario el 71% de las rutas presentaron recuentos de $1,60 \times 10^6$ UFC/mL por lo que se calificaron como rutas que no se encuentran en óptimas condiciones, y que pueden son propensas a generar daño en la calidad del producto final al que se destina esta materia prima. Es importante destacar que la leche con este número de recuentos obtenidos por el mes de mayo se destino a procesos de pasteurización y ultrapasterización para luego ser usada en leche UHT de media vida útil con el fin de no prolongar su tiempo de almacenamiento o distribución, de igual manera a todos los lotes que se originaron de estas materias primas de recuentos altos se les realizó un seguimiento de vida útil para evidenciar si se presentaba alguna alteración. De los resultados obtenidos se atribuyo el elevado número de recuentos a la falta de higiene en el proceso de ordeño, pérdida de la cadena de frío correspondiente, tiempos prolongados de almacenamiento en el centro de acopio y equipos en mal estado de higienización (Arrieta et al., 2019), lo que genera que la leche de las rutas Bojacá y Albán sea de mala calidad y no apta para consumo humano. Los altos recuentos encontrados en este estudio son similares a los obtenidos por Freire – Guevara y colaboradores (2019), en su investigación en ganaderías de la provincia de Cotopaxi, Perú, con recuentos de $7,6 \times 10^6$ UFC/mL a $7,90 \times 10^7$ UFC/mL. Dichos autores asociaron la elevada carga microbiana con malas prácticas de ordeño, mencionando el uso de toallas reutilizables, la falta de higienización de las ubres y las condiciones de almacenamiento de la leche en tanques plásticos por tiempos prolongados sin una cadena de frío óptima. De igual manera, Albuja -Landi y colaboradores (2021), reportan recuentos

de aerobios mesófilos altos en todas las rutas de abastecimiento de leche según su investigación en un centro de acopio en la provincia de Tungurahua, Ecuador, con valores significativos de $1,22 \times 10^8$ UFC/mL en época de invierno y $8,07 \times 10^6$ UFC/mL en época de verano. Además, sugirieron que los aerobios mesófilos en leche cruda son inevitables debido a que la mayoría de los géneros que conforman este grupo provienen de las ubres de las vacas y del proceso que transcurre la leche del campo a la mesa. Sin embargo los resultados obtenidos no se relacionan con los promedios de acidez expresados en ácido láctico puesto que estos se encuentran cumpliendo lo previsto por el decreto 616 de 2006.

8.2.2. Prueba de Reductasa.

El tiempo de reducción de azul de metileno en la leche es un método cualitativo muy relevante en el control de calidad microbiológico de la leche cruda, dicha reducción ocurre por el potencial de oxido-reducción que originan las bacterias en el proceso de respiración eliminan el oxígeno disuelto en la leche y el colorante se reduce hasta ser eliminado totalmente (Eche et al., 2019) (Luigi et al., 2013). El principio básico de esta técnica radica en que el azul de metileno en su forma oxidada tiene una coloración azul y en su forma reducida es incoloro, cuando los microorganismos crecen en la leche consumen el oxígeno presente en ella. Si la carga microbiana es muy elevada el consumo de oxígeno es mayor y el potencial de oxido-reducción disminuirá rápidamente, junto con el colorante, es decir, que el tiempo en horas que se tarde en reducir el colorante es proporcional al número de bacterias presentes en la leche. Esta técnica es versátil debido a que no requiere equipos o reactivos muy costosos (De la Cuesta, 2005).

En Colombia la NTC 399 de 2002 expone los requisitos que debe cumplir la leche cruda y en tal sentido establece que se debe realizar la prueba de reducción de azul de metileno a la leche cruda con una estimación de 4 horas de duración mínima en la coloración para considerarse apta para el

consumo humano o procesos de derivados lácteos (NTC 399, 2002). Para la interpretación de resultados se ha dispuesto una clasificación para calidad de la leche de acuerdo con el tiempo de reducción arrojado por la prueba.

Tabla 4. Interpretación de resultados de la prueba de reductasa.

Clasificación de la leche	Tiempo de Reducción
Leche de buena calidad	Mayor a 4 horas
Leche de calidad regular	2 horas a 3 horas
Leche de mala calidad	Menor a 2 horas

Fuente: (NTC 6103, 2015), (SENA, 1987)

A continuación, en la tabla 4 se exponen los resultados obtenidos para la prueba de reductasa en las rutas de leche cruda analizadas en las semanas 1,2 y 3 del mes de mayo.

Tabla 5. Resultado semanal de la prueba de reductasa

	SEMANA1	CALIDAD DE LA LECHE	SEMANA 2	CALIDAD DE LA LECHE	SEMANA 3	CALIDAD DE LA LECHE
RUTAS	TRAM		TRAM		TRAM	
Arboles	3 horas	Regular	3 horas	Regular	2 horas	Regular
Esmeralda	6 horas	Buena	4 horas	Buena	3 horas	Regular
Facatativá 1	5horas	Buena	2 horas	Regular	4 horas	Buena
Alban	3 horas	Regular	2 horas	Regular	4 horas	Buena
Duitama	5 horas	Buena	7 horas	Buena	6 horas	Buena
Facatativá 2	3 horas	Regular	3 horas	Regular	3 horas	Regular
Bojacá	3 horas	Regular	3 horas	Regular	2 horas	Regular

* TRAM: tiempo de reducción del azul de metileno

Conforme a los resultados obtenidos se evidencia que ninguna de las rutas presenta leche de mala calidad. Sin embargo; la ruta Facatativá 2, Arboles, Bojacá ingresaron leche de calidad regular en las 3 semanas, a diferencia de la ruta Duitama que presentó leche de buena calidad en las tres semanas. Al realizar una comparación con los recuentos en placa se evidencia que la leche

de calidad regular pudo estar sujeta a los altos recuentos obtenidos de microorganismos mesófilos que presentaron algunas rutas como el caso de Facatativá 2, Bojacá que de igual manera presentaron un recuento de células somáticas altos, como se describe en el siguiente apartado. Estos resultados pueden contrastarse con el estudio realizado por (Jurado et al., 2020) quienes afirmaron que existen muchos factores que pueden influir en la determinación de la reducción del azul de metileno en los que se destacan, la composición de la leche, la relación de la leche con mastitis donde se demostró que esto provoca una caída del potencial eléctrico de la leche rápidamente por lo que la presencia de leche mastítica podría alterar los resultados de la prueba. De igual manera, la leche puede contener enzimas donadoras de hidrogeno que pueden activarse y ocasionar el descenso del potencial eléctrico de la leche sin necesidad de la presencia de microorganismos, haciendo que la reducción del azul de metileno se lleve a cabo de manera más rápida. Según lo reportado por (Mamani, 2010) en su investigación sobre calidad higiénica de la leche por el método de reducción de metileno en ordeños mecánicos y manuales, asociaron que la época de clima frío influye en el tiempo que demora el colorante en desaparecer de la leche. Puesto que, cuando se mantenían días fríos, la leche no generaba un aumento en la proliferación de microorganismos haciendo que el tiempo de reducción fuera más lento. De igual manera, se resalta la aplicación de las buenas prácticas de ordeño, el almacenamiento y transporte de la leche como indispensables para asegurar la calidad de la leche.

8.2.3. Recuento de Células Somáticas.

Las células somáticas en la leche son un indicador crucial de su calidad. Estas células, que incluyen principalmente leucocitos y células epiteliales, aumentan en número cuando la vaca tiene una infección mamaria. Un conteo elevado de células somáticas puede afectar negativamente la composición y las propiedades de la leche, reduciendo su vida útil y alterando su sabor y textura.

Por lo tanto, monitorear y mantener bajos niveles de células somáticas es esencial para asegurar la producción de leche de alta calidad, segura y nutritiva para el consumo humano (Sharma et al., 2011).

El recuento de celular somáticas (RCS) es un importante indicador de calidad en la leche cruda, puesto que es un predictor útil de la exposición de las vacas a la mastitis, que es una infección causada por bacterias a la ubre. Los recuentos de células informados en casos de ausencia de infección mamaria oscilan entre 200,000 y 100,000 células/ml. Sin embargo cuando los recuentos sobrepasan las 800,000 células/ml se asocian con infecciones persistentes por mastitis ocasionando pérdidas económicas, pérdida de calidad de la leche cruda y un peligro para la salud del consumidor si la leche llegase a un producto terminado (Burbano, 2018).

Tabla 6. Recuento de células somáticas en las rutas analizadas

RUTAS	RCS/mL	CUMPLIMIENTO
Arboles	458.671	si
Facatativá 2	907.584	no
Facatativá 1	846.318	no
Duitama	616.360	si
Bojacá	2.903.678	no
Alban	317.329	si
Esmeralda	906.974	No
ESPECIFICACION	<700.000 RCS/mL	

* Fuente: NTC 399 de 2002

La tabla 6 presenta los resultados obtenidos por el ICA en la semana 1 del mes de mayo para las rutas de leche cruda de la planta lácteos la Esmeralda, se evidencia que la ruta Facatativá 1, con RCS de 846318 células/mL y Facatativá 2 con 907,584 células/ml, Bojacá 2.903.678 células/ml y Esmeralda 906.974 células/ml no cumplen con los valores contemplados en la Norma Técnica Colombiana 399 de 2002, al sobrepasan los 700.000 células /ml. Esto indica que las rutas están recibiendo leches de los proveedores con prevalencia de mastitis. Estos resultados son

similares a los obtenidos por (Arrieta et al., 2019) donde atribuyen los altos recuentos a la falta de tratamiento con mastitis y buenas prácticas de ordeño. Por otro lado, (Chamorro y Igua, 2009) atribuyeron el aumento de recuento de células somáticas con la edad del animal debido a que las vacas viejas pueden ser mas susceptibles a infecciones de las glándulas mamarias. Asimismo, se relacionó la influencia de la etapa de lactancia con el elevado número de recuento de células somáticas. En las primeras semanas después del parto, este número puede incrementarse debido a la producción de calostro y la inflamación de la ubre..

8.3. Identificación de la Presencia de Glicomacropéptido de Caseína (cGMP) en las Rutas de Leche Cruda Que Abastecen la Planta de Lácteos la Esmeralda Mediante el uso del Test Inmunocromatográfico STICK cGMP.

La industria láctea en Colombia ha generado un impacto social y económico importante puesto que la producción de leche en el territorio es una de las principales fuentes de ingreso de muchos hogares. La leche por ser un alimento tan completo nutricionalmente, se ha convertido en objetivo para la adulteración por motivos económicos (EMA), término que ha sido descrito por la farmacopea de estados unidos como la adición, dilución, o sustitución de sustancias no auténticas de un producto con fines económicos (Darvishi et al., 2024). Colombia ha centrado su atención en la adulteración de leche con suero de quesería, práctica desleal que genera cambios en la calidad de la materia prima y por ende del producto final, para el cual se destina la leche cruda. Los reportes sobre el uso excesivo de lactosuero de quesería en dosis altas resultan en dolor de estómago, daño de la microbiota intestinal, dolor de cabeza; entre otros síntomas (Vera et al., 2022). Si se evalúa desde el punto de vista nutricional la adición de suero en la leche es catalogado como un engaño al consumidor puesto que este desconoce realmente la composición del producto final que está incluyendo en su dieta .

Es importante mencionar que existen dos métodos de coagulación de la leche: uno se da por coagulación láctica que ocurre por la adición de ácidos o por bacterias que producen ácido y modifican el pH de la leche. El segundo método es enzimático y es el mas usado en la industria láctea colombiana, este se da por la adición de la enzima quimosina que esta presente el cuajo que es el producto con el cual se hace dicha coagulación (Vera et al., 2022) . Durante la coagulación de la leche esta se separa en una fase sólida que se conoce como cuajada y esta compuesta por K-caseína y una fase líquida conocida como suero compuesta de cGMP, siendo este compuesto un candidato muy apto para usarse como marcador de adulteración de la leche puesto que es un compuesto propio del lactosuero (Troch et al., 2017). Este tipo de adulteraciones no es posible detectarlas mediante los típicos análisis fisicoquímicos por lo que representan un desafío para los proveedores y distribuidores.

En Colombia la normativa que regula las condiciones que debe cumplir la leche para consumo humano, procesamiento, transporte, envasado, comercialización, exportación o importación es el Decreto 616 de 2006. Aunque en él se enumeran las prohibiciones incluyendo la adición de lactosuero en cualquier etapa de producción láctea, no especifica el método ni la cantidad mínima permitida de lactosuero adicionado, desencadenando así una despreocupación para las industrias lácteas. Es hasta el año 2023 cuando el INVIMA presentó a nivel nacional la Resolución 2270 de 2023 la cual establece que la concentración máxima permitida de lactosuero debe ser de 30 mg por litro de leche, y que el método de determinación más adecuado debe ser la técnica de HPLC.

Aunque el HPLC ha sido descrita como la técnica más eficaz para la detección de cGMP existen métodos cualitativos más sencillos que han sido propuestos como alternativas económicas rápidas y sencillas para la detección del cGMP como lo son los métodos

inmunocromatográficos también llamados ensayos de flujo lateral. Esta técnica basa su funcionamiento en reacciones antígeno-anticuerpo que reaccionan entre sí y permiten la detección rápida del analito, que en este caso sería el cGMP, expresando un límite de detección visual de 1% a 4% según la marca comercial, en lo cual destacan laboratorios como Operon, Zeulab y Bioeasy (Rajan et al., 2013).

Para la evaluación realizada en este estudio se empleó el kit inmunocromatográfico stick cGMP de la casa comercial Operon. A diferencia de los demás, este kit tiene una particularidad especial y es la diferenciación de la línea de control (color azul) y la línea de resultado (color rojo). En los demás kits las dos líneas tanto de control como del resultado son del mismo color, lo que hace un poco difícil su lectura; además, el kit de Operon estima un límite de detección hasta 4%.

A continuación en la tabla 7, se presentan los resultados obtenidos para la detección de cGMP mediante el uso del kit stick cGMP en cada una de las rutas de leche en estudio. Estas pruebas se realizaron una vez por ruta en el mes de mayo (Los análisis de cGMP se realizaron únicamente en el mes de mayo, ya que la empresa adquirió el kit en ese periodo de tiempo).

Tabla 7. Resultados de la determinación de cGMP con el uso del kit inmucromatografico Stick cGMP.

RUTA	% CONCENTRACION GMP EVALUADA	RESULTADO
Arboles	2	Negativo
Esmeralda	2	Negativo
Facatativa.1	2	Negativo
Alban	2	Negativo
Duitama	2	Negativo
Facatativa.2	2	Negativo
Bojaca	2	Negativo

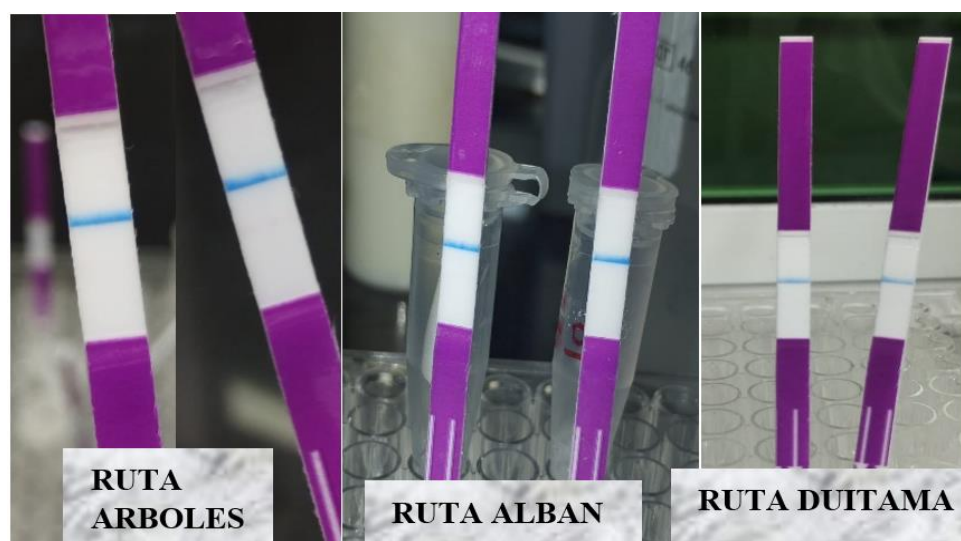
*Limite de sensibilidad evaluado en la muestra final analizada en la tira.

Los análisis de presencia de glicomacropéptido de caseína (cGMP) en leche cruda para las diferentes rutas mediante el uso de kit de detección rápida reportan que la leche que ingresa a lácteos La Esmeralda se encuentran negativas para lactosuero a una concentración de 2% lo cual corresponde a una concentración entre 15 – 30 mg/ml de cGMP (Martín et al., 2009).

La figura 6 corresponde a la forma en que se evidencia la línea azul descrita como control negativo e indicador de que el procedimiento se desarrolló de manera eficiente en cada muestra analizada. Cuando la muestra es inválida y/o mal procesada, no se reflejará la aparición ni de la línea azul de control negativo, ni de la línea roja que indica el resultado (Operon S.A. , 2017).

La determinación de cGMP con tiras reactivas se ha impuesto como una alternativa rápida y ha demostrado que sus resultados son similares y se correlacionan positivamente con los obtenidos mediante HPLC, por lo que se plantea como un método cualitativo válido para identificar cGMP en leche cruda (Martín et al., 2009). De igual manera, Vera y colaboradores (2022), registraron una alta sensibilidad en el kit inmunostick cGMP al evaluar muestras de leche fresca no adulteradas y leche adulterada con una concentración del 5% de cGMP. Además, se demostró que el método puede ser aplicado a pruebas de rutina en leche o productos terminados de pequeñas o grandes industrias (Oancea, 2009).

Figura 6. Resultados negativos de cGMP mediante el kit inmuno stick CGMP



Una limitación de esta prueba está sujeta a la leche de mala calidad. La presencia de pseudoGMP generado por acción bacteriana da lugar a resultados positivos, por lo que se recomienda establecer el límite de detección de la prueba en función de la calidad microbiológica de la leche a evaluar y su confirmación por HPLC, teniendo en cuenta que este último es el método que puede discriminar entre el cGMP y productos estrechamente relacionados con resultados de la actividad bacteriana (Vera et al., 2022).

8.4. Determinación de la Concentración de Glicomacropéptido de Caseína (cGMP) en las Rutas de Leche Cruda Que Abastecen la Planta de Lácteos la Esmeralda Mediante el uso de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC).

La implementación de HPLC como técnica ha sido un punto de partida para muchas empresas en Colombia, que ha permitido establecer valores de referencia para mitigar el impacto de prácticas fraudulentas en el sector lácteo. Tal y como se ha indicado, esta técnica fue descrita en Colombia como método de referencia para la determinación de lactosuero en leche cruda.

A continuación, la tabla 8 expone los resultados obtenidos en el laboratorio externo de Biotrends para el análisis de cGMP mediante la técnica de análisis de HPLC, que se realizó a las 7 rutas de leche cruda en mención. Estos análisis se realizaron una sola vez por ruta en el mes de mayo. Se tomó como referencia la Resolución 2270 de 2023 en la cual se establece que la concentración de cGMP en leche cruda debe ser máximo de 30mg/L.

Tabla 8. Resultados obtenidos en el laboratorio de Biotrends para la determinación de cGMP mediante la técnica HPLC

RUTA	MES	RESULTADO	ESPECIFICACIONES	CUMPLIMIENTO
Arboles	Mayo	<15,3 mg/l	Máximo 30,0	SI
Esmeralda	Mayo	<15,3 mg/l	Máximo 30,0	SI
Facatativa.1	Mayo	<15,3 mg/l	Máximo 30,0	SI
Alban	Mayo	<15,3 mg/l	Máximo 30,0	SI
Duitama	Mayo	<15,3 mg/l	Máximo 30,0	SI
Facatativa.2	Mayo	<15,3 mg/l	Máximo 30,0	SI
Bojaca	Mayo	<15,3 mg/l	Máximo 30,0	SI

Los resultados obtenidos para la determinación de cGMP mediante la técnica de HPLC fueron satisfactorios, puesto que los resultados de la cuantificación arrojó valores inferiores a 15,3 mg/L de cGMP, valor reportado como favorable por el Resolución 2270 de 2023 (anexo 4). Al realizar un análisis comparativo se encontro que la implementación del kit en los análisis de rutina de la empresa son eficientes y que se pueden corroborar mediante la técnica cuantitativa de HPLC, es decir, la implementación de ambos genera resultados mas confiables. Estos resultados se pueden contrastar con lo obtenidos por Oancea (2009), quien estableció que los resultados obtenidos por la implementación de estos dos métodos son confiables en comparación con otros

métodos que implican colorimetría. De igual manera Vera y colaboradores (2022), señalan que la técnica de HPLC es robusto y arroja señales altas en el cromatograma. También afirmaron que el tratamiento de la muestra con ácido tricloroacético (TCA 24%) permitio una mejor precipitación de las proteínas y desarrollo de la técnica, y sugirieron que ambos métodos son reproducibles y confiables en la evaluación de cGMP. Además, el uso del kit puede usarse en pequeñas empresas como prueba rutinaria. Sin embargo, se sugiere realizar pruebas confirmativas mediante HPLC, es decir, que se implementen los dos métodos para mayor seguridad de los resultados.

9. Conclusiones.

- La calibración del Ekomilk evidenció que el equipo es confiable para la determinación de los parámetros físicoquímicos de la leche cruda que ingresa a la planta, puesto que los valores obtenidos mediante el equipo y el método tradicional presentan variaciones mínimas.
- La determinación de los parámetros físicoquímicos demostró que la leche cruda que ingresa al centro de acopio de Lacteos La Esmeralda, cumplen con el 100% para el contenido de grasa, , proteína y acidez de los requisitos expuestos en el Decreto 616 de 2006. Por el contrario solo el 57% de las rutas analizadas cumplieron con la determinación del parametro de densidad establecido.
- Los recuentos de Aerobios mesófilos sugieren que el 29% de las rutas de leche cruda que ingresan al acopio de Lacteos la Esmeralda cumplen con los límites para leche cruda de buena calidad establecidos por la NTC 399 de 2002. Por el contrario el 71% de las rutas no cumplen con el límite que exige la normativa. Lo que destaca la necesidad de mejorar los procesos de producción y manejo de la leche para garantizar su calidad y seguridad.
- La prueba de reductasa indicó que el 38% de las rutas de leche cruda, presentaron leche de buena calidad, cumpliendo así el límite establecido por la NTC 399 de 2002, que estima que la leche cruda debe tener un tiempo de reducción mínimo de 4 horas. Por su parte, el 62% de muestras restantes analizadas fueron calificadas como de calidad regular. Esto indica que solo una baja proporción de las muestras cumplen con los estándares esperados de calidad, mientras que la mayoría presenta algún grado de deficiencia que debe ser abordado para mejorar la calidad en general de la materia prima.
- El recuento de células somáticas permite determinar que el 43% de las rutas de leche cruda, cumplen con los requisitos establecidos por la NTC 399 de 2002, lo que refleja un nivel de

calidad aceptable, indicando un buen manejo de la salud del ganado y procesos de ordeño. Sin embargo, el 57% de las rutas no cumple con los requisitos, evidenciando posibles problemas en las prácticas de higiene, por lo que se considera leche de mala calidad con prevalencia de mastitis.

- Los resultados de la identificación de la presencia de cGMP mediante el kit inmunocromatográfico stick cGMP en las rutas de leche cruda demostraron que no existe adulteración por adición de lactosuero a las rutas arrojando un valor negativo en la tira de reacción.
- La técnica de cromatografía de HPLC empleada para la determinación cuantitativa de cGMP demostró que todas las rutas analizadas presentan un valor de cGMP $<15,30$ mg/L, lo cual indica que la leche cruda analizada posee una concentración menor al límite de aceptación según la normativa (Decreto 2270 de 2023) y que la leche se encuentra libre de adulteración de lactosuero.
- Acorde a los resultados obtenidos, Lácteos la Esmeralda concluye que la implementación de kits inmunocromatográficos puede considerarse como una opción viable para la evaluación rutinaria de adulteración por lactosuero en la leche cruda, puesto que requiere el uso de menos equipos y presenta una menor inversión. Sin embargo, es necesario su contraste de manera periódica mediante análisis por HPLC para determinar cuantitativamente la concentración de cGMP en la leche cruda, respecto a los valores de referencia emanados por la normativa vigente.

10. Sugerencias o Recomendaciones.

- Lacteos la Esmeralda debe mejorar el control de la cadena de frío desde el ordeño hasta su procesamiento para evitar el crecimiento de bacterias, que pueden comprometer la calidad de la leche y la salud del consumidor.
- Para evitar posibles pérdidas en el producto terminado se recomienda establecer un plan de muestreo rutinario la leche cruda que ingresa a la planta y auditorias periódicas de cumplimiento de requisitos expuestos por las normativas para la leche cruda.
- Mejora de procesos en el transporte y almacenamiento de la materia prima.
- Implementar capacitaciones sobre procedimientos rigurosos de limpieza y desinfección diaria de las instalaciones donde se lleva a cabo el ordeño, incluyendo desinfectar los equipos de ordeño, las salas de espera y las áreas de manejo del ganado.
- Establecer planes de limpieza y desinfección de los equipos donde se lleva a cabo el procesamiento de la materia prima para evitar posibles contaminaciones cruzadas.
- Diseñar estrategias para la gestión del aprovechamiento de residuos de lactosuero para promover prácticas agrícolas sostenibles.

11. Referencias Bibliográficas.

- Aguilera-Becerra, A., Urbano Caceres , E., & Jaimes Bernal, C. (2014). Bacterias patógenas en leche cruda: problema de salud publica e inocuidad alimentaria. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5191851.pdf>
- Albuja-Landi, A., Escobar Arrieta, S., & Andueza leal, F. (2021). Bacteriological quality of raw bovine milk stored at the Mocha collection center. Tungurahua. Ecuador. *Siembra*, 8(2). <https://doi.org/https://doi.org/10.29166/siembra.v8i2.3176>
- Andrade, R., Muñoz, M., Artieda, J., Ortiz, P., & Gonzalez, R. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *REDVET*, 18(11), 1-16. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574004.pdf>
- Aquino, L. F. M. C., Silva, A. C. O., Freitas, M. Q., Felicio, T. L., Cruz, A. G., & Conte-Junior, C. A. (2014). Identificación del suero de queso como adulterante en la leche: contribución limitada de un enfoque sensométrico. *Food Research International*, 62(1), 233-237. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.001>
- Armilla, A. (2009). Evaluacion De La Nisina Como Agente Antimicrobiano En El Proceso De Envasado Uht. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/25839/amoncadaa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arrieta, g., Gomez Caceres, L., Albis, D., calderon, A., & Rodrigues , V. (2019). Calidad de la leche cruda para consumo humano en dos localidades de Sucre (Colombia). *MVZ Córdoba*, 24(3), 7355-7361. <https://doi.org/https://doi.org/10.21897/rmvz.1829>

- Artica, L. (2014). Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos. *Libros y editoriales, TEIA*, 2, 112-113. <https://luisartica.wordpress.com/wp-content/uploads/2011/11/metodos-de-analisis-de-leche-2014.pdf>
- Asociación Nacional de Empresarios de Colombia. (2020). Analisis Prospectivo De La Cadena Lactea Bovina Colombiana. https://www.andi.com.co/Uploads/20200831_DT_AnalisisProspectivoVF.pdf
- Bernal-Aldana, A. S. (2022). Aplicaciones y Tecnologías Utilizadas para el Aprovechamiento del Suero Lácteo, la Producción del Suero en Polvo, Derivados y sus Aplicaciones en la Industria en General y de Alimentos. *Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD)*. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/51553/An41ber888.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Blanco, M., & Gonzales, R. (2021). Composición, síntesis y factores que afectan la n la composicion de la leche. <https://bmeditores.mx/ganaderia/composicion-sintesis-y-factores-que-afectan-la-cantidad-y-composicion-de-la-leche/>
- Burbano, S. (2018). Proyecto Aplicado en la Implementación de Buenas Prácticas de Ordeño en Ganaderías del Municipio de Villagarzón, Putumayo. Universidad Nacional Abierta y a Distancia: <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/17777/87302869.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Calvache, I., & Navas, A. (2012). Factores que influyen en la composición nutricional de la leche. *Revista Ciencia animal*, 1(5). <https://typeset.io/pdf/factores-que-influyen-en-la-composicion-nutricional-de-la-2fu47tnjow.pdf>

- Celis, M., & Juarez, D. (2009). "Microbiología de la Leche". *Editorial de la Universidad Tecnológica nacional*.
https://doi.org/https://www.edutecne.utn.edu.ar/sem_fi_qui_micrb_09/microbiologia_leche.pdf
- Chamorro, G. L., & Igua, L. (2009). Determinacion Del Recuento De Celulas Somaticas En La Leche De Hembras Clasficadas Geneticamente Commo Bovinoselite Para Incorporar Este Criterio En Los Indices De Selccion De Tropico De Alto Nariño.
<https://sired.udenar.edu.co/11176/1/81543.pdf>
- Chedia-Aouadhi, ,. A., Souhir, K., Faten, T., & Abderrazak, M. (2024). Study the effect of lactoperoxidase activation in combination with heat treatment or nisin on the microbiological quality of raw milk,. *Applied Food Research*,, Volume 4, Issue 2,.
- Chiluisa-Utreras, v., Valladares Torres, P., & cabrera rodriguez, M. (2017). Detection of *Listeria spp. and Listeria monocytogenes* in samples of raw milk and artisanal cheeses respectively, using Real Time PCR.
<https://revistas.ufps.edu.co/index.php/respuestas/article/view/1204/1472>
- Corzo , M., Rivera, M., & Caballero , L. (2018). Factores Que Influyen En La Composición Y Calidad Microbiologica De La Leche Cruda Almacenada En Un Centro De Acopio. *@Limentech Ciencia Y Tecnología Alimentaria*, 16(2), 86 - 106.
<https://ojs.unipamplona.edu.co/index.php/alimen/article/download/345/316/985>
- Cuesta de Santos, A. (2018). Control de calidad en la industria de productos lácteos. *Universidad de Valladolid*. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/31477/TFG-I-954.pdf?sequence=1>

- Darvishi, P., Mirzaee-Ghaleh, E., Ramedani, Z., Hamed, K., & Alphas, D. W. (2024). Detecting whey adulteration of powdered milk by analysis of volatile emissions using a MOS electronic nose. *International Dairy Journal*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.106012>
- De la cuesta, J. J. (2005). Diagnóstico De La Calidad De La Leche Cruda Por El Método Del Tram (Tiempo De Reducción Del Azul De Metileno) En La. <https://repositorio.elpoli.edu.co/server/api/core/bitstreams/6fc8a622-e031-4e3e-b047-defed02bc0da/content>
- Diaz , M., Barrio, M., Lopez , M., & cofre, M. (2014). MICROORGANISMOS. *RENALOA*, 3. https://www.anmat.gob.ar/renaloa/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III.pdf
- Dutra-Pierezan , M., Marchesan Maran, B., Marchesan Maran, E., Verruck , S., Colombo Pimentel , T., & Gomes da Cruz, A. (2022). Aspectos Relevantes De Seguridad De La Leche Cruda Para El Procesamiento De Alimentos Lácteos. *avances en la investigación sobre alimentación y nutrición*, 211-264. <https://www-sciencedirect-com.unipamplona.basesdedatosezproxy.com/science/article/abs/pii/S1043452622000018>
- Eche, F., Torres, A., Vergara , D., & Zambrano , T. (2019). Metodo de Reduccion de Azul de Metileno. <https://es.scribd.com/document/471925709/METODO-DE-REDUCCION-DE-AZUL-DE-METILENO>
- Fernández, E., Martínez, J. A., Martínez, V., José, M., Collado, L. R., Hernández, M., & R., M. F. (2015). Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutricion Hospitalaria*, 31(1), 92-101. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.8253>

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2010). *Grasas y ácidos grasos en nutrición humana- consulta de expertos*. FAO. <https://www.fao.org/4/i1953s/i1953s.pdf>
- Freire-Guevara, D., Recalde Montero, M., Rodríguez, a., Valle, L., & Esquivel Aviles, D. (2019). Calidad de leche acopiada de pequeñas ganaderías de Cotopaxi, Ecuador. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 247-255. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15679>
- Freitas, R., Nero, L., & Carvalho, A. (2009). Nota técnica: Recuento de aerobios mesófilos en leche: Evaluación de protocolos oficiales estándar y placas Petrifilm de recuento aeróbico. *Revista de ciencia lactea*, 92, 3069-3073. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2008-1705>
- Galindo, L., Valbuena, E., & Rojas, E. (2006). Estandarización de la detección del Glicomacropéptido Por Page-SDS como índice de Adulteración de Leche. *Revista Científica*, 16(3). https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592006000300013
- García-Martínez, E., Fuentes López, A., & Fernández Segovia, i. (2014). determinación de la calidad higiénica de la leche mediante la medición indirecta del tiempo de reducción del azul de metileno o prueba de la reductasa microbiana. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/38380/Eva%20Garc%C3%ADa.%20Calidad%20leche-2014.pdf>
- Gonzales, L., Franco, F., & Monroy, R. (2016). Contenido De Células Somáticas En Leche Producida En El valle De Tulancingo, Hidalgo. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y*

Tecnología de Alimentos, 1(1), 584-589.

<http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/5/101.pdf>

Guerrero, R. R. (2012). *Evaluación de la calidad físico-química, microbiológica y composicional de la leche cruda bovina en la empresa de lácteos en el corregimiento de Catambuco, municipio de Pasto, departamento de Nariño. Universidad Nariño.*
<https://sired.udenar.edu.co/10348/1/86472.pdf>

Guetouache, M., Guessas, B., & Medjekal, S. (2014). Composition and nutritional value of raw milk. *Journal Issues*, 2(10), 115-122. <https://journalissues.org/wp-content/uploads/2014/12/Guetouache-et-al.pdf>

Haug, A., . Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*, 6(25). <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>

Hernandez, A. V., & Peña, C. S. (2016). *Propuesta Para El Control De La Adulteración En Leche. Fundacion Universidad de America.*
<https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/611/1/6111569-2016-2-IQ.pdf>

ICONTEC. (2001). *Leche y productos lacteos. Determinacion de la acidez titulable - metodo de referencia.* NTC 4978:2001. <https://tienda.icontec.org/gp-leche-y-productos-lacteos-determinacion-de-la-acidez-titulable---metodo-de-refencia---ntc4978-2001.html>

ICONTEC. (2010). : *Leche. Determinación del contenido de grasa.* NTC 5819:2010.
<https://tienda.icontec.org/gp-leche-determinacion-del-contenido-de-grasa-ntc5819-2010.html>

- Instituto Nacional de Colombia. (1982). *Análisis físicoquímico y microbiológico de leches*. Bogotá, D.C: Universidad nacional de Colombia.
- Jensen, R. G. (2002). Composición de los lípidos en la leche y su importancia nutricional. *Journal of Dairy Science*, 85(2), 2503-2511. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74079-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74079-4)
- Jurado, H., & Insuasty, E. (2021). Procedimientos De Tecnología De Leche. *Probiotec forapis*. [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(20\)94249-2/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(20)94249-2/pdf)
- Jurado, H., Burgos, A., Gonzales, A., Solarte, E., & Rosero, C. (2020). Relación entre la calidad composicional y sanitaria de la leche de bovinos Holstein del trópico alto de Nariño. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 11(2). <https://doi.org/https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i2.5118>
- Longrui, Y., Xiaoyun, S., Jiacy, C., & Zhang, J. (2024). Determinación simultánea del recuento de células somáticas y del recuento total de placa en leche cruda basada en el ensayo de bioluminiscencia de ATP. *Analítica Química Acta*, 338-343. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2024.343338>
- Luigi, T., Rojas, L., & Valbuena, O. (2013). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. *Salus*, 17(1). https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-71382013000100006
- Mamani, j. c. (2010). Calidad de Leche: Evaluación de la Calidad Higiénica de Muestras de Leche cruda de establos en el servicio oficial de productividad lechera - Majes - 2009, por el método del Tiempo de Reducción al Azul de Metileno –"TRAM". https://www.engormix.com/lecheria/calidad-leche/calidad-leche-evaluacion-calidad_a28384/

- Manrique, E., Vargas, J. E., Joaquín, A., & Mahecha, L. (2016). Grasa y ácidos grasos en leche de vacas pastoreando, en cuatro sistemas de producción. *Agron. Mesoam.* <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v28n1/43748637002.pdf>
- Manterola, H. (2014). Estrategias nutricionales y alimenticias para modificar los sólidos totales de leche. *Universidad de Chile.* https://www.engormix.com/lecheria/nutricion-vacas-alta-produccion/estrategias-nutricionales-alimenticias-modificar_a31487/
- Martín, C., Muñoz, M., Cedric, D., Weymuth, H., Kemmers-Voncken, A. E., Corbatón, V., . . . Breme, M. G. (2009). Immunochromatographic lateral-flow test strip for the rapid detection of added bovine rennet whey in milk and milk powder. *International Dairy Journal*, 19(4), 205-208. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.10.016>
- Martín, C., Muñoz, M., Daury, C., Hans, W., Kemmers, A. E., Corbatón, V., . . . Bremer, M. G. (2009). Identification of glycomacropeptide as indicator of milk and dairy drinks adulteration with whey by immunochromatographic assay. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(1). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694608001957?via%3Dihub>
- Milkotronic Ltd. (2019). Lactoscan SP: Manual de operación. https://lactoscan.com/editor/ufo/manuals/SP/Lactoscan_SP_ES.pdf
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. (2022). RES. No. Por la cual se adopta el Plan de Ordenamiento Productivo para la Cadena. <https://www.minagricultura.gov.co/Normatividad/Proyectos%20Normativos/Por%20la%20cual%20se%20adopta%20el%20Plan%20de%20Ordenamiento%20Productivo%20par>

a%20la%20Cadena%20L%C3%A1ctea%20Bovina%20en%20Colombia%20y%20se%20dictan%20otras%20disposi.pdf

Ministerio de Salud y Protección Social. (2006). *Decreto Número 616 de 2006*. Ministerio de Salud y Protección Social.: <https://www.ica.gov.co/getattachment/15425e0f-81fb-4111-b215-63e61e9e9130/2006D616.aspx>

Ministerio de Salud y Protección Social. (2023, 28 diciembre). RES. 2270 Por la cual se establecen criterios para el ejercicio de las funciones de Inspección. Vigilancia y Control del INVIMA en relación con la industria alimentaria. <https://www.minsalud.gov.co/>

Ministerio de Salud. (1983, 30 agosto). DECRETO 2437 Por el cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 9a de 1979, en cuanto a Producción, Procesamiento,. *Ministerio de Salud*. <https://www.nuevaleislacion.com>

Munguía, J. L. (2020). Manual De Procedimientos Para El Analisis De Calidad De La Leche. *TechnoServe*.
https://downacademia.com/download/9408795/20_Manual_de_Procedimientos_para_Analisis_de_calidad_de_la_Leche?hash=D6%2Bwgo1HAB7nNsgmkGzLzs0HZ8xVs%2BPeK01MohfAu0fPVvpQjlsjyWEcJbMIVRA

Murcia, F., Bernal, O., Olga, Á., Guzmán, J., Arias, W., & Morales, M. (2021). Validación de un método mediante cromatografía líquida para identificar y cuantificar glicomacropéptido de caseína en la leche cruda. *Vitae*. <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v28n3a34525>

NTC 399. (2002). *NORMA TECNICA COLOMBIANA 399:LECHE CRUDA*.
<https://es.scribd.com/document/144629174/NTC-399>

NTC 4519. (2009). <https://es.scribd.com/document/560860051/NTC-4519>

NTC 6103. (2015). Métodos fisicoquímicos para control de calidad de leche y productos lácteos.

ICONTEC: <https://tienda.icontec.org/gp-metodos-fisicoquimicos-para-control-de-calidad-de-leche-y-productos-lacteos-ntc6103-2015.html>

Oancea, S. (2009). Identification of glycomacropeptide as indicator of milk and dairy drinks adulteration with whey by immunochromatographic assay. *Romanian Biotechnological Letters*, 14(1), 4146-4151. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.10.016>

Operon S.A. . (2017). Stick cGMP kit instructions. . Operon. https://operondx.com/wp-content/uploads/pdf/instructions/090582_cGMP_web.pdf

Organizacion Mundial de la Salud. (7 de febrero de 2018). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

Organizacion Mundial de la Salud. (mayo de 2020). *Campylobacter*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>

Ospina, D., & Morales, y. (2018). Principios Básicos De La Cromatografía Líquida De Alto Rendimiento Para La Separación Y Análisis De Mezclas. <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7731/1/6131978-2018-1-IQ.pdf>

Padilla, J., & Zambrano, J. C. (2021). Estructura, Propiedades Y Genética De Las Caseínas De La Leche: Una Revisión. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 16(3). <https://doi.org/10.21615/cesmvz.5231>

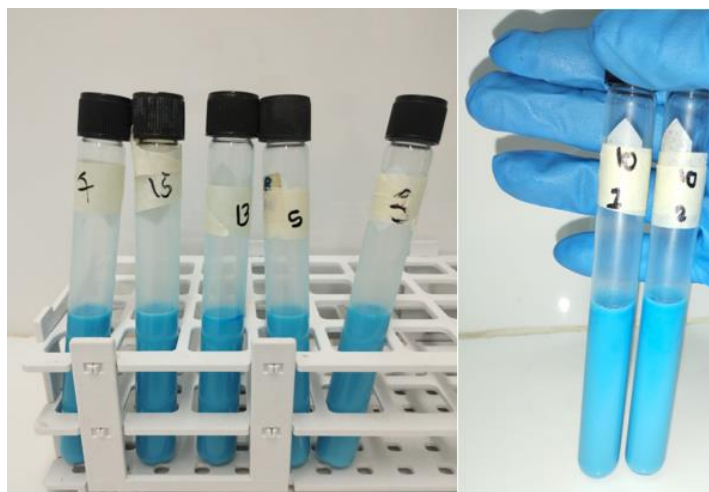
- Rajan, N., Yudhishtir, S., & Bimlesh, M. (2013). Propiedades Químicas Y Funcionales Del Glicomacropéptido (GMP) Y Su Papel En La Detección De La Adulteración Del Suero De Queso En La Leche: Una Revisión. *Ciencia y Tecnología Lechera*, 93, 21-43. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13594-012-0095-0>
- Rebechi, S., Vélez, M., & Perotti, M. (2016). Adulteration Of Argentinean Milk Fats With Animal Fats: Detection By Fatty Acids Analysis And Multivariate Regression Techniques. . *Food Chemistry*, 185, 1025-1032. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.107>
- Santos, P. M., Pereira-Filho, E. R., & Rodriguez-Saona, L. E. (2013). Rapid Detection And Quantification Of Milk Adulteration Using Infrared Microspectroscopy And Chemometrics Analysis. *Food Chemistry*, 138(1), 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.024>
- Schmidt, K. A., Stupar, J., Shirley, J. E., & Adapa, S. (1996). Factors Affecting Titrating Titratable Acidity In Raw Milk. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 0(2). <https://newprairiepress.org/cgi/viewcontent.cgi?article=3265&context=kaesrr>
- SENA. (1987). Microorganismos útiles y perjudiciales en la leche. https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/11404/6568/1/modulo2_unidad5_derivados_lacteos_manejo.pdf
- Sharma, N., Singk, N., & Badwhal, S. (2011). Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Revista de Ciencias Asiáticas y Australianan*, 24(3), 429-438. <https://www.animbiosci.org/upload/pdf/24-52.pdf>

- Shreya , S., Reshab , M., de Pavel , D., & Shamim , H. (2024). Revelando La Importancia De Las Bacterias Psicrotróficas En El Deterioro De La Leche Y Los Productos Lácteos: Una Revisión. *the microbe*, 2. <https://doi.org/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772502224001318>
- Tanzina, A., & Shoeb, A. (2016). Adulteración Común De La Leche Y Sus Técnicas De Detección. *Revista Internacional de Contaminación de Alimentos*. <https://foodsafetyandrisk.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40550-016-0045-3>
- Troch, T., Lefébure, É., Baeten, V., Colinet, F., Gengler, N., & Sindic, M. (2017). Cow Milk Coagulation: Process Description, Variation Factors And Evaluation Methodologies. A Review. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 21(4). <https://doi.org/10.25518/1780-4507.13692>
- Vásquez, K. K. (2018). Caracterización Fisicoquímica Y Organoléptica De Leche Entera Ultrapasteurizada (UHT) Procesadas En Las Empresas Lácteas Establecidas En Nicaragua. Laboratorio De Fisicoquímica De Lácteoscentroamericanos. *Universidad Nacional Autonoma de Nicaragua- Managua*. <https://repositorio.unan.edu.ni/id/eprint/10759/1/99979.pdf>
- Vera, R., Hernández, A. V., Peña, S., Alarcón, C., Loaiza, A. E., & Celis, C. A. (2022). Cheese Whey Milk Adulteration Determination Using Casein Glycomacropeptide as an Indicator by HPLC. *Foods*, 11(20). <https://doi.org/10.3390/foods11203201>
- Vera, R., Hernández, A. V., Peña, S., Alarcón, C., Loaiza, A., & Celis, C. A. (2022). Cheese Whey Milk Adulteration Determination Using Casein Glycomacropeptide as an Indicator by HPLC. *Foods*. , 11(20). <https://doi.org/10.3390/foods11203201>

- Visioli, F., & Strata, A. (2014). Milk, Dairy Products, and Their Functional Effects in Humans: A Narrative Review of Recent Evidence. *Advances in Nutrition*, 5(2).
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S216183132201184X?via%3Dihub>
- Walstra, P., Wouters, j. T., & Geurts, T. J. (2005). *ciencia y tecnologia de productos lacteos*. Advisory Board. <https://doi.org/10.1201/9781420028010>

12. Anexos

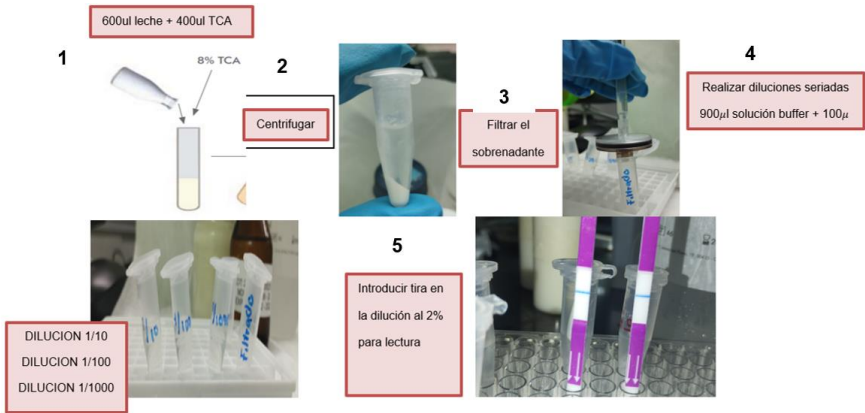
Anexo 1. Prueba de reducción de azul de metileno



Anexo 2. Cronograma de muestreo para la determinación de cGMP en el laboratorio externo Biotrends

FECHA MUESTREO	MAYO
8/05/2024	ARBOLES
8/05/2024	ESMERALDA
16/05/2024	FACATATIVA 1
16/05/2024	ALBAN
23/05/2024	DUITAMA
23/05/2024	FACATATIVA 2
28/05/2024	BOJACA

Anexo 3.Procedimiento de determinación de cGMP mediante kit stick cGMP



Anexo 4.Resultados de cGMP expedidos por Biotrends

F-EC-001 REVISION 09 FECHA DE ACTUALIZACION 2024-05-08		INFORME DE ANALISIS		 			
INFORME DE ANALISIS No. F-24-70518-0							
INFORMACION DEL CLIENTE CLIENTE: LACTEOS LA ESMERALDA S.A.S. NIT/CC: 900784167-1 DIRECCION: Km 14 + 300m Via Fontibon - Facativá TELEFONO: 3132526966 MAIL: martha.moreno@lacteoslaesmeraldasas.com, controlcalidad@lacteoslaesmeralda.com, controlcalidadlaesmeralda@gmail.com CIUDAD: CONTACTO: SRA. MARTHA MOREJEFE DE CONTROL DE CALIDANO CARGO: GERENTE			INFORMACION DE TOMA DE ITEM DE ENSAYO LUGAR DE TOMA DE ITEM: LACTEOS LA ESMERALDA MADRID - CUNDINAMARCA KM 14 VIA RESPONSABLE DE TOMA DE ITEM: LACTEOS LA ESMERALDA S.A.S. FECHA DE TOMA DE ITEM: 2024-06-13 HORA: 09:30:00 FECHA DE RECEPCION: 2024-06-13 HORA: 14:08:00 FECHA DE INGRESO A ANALISIS: 2024-06-13 FECHA DE EMISION DE INFORME: 2024-06-17 LUGAR DE ANALISIS: Bogotá - Av. Boyacá 64F-68				
IDENTIFICACION DEL ITEM DE ENSAYO							
ITEM DE ENSAYO NO.		IDENTIFICACION (+)		FABRICANTE Y/O PROVEEDOR (+)			
24-70518		LECHE CRUDA		LACTEOS LA ESMERALDA S.A.S.			
PRESENTACION DURANTE LA RECEPCION		CANT.ENTREG.(UN)	FECHA DE PROD (+)	FECHA VENC (+)	LOTE (+)	T* ITEM DE ENSAYO	T. RECEPCION
BOTELLA PLASTICA X 1000 mL		1	N.E	N.E	N.E	CONGELACION	-18.5°C
OBSERVACIONES							
TABLA DE RESULTADOS							
PARAMETRO	METODO UTILIZADO	RESULTADOS	U	REGLA	UNIDADES	ESPECIFICACION	CUMPLIMIENTO
Glicomacropéptido de caseína (c-GMP)	P-LF-109 Método de análisis para la determinación del glicomacropéptido de caseína (c-GMP) en leche por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Fecha 2023- 06-27 Acreditado.	<15,3	+/- 4,1	REGLA 1	ug/ml - mg/l	Máximo 30,0	SI
INTERPRETACION DE RESULTADO							
"EL ITEM DE ENSAYO SI CUMPLE CON LA ESPECIFICACION: Resolución 2270 de 2023 - Artículo 1 contenido máximo de Caseinoglicomacropéptido (CMP)"							
Observaciones -En Biotrends Laboratorios S.A.S contamos con acreditación ONAC, vigente a la fecha, con código de acreditación 15-LAB-050, bajo la norma ISO/IEC 17025:2017 -Los resultados son validos unicamente para el ítem analizado.							
BIOTRENDS LABORATORIOS S.A.S.							
REVISO: DIRECTOR TECNICO				APROBO: GERENTE			