



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE ENTERA CRUDA DE VACA EXPENDIDA EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO, 2024

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. KAREN FIORELA SANTI HUANCA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA Y
LABORATORIO CLÍNICO**

PUNO – PERÚ

2024



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE ENTERA CRUDA DE VACA EXPENDIDA EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO,

AUTOR

KAREN FIORELA SANTI HUANCA

RECuento DE PALABRAS

22669 Words

RECuento DE CARACTERES

117426 Characters

RECuento DE PÁGINAS

109 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

3.4MB

FECHA DE ENTREGA

Oct 18, 2024 4:21 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Oct 18, 2024 4:22 PM GMT-5

● 16% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 15% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 6% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)





UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE ENTERA CRUDA DE VACA
EXPENDIDA EN LOS MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO, 2024

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. KAREN FIORELA SANTI HUANCA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

APROBADA POR:

PRESIDENTE:


Dra. YOURI TERESA DEL CARPIO CONDORI

PRIMER MIEMBRO:


M.Sc. JUAN PABLO HUARACHI VALENCIA

SEGUNDO MIEMBRO:


Dr. LUIS ANGEL PAUCAR FLORES

DIRECTOR / ASESOR:


Mg. DANTE MAMANI SAIRITUPAC

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 24/10/2024

ÁREA: Ciencias Biomédicas

SUBLINEA: Diagnóstico y Epidemiología




Vº Bº Dra. VICKY CRISTINA GONZALES ALCOS
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN-FCCBB



DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios

Por permitirme haber llegado a este momento tan importante de mi formación académica.

A mis padres

Por su amor, trabajo y comprensión; gracias a ellos he logrado llegar hasta este punto de mi vida profesional. Tengo el privilegio y orgullo de ser su hija, gracias a sus oraciones, consejos y constante aliento hicieron de mí una mejor persona y siempre me acompañan e inspiran en todos mis sueños y metas, son los mejores padres.

A mi hermana

A quien quiero como una madre por siempre estar dispuesta a escucharme y ayudarme en cualquier momento, en todas las etapas de mi vida.

A mi abuela Justa

Aunque no esté conmigo físicamente le dedico cada uno de mis logros, por siempre haberme cuidado y dado todo lo mejor de ella.

A mi familia

Por brindarme su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

Karen Fiorela Santi Huanca



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por sostenerme en este camino hasta el final, y darme la motivación y el valor para culminar esta etapa de mi vida.

Agradezco a la Universidad Nacional del Altiplano y la Facultad de Ciencias Biológicas por acogerme durante 5 años y brindarme las más memorables vivencias.

A mis docentes, por transmitirme sus experiencias y conocimientos que me han servido para llegar a obtener este logro tan importante para mí. Asimismo, al Mg. Dante Mamani Sairitupac, asesor de mi tesis, mi gratitud por su experiencia, su guía y su tiempo, lo que me ha permitido desarrollar mi trabajo de investigación.

Al jurado conformado por los docentes, Dra. Youri Teresa Del Carpio Condori, Mg. Juan Pablo Huarachi Valencia y Dr. Luis Ángel Paucar Flores, por sus sugerencias y revisión del informe final de tesis.

Agradezco la confianza y el respaldo de mi padre, que es un ejemplo a seguir para mí y que durante toda su vida ha dado lo mejor de él para brindarme todo lo necesario para que yo pueda lograr cada meta que me he propuesto.

Gracias infinitas a mi madre, por todo su apoyo y sus consejos, lo que me mantuvo enfocada, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos. De igual forma a mi hermana Paty, por ser una gran amiga, siempre dispuesta a escucharme y ayudarme, es la persona en quien siempre puedo confiar.

A mi abuela, que siempre está presente en mi vida y sé que estaría orgullosa de la persona en que me he convertido.

Un sincero agradecimiento a Alejandro, por alentarme durante todo este proceso, con su motivación y sus consejos me ayudó a realizarlo de la mejor manera y no renunciar.

Por último, a todos aquellos que contribuyeron y apoyaron a realizar este trabajo, por todas sus recomendaciones e interés en que tenga todo lo necesario para que esta tesis, hoy, sea una realidad.



ÍNDICE GENERAL

Pág.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

ACRÓNIMOS

RESUMEN 15

ABSTRACT..... 16

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVO GENERAL 19

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 19

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES 20

2.2. MARCO TEÓRICO 24

2.2.1. Leche cruda 24

2.2.2. Microorganismos de importancia en la leche cruda..... 26

2.2.3. Calidad de la leche cruda 29

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS



3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO	47
3.2. DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	47
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA	47
3.4. METODOLOGÍA	48
3.4.1. Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables en la leche entera cruda de vaca.....	48
3.4.2. Recuento de coliformes totales en la leche entera cruda de vaca	52
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. RECUENTO DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS VIABLES EN LA LECHE ENTERA CRUDA DE VACA EXPENDIDA EN LOS MERCADOS BELLAVISTA, CENTRAL, UNIÓN Y DIGNIDAD, Y LAYKAKOTA DE LA CIUDAD DE PUNO	54
4.2. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES EN LA LECHE ENTERA CRUDA DE VACA EXPENDIDA EN LOS MERCADOS BELLAVISTA, CENTRAL, UNIÓN Y DIGNIDAD, Y LAYKAKOTA DE LA CIUDAD DE PUNO.....	70
V. CONCLUSIONES.....	87
VI. RECOMENDACIONES	88
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
ANEXOS.....	96

ÁREA: Ciencias Biomédicas

LÍNEA: Diagnóstico y Epidemiología

Fecha de sustentación: 24 de octubre del 2024



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Parámetros fisicoquímicos de la leche cruda	32
Tabla 2 Requisitos microbiológicos de la leche cruda.....	36
Tabla 3 Muestreo de leche entera cruda de vaca en los Mercados de la ciudad de Puno.	48
Tabla 4 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista.	54
Tabla 5 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Central.....	56
Tabla 6 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad.....	58
Tabla 7 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota.....	60
Tabla 8 Promedio de recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota.....	61
Tabla 9 Calidad microbiológica de acuerdo al recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de la leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota.	64
Tabla 10 Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista.....	71



Tabla 11	Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Central.....	73
Tabla 12	Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad.....	75
Tabla 13	Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota.....	76
Tabla 14	Promedio de recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota.	79
Tabla 15	Calidad microbiológica de acuerdo al recuento de coliformes totales de la leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota.....	81



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista, según los límites establecidos en la NTP.....	55
Figura 2 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Central, según los límites establecidos en la NTP.....	57
Figura 3 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad, según los límites establecidos en la NTP	59
Figura 4 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota, según los límites establecidos en la NTP.....	61
Figura 5 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota	63
Figura 6 Calidad microbiológica de acuerdo al recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; según los límites máximos permisibles en la NTP	65
Figura 7 Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista, según los límites establecidos en la NTP	72
Figura 8 Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Central, según los límites establecidos en la NTP.....	74
Figura 9 Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad, según los límites establecidos en la NTP.....	76
Figura 10 Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota, según los límites establecidos en la NTP.....	78



Figura 11	Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota.....	80
Figura 12	Calidad Microbiológica de acuerdo al recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; según los límites máximos permisibles en la NTP.....	82
Figura 13	Muestra de leche entera cruda de vaca para realizar los análisis microbiológicos	101
Figura 14	Expendedora de leche entera cruda de vaca y las condiciones de venta ..	102
Figura 15	Procedimiento del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables: a) Preparación de suspensión inicial, b) Distribución de agua peptonada a los tubos de ensayo, c) Preparación de diluciones decimales, d) Placas cultivadas en agar PCA.....	102
Figura 16	Procedimiento para el recuento de coliformes totales: a) Inoculación con CLS, b) CLS cultivado, c) Confirmación con CVBBL, d) Tubos positivos confirmados	103



ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1 Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista	96
ANEXO 2 Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Central	96
ANEXO 3 Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad	97
ANEXO 4 Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota	97
ANEXO 5 Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en los cuatro mercados	98
ANEXO 6 Análisis estadístico de la calidad microbiológica respecto al recuento de bacterias mesófilas viables en la leche expendida en los cuatro mercados.....	98
ANEXO 7 Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista.....	99
ANEXO 8 Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Central.....	99
ANEXO 9 Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad.....	99
ANEXO 10 Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota.....	100
ANEXO 11 Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en los cuatro mercados.....	100



ANEXO 12	Análisis estadístico de la calidad microbiológica respecto al recuento de coliformes totales en la leche cruda expandida en los cuatro mercados .	101
ANEXO 13	Panel fotográfico	101
ANEXO 14	Tabla de Número Más Probable (NMP).....	104
ANEXO 15	Matriz de tabulación de datos del recuento de bacterias mesófilas viables	105
ANEXO 16	Matriz de tabulación de datos del recuento de coliformes totales.....	106
ANEXO 17	Constancia de ejecución de tesis emitida por la FCCBB-UNA	107



ACRÓNIMOS

CDCs:	Centros para el Control y Prevención de Enfermedades
CLS:	Caldo Lauril Sulfato
cm³:	Centímetro cúbico
°C:	Grado Celsius
g:	Gramo
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
L:	Litros
ml:	Mililitros
msnm:	Metros sobre el nivel del mar
NMP:	Número Más Probable
NTP:	Norma Técnica Peruana
OC:	Organismos Coliformes
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PCA:	Agar Plate Count
pH:	Potencial de hidrógeno
RPM:	Revoluciones por minuto
sp.:	Especie
spp.:	Especies
UFC:	Unidad Formadora de Colonias



RESUMEN

La leche es un alimento considerado indispensable para el ser humano, debido a ello su calidad higiénica es primordial y está puede verse afectada por las malas prácticas de ordeño, conservación, traslado y distribución, pudiendo ocasionar crecimiento de microorganismos perjudiciales para la salud de los consumidores. En tal sentido, se planteó como objetivo determinar la calidad microbiológica de leche entera cruda de vaca expendida en los Mercados Bellavista (MB), Central (MC), Unión y Dignidad (MUD), y Laykakota (ML) de la ciudad de Puno. Para ello se analizaron 48 muestras (1 l) de leche cruda, 12 por cada mercado, mediante el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables [BAMV] (método horizontal) y recuento de coliformes totales [RCT] (Número Más Probable). Como resultado se encontró que el recuento de BAMV (UFC/ml) fue significativamente menor ($H=12.33$, $n=48$, $p<0.05$) en MB^A (9.175×10^{-5} , $n=12$, $p<0.05$) y MUD^A (11.600×10^{-5} , $n=12$, $p<0.05$) seguido de ML^B (25.742×10^{-5} , $n=12$, $p<0.05$) y MC^B (26.175×10^{-5} , $n=12$, $p<0.05$), que comparado con la NTP 202.001:2016 el 63% (30) resultaron de calidad defectuosa y 38% (18) de calidad buena ($\chi_c^2 = 9.60$, $p<0.05$); mientras que el RCT (UFC/ml) fueron estadísticamente similares ($H=3.90$, $n=48$, $p>0.05$) entre MB (0.02558×10^{-5} , $n=12$, $p>0.05$) y MC (0.14308×10^{-5} , $n=12$, $p>0.05$), seguido de ML (0.216×10^{-5} , $n=12$, $p>0.05$) y MUD (0.3183×10^{-5} , $n=12$, $p>0.05$), que comparado con la NTP 202.001:2016 el 75% (36) resultaron de calidad defectuosa y 25% (12) de calidad buena ($\chi_c^2 = 0.89$, $p>0.05$). Se concluye que los elevados recuentos obtenidos demuestran que este alimento se expende contaminado y es de calidad defectuosa ya que no cumplen con la inocuidad y calidad recomendada para el consumo humano.

Palabras clave: Bacterias aerobias mesófilos viables, calidad microbiológica, coliformes totales, leche cruda.



ABSTRACT

Milk is a food considered indispensable for human beings; therefore, its hygienic quality is essential and can be affected by poor milking, storage, transportation and distribution practices, which can lead to the growth of microorganisms harmful to the health of consumers. The objective was to determine the microbiological quality of raw whole cow's milk sold in the Bellavista (MB), Central (MC), Union y Dignidad (MUD), and Laykakota (ML) markets in the city of Puno. For this purpose, 48 samples (1 l) of raw milk were analyzed, 12 for each market, by counting viable aerobic mesophilic bacteria [BAMV] (horizontal method) and total coliform count [RCT] (Most Probable Number). As a result, it was found that BAMV count (CFU/ml) was significantly lower ($H=12.33$, $n=48$, $p<0.05$) in MB^A (9.175×10^{-5} , $n=12$, $p<0.05$) and MUD^A (11.600×10^{-5} , $n=12$, $p<0.05$) followed by ML^B (25.742×10^{-5} , $n=12$, $p<0.05$) and MC^B (26.175×10^{-5} , $n=12$, $p<0.05$), which compared to NTP 202.001:2016 63% (30) resulted in defective quality and 38% (18) in good quality ($\chi_c^2 = 9.60$, $p<0.05$); while the RCT (CFU/ml) were statistically similar ($H=3.90$, $n=48$, $p>0.05$) between MB (0.02558×10^{-5} , $n=12$, $p>0.05$) MC (0.14308×10^{-5} , $n=12$, $p>0.05$), followed by ML (0.216×10^{-5} , $n=12$, $p>0.05$) and MUD (0.3183×10^{-5} , $n=12$, $p>0.05$), which compared to NTP 202.001:2016 75% (36) resulted in defective quality and 25% (12) in good quality ($\chi_c^2 = 0.89$, $p>0.05$). It is concluded that the high counts obtained show that this food is sold contaminated and is of defective quality since it does not comply with the safety and quality recommended for human consumption.

Key words: Viable mesophilic aerobic bacteria, microbiological quality, total coliforms, raw milk.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el problema del expendio de la leche entera cruda en los mercados, es que no siempre cumple con las características de calidad bacteriológica, mucho menos se encuentran dentro de los límites que establecen las normas de acuerdo a las entidades a nivel nacional e internacional, encomendados de cuidar la salud pública. Por cuanto, es necesario que la leche cruda se encuentre libre de microorganismos causantes de enfermedades, que posea un bajo conteo de bacterias totales, y este libre de sedimentos y sustancias extrañas o nocivas, etc. (Cohaila, 2013).

La leche al ser un producto rico en nutrientes, promueve el crecimiento de diversos microorganismos (Cedeño *et al.*, 2015). De acuerdo a los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDCs), la leche cruda puede contener microorganismos dañinos para la salud. La presencia de bacterias no solo indica la inocuidad de los productos lácteos, sino también la calidad y aceptación del consumidor (Vásquez *et al.*, 2017); por esta razón existen normas que decretan los parámetros para determinar la calidad de la leche.

Debido a que contiene muchos nutrientes que facilitan el crecimiento de microorganismos, es imprescindible realizar análisis microbiológicos reiteradamente para así obtener información sobre la calidad de su producción. La leche en su composición posee grasas emulsionadas, minerales, sales, azúcares, proteínas y vitaminas disueltas en agua. La lactosa y la galactosa son los carbohidratos presentes. Posee un pH de 6.8 que es la condición ideal para muchas bacterias. Los microorganismos ingresan a la leche contaminándola a través del polvo, a partir del cual pueden crecer todas las especies. El primer microorganismo que por lo común invade es *Streptococcus lactis*, que



principalmente descompone la lactosa con la elaboración ácido láctico. Además, crecen otras bacterias como *Lactobacillus casei* y *L. acidophilus* cuando el pH se reduce. Las bacterias *Enterobacter aerogenes* y *Escherichia coli* se desarrollan a una temperatura corporal (Cohaila, 2013).

Las bacterias aerobias mesófilas y coliformes son microorganismos que indicadores de calidad higiénica (Brousett *et al.*, 2015). Las bacterias mesófilas aerobias están asociados a la contaminación de la materia prima y la mala manipulación del sistema lácteo, es decir, indica la salubridad de la leche en general (Sánchez, 2013), los límites mínimos y máximos son de 5×10^5 y 1×10^6 UFC/ml respectivamente, según la Norma Técnica Peruana 202.001:2016. Los microorganismos coliformes conforman varias bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, que incluye los géneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* y *Klebsiella*, la presencia de estas bacterias se debe a una inadecuada higiene en el ordeño y también al contacto con las heces (Martínez y Gómez, 2013), según la NTP considera que el recuento mínimo es 100 UFC/ml y el máximo 1000 UFC/ml, determinando la presencia de microorganismos en muestras de leche cruda siendo posible conocer el tipo de bacterias que se hallan en este alimento y que tan salubre es este alimento para su consumo.

En el ámbito de la Región Puno se observa una inconsciencia sobre calidad físicoquímica y microbiológica de la leche cruda, conociendo que es un sector productor relevante en el Perú. Es de vital importancia que se evalúe estos aspectos fundamentales para la competitividad productiva de la ganadería peruana como también para su consumo garantizado (Brousett *et al.*, 2015).

En la ciudad de Puno, en los mercados donde se expende la leche cruda se desconoce la calidad higiénica de este alimento vital, así mismo se desconoce de qué



lugar de la región proviene, pero lo que sí es visible para todo consumidor de este alimento, son las malas prácticas en la distribución de la leche cruda por parte de los expendedores, además de ello hay una deficiente higiene en estos mercados de gran afluencia de personas, los mismos que pueden ser focos de diferentes enfermedades por la mala calidad higiénica de los diferentes productos que expenden a la población. La información resultante de esta investigación, demuestra la calidad microbiológica de la leche entera cruda de vaca que se expende en los mercados de la ciudad de Puno, además estos resultados son de mucha utilidad para las autoridades sanitarias responsables, con el fin de que realicen un permanente y continuo seguimiento en la inspección y fiscalización a los puestos de venta, preservando de esta forma la salud del consumidor final. Por lo indicado, en el estudio se formularon los siguientes objetivos:

1.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar la calidad microbiológica de leche entera cruda de vaca expandida en los Mercados de la ciudad de Puno.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables en la leche entera cruda de vaca expandida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota de la ciudad de Puno.
- Determinar el recuento de coliformes totales en la leche entera cruda de vaca expandida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota de la ciudad de Puno.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Condori (2022), analizó las características microbiológicas de la leche de vacunos, acopiada en la planta quesera del distrito de Túpac Amaru en Cusco, en 92 muestras de leche cruda, identificó a *Escherichia coli* (26.09%) y *Staphylococcus* spp., (67%) de las muestras; por lo que existe una deficiente calidad higiénica relacionada a las prácticas de ordeño, conservación y traslado de la leche. Por su parte, Abad (2015), realizó un estudio microbiológico de leche cruda de 7 puestos de venta en Ecuador. Las bacterias que aislaron fueron: *Bacillus* (27.27%), *Brucella* spp. y *Aeromonas hydrophila* (17.39%), *Enterobacter sakazakii* (13.04%), *Serratia plymuthica*, *E. coli*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus warneri* (4.35%).

López y Pérez (2019), analizaron 180 muestras de leche cruda en el distrito de Chiclayo, Lambayeque; obteniendo promedios de 1.58×10^6 UFC/ml para aerobios mesófilos viables y 1.33×10^3 UFC/ml para coliformes. Las especies aisladas fueron *Enterobacter aerogenes* (96%), *E. cloacae* (5%) y *Escherichia coli* (39%); al confrontar los resultados con la norma técnica determinaron que sobrepasan los parámetros permisibles para el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (73.3%) y coliformes (62.8%), indicando mala calidad higiénica de la leche cruda. Por su parte, Fora (2015), evaluó la calidad microbiológica de la leche cruda del ganado vacuno del distrito de Sama Inclán, Tacna; a partir de 150 muestras tomadas de recipientes donde los proveedores almacenaban la leche. Estableciendo que más del 70% de ejemplares, incumplen con los límites de calidad microbiológicos.



Brousett *et al.* (2015), determinaron la calidad microbiológica de leche cruda en 8 cuencas en la región Puno, mediante recuento en placa de bacterias mesófilas aerobias y aislamiento de *Escherichia coli* en agar MacConkey. Como resultado 2 cuencas no cumplieron con los valores que establece la NTP, en cuanto a bacterias mesófilas aerobias con recuentos promedio de 2.15×10^7 UFC/ml y 1.43×10^7 UFC/ml; y en la determinación de *E. coli* encontraron su presencia en la leche, siendo de mala calidad higiénica. Por otro lado, Obregón *et al.* (2017), en 40 muestras de leche cruda, de 4 establos del distrito de Puente Piedra en Lima, que expenden al público, determinaron que el recuento promedio de aerobios mesófilos fue de 43×10^7 UFC/ml, con valor máximo de 3×10^9 UFC/ml y mínimo de 2×10^5 UFC/ml, superando el límite establecido por el Reglamento de Leche y Productos Lácteos en el 95% de muestras.

Acaro (2019), evaluó la calidad microbiológica mediante el recuento de aerobios mesófilos y coliformes totales, de la leche cruda que se expende en la ciudad de Chulucanas, Piura, identificando 6 puntos de venta donde la calidad microbiológica en el punto de expendio M3, estaba por encima de los parámetros establecidos según el recuento de aerobios mesófilos, y según el recuento de coliformes totales todos los puntos no cumplen los parámetros establecidos en la NTP 202.001:2016. Por su parte, Fuentes *et al.* (2013), en su estudio realizado en el distrito federal, México; realizaron un recuento de bacterias mesofílicas y coliformes en leche y lácteos, cuyos valores estaban por encima del límite máximo permitido por la NOM-243-SSA1-2010; además se identificaron *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* como bacterias presentes en el análisis de las muestras.

Elcorrobarrutia y Espejo (2014), determinaron la calidad sanitaria de leche cruda comercializada en la ciudad de Huacho, Lima para lo cual utilizaron 13 muestras donde obtuvieron una media de 3.21×10^3 UFC/ml en el recuento de microorganismos mesófilos



aerobios y facultativos viables; y una media de 2.93×10^2 UFC/ml en el recuento de coliformes, todas las muestras cumplieron con los parámetros microbiológicos de recuento de microorganismos mesófilos aerobios y facultativos viables, y coliformes. Por otro lado, Figueroa (2012), evaluó la calidad higiénica de 80 muestras de leche cruda comercializada en los puestos ambulatorios de la ciudad de Tacna determinando una carga microbiana de la leche mediante el recuento de bacterias aerobias mesófilas, de las muestras (12.50%), con valores que sobrepasaron el límite permitido entre 10×10^5 a 20×10^5 UFC/ml, y en el recuento de coliformes totales (91.25%), con valores que sobrepasaron el parámetro permitido entre 20×10^3 a 29×10^4 UFC/ml; por lo que, la leche expendida en los puestos tiene una mala calidad higiénica.

Cohaila (2013) evaluó la calidad microbiológica de la leche cruda vendida en las inmediaciones de los mercados de la ciudad de Tacna. Para ello, analizó mas de 60 ejemplares provenientes de 32 puestos de venta. Los resultados mostraron que todas los ejemplares presentaban una defectuosa calidad microbiológica, ya que no cumplían con las normas establecidas. El 92.19% de las muestras tenía un recuento elevado de microorganismos aerobios mesófilos viables, superando 1×10^6 UFC/ml. Además, todas las muestras presentaron un recuento de coliformes totales superior a 1×10^3 ger/ml y todas contenían *Escherichia coli*, excediendo los límites máximos permitidos. En su investigación, Sánchez (2013), analizó 1632 muestras de leche provenientes de los establos proveedores de la empresa Gloria S.A que tenían tanques de enfriamiento, en las zonas de Trujillo, Paiján y Virú. En cuanto al recuento de bacterias mesófilas aerobias la media fue de 2.79×10^2 UFC/ml y la media geométrica de 1.42×10^2 UFC/ml, donde los valores si cumplían según la NTP 202.001-2010.

Cárdenas y Murillo (2018), analizaron la calidad bacteriológica de la leche cruda producida en 45 ganaderías ubicadas en la provincia del Azuay, Ecuador. Los indicadores



microbiológicos fueron los recuentos de aerobios mesófilos, coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; las medias de los recuentos dieron para aerobios mesófilos un valor de 3882599.97 UFC/ml, coliformes totales de 5129.55 UFC/ml, *E. coli* de 24.48 UFC/ml y *S. aureus* de 4229.55 UFC/mL. Por otro lado, Mariscal *et al.* (2013), analizaron muestras de leche cruda proveniente de expendios de Mercados de Trinidad, Bolivia; obteniendo un promedio de 109.286 UFC/ml bacterias mesófilas aerobias (BMA) y 78.576 UFC/ml organismos coliformes (OC); que según el recuento de BMA el 64.3% de las muestras se clasificaron en leche clase 1 (<100.000 UFC/ml) y 35,7% leche clase 2 (101.000 a 300.000 UFC/ml). Asimismo, el 100% dieron valores por encima de 200 UFC/ml, superando los límites establecidos para su expendio, no cumpliendo con los parámetros determinados para el consumo humano.

Canches (2017), estableció la carga bacteriológica y su relación existente con la calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda de vaca, en el distrito de Baños, provincia de Lauricocha, Huánuco, para lo cual realizaron recuentos de mesófilos aerobios, *E. coli*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus aureus* y el test de mastitis californiana (TMC); encontrando disimilitudes estadísticas entre recuentos de mesófilos aerobios y células somáticas haciendo que no se halle una relación fuerte, en cuanto a bacterias coliformes, donde *E. coli* no presentó desarrollo de colonias bacterianas (UFC/ml).



2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Leche cruda

2.2.1.1. Definición

Es un líquido generado por las glándulas de las hembras de los mamíferos. Es el único alimento que la crías reciben durante sus primeras etapas de existencia, aportándoles diversos nutrientes vitales para su crecimiento y desarrollo. Asimismo, la leche es considerada uno de los alimentos más complejos presentes en la naturaleza y juega un papel crucial en la dieta humana en sus diversas formas (queso, mantequilla, helado, yogurt, manjar, etc.), (Jarama, 2011).

Conforme a la norma técnica, este producto es un insumo intacto, sin alteraciones ni adulteraciones, extraído de vacas saludables y correctamente alimentadas. No debe incluir calostro, que es una exudación de color amarillo y gelatinosa que se presenta en los primeros 6 a 7 días siguientes al alumbramiento, y debe estar liberado de cualquier característica anormal, sin haber sido sometida a alguna técnica.

2.2.1.2. Importancia de la leche como alimento

Es esencial para la alimentación humana debido a su elevado contenido de proteínas, vitaminas y minerales. Anteriormente, se valoraba principalmente la cantidad de grasa presente en la leche, considerándose que un mayor contenido de grasa sugiere un producto de alto estándar. Hoy en día, entendemos que la medida de sólidos no grasos de la leche tiene mejor índice nutricional que los que si contienen grasa. Por lo tanto, la



composición química de la leche es lo que determina su valor nutricional para el consumidor (Castle y Watkins, 2008).

Los valores de proteína y grasa en la leche es crucial para las empresas del sector lácteo, y debido a esa razón es importante que el sector primario mejore su rentabilidad sin incrementar la magnitud de leche producido. Los componentes como la proteína y la grasa pueden modificarse significativamente con una adecuada alimentación del ganado; por ejemplo, aumentar el forraje puede incrementar el porcentaje de grasa de un 2% a un 4% (Kennelly *et al.*, 2009).

2.2.1.3. Composición de la leche

Es una combinación de diversos componentes como agua, grasa, enzimas, lactosa, vitaminas y minerales, conocidos colectivamente como sólidos totales. Estos sólidos totales varían debido a múltiples factores, incluyendo la raza de la vaca, el tipo de alimentación, el entorno y la salud del animal, entre otros (Agudelo y Bedoya, 2008).

La constitución de la leche varía según diversos agentes como el origen del animal, nutrición y condición de lactancia; produciendo un insumo de gran valoración nutricional. La leche de vaca está compuesta principalmente por agua, que representa el 88% de su volumen total, mientras que el resto se compone generalmente de 3.2% de proteínas, 3.4% de grasas, 4.5% de lactosa y 0.72% de vitaminas y minerales (Bonzano, 2012). El agua también es crucial para la producción de leche, ya que las vacas necesitan entre 3 y 4 litros de agua por cada kilogramo de leche producido (Walstra *et al.*, 2001).



La composición química de la leche cruda varía según factores como la raza, edad, época del año, alimentación, sistema de ordeño, período de lactación y otros elementos (Lluguín, 2016). Además, posee un gran valor nutricional y es altamente digestible, convirtiéndola en un alimento esencial en la dieta humana. Está compuesta por un 87% de agua, 2.9% de caseína, 4.9% de albúmina, 0.5% de alfa-lactoalbúmina, 0.2% de beta-lactoalbúmina, 0.1% de fosfolípidos, 3.7% de grasa neutra y 0.2% de ácido cítrico, mientras que los minerales presentes en la leche incluyen calcio, magnesio, potasio, cloro, fósforo, azufre y hierro (Granizo, 2016).

2.2.2. Microorganismos de importancia en la leche cruda

Debido a sus propiedades, las bacterias son los microorganismos predominantes que favorecen su desarrollo. En la leche se encuentran distintos géneros y tipos de bacterias, entre las cuales las más importantes en la industria láctea son las bacterias lácticas y las bacterias coliformes (Canches, 2017).

2.2.2.1. Bacterias Gram positivas

- Bacterias lácticas: entre los principales géneros de bacterias ácido lácticas se encuentran *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Aerococcus*, *Tetragonococcus*, *Alloiococcus* y *Bifidobacterium* (Robinson, 1987). Su estudio es crucial en el ámbito tecnológico debido a su efecto biopreservador, que se manifiesta en la manera que alarga la durabilidad de ciertos insumos. Este resultado se logra mediante varios mecanismos: a) ciertas especies, como *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y *Enterococcus*, producen



bacteriocinas, proteínas con propiedades antibióticas que inhiben el crecimiento de bacterias relacionadas; b) la producción de ácido y la reducción del pH permiten la inhibición de otras especies bacterianas y contribuyen a la conservación de los alimentos; c) el efecto biopreservador también se ve facilitado por la competencia por nutrientes entre las diferentes especies bacterianas (Castro *et al.*, 2009).

- *Staphylococcus aureus*: Se caracterizan por ser microorganismos gram positivas, de morfología circular divididos en diversos planos, formando conjuntos sin forma regular. Utilizando los carbohidratos por oxidación y fermentación. Pueden transmitirse directa o indirectamente a través de la fricción . Algunas infecciones en los animales pueden ser endógenas, es decir, causadas por cepas residentes (Castro et al., 2009).

Es la fuente más grande de contaminación intra mamaria en los rumiantes, aunque no es un agente perjudicial exclusivo de la mama, se pueden ubicar en los diversos equipos, personas y materiales que trabajan en el proceso de ordeñamiento. Es una bacteria en forma de coco, gram positiva y coagulasa positiva, que tiende a colonizar heridas en la piel y las hiperqueratosis provocadas por el ordeño en los esfínteres de los pezones (Castro et al., 2009).

- *Streptococcus sp.*: estas bacterias son cocos gram positivos que se agrupan en pares o cadenas, tienen forma esférica y son inmóviles. Tienen un metabolismo fermentativo, son anaeróbicas facultativas y



requieren una nutrición compleja. Son la fuente más conocida asociada con la mastitis en los bovinos y son muy contagiosos. Representan el único grupo B en el sistema de clasificación de Lancefield (B-estreptococos) y se consideran el segundo grupo más importante en la causa de mastitis, después de *Staphylococcus aureus*. Aunque las especies más comúnmente identificadas son *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*, también se ha implicado a *Streptococcus parasanguinis* en infecciones de la glándula mamaria, además de casos de intoxicación estafilocócica (Negroni, 1999).

2.2.2.2. Bacterias Gram negativas

- Bacterias coliformes: se refiere a un grupo de bacterias representado por géneros como *Escherichia coli*, *Enterobacter* y *Klebsiella*. Son microorganismos gram negativos, generalmente capsulados y no esporulados, que fermentan la lactosa y pueden causar mastitis. Las infecciones que provocan mastitis pueden variar desde leves hasta severamente agudas. La presencia de estas bacterias suele indicar una deficiencia en el manejo profiláctico durante el ordeño, como la limpieza adecuada de la piel de los pezones, las manos y las pezoneras, así como la exposición de la leche a material fecal (Negroni, 1999).

2.2.2.3. Microorganismos Aerobios Mesófilos Viabiles

Todos los microorganismos pueden desarrollarse en un rango de temperatura de 20°C a 45°C, con una temperatura ideal de 30°C a 40°C. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos en condiciones



estándar permite evaluar la microflora general sin identificar tipos específicos de microbios. Este recuento muestra el estado higiénico de los insumos estudiados y proporciona información sobre las condiciones higiénicas del producto, el proceso de extraer y su manejo en su producción. Identificar una cantidad baja de estos microorganismos no garantiza que no existan microbios patógenos y tampoco una cantidad elevada representa la existencia de microbios nocivos. Sin embargo, recuentos elevados en productos obtenidos por fermentación no son significativos (Canches, 2017).

Es una indicación del nivel de profilaxis en el lugar de extracción y de manera similar a los anteriores recuentos, está asociado con la limpieza insuficiente en el proceso de ordeño. Considerando que la leche debe cumplir los parámetros establecidos y debe ser de buena calidad. El recuento se realiza en placas que contengan entre 15 y 300 colonias (Canches, 2017).

2.2.3. Calidad de la leche cruda

La leche de buena calidad es aquella que cumple rigurosamente con todas las características higiénicas, microbiológicas y composicionales (Magari, 2000). Una buena calidad de la leche comercial es esencial para las empresas del sector lácteo y depende en gran medida de las propiedades del producto original. Por lo tanto, la calidad del producto que llega al consumidor se debe en gran parte al control ejercido sobre la leche cruda en la finca (Moreno *et al.*, 2007).

Muchos productos lácteos, debido a su composición, son propensos al desarrollo de microbios tóxicos. Además, pueden contaminarse con restos de



fármacos veterinarios, pesticidas y productos químicos. Por lo tanto, es esencial implementar medidas adecuadas de control de la higiene de la leche y los productos lácteos a lo largo de toda la cadena alimentaria para garantizar la seguridad de estos alimentos y su adecuación para el consumo (OMS/FAO, 2011).

La leche de calidad se define como aquel fluido obtenido de vacas sanas con una buena nutrición, libre de olores, y componentes contaminantes, que posean cantidades y cualidades adecuadas de sólidos (como grasa, proteína, lactosa y minerales). Además, debe tener una carga microbiana mínima, estar libre de bacterias patógenas (como las que causan brucelosis, tuberculosis, mastitis y toxinas), no contener residuos químicos y presentar un mínimo de células somáticas (Moreno *et al.*, 2007).

El mercado global de productos lácteos está cada vez más orientado hacia la producción de leche y derivados con un alto estándar, con la meta de proteger la salud pública al reducir el riesgo de transmisión de enfermedades traspasadas por alimentos. Esta tendencia conlleva a la obtención de productos finales diferenciados, con un alto valor añadido, lo que puede producir ingresos significativos y contribuir a la sostenibilidad del sector lácteo en su totalidad. Para cumplir con los estándares de calidad, es crucial implementar estrategias en áreas como la producción, el manejo sanitario de los animales, el transporte, la conservación y la manipulación, desde la granja hasta la planta de procesamiento (Moreno *et al.*, 2007).

Una alta calidad de la leche puede lograrse a través de la evaluación de dos aspectos principales: su composición, que incluye la materia grasa y sólidos no grasos, y su pureza, que abarca la existencia de microbios contaminantes, tóxicos,



restos químicos, microbios no patógenos, células somáticas e impurezas. Alcanzar niveles óptimos en estos aspectos de calidad de la leche depende directamente de diversos factores, como las condiciones en las áreas de producción, la habilidad del operador de la máquina de ordeño, la rutina de ordeño, la destreza del ordeñador, las condiciones de transporte y la manipulación adecuada en la finca (Moreno *et al.*, 2007).

2.2.3.1. Calidad fisicoquímica de la leche cruda

Se determina por el nivel de nutrientes de su composición, y diversas propiedades como la apariencia, aroma y sensación. Es esencial que estos atributos se mantengan en niveles óptimos para preservar diversas propiedades que son fundamentales en varios procesos, como la estabilidad térmica, la calidad de conservación, la coagulación enzimática y el desarrollo bacteriano en la leche, etc. (Jiménez, 2005).

Para la determinación los aspectos fisicoquímicos, se examina la variabilidad que ocurre cuando los microbios alteran el pH y la acidez, saliéndose del parámetro determinado por la normativa técnica. Estos cambios pueden generar procesos alternativos y beneficiosos en la industria láctea, aunque los más comunes implican la reducción de proteínas, lactosa y grasa en la leche (Bonzano, 2012).

Tabla 1*Parámetros fisicoquímicos de la leche cruda*

Ensayo	Requisitos	Método de Ensayo
Materia grasa (g/100 g)	Min. 3.2	NTP 202.028
Sólidos no grasos (g/100 g)	Min. 8.2	*
Sólidos totales (g/100 g)	Min. 11.4	NTP 202.118
Acidez, expresada en g. de ácido láctico (g/100 g)	0.13 – 0.17	NTP 202.116
Densidad a 15 °C (g/ml)	1.0296- 1.0340	NTP 202.007
Índice de refracción del suero, 20 °C	Min. 1.34179	NTP 202.016
Ceniza total (g/100 g)	Max. 0.7	NTP 202.172
Alcalinidad de la ceniza total (ml de solución de NaOH 1N)	Max. 1.7	NTP 202.172
Índice crioscópico	Max. 0.540°C	NTP 202.184
Sustancias extrañas a su naturaleza	Ausencia	NTP 202.168
Prueba de alcohol (74% v/v)	No coagulable	NTP 202.030
Prueba de la reductasa con azul de metileno	Min. 4 horas	NTP 202.014

Nota: (*) Por diferencia entre los sólidos totales y la materia prima

Fuente: Norma Técnica Peruana (202.001-2016)

a. Acidez y pH de la leche

Son indicadores cruciales de calidad en insumos lácteos, la medición de la acidez es un análisis común en la industria láctea. La acidez suele mantenerse en niveles relativamente constantes en la leche, y su aumento indica una posible anomalía, lo que también refleja el grado de deterioro causado por microorganismos lácticos. Además, en la leche cruda se pueden observar tanto la acidez natural como la generada durante su almacenamiento (Sota, 2016).



La acidez natural en la leche se origina por varias causas, como la presencia de sustancias minerales como los fosfatos, ácidos orgánicos y reacciones secundarias de los fosfatos. Por otro lado, la acidez desarrollada surge de la conversión de la lactosa en ácido láctico, catalizada por bacterias contaminantes. La falta de estándares higiénico-sanitarios adecuados en los procesos de producción y en la industria láctea puede resultar en niveles elevados de acidez en la leche debido a la contaminación, especialmente por bacterias mesofílicas aeróbicas que fermentan la lactosa (Bonzano, 2012).

El pH es una medida que ofrece una evaluación inmediata del estado de la leche, reflejando su acidez real o inherente. En condiciones normales, el pH de este producto es próximo a al neutro. Sin embargo, en la industria láctea, principalmente, el pH se encuentra entre 6.4 y 6.6. Las desviaciones en los valores de pH suelen estar relacionadas principalmente con la salud de las glándulas mamarias de la vaca; por ejemplo, valores por encima de 6.8 pueden indicar la presencia de mastitis, mientras que valores inferiores al rango normal pueden señalar la presencia de calostro (Calampa, 2017).

b. Estabilidad a la prueba de alcohol

La determinación de alcohol se ejecuta para evaluar la capacidad de la leche cruda para mantener su estabilidad térmica. Consiste en agregar una cantidad igual de alcohol etílico en volumen y someter la muestra a elevadas temperaturas, sin que se produzca una coagulación notable. Si la leche cruda muestra una consistencia espesa durante esta prueba, indica que es inestable y no apta para el



procesamiento. Esta inestabilidad generalmente se atribuye a niveles elevados de acidez o una disminución del pH, así como a altos contenidos de cloruros, calcio y sodio en la muestra (Abril y Pillco, 2013).

En esta prueba, se emplea un estabilizante químico (alcohol al 74% en volumen) para inducir la agregación o coagulación de las proteínas presentes en la leche. Este proceso afecta principalmente al equilibrio micelar de la caseína debido a la acidificación, la reducción del pH y el aumento del calcio iónico. Como resultado, se revela que una gran parte de las muestras de leche no son capaces de resistir tratamientos térmicos como la pasteurización y la esterilización, ya que se observa la formación de floculaciones en la superficie de la leche (Bonzano, 2012).

c. Densidad de la leche

Según Viera (2013), esta constante física se emplea para contrastar las masas de diversas sustancias o de una misma sustancia a distintas temperaturas. Este indicador sugiere la probabilidad de adulteración, ya sea por la eliminación de grasas o por la adición de agua. La temperatura afecta a este factor, por esa razón el resultado se observa usualmente a 15 °C.

De acuerdo con norma técnica la densidad de la leche a una temperatura de 15 °C puede variar entre 1.0296 y 1.0340 g/cm³. Esta medida no solo está influenciada por la temperatura, sino también por los componentes químicos de este producto lácteo, los intervalos de



tiempo pasado luego de su extracción y otros procesos tecnológicos; está vinculada con el volumen de grasa, sólidos no grasos y aguas presentes en ella. Para medirla, el lactodensímetro es frecuentemente utilizado (Gonzales, 2013).

2.2.3.2. Calidad microbiológica de la leche cruda

La calidad microbiológica de la leche cruda se relaciona con la presencia de diversos microorganismos patógenos, principalmente bacterias (Lluguín, 2016). La leche puede ser contaminada desde varias fuentes, incluida la ubre, que normalmente puede contener hasta 1000 microorganismos/ml; en caso de mastitis, un solo pezón en mal estado, juntado con la leche de 99 pezones en buen estado, puede aumentar el recuento hasta 100.000 UFC/ml en la leche del hato, dependiendo del tipo de microorganismo causante. Además de la contaminación inicial, se debe considerar la proliferación bacteriana, debido a que este producto proporciona un ambiente ideal para los microbios. Por lo tanto, el recuento de bacterias por ml de leche debe mantenerse por debajo de 100 000 UFC/ml en el tanque (Moreno *et al.*, 2007).

De acuerdo a García *et al.* (2010), el análisis microbiano de la leche se destaca por 3 razones fundamentales:

- Los microbios pueden inducir alteraciones beneficiosas en las propiedades fisicoquímicas de la leche durante la producción de diferentes productos lácteos.
- Existe el riesgo de que los productos lácteos se contaminen por microbios que causen enfermedades.

- Tienen la capacidad de inducir cambios en la leche y sus productos lácteos, lo que puede hacer que sean inapropiados para el consumo. Debido a estas razones es muy relevante determinar su calidad con el fin de salvaguardar y asegurar la salud pública.

Tabla 2

Requisitos microbiológicos de la leche cruda

Requisitos	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de aerobios mesófilos viables/ml	5	500 000	1 000 000	1	ISO 4833-1
Recuento de coliformes/ml	5	100	1 000	3	ISO 4831

Fuente: Norma Técnica Peruana (202.001-2016)

La NTP 202.001-2016 define los rangos máximo y mínimo para el recuento de mesófilos y coliformes en la leche. Para los aerobios mesófilos, se establece un máximo de 1000 000 UFC/ml y un mínimo de 500 000 UFC/ml, mientras que el recuento de coliformes debe situarse entre los límites mínimo y máximo de 100 y 1000 UFC/ml, respectivamente. Además, se exige que la leche cruda provenga de animales en buen estado de salud, exentos de enfermedades, y cumpla con las normas de calidad sanitaria e inocuidad establecidas por el ministerio de salud.

Los componentes respecto a los microorganismos están asociados a la cantidad y tipo de microbios presentes, así como a la presencia de una flora bacteriana que pueda contener enzimas termorresistentes y una flora inofensiva, resultado de prácticas higiénicas durante el ordeño, el



transporte y el almacenamiento de la leche. Además, el estado de salud y el manejo adecuado de la vaca, particularmente de sus glándulas mamarias, también influyen en este aspecto (Bonzano, 2012).

La leche proporciona un ambiente excepcional para el crecimiento de microorganismos, destacando la necesidad de ejercer un control continuo y riguroso acerca de las técnicas y procesos de producción de la leche. Esto garantiza que el producto esté libre de contaminantes y asegura la salud de los consumidores. Los métodos convencionales para el conteo e identificación de microorganismos que indican la calidad se utilizan y requieren tiempo (Méndez y Osuna, 2007).

a. Recuento de aerobios mesófilos

Son bacterias que crecen en condiciones donde haya existencia de oxígeno a temperaturas que oscilan entre 20 °C y 45 °C, con una temperatura ideal entre 30 °C y 40 °C. El recuento de estos microorganismos proporciona una medida del nivel total de contaminación en la leche cruda, sin ofrecer información sobre su origen específico. En general, se busca mantener este recuento lo más bajo posible (Gaviria, 2010).

Dentro de los microorganismos mesófilos se incluyen las bacterias ácido lácticas, que son parte de la microbiota natural de la leche cruda, así como bacterias patógenas. La determinación del recuento de bacterias aerobias mesófilas tiene como objetivo evaluar el nivel de contaminación en la leche cruda y verificar su



cumplimiento con las regulaciones sanitarias específicas de cada país (Villegas y Santos, 2013).

La medición del recuento de aerobios mesófilos es considerada la evaluación principal de la calidad microbiológica. Estas bacterias prosperan en entornos con oxígeno y se desarrollan a temperaturas similares a las del cuerpo humano. Esta prueba proporciona una valiosa indicación del nivel de contaminación de un producto y es el método más comúnmente empleado para estimar la cantidad de microorganismos vivos en alimentos (García *et al.*, 2006).

Según Quispe (2014), es inevitable que la leche cruda contenga entre 100 y 1000 bacterias viables por mililitro, debido a que generalmente habrá un cierto número de estas presentes en el conducto del pezón. La existencia de estos microorganismos en la leche que no superen el límite indica un buen estado de conservación y que se planteó adecuadamente un plan preventivo de mastitis. Sin embargo, un recuento elevado de unidades formadoras de colonias que sobrepasen el límite máximo permitido indica condiciones de conservación inadecuadas tanto en términos de tiempo como de temperatura, lo que favorece el crecimiento de microorganismos.

b. Recuento de coliformes totales

Se caracterizan por ser gram negativas y tener forma de bacilo, pudiendo desarrollarse en condiciones aeróbicas o anaeróbicas facultativas. Su rango óptimo de crecimiento se sitúa



entre los 30 y 37 °C, con un pH de 7 a 7.5. Son resistentes a la pasteurización y pueden afectar la vida útil de la leche pasteurizada, así como alterar la calidad de los productos fermentados como el queso o el yogurt (Méndez y Osuna, 2007).

La Norma Técnica Peruana establece que la leche con una concentración de menos de 1000 UFC/ml se considera aceptable. Dado que el intestino de los mamíferos es el hábitat normal de estas bacterias, su presencia en la leche cruda se asocia con contaminación fecal, la cual puede originarse en el estiércol, el polvo, el suelo, los alimentos del ganado, los insectos, los utensilios de ordeño, así como en las etapas de almacenamiento y transporte, donde estas bacterias tienden a proliferar fácilmente (Salazar, 2013).

Si los recuentos de bacterias coliformes exceden las 1000 UFC/ml, esto sugiere que hay una proliferación bacteriana en los equipos de ordeño, transporte y almacenamiento. Por otro lado, recuentos por debajo de los límites establecidos en la normativa peruana indican un alto nivel de higiene y desinfección en los equipos, lo cual asegura la calidad de la leche para el consumo humano (Botina y Ortiz, 2013).

c. Calidad higiénica de la leche

Indica las técnicas de empleo acerca del lugar de extracción que incluyen el control de la mastitis y se centran en dos puntos principales: la minimización de microbios y la inexistencia de componentes extraños que podrían comprometer su integridad o



seguridad para el consumo. El buen estado del producto es vital debido a que influye directamente en la calidad de la materia resultante. Por lo tanto, es esencial comenzar con una leche cruda de la más alta calidad higiénica-sanitaria, además de controlar minuciosamente todas las etapas, desde su producción hasta su uso como materia prima en la planta de procesamiento (Moreno *et al.*, 2007).

La calidad higiénica determina el estándar sobre seguridad, salud y duración tanto de la leche ya procesada. La calidad higiénica se refleja en su calidad bacteriológica, la cual se evalúa mediante el recuento de bacterias aerobias mesófilas (Gaviria, 2010). De existir alguna infección en el bovino, puede influir en la calidad microbiológica de la leche cruda, ya que los microorganismos responsables de esta afección pueden aumentar el recuento total de bacterias en la leche. Esto es particularmente relevante en explotaciones lecheras con una alta prevalencia de esta enfermedad, causada principalmente por *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, los cuales pueden producir toxinas termorresistentes que representan un riesgo significativo para la salud pública (Gonzales *et al.*, 2010).

d. La leche: un sustrato bacteriano

A causa de sus diversos componentes bioquímicos, elevado volumen de agua y pH neutral, la leche se caracteriza por ser un medio ideal para la multiplicación de microbios, especialmente



bacterias, que pueden modificar sus características. El desarrollo de bacterias, así como su actividad este producto pueden beneficiar como perjudicar en los procesos de producción de la leche y derivados. La interacción entre las bacterias y su entorno, que incluye las propiedades del sustrato y las condiciones externas, como la temperatura, determina su crecimiento (Lluguín, 2016).

La microbiota regular de la ubre, comprende en su mayoría bacterias como *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Micrococcus*. Sin embargo, condiciones anormales debido a infecciones, enfermedades o malas prácticas en la producción láctea pueden alterar la microflora de la leche proveniente de la glándula mamaria. Las vacas afectadas por mastitis transmiten un gran número de microorganismos, siendo los más comunes *S. aureus*, *Streptococcus* y *E. coli* (Carrillo y Audisio, 2007).

e. Riesgos de modificación de las características de la leche

Anterior al ordeño: estos factores limitan el bienestar inicial de la leche y se asocian a afecciones en los bovinos que forman parte del rebaño lechero. Estas enfermedades pueden afectar directa o indirectamente al producto, así como el estado fisiológico del bovino y la utilización de componentes químicos, como fármacos y hormonas, que podrían transferirse a la leche. Los factores posteriores al ordeño incluyen la manipulación de la leche durante este proceso, las condiciones ambientales, el almacenamiento en el tanque y el transporte hacia la planta de procesamiento, lo que puede



resultar en una alteración de la calidad original de la leche (Moreno *et al.*, 2007).

Contaminación interna: tiene su principio innato en la salud del bovino y de su ubre, y ocurre mediante dos vías, según lo señalado por Granizo (2016):

- *La vía ascendente:* a causa de la morfología de la ubre, caracterizada por canales anchos con limitadas bifurcaciones, lo que facilita la entrada de microorganismos después del ordeño a través del esfínter.
- *La vía descendente:* conocida como endógena, debido a microbios que contaminan la ubre que derivan de la sangre y tienen la habilidad de desplazarse mediante este, lo que puede provocar una enfermedad sistémica. Ejemplos de microorganismos que pueden causar esta contaminación son *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus* y *Brucella melitensis*.

Las infecciones en la glándula mamaria contribuyen a la presencia de bacterias, células somáticas, leucocitos y proteinas, los cuales alteran los estándares profilácticos de la leche. Estos factores son determinantes de la vida útil de los productos lácteos derivados. Según la FAO, uno de los principales problemas que enfrentan los pequeños productores es la descomposición de la leche durante el ordeño y su transporte, debido a las deficientes condiciones de higiene y sanidad, lo que



puede provocar problemas de zoonosis y aumentar los desafíos logísticos en el control de calidad de la leche en los mercados (OMS/FAO, 2011).

f. Fuentes de contaminación

La ubre sana: a causa que las mamas se encuentran en contacto con la superficie contiene una cantidad de microorganismos, en su mayoría del género *Lactobacillus*. Por lo general, las encontramos en los conductos del pezón y se desechan en los primeros chorros. Por lo tanto, en una práctica adecuada de ordeño, desechar los primeros chorros de leche debería ser una práctica habitual, ya que además de contribuir a la estimulación de la vaca, también ayuda en el diagnóstico de casos de mastitis clínica (Gaviria, 2010).

La ubre con mastitis: la presencia de mastitis en la ubre ocasiona una proliferación de microbios. Si esta leche de un cuarto afectado se mezcla con la de 99 cuartos sanos, el recuento bacteriano puede llegar hasta 1 000 000 UFC/ml (Gaviria, 2010).

Contaminación ambiental: es la principal causa de contaminación en la leche, ya que puede introducir una variedad de microorganismos durante el proceso de ordeño. Estos microorganismos presentes en la piel de la ubre y en general de los materiales de ordeño. Estos factores se consideran cruciales como fuentes de contaminación (Moreno *et al.*, 2007).



Contaminación por recipientes: como baldes, cantarillas y equipos de ordeño que no son adecuadamente lavados y desinfectados puede introducir diferentes cantidades de bacterias (Gaviria, 2010).

El agua: utilizada en el proceso debe ser de la mayor pureza posible, ya que puede ser una fuente significativa de microorganismos psicrófilos, que pueden generar la presencia de coliformes (Arteaga, 2016). Se recomienda que el agua sea potable o tratada para consumo, ya que entra en contacto con los animales antes del ordeño, así como con los equipos y utensilios. El uso de agua no potable representa un riesgo considerablemente alto de contaminación de la leche (Chávez, 2017).

El aire: actúa como un entorno adverso en el crecimiento de las bacterias a causa de la exposición frecuente al oxígeno, variaciones de temperatura, humedad, radiación solar, entre otros factores. (Walstra *et al.*, 2001).

El suelo: constituye la principal fuente de contaminación por microorganismos termófilos y termodúricos (Walstra *et al.*, 2001).

Estiércol: representa la principal fuente de microorganismos coliformes, los cuales pueden contaminar la leche a través del animal, el operador durante el ordeño o mediante utensilios insuficientemente limpios (Walstra *et al.*, 2001).

g. Factores relacionados con la higiene en el ordeño

El ciclo de extracción representa el momento más susceptible al contagio por microbios y componentes químicos, existentes en la



zona de ordeño y susceptibles de ser transferidos al insumo final. La cantidad de bacterias refleja el volumen de microorganismos en la leche. En circunstancias de ordeño higiénico adecuadas, el conteo total inicial de bacterias en la leche cruda oscila entre 1000 y 9000 UFC/ml. Tras el proceso de ordeño, los factores principales que contribuyen al aumento de este valor incluyen la temperatura de almacenamiento y el tiempo transcurrido antes del procesamiento industrial (Gonzales *et al.*, 2010).

La falta de condiciones profilácticas en los ordeñadores, los materiales y las técnicas se identifican como los causantes primordiales que contribuyen al incremento de este parámetro. El agua libre de contaminantes, que se utiliza con el fin de realizar limpieza a los materiales y de los pezones de los bovinos es esencial para prevenir el crecimiento de microorganismos. Se estima que más del 95% de los casos elevados de conteos bacterianos se deben a deficiencias en la limpieza, higiene y sanitización de los equipos y utensilios de ordeño, o están relacionados con un enfriamiento inadecuado del producto después del ordeño (Gonzales *et al.*, 2010).

h. Norma Técnica Peruana NTP 202.001:2016

Leche cruda

- La actual Regla Técnica Peruana ha sido realizada por el Comité Técnico de Normalización de Leche y productos lácteos, utilizando el procedimiento habitual, entre los meses de julio y



septiembre de 2016. Esta elaboración se basó en la documentación previa mencionada en el respectivo capítulo.

- El Comité Técnico de Normalización de Leche y productos lácteos remitió el PNTP 202.001:2016 a la Dirección de Normalización -DN- el 5 de octubre de 2016 para su revisión y aprobación. Este documento fue impuesto a un período de consulta pública a partir del 21 de octubre de 2016. Dado que no se recibieron observaciones durante este proceso, fue oficialmente adoptado como Norma Técnica Peruana NTP 202.001:2016, titulada "Leche y Productos Lácteos. Leche cruda. Requisitos.", en su sexta edición, el 31 de diciembre de 2016.
- Para la enumeración de células somáticas, se utiliza la NTP 202.173:1998.
- La NTP 202.089 se emplea para la enumeración de *Escherichia coli*.
- Se siguen las directrices de la FAO/ICMSF para la enumeración de *Staphylococcus*.
- Además, se hace referencia a la Norma Técnica de Asociación FIL IDF 100B:1991, la cual establece los requisitos para la enumeración de células mesófilas aeróbicas UFC/ml (Camacho *et al.*, 2009).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO

La investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología Clínica, de la Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno. El ámbito de estudio estuvo conformado por los mercados de mayor afluencia en la ciudad de Puno, provincia de Puno, región Puno, ubicada a una altitud de 3827 msnm; siendo los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; donde se expende la leche entera cruda de vaca.

3.2. DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

El diseño fue observacional y el tipo de investigación fue descriptivo y transversal; porque se determinó la calidad microbiológica de la leche entera cruda de vaca, mediante el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables y coliformes totales, expandida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota de la ciudad de Puno; para finalmente analizarla y compararla con los indicadores señalados en la Norma Técnica Peruana NTP 202.001:2016. “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leche cruda. Requisitos”.

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: estuvo conformada por la leche entera cruda de vaca que se expenden en los puestos de venta de los mercados de la ciudad de Puno, provincia de Puno, siendo estos mercados: Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; de donde se consideró a los expendedores de leche cruda.



Muestra: estuvo constituida por 48 muestras de leche entera cruda de vaca que fueron seleccionados aleatoriamente, 12 muestras de leche entera cruda de vaca por mercado, tomándose 1 muestra por expendedor de cada puesto de venta, la toma de muestra se realizó con 3 repeticiones. El principio utilizado para establecer el tamaño de la muestra fue mediante el método no probabilístico, el muestreo se realizó de la siguiente manera:

Tabla 3

Muestreo de leche entera cruda de vaca en los mercados de la ciudad de Puno

Zona de muestreo		N° Muestra	Total de muestras analizadas*
Mercado	Expendedor		
Bellavista	12	12	12
Central	12	12	12
Unión y Dignidad	12	12	12
Laykakota	12	12	12

Nota: (*) La toma de muestra se realizó con tres repeticiones

Fuente: Elaboración propia

3.4. METODOLOGÍA

3.4.1. Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables en la leche entera cruda de vaca

3.4.1.1. Método horizontal para recuento de microorganismos

Fundamento

Es un método horizontal específicamente para el recuento de microorganismos capaces de crecer y formar colonias en un medio sólido tras la incubación a 30 °C. El método es aplicable para los productos destinados al consumo humano y alimentación animal, y las muestras



ambientales del área de producción y manipulación de alimentos para consumo humano y alimentación animal (Passalacqua y Cabrera, 2014).

3.4.1.2. Recolección de muestras de leche cruda

La recolección de muestra se realizó según la metodología establecida por Cohaila (2013), así se recolectó una cantidad de 1000 ml de leche cruda y cada muestra fue colocada en una bolsa plástica nueva, tal cual como se expende a un consumidor, luego la muestra se transportó en un cooler con refrigerante a una temperatura de 4 °C, hasta el laboratorio para su análisis.

3.4.1.3. Preparación y dilución de muestra de leche para análisis

microbiológico

La preparación y dilución de muestras se realizó según la metodología propuesta por Cohaila (2013):

- Preparación de la muestra: se manipuló la muestra evitando todo riesgo de contaminación.
- Preparación de la suspensión inicial: en un envase estéril se depositó 10 ml de la muestra con una pipeta estéril y se incorporó 90 ml de diluyente. La temperatura del diluyente fue aproximadamente la misma que la temperatura ambiente durante el análisis, con el fin de evitar dañar a los microorganismos por un cambio brusco de temperatura. Posteriormente se homogenizó la dilución con el agitador Vortex, el tiempo adecuado para conseguir un total de 15 000 a 20 000 RPM durante 1 minuto.



- Preparación de las diluciones decimales adicionales: de la suspensión inicial (primera dilución) se transfirió 1 ml con una pipeta, a un tubo conteniendo 9 ml de diluyente estéril a una temperatura adecuada. Luego se mezcló delicadamente con el agitador durante 10 segundos y así se obtuvo la dilución de 10^{-2} . Se repitió esta operación transfiriendo 1 ml de la dilución 10^{-2} ; para lo cual fue necesario usar una pipeta estéril diferente en cada una de las diluciones 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , hasta obtener el número suficiente de microorganismos. La selección de las diluciones que se prepararon, dependió del número esperado de microorganismos en la muestra.

- Técnica de conteo de colonias por placa en agar PCA: asépticamente, se pipeteó 1 ml de cada una de las diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y se cultivó en placas Petri por duplicado. A cada placa se agregó 20 ml de Agar Plate Count (PCA). Entre la dilución de la muestra y el cultivo en placa no transcurrió más de 15 minutos. Inmediatamente se mezcló la muestra diluida y el agar, agitando suavemente con movimientos circulares durante 1 minuto; se dejó enfriar sobre una superficie plana y horizontal. Cuando ya solidificó el agar, se invirtió la posición de las placas Petri y se incubó a 35 ± 2 °C por 24 a 48 horas. Para realizar el recuento, se eligió las placas que contenían entre 30 y 300 colonias, y se utilizó un contador de colonias.

3.4.1.4. Análisis estadístico

Los resultados logrados se registraron y analizaron en el programa Microsoft Excel que fue considerada como base de datos. Posteriormente



se realizó el análisis descriptivo, de la variable recuento de bacterias mesófilas aerobias viables, asimismo se calculó los promedios y los porcentajes.

En el análisis de datos se realizó la comparación del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables UFC/ml con la Norma Técnica Peruana NTP 202.001:2016 “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leche cruda. Requisitos”, lo cual nos permitió interpretar si de buena o mala calidad. Para lo cual, también se aplicó la prueba estadística Kruskal – Wallis con un nivel de confianza del 95%, siendo los datos procesados en el Paquete Estadístico InfoStat - Versión libre 2020 para Windows (Balzarini *et al.*, 2008).

Fundamento: La prueba H de Kruskal - Wallis es considerada una prueba estadística no paramétrica, diseñada para comparar grupos independientes, así también para evaluar si un conjunto de datos proviene de la misma población. Es muy similar al ANOVA, se utiliza para determinar si existen diferencias significativas respecto a las distribuciones de la variable en estudio entre diversas poblaciones (Quispe *et al.*, 2019). La elección de esta prueba se basa en el incumplimiento de los supuestos de normalidad y homocedasticidad; a diferencia de otras pruebas, la prueba de Kruskal - Wallis no exige una distribución específica, permite muestras independientes y se adapta a niveles variables de medición. Debido a que los datos son discretos, la prueba brinda información sobre la presencia o ausencia de diferencias significativas, mediante un umbral de significancia ($p < 0.05$).

Fórmula: Kruskal - Wallis

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

Posteriormente se aplicó la prueba de comparación de rangos si el p-valor es < 0.05 (mínimamente uno de los niveles de la variable independiente muestra diferencias estadísticas significativas en la prueba H de Kruskal - Wallis).

3.4.2. Recuento de coliformes totales en la leche entera cruda de vaca

3.4.2.1. Técnica para la numeración de coliformes con el método

horizontal del número más probable en Caldo Lauril Sulfato (CLS)

El ensayo se realizó según la metodología propuesta por Cohaila (2013):

- Inoculación e incubación: en 3 tubos con Caldo Lauril Sulfato (CLS), con una pipeta estéril se transfirió a cada uno de estos tubos 1 ml de la muestra de leche cruda. Con la máxima esterilidad se incubó a 37 ± 2 °C por 12 a 24 horas. Posterior a ello, los tubos que presentaron formación de gas y turbidez, se pasaron a la prueba confirmatoria que es en Caldo Verde Brillante Bilis, los tubos que no presentaron gas y turbidez se dejó incubando por unas 24 horas más.
- Confirmación: los tubos que presentaron gas y turbidez en el Caldo Verde Brillante Bilis, se pasaron luego a su lectura; y los que no presentaron gas y turbidez se les dejó 24 horas más, luego de esto se



realizó lectura solo de las que presentaron gas y turbidez, los tubos que no presentaron se desechó y se dio por concluida la prueba.

- Interpretación: por cada dilución, se contó el número total de tubos en el cual se observó la formación de gas (tubos positivos) después de las 24 horas + 2 horas o después de las 48 horas + 2 horas. Se calculó el número más probable del número de tubos positivos de cada dilución.
- Reporte: los resultados que se obtuvieron se expresaron en NMP de coliformes/mililitro.

3.4.2.2. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se registraron y analizaron en una hoja de cálculo en el programa Microsoft Excel que fue considerada como base de datos. Posteriormente se realizó el análisis descriptivo, de la variable recuento de coliformes totales, asimismo se calculó las frecuencias y los porcentajes.

En el análisis de datos se realizó la comparación del recuento de coliformes totales con la Norma Técnica Peruana NTP 202.001:2016 “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leche cruda. Requisitos”, lo cual nos permitió interpretar si es de buena o mala calidad. Para lo cual, también se aplicó la prueba estadística Kruskal - Wallis con un nivel de confianza del 95%, siendo los valores procesados en el Paquete Estadístico InfoStat - Versión libre 2020 para Windows (Balzarini *et al.*, 2008).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RECUENTO DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS VIABLES EN LA LECHE ENTERA CRUDA DE VACA EXPENDIDA EN LOS MERCADOS BELLAVISTA, CENTRAL, UNIÓN Y DIGNIDAD, Y LAYKAKOTA DE LA CIUDAD DE PUNO

El análisis microbiológico de las muestras de leche entera cruda de vaca expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; se detalla en las Tablas 4, 5, 6, 7 y 8.

Tabla 4

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista

Mercado	Muestra	Bacterias aerobias mesófilas viables ($\times 10^5$ UFC/ml)			
		Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Promedio
Bellavista	M1	3.8	3.1	3.3	3.4
	M2	1.8	1.5	1.2	1.5
	M3	24.0	31.0	29.0	28.0
	M4	2.4	3.2	2.5	2.7
	M5	37.0	28.0	25.0	30.0
	M6	19.0	15.0	14.0	16.0
	M7	3.2	2.9	2.6	2.9
	M8	1.8	1.4	1.6	1.6
	M9	3.6	2.9	2.5	3.0
	M10	2.3	2.9	2.0	2.4
	M11	23.0	11.0	17.0	17.0
	M12	1.9	1.6	1.3	1.6

Nota: NTP: Mínimo = 5×10^5 UFC/ml, Máximo = 10×10^5 UFC/ml. $H = 21.33$ y $p = 0.0299$
 $p = 0.0299$ y $H = 21.33$

Fuente: Elaboración propia

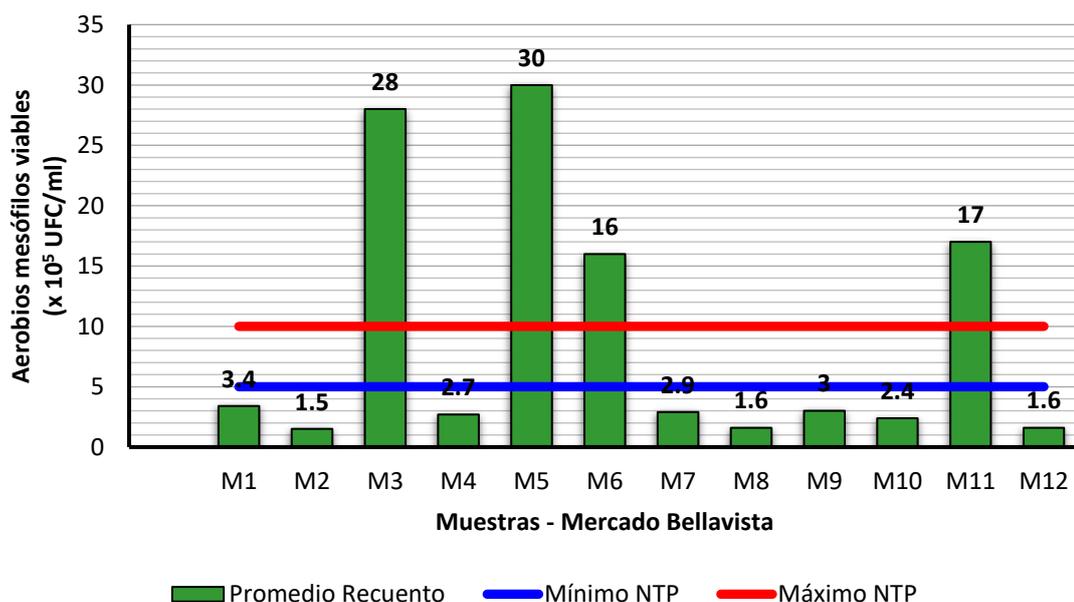
La Tabla 4 detalla el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, presente en las 12 muestras de leche entera cruda de vaca expendida en el Mercado Bellavista. Del

análisis microbiológico realizado, la M5 presentó el mayor promedio de recuento (30.0×10^5 UFC/ml); por otro lado, la M2 el menor (1.5×10^5 UFC/ml).

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, se ha encontrado diferencia estadística significativa en el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables en la leche cruda expendida en el Mercado Bellavista; las 12 muestras revelaron un $p = 0.0299$ y $H = 21.33$, razón por la cual se realizó la prueba de comparación por rangos; para determinar en cual muestra hubo mayor y menor recuento de bacterias aerobias mesófilas viables.

Figura 1

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista, según los límites establecidos en la NTP



Fuente: Elaboración propia

La Figura 1 presenta el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de las 12 muestras correspondientes al Mercado Bellavista, según los límites establecidos en la NTP 202.001:2016. Estos resultados se ilustran de manera gráfica, lo que permite observar que las muestras M3, M5, M6 y M11 superan el límite máximo establecido, lo que indica que son de calidad defectuosa; por otro lado, las muestras M1, M2, M4, M7,

M8, M9, M10 y M12 se encuentran por debajo del límite mínimo, lo que indica que son de calidad buena.

Tabla 5

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Central

Mercado	Muestra	Bacterias aerobias mesófilas viables ($\times 10^5$ UFC/ml)			
		Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Promedio
Central	M1	56.0	49.0	51.0	52.0
	M2	48.0	46.0	44.0	46.0
	M3	59.0	39.0	43.0	47.0
	M4	26.0	35.0	29.0	30.0
	M5	25.0	14.0	18.0	19.0
	M6	24.0	20.0	19.0	21.0
	M7	31.0	35.0	33.0	32.0
	M8	3.3	2.2	2.0	2.5
	M9	31.0	18.0	20.0	23.0
	M10	2.9	2.4	2.5	2.6
	M11	19.0	20.0	15.0	18.0
	M12	25.0	19.0	19.0	21.0

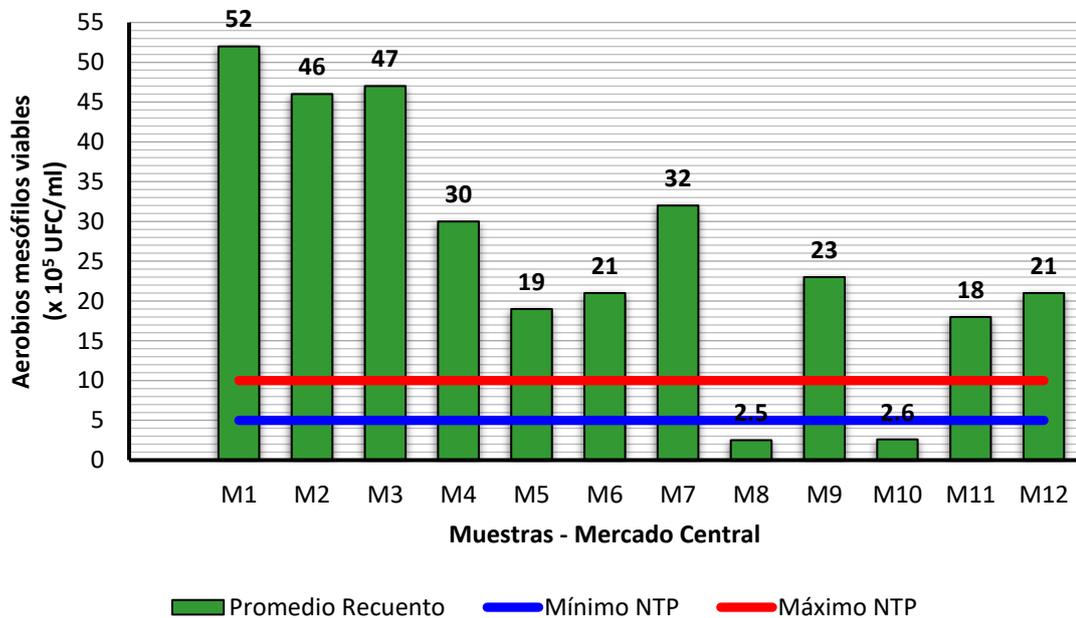
Nota: NTP: Mínimo = 5×10^5 UFC/ml, Máximo = 10×10^5 UFC/ml. $H = 19.44$ y $p = 0.0531$
Fuente: Elaboración propia

La Tabla 5 detalla el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, presente en las 12 muestras de leche entera cruda de vaca expendida en el Mercado Central. Del análisis microbiológico realizado, la M1 presentó el mayor promedio de recuento (52.0×10^5 UFC/ml); por otro lado, la M8 el menor promedio (2.5×10^5 UFC/ml).

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, no hay diferencia estadística significativa en el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables obtenido a partir de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Central; las 12 muestras evaluadas y sometidas a la prueba revelaron un $p = 0.0531$ y $H = 19.44$, razón por la cual no se realizó la prueba de comparación por rangos.

Figura 2

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Central, según los límites establecidos en la NTP



Fuente: Elaboración propia

La Figura 2 presenta el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de las 12 muestras correspondientes al Mercado Central, según los límites establecidos en la NTP 202.001:2016. Se puede observar que las muestras M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M9, M11 y M12 superan el límite máximo establecido, lo que indica que son de calidad defectuosa; por otro lado, las muestras M8 y M10 se encuentran por debajo del límite mínimo, siendo de calidad buena.

Tabla 6

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad

Mercado	Muestra	Bacterias aerobias mesófilas viables ($\times 10^5$ UFC/ml)			
		Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Promedio
Unión y Dignidad	M1	34.0	35.0	30.0	33.0
	M2	14.0	18.0	13.0	15.0
	M3	17.0	19.0	15.0	17.0
	M4	23.0	16.0	24.0	21.0
	M5	13.0	18.0	17.0	16.0
	M6	2.3	1.6	2.1	2.0
	M7	3.8	3.9	3.1	3.6
	M8	1.8	2.2	1.7	1.9
	M9	26.0	19.0	24.0	23.0
	M10	3.2	2.5	2.7	2.8
	M11	1.9	1.5	1.1	1.5
	M12	3.6	1.6	2.0	2.4

Nota: NTP: Mínimo = 5×10^5 UFC/ml, Máximo = 10×10^5 UFC/ml. $H = 20.60$ y $p = 0.0369$

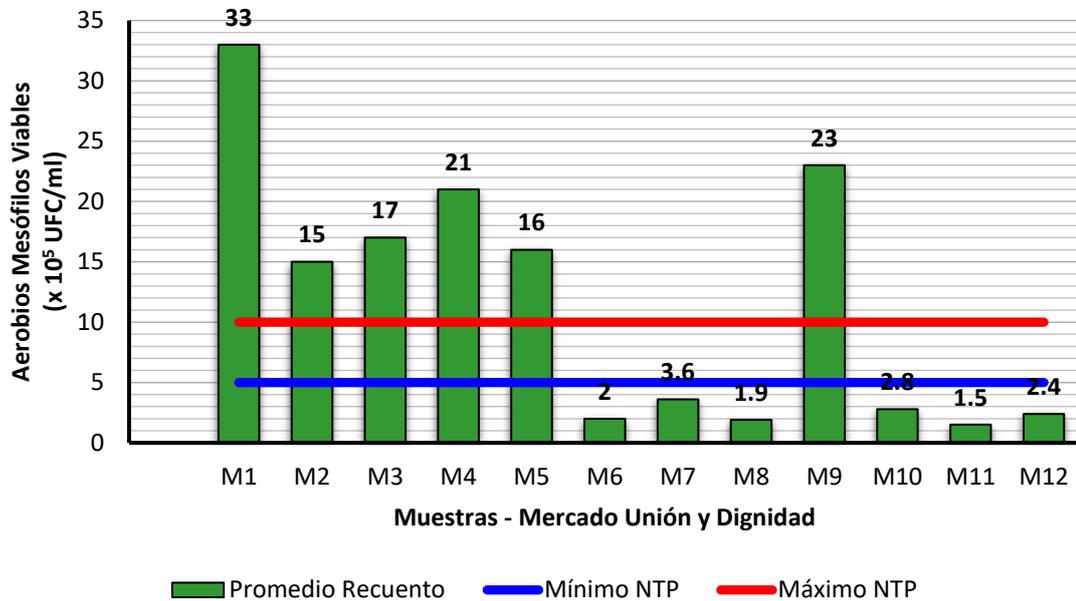
Fuente: Elaboración propia

La Tabla 6 detalla el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, presente en las 12 muestras de leche entera cruda de vaca expendida en el Mercado Unión y Dignidad. Del análisis microbiológico realizado, la M1 presentó el mayor promedio de recuento (33.0×10^5 UFC/ml); por otro lado, la M11 presentó el menor promedio (1.5×10^5 UFC/ml).

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, hay diferencia estadística significativa en el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables obtenido a partir de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad; revelando un $p = 0.0369$ y $H = 20.60$, razón por la cual se realizó la prueba de comparación por rangos; para determinar en cual muestra hubo mayor y menor recuento.

Figura 3

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad, según los límites establecidos en la NTP



Fuente: Elaboración propia

La Figura 3 presenta el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de las 12 muestras correspondientes al Mercado Unión y Dignidad, según los límites establecidos en la NTP 202.001:2016, donde las muestras M1, M2, M3, M4, M5 y M9 superan el límite máximo establecido, lo que indica que son de calidad defectuosa; por otro lado, las muestras M6, M7, M8, M10, M11 y M12 se encuentran por debajo del límite mínimo, lo que indica que son de calidad buena.

Tabla 7

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el

Mercado Laykakota

Mercado	Muestra	Bacterias aerobias mesófilas viables ($\times 10^5$ UFC/ml)			
		Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Promedio
Laykakota	M1	34.0	29.0	30.0	31.0
	M2	24.0	35.0	25.0	28.0
	M3	42.0	38.0	37.0	39.0
	M4	43.0	32.0	30.0	35.0
	M5	48.0	33.0	36.0	39.0
	M6	36.0	29.0	28.0	31.0
	M7	33.0	29.0	25.0	29.0
	M8	46.0	39.0	41.0	42.0
	M9	12.0	17.0	16.0	15.0
	M10	2.5	1.6	2.2	2.1
	M11	18.0	16.0	14.0	16.0
	M12	2.0	1.5	1.9	1.8

Nota: NTP: Mínimo = 5×10^5 UFC/ml, Máximo = 10×10^5 UFC/ml. $H = 18.23$ y $p = 0.0757$

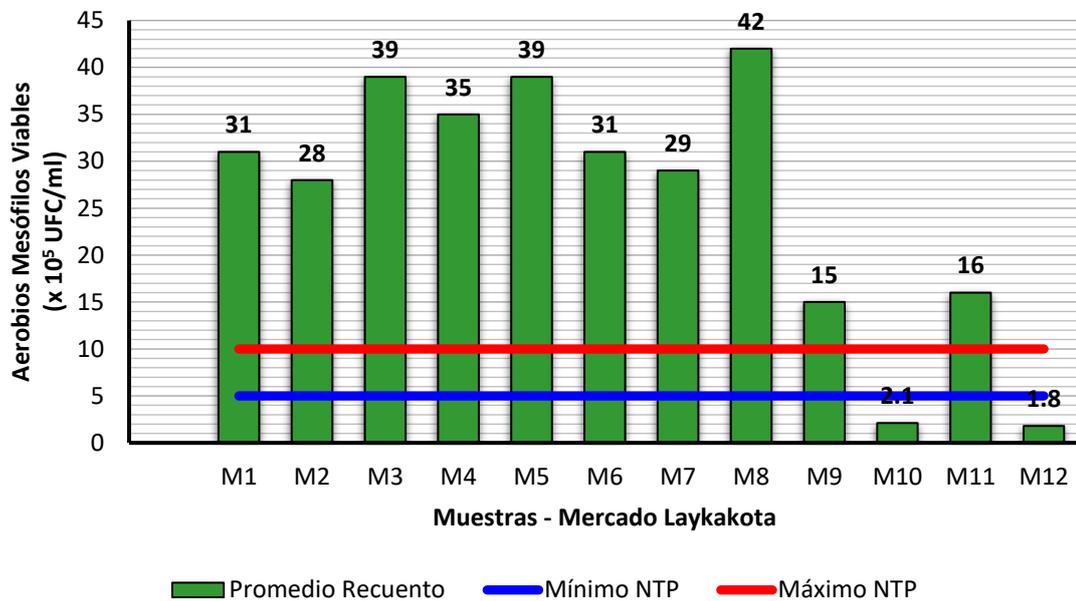
Fuente: Elaboración propia

La Tabla 7 detalla el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, presente en las 12 muestras de leche entera cruda de vaca expendida en el Mercado Laykakota. Del análisis microbiológico, la M8 presentó el mayor promedio de recuento (42.0×10^5 UFC/ml); por otro lado, la M12 presentó el menor promedio (1.8×10^5 UFC/ml).

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, no se encontró diferencias estadísticas y significativas en el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables obtenido a partir de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Laikakota; revelando un $p = 0.0757$ y $H = 18.23$, razón por la cual no se realizó la prueba de comparación por rangos.

Figura 4

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota, según los límites establecidos en la NTP



Fuente: Elaboración propia

La Figura 4 presenta el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de las 12 muestras correspondientes al Mercado Laykakota, según los límites establecidos en la NTP 202.001:2016, donde las muestras M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9 y M11 superan el límite máximo establecido, lo que indica que estas muestras son de calidad defectuosa; por otro lado, las muestras M10 y M12 se encuentran por debajo del límite mínimo, lo que indica que son de calidad buena.

Tabla 8

Promedio de recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota

Muestra	Promedio de recuento de aerobios mesófilos viables ($\times 10^5$ UFC/ml)			
	M. Bellavista	M. Central	M. Unión y Dignidad	M. Laykakota
M1	3.4	52.0	33.0	31.0
M2	1.5	46.0	15.0	28.0
M3	28.0	47.0	17.0	39.0
M4	2.7	30.0	21.0	35.0
M5	30.0	19.0	16.0	39.0
M6	16.0	21.0	2.0	31.0
M7	2.9	32.0	3.6	29.0
M8	1.6	2.5	1.9	42.0
M9	3.0	23.0	23.0	15.0
M10	2.4	2.6	2.8	2.1
M11	17.0	18.0	1.5	16.0
M12	1.6	21.0	2.4	1.8

Nota: $H = 12.33$ $p = 0.0063$

Fuente: Elaboración propia

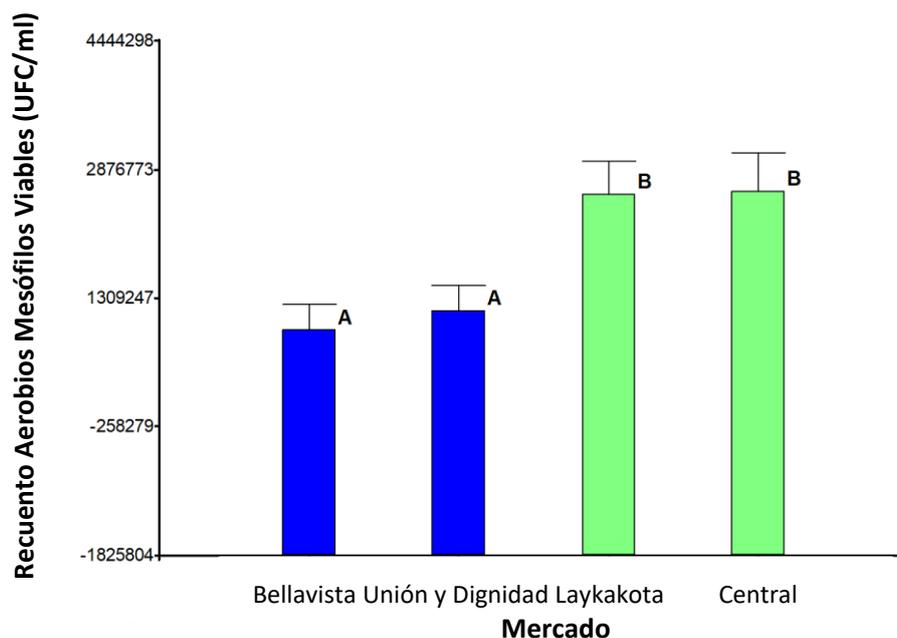
El recuento de bacterias aerobias mesófilas viables fue variado, en las muestras de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota. En la Tabla 8 se detalla los recuentos de las 48 muestras expendidas en los cuatro mercados de la ciudad de Puno. Del análisis microbiológico realizado, el Mercado Central presentó el mayor promedio de recuento (52.0×10^5 UFC/ml); por otro lado, los menores recuentos correspondieron a los Mercados Bellavista y Unión y Dignidad (1.5×10^5 UFC/ml) respectivamente.

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, existe diferencia estadística significativa en el promedio de recuento de bacterias aerobias mesófilas viables obtenido a partir de las muestras de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota. Las 48 muestras que fueron evaluadas y sometidas a la prueba revelaron un $p = 0.0063$ y $H = 12.33$, razón por la cual se realizó la prueba de comparación por rangos; en donde el recuento de las muestras correspondientes a los

Mercados Bellavista y Unión y Dignidad presentaron diferencia estadística significativa respecto a los Mercados Laykakota y Central.

Figura 5

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota



Fuente: Elaboración propia

El recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de las muestras provenientes de los Mercado Bellavista y Unión y Dignidad no presentaron diferencias estadísticas significativas. Así también, los recuentos correspondientes a los Mercados Laykakota y Central tampoco presentaron diferencia estadística significativa entre sí. En la Figura 5, se observa que las muestras correspondientes al Mercado Central presentaron el mayor promedio de recuento, seguidas de las muestras correspondientes al Mercado Laykakota y Unión y Dignidad; por otro lado, las muestras correspondientes al Mercado Bellavista presentaron el menor promedio.

Tabla 9

Calidad microbiológica de acuerdo al recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de la leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota

Calidad	Mercado							
	Bellavista		Central		Unión y Dignidad		Laykakota	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Buena	8	67	2	17	6	50	2	17
Defectuosa	4	33	10	83	6	50	10	83
Total	12	100	12	100	12	100	12	100

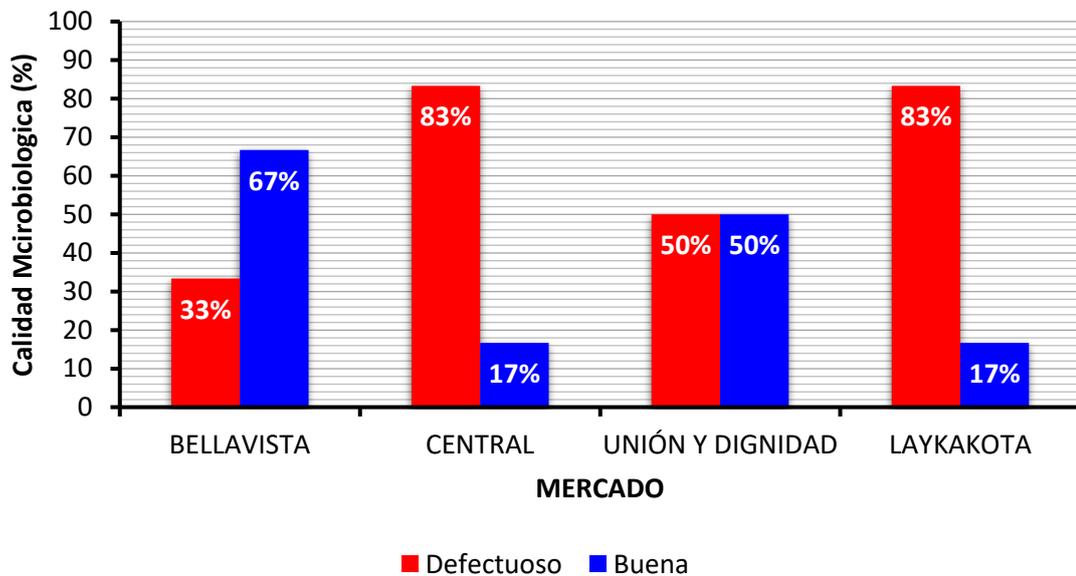
Nota: $X^2 = 9.60$, $gl = 3$ y $p = 0.0223$

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 9 se detalla los resultados de la calidad microbiológica de leche, según el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de las muestras de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; conforme a los límites máximos permisibles establecidos en la NTP 202.001:2016. “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leche cruda. Requisitos”, donde de 48 muestras, 30 (63%) resultaron de calidad defectuosa debido a que supera el valor límite (10^6), establecido en la norma y 18 (38%) resultaron de calidad buena ya que se encuentran dentro de los límites máximos permisibles. Asimismo, aplicando la prueba estadística de Chi Cuadrado se determinó un $p = 0.0223$, lo que nos indica que si existe diferencias estadísticas significativas entre los cuatro mercados.

Figura 6

Calidad microbiológica de acuerdo al recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; según los límites máximos permisibles en la NTP



Fuente: Elaboración propia

En la Figura 6, se detalla la calidad microbiológica, según el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de las muestras de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; conforme a los límites máximos permisibles en la NTP 202.001:2016. “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leche cruda. Requisitos”. Lo que nos revela que en los Mercados Central y Laykakota se obtuvo un porcentaje muy similar, donde el 83% de muestras resultaron de calidad defectuosa y el 17% resultaron de buena calidad, seguido del Mercado Unión y Dignidad donde el 50% de calidad defectuosa y el 50% de calidad buena, por último, en el Mercado Bellavista el 33% de calidad defectuosa y el 67% de calidad buena.

Conforme a los resultados obtenidos, respecto al recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, se obtuvieron promedios que oscilan desde 1.5×10^5 UFC/ml hasta



52.0×10^6 UFC/ml, del total de 48 muestras analizadas expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; 30 (63%) resultaron de calidad defectuosa debido a que supera el valor límite (10^6), y 18 (38%) fueron de calidad buena, ya que se encuentran dentro de los límites máximos permisibles al compararlos con la NTP. 202.001:2016. Comparativamente, López y Pérez (2019), en su investigación analizaron 180 muestras de leche cruda en Chiclayo – Lambayeque, donde determinaron que al comparar los resultados con la NTP el 73.3% sobrepasan los límites permisibles para el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, lo que indicaba mala calidad higiénica de la leche cruda, no apta para su consumo.

En otros estudios similares, se reportaron un porcentaje mayor de muestras analizadas que superan el límite establecido en comparación al presente estudio, donde el 63% superan el límite respecto al recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, estos estudios son como el realizado por Fora (2015), quien analizó 150 muestras tomadas de los recipientes donde los proveedores almacenaban la leche (Sama Inclán, Tacna), estableció que el 80% de ejemplares, incumplen con los límites de calidad microbiológicos. Y también, el estudio realizado por Brousett *et al.* (2015), en su investigación determinaron la calidad de leche cruda en 8 cuencas (Puno), en cuanto a las bacterias mesófilas aerobias obtuvieron recuentos de 2.15×10^7 y 1.43×10^7 UFC/ml, considerándose una leche de mala calidad higiénica. Por otro lado, Obregón *et al.* (2017), analizaron 40 muestras de leche cruda (Puente Piedra, Lima); obteniendo un recuento medio de aerobios mesófilos de 43×10^7 UFC/ml, la máxima de 3×10^9 UFC/ml y la mínima de 2×10^5 UFC/ml, que según la NTP, el 95% de muestras superó el límite establecido.

Asimismo, en otros estudios similares, se reportaron un porcentaje menor de muestras analizadas que superan el límite establecido comparativamente al presente



estudio, como el realizado por Acaro (2019), quien analizó 6 puntos de venta en Chulucanas – Piura; donde un solo punto de expendio estaba por encima de los parámetros establecidos según el recuento de aerobios mesófilos en la NTP. Del mismo modo, Fuentes *et al.* (2013), realizaron recuentos de bacterias mesofílicas en leche y lácteos en México, el cual estaba por encima del límite máximo permitido por la NOM-243-SSA1-2010. Por el contrario, Elcorrobarrutia *et al.* (2014), en su investigación determinó la calidad sanitaria de mas de 12 ejemplares de leche cruda en Huacho - Lima; donde obtuvieron una media de 3.21×10^3 UFC/ml en el recuento de microorganismos mesófilos aerobios y facultativos viables, cumpliendo con los parámetros microbiológicos establecidos.

Por tal razon, este estudio plasma la mala calidad microbiológica en la mayoría de muestras de lechea analizadas. De forma similar y comparativamente, en otro estudio realizado por Cohaila (2013), reportó un porcentaje mucho mayor al presente estudio, quien evaluó la calidad microbiológica de leche cruda expendida en las inmediaciones de los mercados de la ciudad de Tacna, donde analizó 64 muestras de 32 puestos de venta, y el 92.19% fue elevado respecto al recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables resultando por encima de 1×10^6 UFC/ml. Por otro lado, Figueroa (2012), reportó un porcentaje más menor al presente estudio, quien evaluó la calidad higiénica de 80 muestras de leche cruda comercializada en los puestos ambulatorios de la ciudad de Tacna, mediante el recuento de bacterias aerobias mesófilas, donde solo el 12.50%, dieron valores que sobrepasaron el parámetro permitido entre 10×10^5 a 20×10^5 UFC/ml, por lo que, la leche analizada presentó una mala calidad higiénica.

En otra investigación, Sánchez (2013), analizó 1632 muestras de leche provenientes de los establos proveedores de la empresa Gloria S.A en Trujillo, Paiján y Virú. En cuanto al recuento de bacterias mesófilas aerobias, si cumplían con lo



establecido en la NTP 202.001-2010. Por otro lado, Cárdenas y Murillo (2018), analizaron la calidad bacteriológica de la leche cruda producida en 45 ganaderías de Azuay - Ecuador, donde la media del recuento de aerobios mesófilos fue de 3882599.97 UFC/ml. En cambio, Mariscal *et al.* (2013), analizaron muestras de leche cruda proveniente de expendios de mercados en Trinidad - Bolivia; obteniendo un promedio de 109.286 UFC/ml bacterias mesófilas aerobias (BMA), que según este recuento el 64.3% se clasificaron como leche clase 1 (<100,000 UFC/ml) y 35.7% como leche clase 2 (101.000 a 300.000 UFC/ml), superando los parámetros microbiológicos exigidos, no cumpliendo con la calidad e inocuidad para el consumo humano.

Los resultados obtenidos en la investigación, respecto a los elevados recuentos de bacterias mesófilas aerobias probablemente se deba a que no se cumplieron con las buenas prácticas de manufactura de este producto, pudiendo ser las siguientes causas: malas prácticas de ordeño (relacionados a no aplicar higiene en la ubre de la vaca), en el almacenamiento (no se realiza la refrigeración de la leche y se mantiene a temperatura ambiente), en la manipulación o comercialización a pequeños productores (mala higiene y recipientes inadecuados) y a los expendedores de leche cruda (manejo inadecuado por parte del vendedor y los factores ambientales donde es expendida la leche). Así también la OMS/FAO (2011), menciona que muchos productos lácteos, debido a su composición, son propensos al desarrollo de microorganismos patógenos. Por lo tanto, es esencial implementar medidas adecuadas de control de higiene a lo largo de toda la cadena alimentaria para garantizar la seguridad de estos alimentos y su adecuación para el consumo. No obstante, cualquier punto es crítico en el adecuado manejo de este alimento vital, lo que revela los resultados obtenidos y diferencias entre recuentos de las muestras de los Mercados.

El 63% de muestras de leche cruda que fueron analizadas en la presente



investigación, sobrepasan los límites máximos permisibles establecidos en la norma respecto al recuento de bacterias aerobias mesófilas viables. Este elevado porcentaje obtenido revela la mala calidad microbiológica de la leche que se expende en los mercados de mayor afluencia de la ciudad de Puno.

Estos resultados obtenidos pueden deberse a muchos factores como la mala higiene de parte de los expendedores, la falta de limpieza del mercado y punto de expendio, y los factores externos vinculados al expendio de la leche como el alto transitar de personas, vehículos, animales, etc. Asimismo, se ha podido evidenciar el mal estado de infraestructura y salubridad de estos mercados de la ciudad de Puno, que favorece la contaminación externa y en consecuencia el desarrollo de bacterias aerobias mesófilas viables en la leche cruda, desconociéndose también la procedencia de la leche cruda y la forma en que fue transportada y almacenada.

Por otro lado, el origen de la contaminación externa de la leche cruda puede deberse a muchos factores, como por ejemplo el ordeño, el medio ambiente, la higiene del animal, recipientes empleados, etc. Tal como lo afirma, Bonzano (2012), la composición microbiológica está asociada tanto a la cantidad como al tipo de microorganismos presentes, resultado de prácticas higiénicas durante el ordeño, el transporte y el almacenamiento de la leche. Además, el estado de salud y el manejo adecuado de la vaca, particularmente de sus glándulas mamarias, también influyen en este aspecto.

La presencia de leche de baja calidad microbiológica en los mercados de mayor afluencia en la ciudad de Puno es preocupante por varias razones. En primer lugar, es posible que sea riesgoso para la salud pública, debido a que una alta carga microbiana en la leche puede aumentar la probabilidad de enfermedades transmitidas por alimentos. Esto



es especialmente preocupante para personas en mayor condición de peligro con sistemas inmunológicos comprometidos. Por lo tanto, es esencial implementar medidas adecuadas de control de la higiene de la leche y los productos lácteos a lo largo de toda la cadena alimentaria para garantizar la seguridad de estos alimentos y su adecuación para el consumo (OMS/FAO, 2011).

Es esencial implementar medidas efectivas de control de calidad y seguridad alimentaria en toda la cadena de producción, desde la granja hasta el consumidor final, con el fin de asegurar que este producto que se comercializa en los mercados cumpla con los límites establecidos. Esto incluye prácticas adecuadas de higiene durante el ordeño, el transporte y el almacenamiento, así como el monitoreo regular de la calidad microbiológica de la leche en todos los puntos de la cadena de suministro. La educación y la sensibilización tanto de los productores como de los consumidores sobre la importancia de la calidad microbiológica de la leche también son fundamentales para abordar este problema de manera efectiva.

4.2. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES EN LA LECHE ENTERA CRUDA DE VACA EXPENDIDA EN LOS MERCADOS BELLAVISTA, CENTRAL, UNIÓN Y DIGNIDAD, Y LAYKAKOTA DE LA CIUDAD DE PUNO

El recuento de coliformes totales de las muestras de leche entera cruda de vaca expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; se detalla en las Tablas 10, 11, 12 y 13.

Tabla 10*Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista*

Mercado	Muestra	Positivos			Coliformes totales	
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	(NMP/100 ml)	(x 10 ³ UFC/ml)
Bellavista	M1	1	1	0	7	0.7
	M2	2	0	0	9	0.9
	M3	1	1	0	7	0.7
	M4	3	2	0	93	9.3
	M5	2	2	0	21	2.1
	M6	2	1	0	15	1.5
	M7	2	1	1	20	2.0
	M8	2	0	0	9	0.9
	M9	2	1	0	15	1.5
	M10	3	1	1	75	7.5
	M11	2	2	0	21	2.1
	M12	2	1	0	15	1.5

Nota: NTP: Mínimo = 0.1 x 10³ UFC/ml, Máximo = 1 x 10³ UFC/ml. H = 10.73 y p = 0.4433

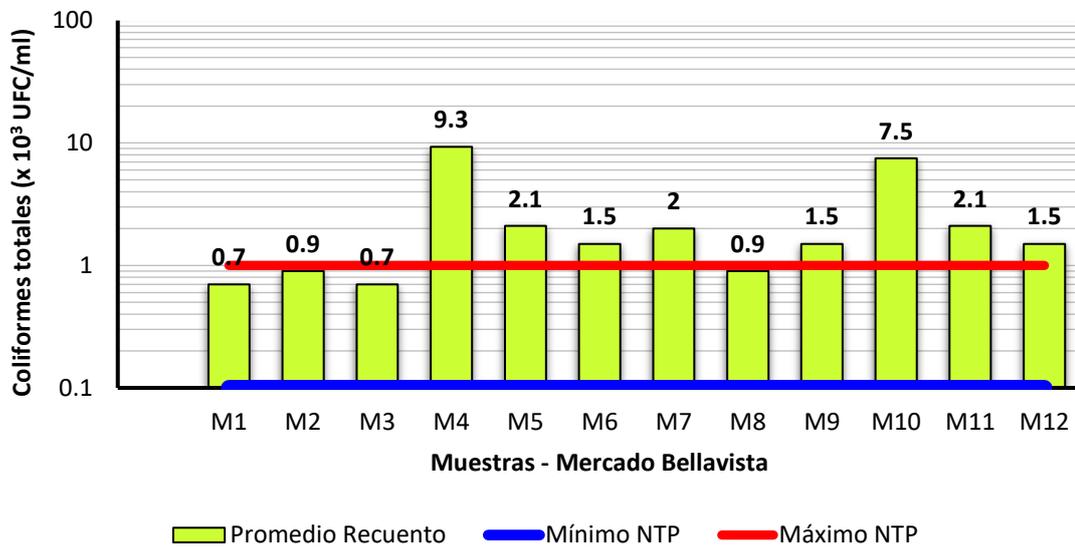
Fuente: Elaboración propia

La Tabla 10, detalla el recuento de coliformes totales, presente en las 12 muestras de leche entera cruda de vaca expendida en el Mercado Bellavista. Del análisis microbiológico realizado, la M4 presentó el mayor promedio de recuento (9.3 x 10³ UFC/ml); por otro lado, la M1 y M3 presentaron el menor promedio (0.7 x 10³ UFC/ml).

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, no hay diferencia estadística significativa en el recuento de coliformes totales en las muestras expendidas en el Mercado Bellavista. Las 12 muestras revelaron un p = 0.4433 y H = 10.73, razón por la cual no se realizó la prueba de comparación por rangos.

Figura 7

Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista, según los límites establecidos en la NTP



Fuente: Elaboración propia

La Figura 7, presenta el recuento de coliformes totales de las 12 muestras correspondientes al Mercado Bellavista, según los límites establecidos en la NTP 202.001:2016. Donde las muestras M4, M5, M6, M7, M9, M10, M11 y M12 superan el límite máximo establecido, lo que indica que estas muestras son de calidad defectuosa; por otro lado, las muestras M1, M2, M3 y M8 se encuentran dentro del límite, lo que indica que son de calidad aceptable.

Tabla 11*Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Central*

Mercado	Muestra	Positivos			Coliformes totales	
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	(NMP/100 ml)	(x 10 ³ UFC/ml)
Central	M1	3	3	2	1100	110.0
	M2	1	1	0	7	0.7
	M3	2	1	0	15	1.5
	M4	2	1	1	20	2.0
	M5	2	2	0	21	2.1
	M6	3	2	2	210	21.0
	M7	2	1	1	20	2.0
	M8	2	1	0	15	1.5
	M9	3	2	2	210	21.0
	M10	2	0	0	9	0.9
	M11	2	1	0	15	1.5
	M12	3	1	1	75	7.5

Nota: NTP: Mínimo = 0.1 x 10³ UFC/ml, Máximo = 1 x 10³ UFC/ml. H = 10.77 y p = 0.4433

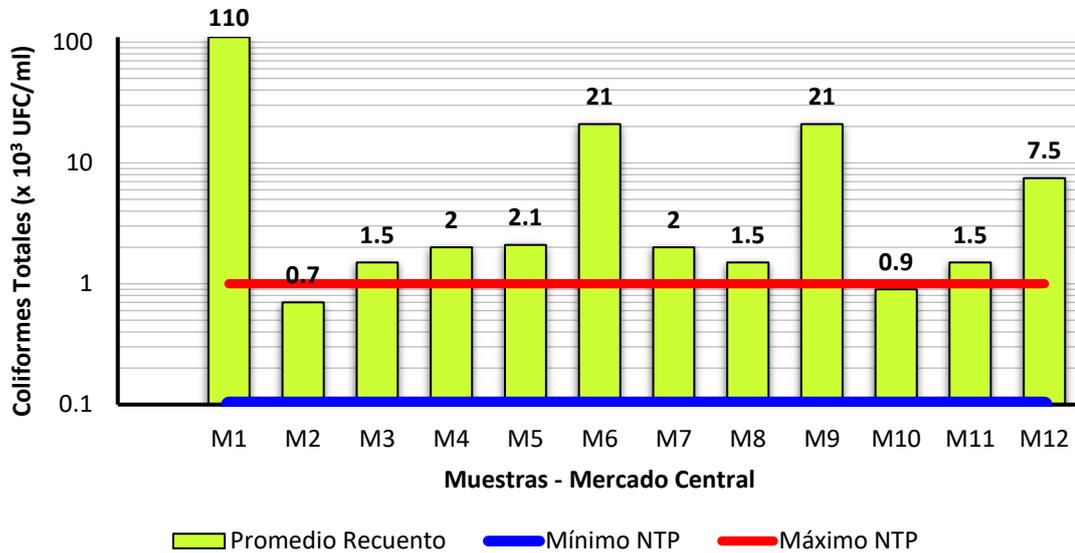
Fuente: Elaboración propia

La Tabla 11, detalla el recuento de coliformes totales presente en las 12 muestras de leche entera cruda de vaca expendida en el Mercado Central. Del análisis microbiológico realizado, la M1 presentó el mayor promedio de recuento 110.0 x 10³ UFC/ml; por otro lado, la M2 presentó el menor promedio 0.7 x 10³ UFC/ml.

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, no hay diferencia estadística significativa en el recuento de coliformes totales en las muestras expendidas en el Mercado Central; las 12 muestras que fueron evaluadas revelaron un $p = 0.4433$ y $H = 10.77$, razón por la cual no se realizó la prueba de comparación por rangos.

Figura 8

Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Central, según los límites establecidos en la NTP



Fuente: Elaboración propia

La Figura 8, presenta el recuento de coliformes totales de las 12 muestras correspondientes al Mercado Central, según los límites establecidos en la NTP 202.001:2016. Donde las muestras M1, M3, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M11 y M12 superan el límite máximo establecido, lo que indica que estas muestras son de calidad defectuosa; por otro lado, las muestras M2 y M10 se encuentran dentro del límite mínimo, lo que indica que son de calidad aceptable.

Tabla 12*Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Unión y**Dignidad*

Mercado	Muestra	Positivos			Coliformes totales	
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	(NMP/100 ml)	(x 10 ³ UFC/ml)
Unión y Dignidad	M1	3	2	2	210	21.0
	M2	3	2	2	210	21.0
	M3	1	1	0	7	0.7
	M4	3	3	1	460	46.0
	M5	2	0	0	9	0.9
	M6	1	0	0	4	0.4
	M7	3	3	2	1100	110.0
	M8	3	3	1	460	46.0
	M9	3	3	2	1100	110.0
	M10	2	1	1	20	2.0
	M11	2	2	0	21	2.1
	M12	2	2	0	21	2.1

Nota: NTP: Mínimo = 0.1 x 10³ UFC/ml, Máximo = 1 x 10³ UFC/ml. H = 10.85 y p = 0.4433

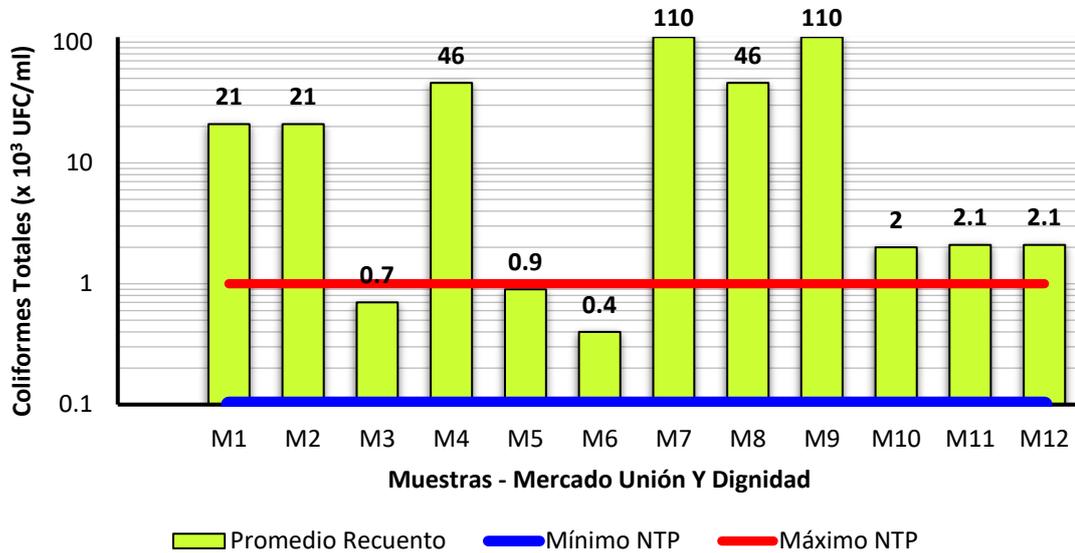
La Tabla 12, detalla el recuento de coliformes totales, en las 12 muestras de leche entera cruda de vaca expendida en el Mercado Unión y Dignidad. Del análisis microbiológico realizado, la M7 y M9 presentó el mayor promedio de recuento 110.0 x 10³ UFC/ml; por otro lado, la M6 presentó el menor promedio 0.4 x 10³ UFC/ml.

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, no hay diferencia estadística significativa en el recuento de coliformes totales entre las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad. Las 12 muestras revelaron un p = 0.4433 y H=10.85, razón por la cual no se realizó la prueba de comparación por rangos.

Figura 9

Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Unión y

Dignidad, según los límites establecidos en la NTP



Fuente: Elaboración propia

La Figura 9, presenta el recuento de coliformes totales de las 12 muestras correspondientes al Mercado Unión y Dignidad, según los límites establecidos en la NTP 202.001:2016. Donde las muestras M1, M2, M4, M7, M8, M9, M10, M11 y M12 superan el límite máximo establecido, lo que indica que estas muestras son de calidad defectuosa; por otro lado, las muestras M3, M5 y M6 se encuentran dentro del límite mínimo, lo que indica que son de calidad aceptable.

Tabla 13*Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota*

Mercado	Muestra	Positivos			Coliformes totales	
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	(NMP/100 ml)	(x 10 ³ UFC/ml)
Laykakota	M1	3	3	1	460	46.0
	M2	3	2	2	210	21.0
	M3	3	3	1	460	46.0
	M4	2	2	0	21	2.1
	M5	3	3	2	1100	110.0
	M6	2	2	0	21	2.1
	M7	1	1	0	7	0.7
	M8	1	0	0	4	0.4
	M9	3	2	2	210	21.0
	M10	2	0	0	9	0.9
	M11	2	1	0	15	1.5
	M12	3	1	1	75	7.5

Nota: NTP: Mínimo = 0.1 x 10³ UFC/ml, Máximo = 1 x 10³ UFC/ml. H = 21.33 y p = 0.0299

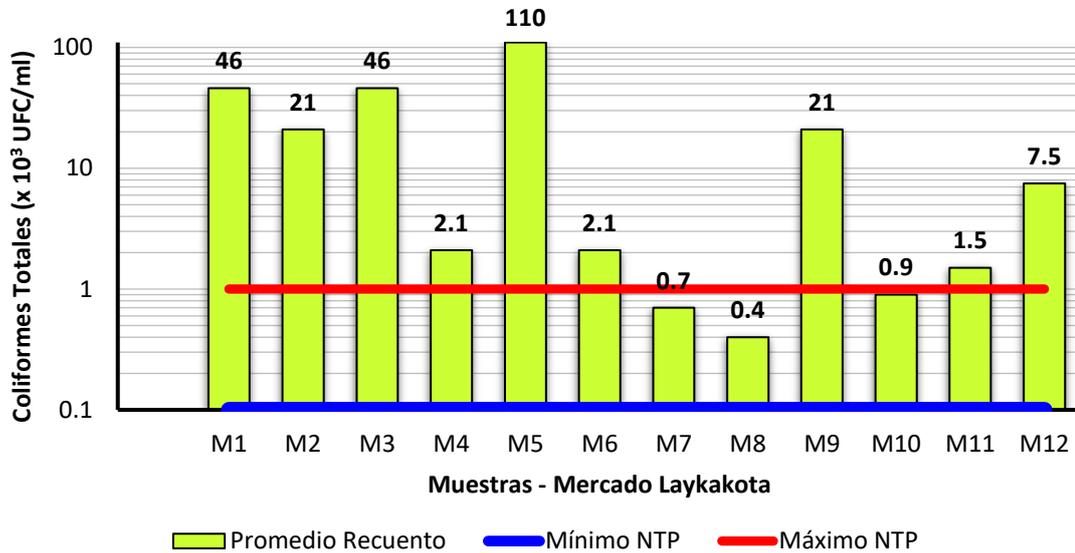
Fuente: Elaboración propia

La Tabla 13 detalla el recuento de coliformes totales, presente en las 12 muestras de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota. Del análisis microbiológico realizado, la M5 presentó el mayor promedio de recuento (110.0 x 10³ UFC/ml); por otro lado, la M8 presentó el menor promedio (0.4 x 10³ UFC/ml).

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, no hay diferencia estadística significativa en el recuento de coliformes totales obtenido a partir de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Laikakota; las 12 muestras que fueron evaluadas revelaron un $p = 0.4433$ y $H = 10.88$, razón por la cual no se realizó la prueba de comparación por rangos.

Figura 10

Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota, según los límites establecidos en la NTP



Fuente: Elaboración propia

La Figura 10 presenta el recuento de coliformes totales de las 12 muestras correspondientes al Mercado Laykakota, según los límites establecidos en la NTP 202.001:2016, donde las muestras M1, M2, M3, M4, M5, M6, M9, M11 y M12 superan el límite máximo establecido, lo que indica que estas muestras son de calidad defectuosa; por otro lado, las muestras M7, M8 y M10 se encuentran dentro del límite mínimo, lo que indica que son de calidad aceptable.

De acuerdo a la prueba estadística de Kruskal - Wallis, no existe diferencia estadística significativa en el recuento de coliformes totales a partir de las muestras de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; las 48 muestras que fueron evaluadas revelaron un $p = 0.2674$ y $H = 3.90$, debido a ello ya no se hizo la prueba de comparación por rangos entre los cuatro mercados.

Tabla 14

Promedio de recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en los Mercados

Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota

Muestra	Promedio de recuento de coliformes totales ($\times 10^3$ UFC/ml)			
	M. Bellavista	M. Central	M. Unión y Dignidad	M. Laykakota
M1	0.7	110.0	21.0	46.0
M2	0.9	0.7	21.0	21.0
M3	0.7	1.5	0.7	46.0
M4	9.3	2.0	46.0	2.1
M5	2.1	2.1	0.9	110.0
M6	1.5	21.0	0.4	2.1
M7	2.0	2.0	110.0	0.7
M8	0.9	1.5	46.0	0.4
M9	1.5	21.0	110.0	21.0
M10	7.5	0.9	2.0	0.9
M11	2.1	1.5	2.1	1.5
M12	1.5	7.5	2.1	7.5

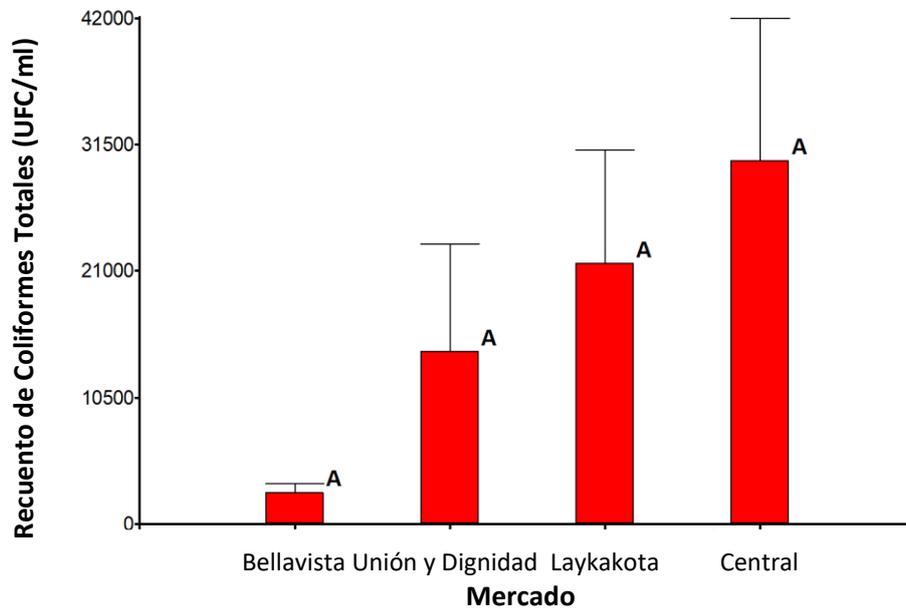
Nota: $H= 3.90$ y $p= 0.2674$

Fuente: Elaboración propia

El recuento de coliformes totales que se obtuvo fue variado, en las muestras de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota. En la Tabla 14 se detalla los resultados de recuento de coliformes totales de 48 muestras procedentes de los cuatro mercados de la ciudad de Puno. Del análisis microbiológico realizado, la M1 correspondiente al Mercado Central, la M7 y M9 correspondiente al Mercado Unión y Dignidad, y la M5 correspondiente al Mercado Laykakota presentaron el mayor promedio de recuento de coliformes totales (110.0×10^3 UFC/ml); por otro lado, la M6 y M8 correspondientes al Mercado Unión y Dignidad y Laykakota respectivamente presentaron el menor promedio (0.4×10^3 UFC/ml).

Figura 11

Recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota



Fuente: Elaboración propia

En la figura 11 los resultados de la prueba estadística respecto al recuento de coliformes totales de las muestras correspondientes a los cuatro Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; donde se observa que las muestras indica que el Mercado Unión y Dignidad tuvo el mayor promedio de recuento, seguidas de las muestras correspondientes al Mercado Laykakota y Central; por otro lado, las muestras de leche cruda correspondiente al Mercado Bellavista presentaron el menor promedio.

Tabla 15

Calidad microbiológica de acuerdo al recuento de coliformes totales de la leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota

Calidad	Mercado							
	Bellavista		Central		Unión y Dignidad		Laykakota	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Aceptable	4	33	2	17	3	25	3	25
Defectuosa	8	67	10	83	9	75	9	75
Total	12	100	12	100	12	100	12	100

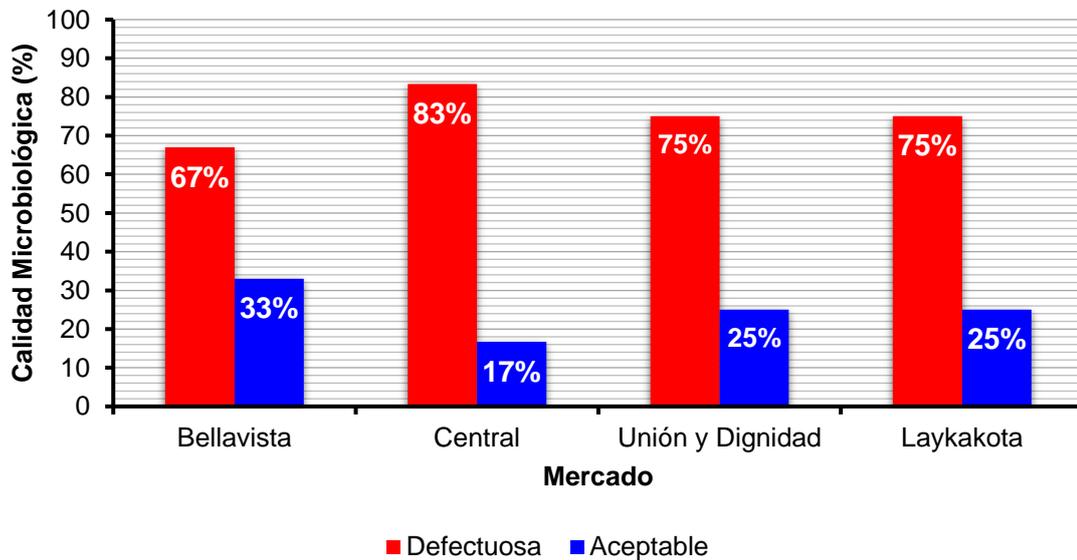
Nota: $X^2 = 0.89$, $gl = 3$ y $p = 0.8281$

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 15 se detalla la calidad microbiológica, según el recuento de coliformes totales de las muestras de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; conforme a los límites máximos permisibles establecidos en la NTP 202.001:2016. “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leche cruda. Requisitos”. Donde del total de 48 muestras, 36 equivalente al 75% resultaron de calidad defectuosa debido a que supera el valor (10^2), establecido en la norma y 12 equivalente al 25% resultaron de calidad aceptable ya que se encuentran dentro de los límites máximos permisibles. Asimismo, se aplicó la prueba estadística de Chi Cuadrado revelando un $p = 0.8281$, lo que nos indica que no existe diferencia estadística significativa entre los cuatro mercados.

Figura 12

Calidad Microbiológica de acuerdo al recuento de coliformes totales de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; según los límites máximos permisibles en la NTP



Fuente: Elaboración propia

En la Figura 12 se detalla la calidad microbiológica, según el recuento de coliformes totales de las muestras de leche cruda expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y Laykakota; conforme a los límites máximos permisibles en la NTP 202.001:2016. “LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Leche cruda. Requisitos”. Lo que nos revela que en el Mercado Central el 83% de muestras resultaron de calidad defectuosa y el 17% resultaron de calidad aceptable, seguido de los Mercados Unión y Dignidad, y Laykakota donde se obtuvo un porcentaje muy similar, el 75% de calidad defectuosa y el 25% de calidad aceptable, por último, en el Mercado Bellavista el 33% de calidad defectuosa y el 67% de calidad aceptable.

Respecto al recuento de coliformes totales, se obtuvieron promedios que oscilan desde 0.4×10^3 UFC/ml siendo el menor promedio, hasta 110.0×10^3 UFC/ml considerado el mayor promedio, expendida en los Mercados Bellavista, Central, Unión y Dignidad, y



Laykakota; 36 (75%) resultaron de calidad defectuosa debido a que supera el valor 10^2 , y 12 (25%) resultaron de calidad aceptable ya que se encuentran dentro de los límites máximos permisibles al compararlos con la NTP. 202.001:2016. Similarmente, Cohaila (2013), en su evaluación sobre la calidad microbiológica de leche cruda expendida en los alrededores de los Mercados de la ciudad de Tacna, analizó 64 muestras de 32 puestos de venta. En cuanto al recuento de coliformes totales, el 100% de muestras estuvieron por encima de 1×10^3 ger/ml, en todas las muestras hay presencia de *Escherichia coli* y el 100% sobrepasó los límites máximos permisibles.

En otro estudio similar, se reportó un porcentaje menor de muestras analizadas que superan el límite establecido en comparación al presente estudio, donde el 75% superan el límite respecto al recuento de coliformes totales, estudio como el realizado por López y Pérez (2019), quienes analizaron 180 muestras de leche cruda de Chichayo, Lambayeque; donde obtuvieron promedios de 1.33×10^3 UFC/ml para coliformes totales. Además asilaron a *Enterobacter aerogenes* (96%), *E. cloacae* (5%) y *Escherichia coli* (39%), y al confrontar los resultados con la NTP 202.001:2016 determinaron que el 62.8%, sobrepasan los límites permisibles para coliformes (indicando mala calidad higiénica). Por su parte, Fora (2015), reportó un porcentaje mayor al presente estudio, quien evaluó la calidad microbiológica de la leche cruda del ganado vacuno en Sama Inclán - Tacna. Donde evaluó 150 ejemplares recolectados de los envases donde los vendedores depositaban la leche, en el recuento de coliformes totales obtuvieron que más del 75% de los ejemplares incumplían con los límites de calidad establecidos.

En otros estudios similares, se reportaron un porcentaje mucho mayor de muestras analizadas que superan el límite establecido comparativamente al presente estudio, como el realizado por Figueroa (2012), que determinó la calidad higiénica de más de 75 muestras de leche cruda en Tacna, en el recuento de coliformes totales el 91.25%,



sobrepasó el parámetro permitido, esto evidenció que las muestras de leche cruda son de defectuosa calidad sanitaria. Asimismo, Cárdenas y Murillo (2018), analizaron la calidad bacteriológica de la leche cruda producida en 45 ganaderías en Azuay - Ecuador; las medias de los recuentos para coliformes totales fue de 5129.55 UFC/ml y *E. coli* de 24.48 UFC/ml. Así también, el estudio realizado por Mariscal *et al.* (2013), analizaron muestras de leche cruda proveniente de 14 expendios de ocho Mercados en Trinidad, Bolivia; obtuvieron un promedio de 78.576 UFC/ml para organismos coliformes (OC); de las muestras el 100% dieron valores por encima de 200 UFC/ml OC. Por lo cual, supera los parámetros microbiológicos que se requieren y no están dentro de los límites establecidos por lo que no son aptos para su consumo.

Por otro lado, Brousett *et al.* (2015), determinaron la calidad microbiológica de leche cruda en 8 cuencas de Puno, como resultado 2 cuencas no cumplieron con los valores que establece la NTP, en cuanto a la determinación de *E. coli* ninguna cuenca cumplió con los parámetros, siendo una leche de mala calidad higiénica. Así también, Acaro (2019), evaluó la calidad microbiológica mediante el recuento de coliformes totales, de la leche cruda de Chulucanas, Piura; identificó 6 puntos de venta, según el recuento de coliformes totales todos los puntos no cumplen los parámetros establecidos en la NTP 202.001:2016. Por su parte, Fuentes *et al.* (2013), realizaron recuentos de bacterias coliformes en leche y lácteos en México, el cual estaba por encima del límite máximo permitido por la NOM-243-SSA1-2010; además se identificó a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en el análisis bacteriológico.

Los resultados obtenidos, respecto a los coliformes totales fueron muy elevados en las muestras de leche cruda proveniente de los cuatro mercados, esto probablemente se deba principalmente a las malas prácticas de ordeño, mal almacenamiento, la inadecuada manipulación o comercialización de la leche cruda. Tal como lo afirma,



Gonzales *et al.* 2010), la carga microbiana inicial en la leche está estrechamente vinculada a la limpieza de los utensilios utilizados, así como a su almacenamiento y transporte. Así también, Shirai (2008), menciona que el estiércol se constituye en fuente principal de microorganismos coliformes. Por su parte, Zelada (2011) indica que no todos los coliformes son de origen fecal, por lo que se distinguen en coliformes totales que comprenden la totalidad del grupo y los coliformes fecales que son aquellos de origen intestinal.

Asimismo, es evidente en los mercados y en los puestos de expendio la inadecuada distribución de sus productos, no existen controles periódicos a los expendedores, los mismos comercializadores mezclan sus insumos lácteos con otros, pudiendo generar contaminación cruzada. Además de ello, Gonzales *et al.* (2010), también menciona que se estima que más del 95% de los casos de elevados conteos bacterianos se deben a deficiencias en la limpieza, higiene y sanitización de los equipos y utensilios de ordeño, o están relacionados con un enfriamiento inadecuado del producto después del ordeño. En tal sentido, es preciso mencionar que cualquier punto es crítico en el adecuado manejo de este alimento vital, lo que revela los resultados obtenidos. Según los resultados hallados el 75% de muestras resultaron no aptas debido a que superan el valor establecido en la norma, esto significa un peligro para la salud de la población especialmente los compradores frecuentes de este producto ya que puede provocar enfermedades.

La existencia de coliformes totales en este producto indica directamente la calidad higiénica y sanitaria. Los coliformes son un grupo de bacterias que incluyen a *Escherichia coli* y usualmente empleados como indicadores de calidad microbiológica en alimentos y agua. Su presencia en la leche se puede deber a diversas circunstancias, como la contaminación ambiental, el contacto con utensilios mal lavados, la higiene deficiente durante el ordeño o el almacenamiento inadecuado. No obstante, Botina y Ortiz (2013),



menciona que, si los recuentos de bacterias coliformes exceden las 1000 UFC/ml, esto sugiere que hay una proliferación bacteriana en los equipos de ordeño, transporte y almacenamiento. Por otro lado, recuentos por debajo de los límites establecidos en la normativa peruana indican un alto nivel de higiene y desinfección en los equipos, lo cual asegura la calidad de la leche para el consumo humano

La detección de coliformes totales en este insumo puede indicar un peligro potencial en la salud de la población, ya que algunos miembros de este grupo pueden causar enfermedades gastrointestinales si están presentes en niveles elevados. Por lo tanto, es crucial implementar por parte de la municipalidad, controles periódicos estrictos para evitar el contagio por coliformes en la leche, incluyendo prácticas de higiene adecuadas en todas las etapas de producción, desde su crianza hasta el consumidor final. Así también, Moreno *et al.* (2007), indica que es esencial comenzar con una leche cruda de la más alta calidad higiénica-sanitaria, además de controlar minuciosamente todas las etapas, desde su producción hasta su uso como materia prima en la planta de procesamiento.

La regulación y el monitoreo de los niveles de coliformes en la leche son importantes para garantizar la seguridad alimentaria y proteger la salud de los consumidores. Además, la educación y la capacitación de los productores sobre las prácticas de higiene adecuadas son fundamentales para reducir la presencia de coliformes en la leche y mejorar su calidad microbiológica. Además de ello, Moreno *et al.* (2007), menciona que la calidad de la leche comercial es esencial para la industria láctea y depende en gran medida de las propiedades del producto original. Por lo tanto, la calidad del insumo que llega a manos del comprador se debe en su mayoría a la supervisión ejercida sobre la leche cruda en el lugar de producción .



V. CONCLUSIONES

- La calidad microbiológica de la leche entera cruda de vaca respecto al recuento de las bacterias aerobias mesófilas viables, según la Norma Técnica Peruana NTP 202.001-2016, en los Mercados Central y Laykakota fue similar, donde el 83% de muestras fueron de calidad defectuosa y el 17% de calidad buena, seguido del Mercado Unión y Dignidad donde el 50% de calidad defectuosa y el 50% fue de calidad buena; por último, en el Mercado Bellavista el 33% fue de calidad defectuosa y el 67% de calidad buena, existiendo diferencias estadísticas significativas entre los mercados ($H = 12.33$ y $p = 0.0063$).
- La calidad microbiológica de la leche cruda respecto al recuento de coliformes totales, según la Norma Técnica Peruana NTP 202.001-2016, permitió determinar que en el Mercado Central, el 83% de muestras fueron de calidad defectuosa y el 17% de calidad aceptable, seguido de los Mercados Unión y Dignidad, y Laykakota donde este indicador fue similar, siendo el 75% de calidad defectuosa y el 25% de calidad aceptable, por último, en el Mercado Bellavista el 33% fue de calidad defectuosa y el 67% de calidad aceptable, no existiendo diferencias estadísticas significativas ($H = 3.9$ y $p = 0.2674$).



VI. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones de calidad bacteriológica de la leche en todas las etapas del proceso de producción y comercialización, según zonas o lugares de procedencia y principales ciudades de la región, para determinar los orígenes de su pérdida de calidad.
- Realizar investigaciones de identificación y vigilancia de bacterias coliformes totales y fecales como *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* y *Escherichia coli*, para detectar serotipos patógenos en la leche entera cruda de vaca.
- Realizar investigaciones sobre factores ambientales, higiénicos y sanitarios vinculados con la pérdida y alteración de calidad de la leche cruda de vaca en la cadena de producción y comercialización.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, L. (2015). *Estudio microbiológico de la leche cruda comercializada en Mercados populares de la ciudad de Riobamba provincia de Chimborazo* (Tesis de Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador.
- Abril, A., y Pillco, V. (2013). *Calidad fisicoquímica de la leche cruda que ingresa a la ciudad de Cuenca, para su comercialización* (Tesis de Pregrado). Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Acaro, S. (2019). *Evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda que se expende en la ciudad de Chulucanas, Piura, Perú* (Tesis de Pregrado). Universidad Católica Sedes Sapientiae. Chulucanas, Perú.
- Agudelo, D., y Bedoya, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de Investigación*, 2(1), 38-42.
- Arteaga, L. (2016). *Implementación de un plan de mejoramiento de la calidad de la leche, de proveedores de lácteos San Antonio Cañar*. Escuela superior politécnica de Chimborazo. Macas, Ecuador.
- Balzarini, M., González, L., Tablada, M., Casanoves, F., Di Rienzo, J. y Robledo, C. (2008). *Manual del Usuario InfoStat*. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina.
- Bonzano, S. (2012). *Evaluación de la calidad fisicoquímica, higiénica de la leche cruda fría producida en establos con diferentes niveles tecnológicos en el norte del Perú* (Tesis de Pregrado). Universidad nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Botina, E., y Ortiz, D. (2013). *Evaluación de la calidad fisicoquímica, composicional y microbiológica de la leche cruda comercializada en el corregimiento de Catambuco* (Tesis de Pregrado). Universidad de Nariño. San Juan de Pasto, Colombia.
- Brousett, M., Torres, J., Chambi, R., Mamani, V., y Gutiérrez, S. (2015). Calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de leche cruda en las cuencas ganaderas de la región Puno - Perú. *Scientia Agropecuaria*, 6(3), 165-176. doi: 10.17268/sci.agropecu.2015.03.03



- Calampa, L. (2017). *Evaluación fisicoquímica y microbiológica de queso fresco elaborado en las localidades de Leymebamba, Molinopampa y la Florida - Pomacochas, región Amazonas* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Chachapoyas, Perú.
- Calderón, A., García, F., y Martínez, G. (2006) Indicadores de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 11(1), 725-737.
- Camacho, A, Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B., y Velázquez, O. (2009). *Cuenta en placa de bacterias. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. Segunda Edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Canches, T. (2017). *Determinar la carga bacteriológica de leche cruda de vaca y su relación con la calidad higiénica y sanitaria en el distrito de Baños - Huánuco 2017* (Tesis de Maestría). Universidad de Huánuco. Huánuco, Perú.
- Cárdenas, C., y Murillo, M. (2018). *Calidad Bacteriológica de la leche cruda en ganaderías de la provincia del Azuay* (Tesis de Pregrado). Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Carrillo, L., y Audisio, C. (2007). *Manual de microbiología de alimentos. Alimentación en España*. San Salvador de Jujuy, Argentina.
- Castle, M., y Watkins, P. (2008). *Producción lechera moderna*. Editorial Acribia, S.A. España.
- Castro, G., Valbuena, E., Briñez, W., Sánchez, E., Vera, H. y Tovar, A. (2009). Comparación del empleo de nisina y cultivos de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* para la bio preservación de queso blanco. *Rev Cient FCV-LUZ*, 19(1), 201-209.
- Cedeño, A., Vera, M., Gavilanes, P., Saltos, J., Loor, R., Zambrano, J., Demera, F., Almeida, A., y Moreira, J. (2015). Factores que afectan la calidad higiénico - sanitaria de leche cruda comercializada en Calceta - Bolívar - Manabí, Ecuador. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 19(3), 37-54.



- Chávez, V. (2017). *Manual de buenas prácticas en la calidad de la leche para la elaboración de productos lácteos* (Tesis de Pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México.
- Cohaila, A. (2013). *Calidad microbiológica de leche cruda expedida a los alrededores de los Mercados del distrito de Tacna, provincia de Tacna* (Tesis de Pregrado). Universidad nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú.
- Condori, E. (2022). *Análisis fisicoquímico y microbiológico de la leche de vacuno acopiada en la planta procesadora de lácteos "Túpac Amaru", distrito de Túpac Amaru - Cusco* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Cusco, Perú.
- De La Sota, C. (2016). *Relación de los parámetros físico-químicos e higiénicos de leche fresca con el rendimiento de productos lácteos en las provincias de Concepción y Jauja, Junín* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.
- Elcorrobarrutia, K., y Espejo, M. (2014). *Determinación de la calidad sanitaria de la leche cruda que se comercializa en la ciudad de Huacho* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. Huacho, Perú.
- Figuroa, C. (2012). *Calidad higiénica de la leche cruda comercializada en los puestos ambulitorios del distrito de Tacna* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú.
- Fora, G. (2015). *Evaluación de la calidad microbiológica y fisicoquímica de la leche cruda del ganado vacuno del distrito de Sama Inclán - Tacna, 2015* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna, Perú.
- Fuentes, G., Ruiz, R., Sánchez, J., Ávila, D., y Escutia, J. (2013). Análisis microbiológico de leche de origen orgánico: atributos deseables para su transformación. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 10(4), 419-432.
- García, A., Méndez, M., Elton, J., Abrego, R., Castillo, F., y Rodríguez, F. (2010). *Determinación de la calidad microbiológica de productos lácteos elaborados en una institución de educación superior*. Recuperado de: Pérez, J. (1993). *Bioquímica y Microbiología de la leche*. Editorial. Limusa. México.



- Gaviria, B. (2010). *Calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda. Buenas Prácticas de Producción Primaria de Leche*. Antioquia, Colombia.
- Gonzales, G. (2013). *Evaluación de algunos parámetros físico-químicos de la leche de ganado vacuno en dos hatos del eje carretero Yurimaguas - Santa Rosa (km 17)*, (Tesis de Pregrado). Universidad nacional de la Amazonia Peruana. Loreto, Perú.
- González, G., Molina. B., y Coca, R. (2010). *Calidad De La Leche Cruda. Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz*. México.
- Granizo, J. (2016). *Presencia de bacterias de los géneros Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Brucella abortus y su perfil de resistencia antimicrobiana en leche cruda bovina procedente de Tunshi y San Andrés* (Tesis de Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
- ICMSF. (2000). *Microorganismos de los alimentos. Su significado y métodos enumeración* (Segunda ed., Vol. I). Zaragoza: Acribia
- Jarama, R. (2011). *Estrés de calor en bovinos lecheros del Perú* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Jiménez, W. (2005). *Evaluación de la calidad físico-química y microbiológica de la leche bovina de tres principales pequeños productores de Santa Ana Mixtan del parcelamiento Nueva Concepción, Escuintla, Guatemala* (Tesis de Pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Escuintla, Guatemala.
- Kennelly, J., Glimm, R., y Ozimek, L. (2010). *Milk composition in the cow. Proceedings of the 2010 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. State University of New York. New York.
- Lluguín, J. (2016). *Análisis microbiológico y resistencia a antibióticos de la leche cruda de bovino comercializada en el Mercado San Alfonso de la ciudad de Riobamba*. (Tesis de Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
- López, N., y Pérez, N. (2019). *Numeración de bacterias aerobias mesófilas viables y coliformes en leche cruda acopiada para el programa Vaso de Leche en el distrito*



- de Chiclayo. Mayo - Octubre 2018* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú.
- Magari, H. (2000). *Producción higiénica de la leche cruda*. DOI: <https://doi.org/10.18356/265282ef-es>
- Mariscal, P., Ibáñez, R., y Gutiérrez, M. (2013). Características microbiológicas de leche cruda de vaca en Mercados de abasto de Trinidad, Bolivia. *Agrociencias Amazonia, 1*(2), 18-24.
- Martínez, M., y Gómez, C. (2013). Calidad composicional e higiénica de la leche cruda recibida en industrias lácteas de sucre, Colombia. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 11*(2), 93-100.
- Méndez, V., y Osuna, L. (2007). *Identificación de la calidad sanitaria e higiénica de la leche bovina en algunos sistemas productivos de la región del Alto del Chicamocha (Departamento de Boyacá)*, (Tesis de Pregrado). Universidad de La Salle. Bogotá, Colombia.
- Moreno, F., Rodríguez, G., Méndez, V., Osuna, L., y Vargas, M. (2007). Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria, 1*(14), 61-83.
- Negróni, M. (1999). *Microbiología estomatológica*. Editorial Panamericana. Argentina.
- Norma Técnica Peruana [NTP] (202.001-2016). *Leche y productos lácteos. Leche cruda, requisitos*. 5ta edición.
- Obregón, D., y Zambrano, Z. (2017). *Evaluación microbiológica (aerobios mesófilos, Bacillus cereus y Staphylococcus aureus) y químico - toxicológica de metales pesados (Pb, Hg) en leche para consumo humano en el distrito de Puente Piedra - Lima* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Organización Mundial de la Salud, FAO. (2011). *Codex Alimentarius Leche y productos Lácteos. Leche y Productos Lácteos*. Roma: Secretaria del programa conjunto FAO/OMS.



- Passalacqua, N., y Cabrera, J. (2014). *Análisis microbiológico de los alimentos. Microorganismos indicadores*. Volumen 3. Editorial INAL – ANMAT. Argentina.
- Prado, A., Rodríguez, G., Figueroa, I., y Shirai, K. (2013). *Manual de prácticas de laboratorio. Microbiología de los Alimentos*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. México.
- Quispe, A., Calla, K., Yangali, J., Rodríguez, J., y Pumacayo, I. (2019). *Estadística no paramétrica aplicada a la investigación científica con software SPSS, Minitab y Excel*. Volumen 1. Primera Edición. Editorial EIDEC. Colombia.
- Quispe, J. (2014). *Evaluación de la calidad de leche cruda para la época seca y húmeda, en el altiplano norte de la provincia Omasuyos del departamento de La Paz* (Tesis de Pregrado). Universidad mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia.
- Robinson, R. (1987). *Microbiología Lactológica*. Volumen 1. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- Salazar, V. (2013). *Guía de evaluación de la calidad de la leche cruda para su procesamiento en una planta de lácteos en Guatemala* (Tesis de Pregrado). Universidad San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Sánchez, A. (2013). *Calidad higiénico-sanitaria de la leche de vaca en los Establos de la cuenca lechera de La Libertad. Trujillo* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.
- Vásquez, J., Loaiza, E., y Olivera, M. (2017). Calidad higiénica y sanitaria de leche cruda acopiada en diferentes regiones colombianas. *Orinoquia*, 16(2), 13.
- Viera, M. (2013). *Parámetros de calidad de leche de vacuno en los distritos de Apata, Matahuasi y Concepción en el Valle del Mantaro* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.
- Villegas, A., y Santos, A. (2013). *Calidad de Leche Cruda*. 2da edición. Editorial Trillas. México.



Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A. y Van Boekel, M.A. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. Editorial Acribia. Zaragoza, España.



ANEXOS

ANEXO 1. *Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	MUESTRA	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M1	2	340000.00	56568.54	340000.00	11	21.33	0.0299
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M10	2	240000.00	56568.54	240000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M11	2	1700000.00	848528.14	1700000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M12	2	160000.00	42426.41	160000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M2	2	150000.00	28284.27	150000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M3	2	2800000.00	565685.42	2800000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M4	2	270000.00	42426.41	270000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M5	2	3000000.00	1131370.85	3000000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M6	2	1600000.00	565685.42	1600000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M7	2	290000.00	28284.27	290000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M8	2	160000.00	28284.27	160000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	M9	2	300000.00	56568.54	300000.00			

Trat.	Ranks
BELLAVISTA:M2	2.75 A
BELLAVISTA:M12	3.75 A
BELLAVISTA:M8	4.00 A
BELLAVISTA:M10	9.00 A B
BELLAVISTA:M4	10.25 A B
BELLAVISTA:M7	12.00 A B
BELLAVISTA:M9	12.00 A B
BELLAVISTA:M1	14.25 A B
BELLAVISTA:M6	18.50 B
BELLAVISTA:M11	19.00 B
BELLAVISTA:M5	22.00 B
BELLAVISTA:M3	22.50 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO 2. *Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Central*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	MUESTRA	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M1	2	5200000.00	565685.42	5200000.00	11	19.44	0.0531
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M10	2	260000.00	42426.41	260000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M11	2	1800000.00	141421.36	1800000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M12	2	2100000.00	424264.07	2100000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M2	2	4600000.00	282842.71	4600000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M3	2	4700000.00	1555634.92	4700000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M4	2	3000000.00	1555634.92	3000000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M5	2	1900000.00	848528.14	1900000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M6	2	2100000.00	424264.07	2100000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M7	2	3200000.00	424264.07	3200000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M8	2	250000.00	155563.49	250000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	M9	2	2300000.00	1131370.85	2300000.00			



ANEXO 3. *Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	MUESTRA	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M1	2	3300000.00	282842.71	3300000.00	11	20.60	0.0369
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M10	2	280000.00	56568.54	280000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M11	2	150000.00	42426.41	150000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M12	2	240000.00	169705.63	240000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M2	2	1500000.00	565685.42	1500000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M3	2	1700000.00	282842.71	1700000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M4	2	2100000.00	848528.14	2100000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M5	2	1600000.00	282842.71	1600000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M6	2	200000.00	56568.54	200000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M7	2	360000.00	14142.14	360000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M8	2	190000.00	42426.41	190000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M9	2	2300000.00	565685.42	2300000.00			

Trat.	Ranks
UNIÓN Y DIGNIDAD:M11	3.25 A
UNIÓN Y DIGNIDAD:M8	4.75 A B
UNIÓN Y DIGNIDAD:M6	5.50 A B
UNIÓN Y DIGNIDAD:M12	6.25 A B
UNIÓN Y DIGNIDAD:M10	8.25 A B C
UNIÓN Y DIGNIDAD:M7	11.00 A B C D
UNIÓN Y DIGNIDAD:M5	15.50 A B C D
UNIÓN Y DIGNIDAD:M2	16.00 A B C D
UNIÓN Y DIGNIDAD:M3	17.25 B C D
UNIÓN Y DIGNIDAD:M4	18.50 B C D
UNIÓN Y DIGNIDAD:M9	20.25 C D
UNIÓN Y DIGNIDAD:M1	23.50 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO 4. *Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	MUESTRA	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M1	2	3100000.00	707106.78	3100000.00	11	18.23	0.0757
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M10	2	210000.00	70710.68	210000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M11	2	1600000.00	141421.36	1600000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M12	2	180000.00	28284.27	180000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M2	2	2800000.00	989949.49	2800000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M3	2	3900000.00	424264.07	3900000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M4	2	3500000.00	1131370.85	3500000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M5	2	3900000.00	2404163.06	3900000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M6	2	3100000.00	1414213.56	3100000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M7	2	2900000.00	282842.71	2900000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M8	2	4200000.00	282842.71	4200000.00			
RECuento AEROBios MESÓFILO..	LAYKAKOTA	M9	2	1500000.00	424264.07	1500000.00			



ANEXO 5. Análisis estadístico del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables, de las muestras de leche cruda expendida en los cuatro mercados

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	BELLAVISTA	12	917500.00	1073745.57	295000.00	3	12.33	0.0063
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	CENTRAL	12	2617500.00	1606928.89	2200000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	LAYKAKOTA	12	2574166.67	1386640.53	3000000.00			
RECuento AEROBIOS MESÓFILO..	UNIÓN Y DIGNIDAD	12	1160000.00	1066302.02	930000.00			

Trat.	Ranks
BELLAVISTA	16.29 A
UNIÓN Y DIGNIDAD	18.63 A
LAYKAKOTA	31.17 B
CENTRAL	31.92 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

ANEXO 6. Análisis estadístico de la calidad microbiológica respecto al recuento de bacterias mesófilas viables en la leche expendida en los cuatro mercados

Tablas de contingencia

Frecuencias: MUESTRAS

Frecuencias absolutas

En columnas: MERCADO

CALIDAD	BELLAVISTA	CENTRAL	LAYKAKOTA	UNIÓN Y DIGNIDAD	Total
BUENA	8	2	2	6	18
DEFECTUOSA	4	10	10	6	30
Total	12	12	12	12	48

Frecuencias relativas por columnas (expresadas como porcentajes)

En columnas: MERCADO

CALIDAD	BELLAVISTA	CENTRAL	LAYKAKOTA	UNIÓN Y DIGNIDAD	Total
BUENA	66,67	16,67	16,67	50,00	37,50
DEFECTUOSA	33,33	83,33	83,33	50,00	62,50
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Frecuencias esperadas bajo independencia

En columnas: MERCADO

CALIDAD	BELLAVISTA	CENTRAL	LAYKAKOTA	UNIÓN Y DIGNIDAD	Total
BUENA	4,50	4,50	4,50	4,50	18,00
DEFECTUOSA	7,50	7,50	7,50	7,50	30,00
Total	12,00	12,00	12,00	12,00	48,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	9,60	3	0,0223
Chi Cuadrado MV-G2	9,97	3	0,0188
Coef. Conting. Cramer	0,32		
Coef. Conting. Pearson	0,41		



ANEXO 7. *Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Bellavista*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	MUESTRA	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M1	1	0.70	0.00	0.70	11	10.73	0.4433
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M10	1	7.50	0.00	7.50			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M11	1	2.10	0.00	2.10			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M12	1	1.50	0.00	1.50			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M2	1	0.90	0.00	0.90			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M3	1	0.70	0.00	0.70			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M4	1	9.30	0.00	9.30			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M5	1	2.10	0.00	2.10			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M6	1	1.50	0.00	1.50			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M7	1	2.00	0.00	2.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M8	1	0.90	0.00	0.90			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	M9	1	1.50	0.00	1.50			

ANEXO 8. *Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Central*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	MUESTRA	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M1	1	110.00	0.00	110.00	11	10.77	0.4433
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M10	1	0.90	0.00	0.90			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M11	1	1.50	0.00	1.50			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M12	1	7.50	0.00	7.50			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M2	1	0.70	0.00	0.70			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M3	1	1.50	0.00	1.50			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M4	1	2.00	0.00	2.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M5	1	2.10	0.00	2.10			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M6	1	21.00	0.00	21.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M7	1	2.00	0.00	2.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M8	1	1.50	0.00	1.50			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	M9	1	21.00	0.00	21.00			

ANEXO 9. *Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Unión y Dignidad*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	MUESTRA	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M1	1	21.00	0.00	21.00	11	10.85	0.4433
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M10	1	2.00	0.00	2.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M11	1	2.10	0.00	2.10			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M12	1	2.10	0.00	2.10			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M2	1	21.00	0.00	21.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M3	1	0.70	0.00	0.70			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M4	1	46.00	0.00	46.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M5	1	0.90	0.00	0.90			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M6	1	0.40	0.00	0.40			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M7	1	110.00	0.00	110.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M8	1	46.00	0.00	46.00			
RECUENTO DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	M9	1	110.00	0.00	110.00			



ANEXO 10. *Análisis estadístico recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en el Mercado Laykakota*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	MUESTRA	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M1	1	46.00	0.00	46.00	11	10.88	0.4433
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M10	1	0.90	0.00	0.90			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M11	1	1.50	0.00	1.50			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M12	1	7.50	0.00	7.50			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M2	1	21.00	0.00	21.00			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M3	1	46.00	0.00	46.00			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M4	1	2.10	0.00	2.10			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M5	1	110.00	0.00	110.00			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M6	1	2.10	0.00	2.10			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M7	1	0.70	0.00	0.70			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M8	1	0.40	0.00	0.40			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	M9	1	21.00	0.00	21.00			

ANEXO 11. *Análisis estadístico del recuento de coliformes totales, de las muestras de leche cruda expendida en los cuatro mercados*

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	MERCADO	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	H	p
RECuento DE COLIFORMES TOT..	BELLAVISTA	12	2558,33	2802,10	1500,00	3	3,90	0,2674
RECuento DE COLIFORMES TOT..	CENTRAL	12	14308,33	31045,38	2000,00			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	LAYKAKOTA	12	21600,00	32591,21	4800,00			
RECuento DE COLIFORMES TOT..	UNIÓN Y DIGNIDAD	12	30183,33	40894,41	11550,00			

ANEXO 12. *Análisis estadístico de la calidad microbiológica respecto al recuento de coliformes totales en la leche cruda expendida en los cuatro mercados*

Tablas de contingencia

Frecuencias: MUESTRAS

Frecuencias absolutas

En columnas: MERCADO

CALIDAD	BELLAVISTA	CENTRAL	LAYKAKOTA	UNIÓN Y DIGNIDAD	Total
ACEPTABLE	4	2	3	3	12
DEFECTUOSA	8	10	9	9	36
Total	12	12	12	12	48

Frecuencias relativas por columnas (expresadas como porcentajes)

En columnas: MERCADO

CALIDAD	BELLAVISTA	CENTRAL	LAYKAKOTA	UNIÓN Y DIGNIDAD	Total
ACEPTABLE	33,33	16,67	25,00	25,00	25,00
DEFECTUOSA	66,67	83,33	75,00	75,00	75,00
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Frecuencias esperadas bajo independencia

En columnas: MERCADO

CALIDAD	BELLAVISTA	CENTRAL	LAYKAKOTA	UNIÓN Y DIGNIDAD	Total
ACEPTABLE	3,00	3,00	3,00	3,00	12,00
DEFECTUOSA	9,00	9,00	9,00	9,00	36,00
Total	12,00	12,00	12,00	12,00	48,00

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0,89	3	0,8281
Chi Cuadrado MV-G2	0,90	3	0,8249
Coef. Conting. Cramer	0,10		
Coef. Conting. Pearson	0,13		

ANEXO 13. *Panel fotográfico*

Figura 13

Muestra de leche entera cruda de vaca para realizar los análisis microbiológicos



Figura 14

Expendedora de leche entera cruda de vaca y las condiciones de venta



Figura 15

Procedimiento del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables: a) Preparación de suspensión inicial, b) Distribución de agua peptonada a los tubos de ensayo, c) Preparación de diluciones decimales, d) Placas cultivadas en agar PCA

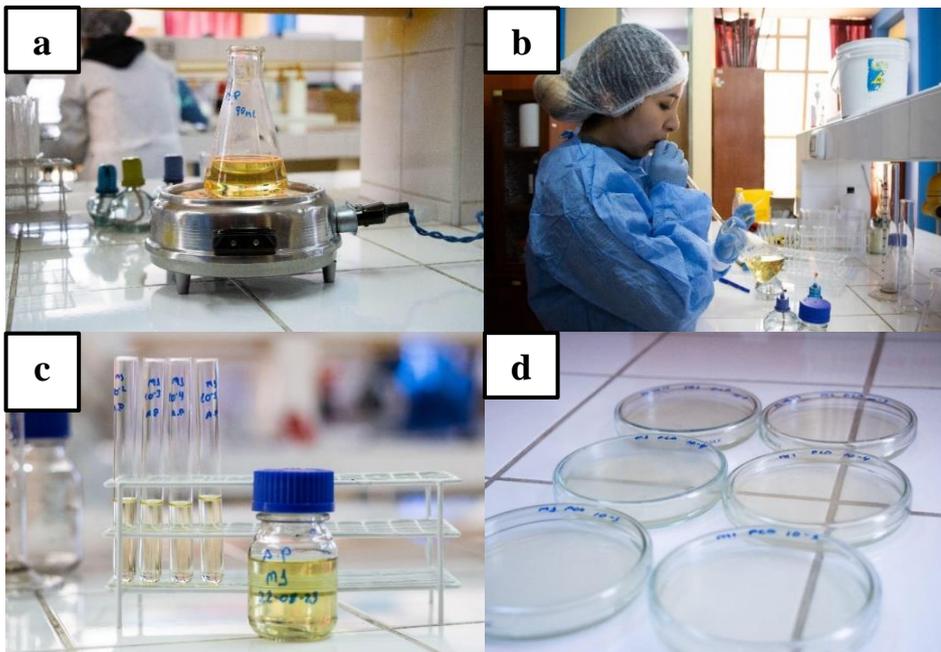
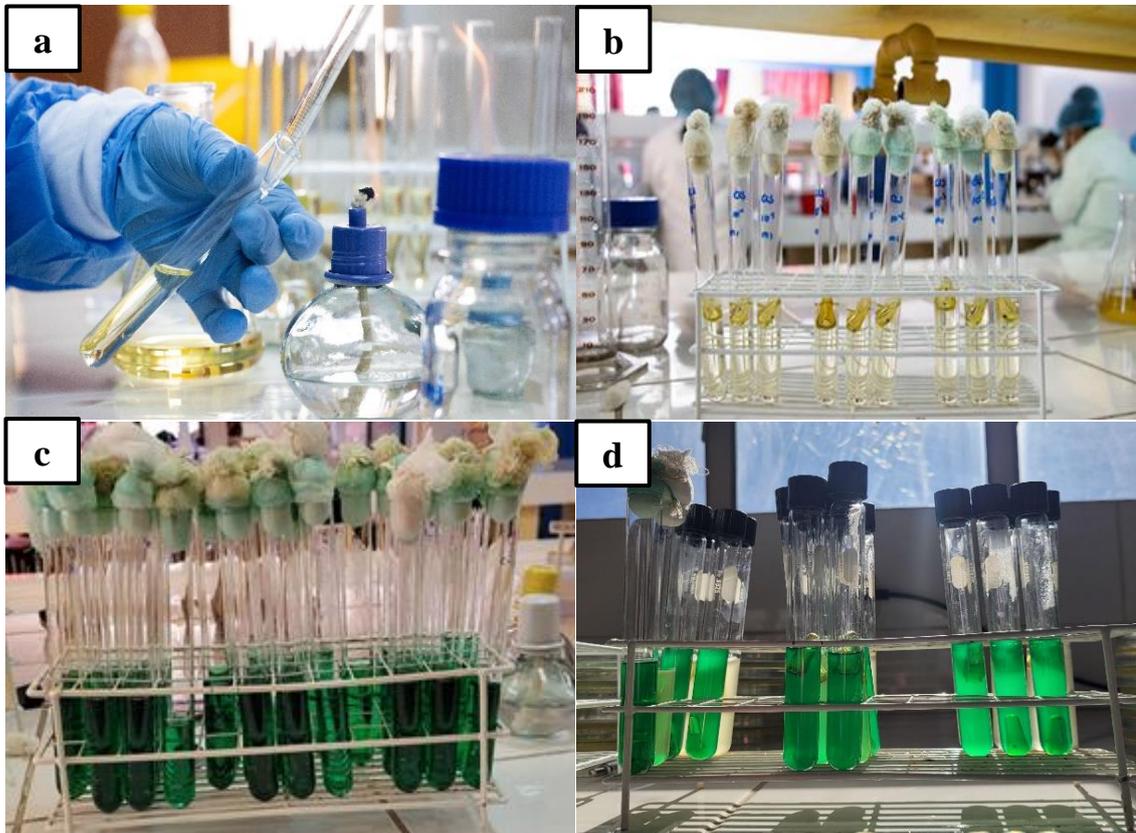


Figura 16

Procedimiento para el recuento de coliformes totales: a) Inoculación con CLS, b) CLS cultivado, c) Confirmación con CVBBL, d) Tubos positivos confirmados





ANEXO 14. *Tabla de Número Más Probable (NMP)*

Con los intervalos de confianza del 95 por 100, entre los cuales pueden variar para diversas combinaciones de resultados positivos y negativos

Número de tubos que dan reacción positiva			Índice NMP/100 ml	Línea de confianza del 95 por 100	
3 tubos de 10 ml	3 tubos de 1 ml	3 tubos de 0.1 ml		Límite inferior	Límite superior
0	0	1	3	<0.5	9
0	1	0	3	<0.5	13
1	0	0	4	<0.5	20
1	0	1	7	1	211
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	336
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	379
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	0	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800

Fuente: Prado *et al.* (2013)



ANEXO 15. *Matriz de tabulación de datos del recuento de bacterias mesófilas viables*

	Muestra	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Promedio	Promedio x10 ⁵
Mercado Bellavista	M1	380000	310000	330000	340000	3.4
	M2	180000	150000	120000	150000	1.5
	M3	2400000	3100000	2900000	2800000	28.0
	M4	240000	320000	250000	270000	2.7
	M5	3700000	2800000	2500000	3000000	30.0
	M6	1900000	1500000	1400000	1600000	16.0
	M7	320000	290000	260000	290000	2.9
	M8	180000	140000	160000	160000	1.6
	M9	360000	290000	250000	300000	3.0
	M10	230000	290000	200000	240000	2.4
	M11	2300000	1100000	1700000	1700000	17.0
	M12	190000	160000	130000	160000	1.6
Mercado Central	M1	5600000	4900000	5100000	5200000	52.0
	M2	4800000	4600000	4400000	4600000	46.0
	M3	5900000	3900000	4300000	4700000	47.0
	M4	2600000	3500000	2900000	3000000	30.0
	M5	2500000	1400000	1800000	1900000	19.0
	M6	2400000	2000000	1900000	2100000	21.0
	M7	3100000	3500000	3300000	3200000	32.0
	M8	330000	220000	200000	250000	2.5
	M9	3100000	1800000	2000000	2300000	23.0
	M10	290000	240000	250000	260000	2.6
	M11	1900000	2000000	1500000	1800000	18.0
	M12	2500000	1900000	1900000	2100000	21.0
Mercado Unión y Dignidad	M1	3400000	3500000	3000000	3300000	33.0
	M2	1400000	1800000	1300000	1500000	15.0
	M3	1700000	1900000	1500000	1700000	17.0
	M4	2300000	1600000	2400000	2100000	21.0
	M5	1300000	1800000	1700000	1600000	16.0
	M6	230000	160000	210000	200000	2.0
	M7	380000	390000	310000	360000	3.6
	M8	180000	220000	170000	190000	1.9
	M9	2600000	1900000	2400000	2300000	23.0
	M10	320000	250000	270000	280000	2.8
	M11	190000	150000	110000	150000	1.5
	M12	360000	160000	200000	240000	2.4
Mercado Laykakota	M1	3400000	2900000	3000000	3100000	31.0
	M2	2400000	3500000	2500000	2800000	28.0
	M3	4200000	3800000	3700000	3900000	39.0
	M4	4300000	3200000	3000000	3500000	35.0
	M5	4800000	3300000	3600000	3900000	39.0
	M6	3600000	2900000	2800000	3100000	31.0
	M7	3300000	2900000	2500000	2900000	29.0
	M8	4600000	3900000	4100000	4200000	42.0
	M9	1200000	1700000	1600000	1500000	15.0
	M10	250000	160000	220000	210000	2.1
	M11	1800000	1600000	1400000	1600000	16.0
	M12	200000	150000	190000	180000	1.8

Fuente: Elaboración propia

ANEXO 16. *Matriz de tabulación de datos del recuento de coliformes totales*

	Muestra	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	Promedio NMP	Promedio UFC
Mercado Bellavista	M1	1	1	0	7	0.7
	M2	2	0	0	9	0.9
	M3	1	1	0	7	0.7
	M4	3	2	0	93	9.3
	M5	2	2	0	21	2.1
	M6	2	1	0	15	1.5
	M7	2	1	1	20	2.0
	M8	2	0	0	9	0.9
	M9	2	1	0	15	1.5
	M10	3	1	1	75	7.5
	M11	2	2	0	21	2.1
	M12	2	1	0	15	1.5
Mercado Central	M1	3	3	2	1100	110.0
	M2	1	1	0	7	0.7
	M3	2	1	0	15	1.5
	M4	2	1	1	20	2.0
	M5	2	2	0	21	2.1
	M6	3	2	2	210	21.0
	M7	2	1	1	20	2.0
	M8	2	1	0	15	1.5
	M9	3	2	2	210	21.0
	M10	2	0	0	9	0.9
	M11	2	1	0	15	1.5
	M12	3	1	1	75	7.5
Mercado Unión y Dignidad	M1	3	2	2	210	21.0
	M2	3	2	2	210	21.0
	M3	1	1	0	7	0.7
	M4	3	3	1	460	46.0
	M5	2	0	0	9	0.9
	M6	1	0	0	4	0.4
	M7	3	3	2	1100	110.0
	M8	3	3	1	460	46.0
	M9	3	3	2	1100	110.0
	M10	2	1	1	20	2.0
	M11	2	2	0	21	2.1
	M12	2	2	0	21	2.1
Mercado Laykakota	M1	3	3	1	460	46.0
	M2	3	2	2	210	21.0
	M3	3	3	1	460	46.0
	M4	2	2	0	21	2.1
	M5	3	3	2	1100	110.0
	M6	2	2	0	21	2.1
	M7	1	1	0	7	0.7
	M8	1	0	0	4	0.4
	M9	3	2	2	210	21.0
	M10	2	0	0	9	0.9
	M11	2	1	0	15	1.5
	M12	3	1	1	75	7.5

Fuente: Elaboración propia



ANEXO 17. *Constancia de ejecución de tesis emitida por la FCCBB-UNA*



Universidad Nacional del Altiplano
Facultad de Ciencias Biológicas

Ciudad Universitaria - Teléfono 36 6189 - Apartado Postal 291



CONSTANCIA Nº 73-2023-D-FCCBB-UNA

EL QUE SUSCRIBE, DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNA-PUNO.

HACE CONSTAR.-

Que, la Bachiller **KAREN FIORELA SANTI HUANCA**, egresada de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, ha realizado su trabajo de investigación (tesis), titulado “**CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE ENTERA CRUDA DE VACA EXPENDIDA EN MERCADOS DE LA CIUDAD DE PUNO – 2023**”, en el Laboratorio de Microbiología Clínica, de la Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, los meses de junio, julio y agosto del 2023.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada, para los fines que estime por conveniente.

Puno, 19 de setiembre del 2023



EDMUNDO GERARDO MORENO TERRAZAS
DECANO



AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Karen Fiorda Santi Huancra,
identificado con DNI 70316077 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

Biología
informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“ Calidad microbiológica de la leche entera
cruda de vaca expendida en los mercados
de la ciudad de Puno, 2024 ”

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 17 de octubre del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Karen Fiorela Santi Huanca,
identificado con DNI 70316077 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

Biología

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

"Calidad microbiológica de la leche entera cruda
de vaca expendida en los mercados de Puno
2024"

Es un tema original.

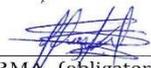
Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

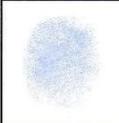
Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 17 de octubre del 20 24


FIRMA (obligatoria)


Huella