

## **Determinación microbiológica de organismos coliformes en leche cruda utilizada para la elaboración de productos lácteos artesanales en empresas de Tepatitlán de Morelos y Zapotlán el Grande, Jalisco**

López Cárdenas, M.E.<sup>1</sup>, Robles Méndez, M. D.<sup>2</sup>, Pliego Sandoval, J. E.<sup>1</sup>, Rodríguez Chávez, E. M.<sup>1</sup>, Sepúlveda Montes A.<sup>1</sup>, Reyes Nava L. A.<sup>1</sup>, Iñiguez Muñoz, L. E.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología. Departamento de Ciencias Básicas para la Salud. Centro Universitario del Sur. Universidad de Guadalajara. Avenida Enrique Arreola Silva No. 883, Colón, Colonia Centro, 49000, Cd Guzmán, Jalisco, México. Tel: +52 (341) 575 2222. <sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología de los Alimentos. Departamento de Ciencias Pecuarias y Agrícolas. Centro Universitario de los Altos. Universidad de Guadalajara. Carretera a Yahualica, Km. 7.5 Tepatitlán de Morelos, Colonia Centro, 47600, Tepatitlán de Morelos, Jalisco. Tel: 01 (378) 782-8033.

\*Correo: [laura.iniguez@academicos.udg.mx](mailto:laura.iniguez@academicos.udg.mx)

**Palabras clave** Número Más Probable, grupos indicadores, lácteos

### **Introducción**

Un gran número de pequeñas y medianas agroindustrias queseras en nuestro país elaboran variedades de productos lácteos artesanales a partir de leche cruda para mantener las características organolépticas que los hacen muy apreciados en cada región, pero esta práctica incrementa el riesgo de enfermedades de transmisión por alimentos (ETA) [1]. La presencia de microorganismos patógenos en productos lácteos artesanales depende de la calidad de la leche como materia prima y el cumplimiento en general de las prácticas de higiene para el proceso de alimentos [2]. Actualmente se utilizan tres grupos de indicadores microbianos con diferentes aplicaciones; la detección de bacterias del grupo coliforme se usan como indicador de la calidad sanitaria del agua o como indicador de las condiciones sanitarias en el procesamiento de alimentos. Los coliformes totales (OCT), organismos coliformes fecales (OCF) y *E. coli* continúan siendo el indicador de elección que manifiesta contaminación fecal reciente o condiciones higiénicas inadecuadas. Una de las técnicas más utilizadas para la determinación del grupo de coliformes es la técnica del Número más Probable (NMP), la cual proporciona una estimación estadística de la densidad microbiana presente en la muestra con base a la probabilidad de obtener tubos con crecimiento positivo disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculada [3].

Por otro lado, el sector lechero de Jalisco es uno de los principales productores a nivel nacional con la aportación de 19 % del lácteo, es decir, se produce la quinta parte de la leche del país de acuerdo a lo informado por el secretario de Desarrollo Rural en la entidad en el 2018 [4]. Sin embargo, en el estado de Jalisco; en los municipios de Zapotlán el Grande y Tepatitlán de Morelos Jalisco, es escasa la información sobre la calidad de la leche que se utiliza como materia prima para la elaboración de productos lácteos artesanales. Por lo anterior se busca que el presente trabajo brinde información sobre la calidad de leche cruda que se utiliza para la elaboración de productos lácteos artesanales en estos dos municipios y así poder desarrollar estrategias de prevención y lograr una mayor seguridad alimentaria. El objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de organismos coliformes totales y fecales en la leche cruda entregada por los productores a empresas de derivados lácteos artesanales de Tepatitlán de Morelos y Zapotlán el Grande, Jalisco.

### **Metodología**

El estudio de este trabajo fue de tipo correlacional descriptivo con medidas repetidas. Se analizaron muestras de 60 productores de leche (30 de cada municipio), en el Laboratorio de Microbiología del Centro Universitario del Sur (CUSur) ubicado en Ciudad Guzmán y en el Laboratorio de Microbiología de los

Alimentos del Centro Universitario de los Altos (CUAAltos) ambos de la Universidad de Guadalajara. El procedimiento de la obtención de las muestras se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Todo el material y equipo que se usó para la toma de muestra, fue previamente esterilizado tal cual lo estipula la norma y las muestras se trasladaron al laboratorio en refrigeración para su respectivo análisis [5]. El análisis de las muestras se llevó a cabo de acuerdo a la NOM-210-SSA1-2014 mediante la técnica del NMP. Se realizó la prueba presuntiva, las muestras de leche se inocularon en tubos con caldo lauril triptosa y fueron incubadas a 35°C de 24 a 48 horas. Los tubos positivos se pasaron a la prueba confirmativa, en la cual se inoculó una asada a tubos con caldo verde brillante bilis al 2%, mismos que se incubaron 35°C durante 48h para la identificación de OCT y tubos con caldo EC para la identificación de OCF, estos fueron incubados a baño María con recirculación continua a 45°C durante 24 a 48 horas [3].

Se utilizaron dos softwares para el análisis estadístico; Minitab 19 Statistical Software y Statgraphics Centurion XVI.I. Antes de realizar el análisis estadístico, se aplicó la prueba de Levene para analizar la homogeneidad en las varianzas y también la prueba de Kolmogorov-Smirnov para corroborar la normalidad de los datos, cuando los datos no pasaron las pruebas, se realizó una transformación de Box-Cox para corregir sesgos en la distribución de errores, varianzas desiguales y para que los datos siguieran una distribución normal para después volver a aplicar las pruebas. Posteriormente se realizó el análisis estadístico, se tomó una significancia estadística de  $p < 0.05$ . Se compararon los resultados de un municipio contra el otro, para OCT se optó por una prueba paramétrica ANOVA donde se compararon las medias, mientras que en los OCF se realizó una prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para comparar las medianas.

## Resultados y discusión

La NOM-243-SSA1-2010, establece las especificaciones sanitarias y límites máximos de contenido microbiano para leche y derivados lácteos. De acuerdo a dicha norma, el límite máximo de OCT para la leche utilizada en una planta procesadora de lácteos es de  $<10$  UFC/g o mL [6]; sin embargo, no se establecen los límites permisibles para OCF. Por lo anterior, se decidió tomar como referencia los límites establecidos por las normas NOM-121-SSA1-1994 para quesos frescos, maduros, procesados y quesos de suero ( $<100$  NMP/mL); en el supuesto de que, si la materia prima no cumple con los límites establecidos, es posible que los productos artesanales tampoco lo hagan.

En la Tabla 1, se reporta el NMP de OCT y OCF de las muestras analizadas; se puede observar que existió mayor población de OCT y OCF en las muestras correspondientes al municipio de Zapotlán el Grande. En el caso de los OCT, en dicho municipio sólo cumplieron con el límite establecido por la normatividad 3 de las 30 muestras analizadas (lo que representa el 10%). De manera similar, 6 de las 30 muestras analizadas del municipio de Tepatitlán de Morelos cumplieron con el límite normativo (equivalente al 20%).

**Tabla 1.** NMP de OCT y OCF de 60 muestras evaluadas en los municipios de Zapotlán el Grande y Tepatitlán de Morelos, Jalisco.

Número de muestra	Zapotlán el Grande		Tepatitlán de Morelos	
	OCT NMP/mL	OCF NMP/mL	OCT NMP/mL	OCF NMP/MI
1	15000	11000	<b>&lt;3</b>	<b>&lt;3</b>
2	110000	24000	11000	<b>3.6</b>
3	4600	240	93	<b>43</b>

4	110000	110000	2400	<b>3</b>
5	110000	46000	240	<b>9.1</b>
6	46000	2100	240	<b>43</b>
7	110000	4300	43	<b>23</b>
8	460	240	<b>&lt;3</b>	<b>&lt;3</b>
9	46000	2400	11000	<b>&lt;3</b>
10	240	<b>3.6</b>	240	<b>23</b>
11	<b>7.3</b>	<b>3.6</b>	1100	<b>43</b>
12	110000	<b>&lt;3</b>	15000	<b>7.3</b>
13	4600	<b>&lt;3</b>	<b>3.6</b>	<b>&lt;3</b>
14	240	240	91	<b>&lt;3</b>
15	11000	<b>4.3</b>	23	<b>3.6</b>
16	<b>7.3</b>	<b>7.3</b>	<b>&lt;3</b>	<b>&lt;3</b>
17	<b>3.6</b>	<b>&lt;3</b>	23	<b>&lt;3</b>
18	1100000	21000	<b>3</b>	<b>3</b>
19	46000	<b>15</b>	240	<b>93</b>
20	1100000	20000	43	<b>9.1</b>
21	110000	460	<b>3.6</b>	<b>&lt;3</b>
22	390000	30000	240	240
23	110000	110000	43	<b>23</b>
24	46000	2000	460000	<b>23</b>
25	1100	1100	2400	<b>9.1</b>
26	110000	4400	11000	2400
27	1100	460	240	<b>&lt;3</b>
28	23	<b>23</b>	15000	<b>23</b>
29	93	<b>3.6</b>	23	<b>3.6</b>
30	24000	4600	23	<b>23</b>

Las muestras que cumplieron los límites permisibles se presentan en negrita.

En el caso de los OCF, para las 30 muestras de Zapotlán el Grande, se contabilizó un total de 219 tubos positivos de caldo EC mientras que, para las 30 muestras de Tepatitlán de Morelos, solo se reportaron 63 tubos positivos. Tomando en cuenta el límite de 100 NMP/mL establecido por la NOM-121-SSA1-1994, sólo 10 de 30 muestras pertenecientes Zapotlán cumplieron con la normativa (33.3%). Por su parte, 28 de las 30 muestras de Tepatitlán cumplen con la normatividad (93.3%). Además de las prácticas de higiene deficientes, estas diferencias se pueden atribuir a que las muestras fueron tomadas en temporada de invierno; y la temperatura ambiental registrada es más baja en Tepatitlán de Morelos que en Zapotlán el Grande. Aunado a lo anterior, el horario de toma de muestra también pudo ser un factor a considerar, ya que los productores de Tepatitlán entregan la leche a la empresa más temprano que los productores en Zapotlán el Grande, lo cual también influye en la temperatura ambiental más baja y por lo tanto menor crecimiento bacteriano.

Mediante la tabla ANOVA, se desordenó la varianza de los OCT en dos componentes los cuales fueron: dentro y entre los grupos. La *razón-F* fue de 17.63, el cual fue el cociente entre el estimado entre grupos y el estimado dentro de grupos. Puesto que el valor-*p* de la prueba-*F* fue menor a 0.05, hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de OCT de los dos municipios con un nivel de 95% de confianza (ver Tabla 2).

**Tabla 2** Tabla Anova de OCT por Municipio

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-p
Entre grupos	205.5	1	205.5	17.63	<b>0.0001</b>
Intra grupos	675.931	58	11.654		
Total (Corr.)	881.431	59			

Las siglas *Gl* tienen como significado Grados de Libertad

Adicionalmente, mediante la prueba de Kruskal Wallis se evaluó la hipótesis nula de las medianas dentro de cada uno de los dos niveles de municipio fueran iguales. Primero se combinaron los datos de todos los niveles y se ordenaron de menor a mayor. Después se calculó el rango promedio para los datos de cada nivel. Puesto que el valor-*p* fue menor a 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de OCF de los dos municipios con un nivel del 95% de confianza (ver Tabla 3).

**Tabla 3** Prueba de Kruskal Wallis para OCF por municipio

Municipio	Tamaño Muestra	Rango Promedio
Tepatlán de Morelos	30	21.5167
Zapotlán el Grande	30	39.4833

Estadístico = 16.0539 Valor-*p* = 0.000061566

Investigaciones previas sugieren que la presencia de organismos coliformes está directamente relacionado a factores como la higiene de la vaca y la limpieza en los utensilios, máquinas y la higiene correcta durante la extracción [7]. Aunado a lo anterior, otros autores, obtuvieron como resultado una diferencia estadísticamente significativa en cuanto al sistema de ordeño empleado, en donde el ordeño de tipo manual presentó una menor población de coliformes a comparación del ordeño mecánico [8].

## Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que un alto porcentaje de las muestras analizadas no cumplen con los límites establecidos en la normatividad respecto a los OCT y OCF; lo anterior microbiológicamente es indicio de contaminación fecal debido a las malas prácticas de higiene durante el proceso de ordeño y transporte de la leche a las empresas. Aunado a lo anterior, los productores evaluados entregan leche caliente a las empresas; por lo tanto, es necesario implementar métodos como la refrigeración y las buenas prácticas de higiene durante la cadena de producción que mejorará la calidad de la leche, evitando el riesgo para los consumidores de productos lácteos artesanales.

## Referencias

[1] Roig SA. (11 de agosto de 2004) Riesgos y peligros en los productos lácteos. *Consumer Eroski* [online]. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2004/08/11/13957.php>. Consultado en febrero de 2020.

[2] Romero-Castillo, P. A., Leyva-Ruelas, G., Cruz-Castillo, J. G., & Santos-Moreno, A. (abril de 2009). Evaluación de la calidad sanitaria de quesos crema tropical mexicano de la región de Tonalá, Chiapas. *Revista mexicana de ingeniería química* [online]. Vol. 8. Art. #1. pp 111-119. Disponible en:

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S166527382009000100011&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S166527382009000100011&lng=es&tlng=es). Consultado en febrero de 2020.

[3] Secretaría de Salud et al. (23 de diciembre de 2015). Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos, *Diario Oficial de la Federación* [online]. Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015). Consultado: 20 de enero de 2021.

[4] Trigo N. A. (01 de agosto de 2018). Jalisco es principal productor de leche. *El diario NTR* [online]. Disponible en: [https://www.ntrguadalajara.com/post.php?id\\_notas=104835](https://www.ntrguadalajara.com/post.php?id_notas=104835). Consultado en febrero de 2020.

[5] Secretaría de Salud et al. (04 de noviembre de 1994). Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. *Diario Oficial de la Federación* [online]. Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4881801&fecha=21/09/1995](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881801&fecha=21/09/1995). Consultado: 20 de enero de 2021.

[6] Secretaría de Salud et al. (23 de junio de 2008). Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. *Diario Oficial de la Federación* [online]. Disponible en: <http://dof.gob.mx/normasOficiales/4156/salud2a/salud2a.htm> Consultado: 20 de enero de 2021.

[7] Zucali, M., Battelli, G., Battini, M., Bava, L., Decimo, M., Mattiello, S., Povoletto, M., & Brasca, M. (24 de agosto de 2016). Multi-dimensional assessment and scoring system for dairy farms. *Italian Journal of Animal Science* [online]. Vol. 15, Art. # 3. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1218304>. Consultado: 11 junio 2021.

[8] Guevara Ramos, B., Nichorzon, M. R., & Acuña, R. S. (2020). Calidad bacteriológica de la leche en sistemas de ordeño en el municipio Maturín, Monagas, Venezuela. *Revista ESPAMCiencia* [online]. Vol. 11, Art. # 2. Disponible en: [https://doi.org/10.51260/revista\\_espamciencia.v11i2.216](https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v11i2.216). Consultado: 11 junio 2021.