

Evaluación de la conservación de leche cruda en distintas regiones del Perú, mediante la activación del sistema lactoperoxidasa

Roberto Albuja C.¹, Fanny Ludeña U.², Liliana Castillo S.³

Resumen

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos determinar el tiempo máximo de conservación de leche cruda mediante la activación del Sistema Lactoperoxidasa (LPS) de diferentes establos de tres departamentos de alta producción lechera del Perú (Lima, Arequipa y San Martín), basándose en los límites de la Norma Técnica Peruana 202.001 para leche cruda, referentes a las características fisicoquímicas (pH y acidez láctica) y microbiológicas (tiempo de reducción del azul de metileno, recuento de coliformes totales y recuento de bacterias aerobias mesófilas viables). Las muestras de leche de los establos seleccionados en cada zona fueron clasificadas según el recuento inicial de microorganismos clasificándolos en leche tipo A (recuento de bacterias aerobias mesófilas viables menor a 30×10^4 ufc/ml), tipo B (recuento de bacterias aerobias mesófilas viables mayor a 30×10^4 ufc/ml). Los tiempos máximos de conservación de las muestras de leche provenientes de la zona de Arequipa (temperatura ambiente entre 15 y 20 °C), Lima (temperatura ambiente entre 20 y 25 °C) y San Martín (temperatura ambiente entre 28 y 30 °C) tuvieron diferencias altamente significativas. En la zona de Arequipa se obtuvo los mayores tiempos de conservación (4.80 horas) independiente del tratamiento seguido de Lima (3.13 horas) y finalmente San Martín (0.20 horas). Con el tratamiento los tiempos de conservación fueron para Arequipa 9.89 horas, para Lima 5.03 horas y para San Martín 1.41 horas. Se realizó una evaluación en leche refrigerada proveniente de ordeño mecánico en Lima y Arequipa, el tiempo de conservación de las muestras control osciló entre 38.23 (Lima) y 28.73 (Arequipa) horas a diferencia de la leche tratada que fue entre 65.00 horas (Lima) y 47.95 horas (Arequipa). Se realizó la evaluación de leche conservada con la activación del LPS mantenida a temperatura ambiente y refrigeración en la elaboración de yogurt batido y queso fresco en la zona de Lima para determinar si existían diferencias significativas en el producto final. En el yogurt se evaluó en la etapa de fermentación y en almacenamiento. En la etapa de fermentación se evaluaron las características de acidez láctica y pH. Los resultados en estas características no presentaron diferencias significativas entre las muestras con tratamiento y las testigos. Igualmente, en la etapa de almacenamiento al evaluarse las características de acidez láctica, pH, recuento de mohos y levaduras no se encontraron diferencias significativas entre las muestras tratadas y testigos respectivos. Para el queso fresco las evaluaciones se realizaron durante el almacenamiento evaluándose acidez láctica y recuento de mohos y levaduras. Las muestras con tratamiento y sus respectivos testigos no presentaron diferencias significativas en las características evaluadas.

Palabras clave: Leche, sistema Lactoperoxidasa.

Abstract

The investigation had as objective to determine the maximum time of preservation of raw milk by using the Lactoperoxidase System (LPS) in different producers from three Peruvian cities of high milk production (Lima, Arequipa and San Martín). The parameters for the determination were based on the limits recommended by Peruvian Practical Standards 202.001 for raw milk, referred to the physical chemical characteristics (pH and lactic acidity) and microbiological (blue methylene time reduction, count of total coliforms and count of viable mesophilic aerobic bacteria). The milk samples of the selected producers in each zone were classified according to the initial count of microorganisms. These were classified in type A milk (count of viable mesophilic aerobic bacteria less than 30×10^4 ufc/ml) and type B milk (count of viable mesophilic aerobic bacteria greater than 30×10^4 ufc/ml). The preservation time of the milk samples from the Arequipa's zone (room temperature between 15 and 20 °C), Lima (room temperature between 20 and 25 °C) and San Martín (room temperature between 28 and 30 °C) had significant differences ($p < 0.05$). In the Arequipa's zone the preservation time was the greatest (4.80 hours), in Lima the time was 3.13 hours and San Martín had the least time of preservation (0.20 hours), these times were referred to the milk samples without treatment. With treatment the preservation time for each zone was: Arequipa 9.89 hours, Lima 5.03 hours and San Martín 1.41 hours. It was also made an evaluation in refrigerated milk samples (4°C) obtained by mechanical milking from Lima and Arequipa. The preservation time of control samples oscillated between 38.23 hours (Lima) and 28.73 hours (Arequipa) unlike the treated milk samples that was between 65.00 hours (Lima) and 47.95 hours (Arequipa). With the milk preserved by the LPS was carried out another evaluation. The milk samples were kept at room temperature and in refrigeration to produce shaken yogurt and fresh cheese in the zone of Lima. The aim was determining significant differences in the final product. In the yogurt was evaluated in the stage of fermentation and in shelf. In the fermentation stage, the evaluated characteristics was lactic acidity and pH and in shelf was lactic acidity, pH, count of moulds and yeasts. The results in these characteristics did not display significant differences between the treatment samples and control samples, in the fermentation stage and in shelf. For the fresh cheese the evaluations were made during the storage being evaluated the lactic acidity and count of moulds and yeasts. The samples with treatment and its respective control did not display significant differences in the evaluated characteristics.

Key words: milk, lactoperoxidase system.

1. Introducción

Como en muchos otros países en desarrollo, en el Perú la recolección de leche cruda y transporte a las plantas de procesamiento presentan muchos problemas. Las áreas de producción de leche son amplias y dispersas, el tiempo de transporte es más de 6 horas y las facilidades de enfriamiento son inadecuadas. Por eso, la leche generalmente tiene una calidad higiénica inferior cuando llega al centro de procesamiento. La adición de químicos nocivos tales como carbonato de sodio, hidróxido de sodio y peróxido de hidrogeno es una práctica común para retardar el desarrollo de acidez.

En años recientes, el uso del Sistema Lactoperoxidasa (LPS), un sistema antibacterial en leche cruda, ha sido recomendado por el comité conjunto FAO/WHO (1991). El sistema antibacterial es llamado sistema lactoperoxidasa-tiocianato-peróxido de hidrogeno (LPS). Este sistema es activado por la adición de cantidades de tiocianato y peróxido de hidrogeno a la leche cruda.

El sistema lactoperoxidasa/tiocianato/peróxido de hidrógeno (LPS) consiste en la oxidación de los iones tiocianato por la acción de la enzima lactoperoxidasa en presencia de peróxido de hidrogeno, y la consecuente acción de dichos iones oxidados sobre las bacterias presentes en la leche, retardando su deterioro en 8 – 24 horas, según la temperatura y calidad inicial de la leche (Bjork et al., 1975 y Harnulv y Kandasamy, 1982).

Estudios realizados en Cuba por Ponce et al. (1987) indican que este método podría ser utilizado para conservar la leche cruda en condiciones de emergencia, o cuando falta la energía electricidad para la refrigeración.

Nuestro objetivo fue determinar el tiempo máximo de conservación de leche cruda con el sistema LPS activado en tres regiones distintas del Perú usando evaluaciones físico químico y microbiológico.

2. Materiales y métodos

Evaluaciones Físico Químicas y Microbiológicas

pH en leche y derivados lácteos: método potenciométrico.

Acidez láctica en leche cruda NTP 202.116 (INDECOPI 1, 1998).

Acidez láctica en queso fresco. NTP 202.151 (INDECOPI 2, 1998).

Tiempo de reducción del azul de metileno en leche cruda. NTP 202.014 (INDECOPI 3, 1998).

Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (b.a.m.v.) en leche cruda. Bacteriological Analytical Manual (2001).

Recuento de coliformes totales en leche cruda. Bacteriological Analytical Manual (2001).

Selección de zonas de estudio

Para la selección de las zonas de estudio, se tuvo en cuenta los departamentos de mayor producción lechera de cada región geográfica (división clásica de las regiones naturales) del Perú: Costa, Sierra y Selva. Se evaluaron las condiciones de temperatura ambiental de los departamentos seleccionados.

Selección de Establos

Para la selección de los establos en cada zona de estudio, se recopiló la información de los principales productores y acopiadores de la zona. Se identificó las principales variables a considerar de acuerdo al sistema de ordeño utilizado en cada lugar. En el Cuadro 1 se detallan las variables de estudio a tomar en cuenta y que sirvieron para la selección de los establos.

Se realizó un muestreo de los principales productores lecheros de la zona y se realizó los análisis fisicoquímicos y microbiológicos correspondientes. De todas las variables mencionadas anteriormente una de las más importantes fue el recuento de bacterias aerobias mesófilas que sirvió para clasificar a la leche de los establos como tipo A y B. El límite planteado para la leche tipo A y B fue tomado en función de la evaluación de datos preliminares de los establos muestreados siendo 30×10^4 ufc/ml el límite máximo para la leche tipo A. Los recuentos de la leche tipo A y B se encuentran dentro del límite recomendado por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) para leche cruda en el requisito microbiológico de bacterias aerobias mesófilas viables (b.a.m.v.).

Las muestras de leche fueron tomadas tanto de ordeño manual como mecánico. En el ordeño manual se tomaron muestras del horario mañana y tarde y en el ordeño mecánico se tomaron muestras de los tanques de almacenamiento (mezcla de horario de mañana y tarde).

En San Martín, generalmente, no se realiza ordeño mecánico y el ordeño es manual realizándose una vez al día.

Luego de realizado todos los análisis respectivos se seleccionó los establos productores de leche que presentaban mejor correlación en sus análisis.

Determinación del tiempo máximo de conservación de la leche cruda con la activación del Sistema Lactoperoxidasa

Se realizó el muestreo de leche de los establos previamente seleccionados tomando como referencia para la aceptación del lote los valores máximos de acidez láctica especificados por la Norma Técnica Peruana para leche cruda. A continuación una vez aceptado el lote se realizó las determinaciones fisicoquímicas y microbiológicas respectivas.

Una vez que los lotes de leche fueron analizados se procedió a la activación del Sistema Lactoperoxidasa tal como se detalla a continuación: Se disolvió 0.7 g de Tiocianato de Sodio, solución 1 (Stabilak® 1, C-kure, La Habana, Cuba) en una muestra de 50 litros de leche y se agitó por 5 min. A continuación se agregó 1.7 g de Percarbonato de Sodio, solución 2 (Stabilak® 2, C-kure, La Habana, Cuba).

¹

² Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina. E-mail: fludena@lamolina.edu.pe.

³

Tabla 1. Variables a considerar para la selección de los establos en cada zona de estudio.

Zona	Temperatura	Tipo De Ordeño	Tipo de leche según Recuento Inicial	Horario de Ordeño
Lima – Herbay Alto	20 - 25 °C	Manual	Tipo A *	Mañana
			Tipo B **	Tarde
Arequipa – Majes	15 - 20 °C	Manual	Tipo A	Mañana
			Tipo B	Tarde
San Martín – Soritor	28 - 32 °C	Manual	Tipo A	Mañana
Lima - La Molina	4 – 6 °C	Mecánica	Tipo B	Mañana
Arequipa – Majes			Tipo A	Mezcla
			Tipo A	Mezcla

* Leche tipo A con recuentos menores de 30×10^4 ufc/ml

** Leche tipo B con recuentos mayores de 30×10^4 ufc/ml

Las muestras de leche con el sistema activado se almacenaron para determinar los tiempos máximos de conservación. Paralelamente a las muestras con el LPS activo se realizaron muestras control. La evaluación se realizó a temperatura ambiente a las muestras de ordeño manual y a temperatura de refrigeración a las muestras de ordeño mecánico. Para la evaluación de los tratamientos a temperatura ambiente se realizaron los siguientes análisis: acidez, pH, determinación del tiempo de reducción de azul de metileno o reductasa (TRAM), recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (b.a.m.v.) y coliformes totales. Los análisis se realizaron cada 3 horas. Para los tratamientos en refrigeración se realizaron los siguientes análisis: acidez, pH, tiempo de reducción de azul de metileno o reductasa (TRAM), recuento de bacterias psicrófilas y coliformes totales, los cuales se realizaron cada 24 horas. En ambos casos se consideró el límite de acidez láctica (18° Dornic) especificado por la NTP202.001 (INDECOPI, 1998) para indicar el punto final de la evaluación. Los tiempos máximos de conservación de las muestras de leche cruda para cada tratamiento fueron determinados en función de los valores límite especificados por la Norma Técnica Peruana 202.001 (INDECOPI, 1998).

Evaluación Estadística

En la evaluación del Sistema Lactoperoxidasa (LPS) en leche cruda en las tres regiones del Perú, se planteó un diseño de bloques completos randomizado, con arreglo factorial. Todos los análisis fueron hechos en triplicado. En las evaluaciones del LPS en los derivados lácteos se planteó diseño de bloques completos randomizados. Los análisis estadísticos fueron trabajados usando MINITAB™ 13.30 (2000). Las comparaciones apropiadas fueron hechas usando la prueba de Tukey. Un $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

3. Resultados y discusión

Selección de Zonas de Estudio

En base a la producción de leche por departamento de la costa, sierra y selva fueron escogidos los departamentos con mayor producción, resultando así el departamento de Lima en la Costa, Arequipa en la Sierra y el de San Martín en la Selva.

Selección de Establos

Zona: Lima

La zona seleccionada en Lima fue Herbay Alto (Cañete) en donde el principal productor es el establo de la UNALM (ORDEÑO MANUAL, TIPO A) del cual se tenía información sobre la producción y características de la leche, además, en Santo Domingo (Herbay Alto, Cañete) de los pequeños productores solo uno de ellos superaba la producción 50 litros/día por eso solo se trabajó con ese establo (ORDEÑO MANUAL, TIPO B). En La Molina (Lima) se trabajó con el establo de la UNALM (ORDEÑO MECANICO, TIPO A) por facilidades y acceso a la Planta de producción.

Zona: Arequipa

En esta zona se trabajó con los 6 principales productores de la zona de las Pampas de Irrigación de Majes (B, C y Santa Rita), provincia Caylloma.

De acuerdo a los resultados obtenidos se observa que los valores de acidez de las muestras de leche cruda iniciales no presentan diferencias significativas, independientemente de la procedencia de la muestra y están dentro de los límites establecidos por la NTP202.001 (INDECOPI 4, 1998), que establece una acidez entre 0,14 y 0,18 % de acidez láctica ($14 - 18^\circ$ Dornic), del mismo modo el valor de pH se encuentra dentro del rango que corresponde a una leche normal entre 6.6 y 6.8 (Porter, 1981). Sin embargo, en los resultados de los análisis microbiológicos se observan diferencias en las muestras de leche evaluadas debido al tipo de ordeño utilizado. Así uno de los establos que utiliza ordeño mecánico tiene un recuento de bacterias aerobias bajo, en comparación con los otros establos que trabajan con ordeño manual.

Luego de esta evaluación se seleccionó los siguientes establos: Establo 1 (ORDEÑO MECANICO, TIPO A), Establo 2 (ORDEÑO MANUAL, TIPO B), Establo 3 (ORDEÑO MANUAL, TIPO A).

Zona: San Martín

En este lugar se trabajo con la asociación de productores lecheros del valle (EPLAMSA) en Soritor, provincia de Moyobamba. Se hicieron pruebas preliminares a 6 establos de los cuales fueron escogidos 2 que cumplían con las condiciones del diseño experimental expuesto en el Cuadro No 1.

Se debe precisar, además, que la toma de muestras se hizo en la Planta de la Asociación de Pequeños Ganaderos de Soritor (EPLAMSA). La cercanía de los establos a la planta permitió dar resultados confiables.

En base a esta evaluación se seleccionaron los establos: Rodríguez (ORDEÑO MANUAL, BUENA CALIDAD) y Sánchez (ORDEÑO MANUAL, MALA CALIDAD).

Determinación del tiempo máximo de conservación de la leche cruda con la activación del Sistema Lactoperoxidasa (LPS).

Zona: Lima

En cuanto a los análisis fisicoquímicos que corresponden a variación de acidez se observó que la acidez titulable aumentó durante el almacenamiento a temperatura ambiente en el tratamiento desde 15.5 a 19.25 °Dornic para leche tipo A y de 16.0 hasta 23.5 °Dornic para muestras de leche tipo B en el período de 12 horas. Siendo 12 horas un tiempo referencial para efectos de comparación.

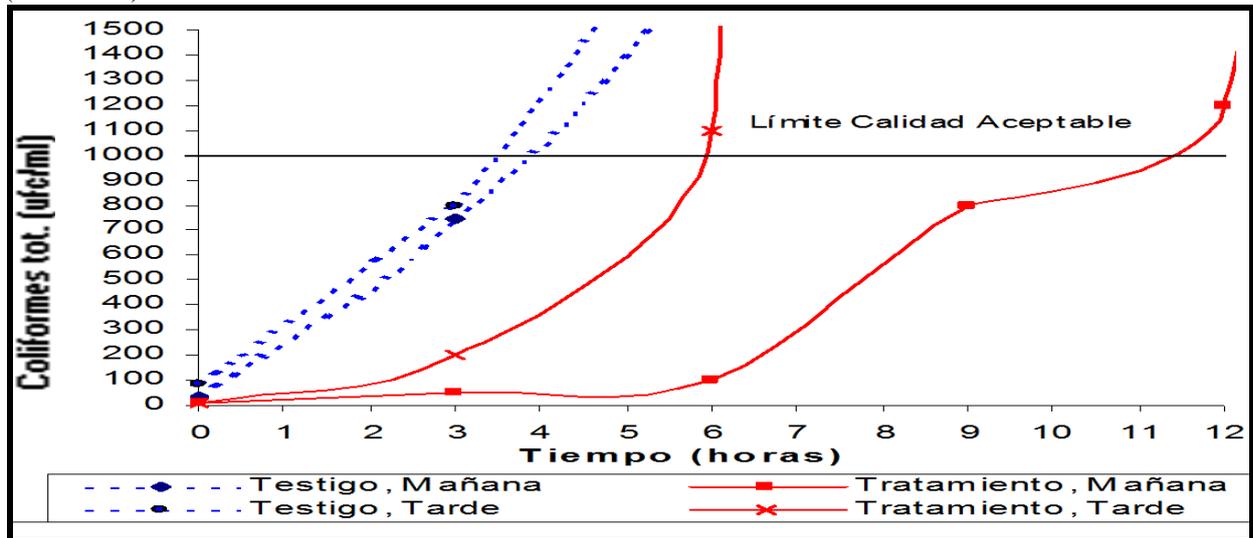
Los TRAM decrecieron a medida que la leche disminuyó su calidad. Los valores iniciales fueron desde 8.4 horas decreciendo hasta 2.2 horas en un período de 12 horas de almacenamiento para las muestras de leche tipo A. En muestras de leche tipo B los valores decrecieron desde 8.7 horas hasta 0.8 horas en un período de 12 horas de almacenamiento. En las muestras con tratamiento los tiempos que se tardaron en llegar al límite permitido por la norma superaron a los valores de los testigos en 5.3 horas para las muestras de leche de buena calidad y en 5.2

horas para las muestras de leche de mala calidad. Ponce *et al.* (1992) menciona que a 20 °C la leche con TRAM superior a 3 h 30 minutos y con tratamiento (Sistema Lactoperoxidasa) mantiene su calidad inicial entre 12 y 24 horas, mientras el control se deteriora totalmente a las 4 horas.

En los análisis de recuento de coliformes totales se tuvo que la población se incrementó desde 56 ufc/ml hasta 19×10^4 ufc/ml en un período de 12 horas para muestras de leche testigos tipo A. En muestras de leche testigos tipo B los recuentos fueron desde 420 ufc/ml hasta 36×10^5 ufc/ml. Cuando se aplicó el tratamiento en las muestras de leche tipo A y B hubo incremento del tiempo de conservación de 5.1 horas en ambos tipos. Siendo la referencia el límite establecido por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998).

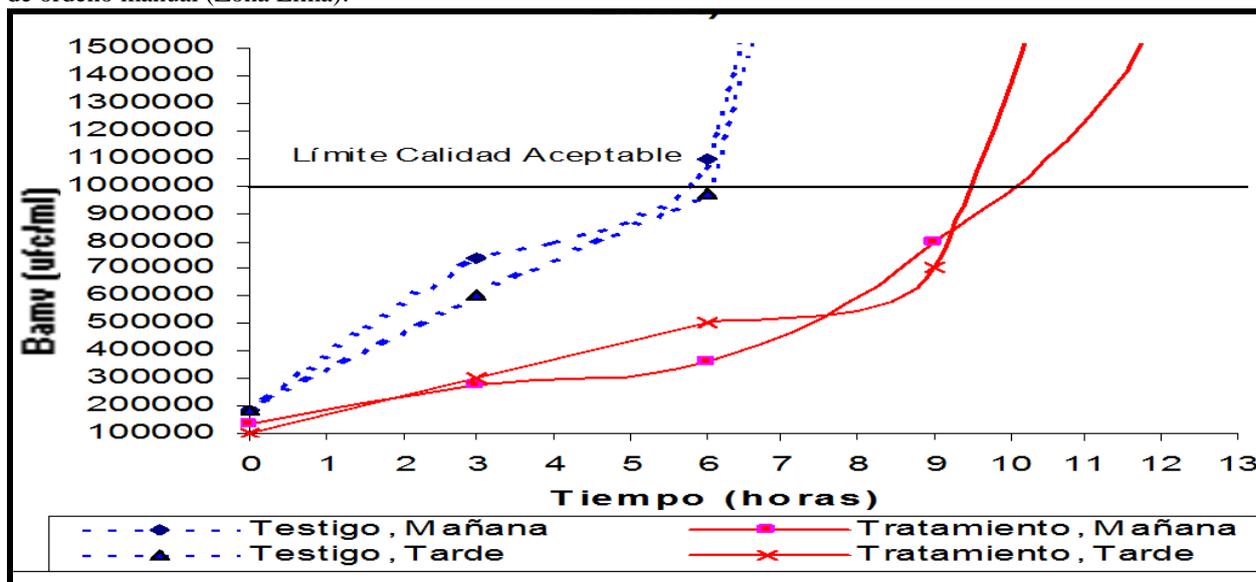
Reiter y Härnlv (1984) dicen que organismos gram negativo, catalasa positivo tales como pseudomonas, coliformes, salmonelas y shigella no son solo inhibidas por el LPS sino que, dependiendo de las condiciones del medio (pH, temperatura, tiempo de incubación, densidad de la célula, etc), podría ser eliminado. Cuando fue activado el Sistema Lactoperoxidasa en las muestras de leche tipo A, hubo una mejora en cuanto al tiempo en que demoraban en llegar al límite establecido por la norma. En las muestras de leche tipo A como tipo B mejoró el tiempo en 2 – 7 horas, no hubo diferencias significativas en la interacción calidad y tratamiento. En la figura A por ejemplo tenemos el desarrollo de coliformes totales en muestras de leche de buena calidad.

Figura A. Variación del recuento de coliformes Tot. De muestras de leche tipo A proveniente de ordeño manual (Zona Lima).



El recuento total de bacterias mesófilas viables (b.a.m.v.) varió en muestras de leche testigo tipo A desde 18×10^4 ufc/ml hasta 55×10^6 ufc/ml en un período de 12 horas. Y en muestras testigo tipo B desde 34×10^4 ufc/ml hasta 49×10^7 ufc/ml en un período de 12 horas. Las muestras de leche tipo A y B con tratamiento mejoraron los tiempos de

conservación de la leche cruda entre 2 a 4 horas, ya que no había diferencia significativa en esta interacción (Cuadro No 2). En la figura B tenemos por ejemplo el desarrollo de bacterias aerobias mesófilas viables en muestras de leche de buena calidad y se nota claramente que las muestras tratadas se multiplican mas lentamente que sus respectivos testigos.

Figura B. Variación del recuento de bacterias mesófilas viables (B.a.m.v) de muestras de leche tipo A proveniente de ordeño manual (Zona Lima).


En el Tabla 2 se muestran los tiempos de conservación de la leche cruda, obtenida con ordeño manual para los tratamientos y testigos tomando

como referencia para determinar este tiempo los límites máximos especificados por la NTP 202.001 (INDECOPI 4, 1998) para leche cruda.

Tabla 2. Tiempo máximo de conservación de la leche cruda (horas) en función de cada análisis en muestras provenientes de ordeño manual en la zona de Lima.

Calidad	Buena				Mala			
	Mañana		Tarde		Mañana		Tarde	
Horario	Testigo	Tratam.	Testigo	Tratam.	Testigo	Tratam.	Testigo	Tratam.
Acidez	10.27	9.23	8.84	14.03	6.88	9.05	4.06	8.03
TRAM ^a	9.10	13.10	8.37	14.66	6.20	8.36	5.45	9.08
Coliformes Tot	4.82	7.29	3.60	5.66	2.37	3.79	1.72	3.36
B.a.m.v. ^b	8.38	10.20	6.05	9.50	4.44	8.94	4.22	7.42

^a tiempo de reducción de azul de metileno

^b bacterias aerobias mesófilas viables

En el cuadro 2, los tiempos que están en negritas son los máximos tiempos de conservación de las muestras de leche para cada combinación de factores teniendo en cuenta los requisitos de la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998). Se puede observar que los valores de los tiempos de conservación son muy similares comparando las muestras de leche tipo A y B debido que los recuentos iniciales de las muestras evaluadas eran muy cercanos

En la evaluación de los resultados de la acidez láctica se determinó que existían diferencias estadísticas significativas entre las muestras con tratamiento y las testigos. Además, los resultados de las interacciones de los factores horarios con calidad, calidad con el factor tratamiento no presentaron diferencias significativas.

En el análisis de tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM) el factor tratamiento tuvo diferencias significativas entre sus resultados ($p < 0.05$), es decir, las muestras con tratamiento muestran diferencias altamente significativas en comparación a sus testigos respectivos en todos los casos.

En la evaluación de los resultados del recuento de coliformes totales, la interacción de los factores calidad y tratamiento sin considerar el horario es significativa ($p < 0.05$). Las muestras de leche Tipo A

con tratamiento en comparación con su testigo incrementa su tiempo de conservación 2.26 horas, a diferencia de las muestras de leche Tipo B con tratamiento en comparación con su testigo solo incrementa 1.53 horas independientemente del horario de ordeño.

En la evaluación de los resultados del recuento de b.a.m.v., la interacción de los factores calidad con tratamiento presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) obteniéndose en las muestras de leche testigo Tipo A y B 7.22 y 4.33 horas respectivamente en los tiempos de conservación, mientras que las muestras de leche con tratamiento Tipo A y B, 9.85 y 8.18 horas, respectivamente. No hubo diferencias significativas en la interacción de los factores calidad con horario de ordeño ($p > 0.05$).

En los resultados del recuento de b.a.m.v. la interacción horario y tratamiento fue significativa ($p < 0.05$). Comparando las muestras de leche de la mañana con tratamiento versus su respectivo testigo aumentó 3.16 horas el tiempo de conservación, de la misma manera las muestras de la tarde con tratamiento versus su respectivo testigo aumentó 3.32 horas. Sin embargo, los tiempos de conservación de las muestras de leche de la mañana fueron mayores que las de la tarde.

El tiempo de conservación de las muestras de leche a temperatura ambiente (20 - 25°C) independientemente de su calidad y del horario de ordeño sería de 3.13 horas para las muestras testigo y de 9.02 horas para las que tienen tratamiento teniendo en cuenta los requisitos establecidos por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) para leche cruda.

Los datos y evaluación de resultados del ordeño mecánico para la zona de Lima se reportarán junto con los resultados de la zona de Arequipa para efectos de comparación.

Zona: Arequipa

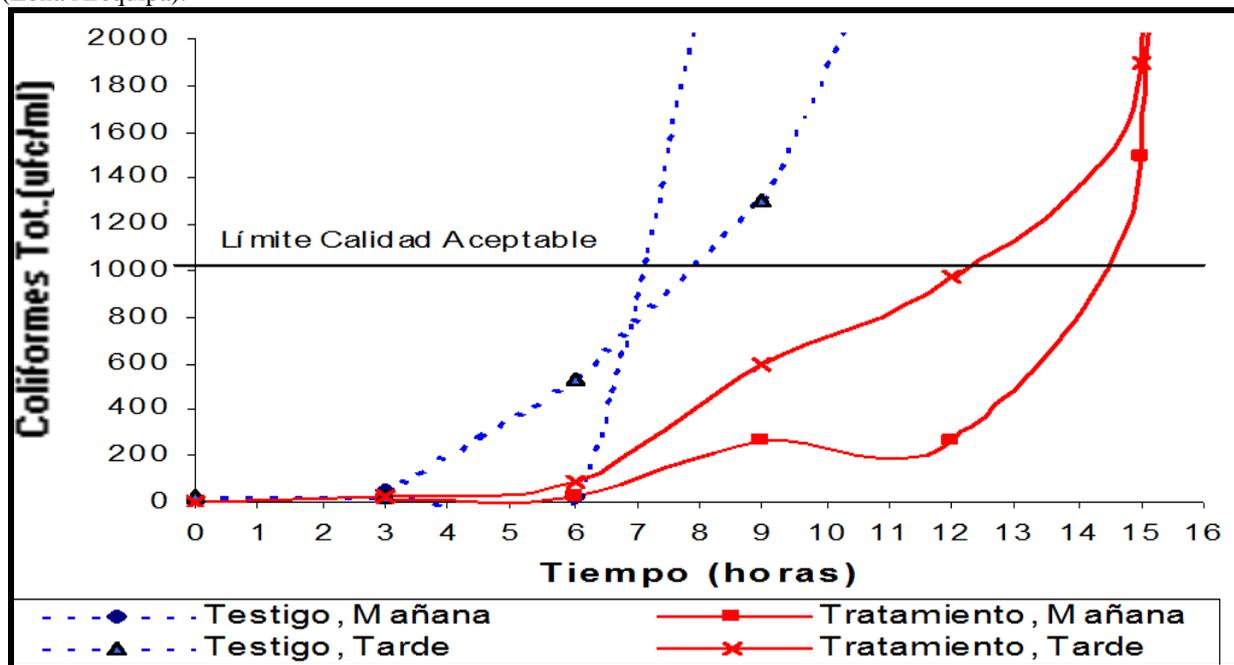
En los resultados del análisis de la acidez láctica para leche tipo A y B respectivamente se observó que las muestras de leche testigos tipo A en los establos seleccionados tenían una acidez inicial de 14.75° Dornic la cual incrementó hasta valores de 18.25° Dornic en un período de 18 horas. En el caso de los establos que tenían muestras de leche testigos tipo B el valor de la acidez inicial fue de 15.5° Dornic incrementándose hasta 30.5° Dornic en un período de 18 horas. El período de 18 horas fue tomado arbitrariamente para ejemplificar las comparaciones de las variaciones.

En los resultados de las pruebas de tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM) se pudo observar que los valores iniciales de las muestras de leche tipo A testigos fueron de 8.8 horas decreciendo hasta 1.9 horas y las testigos tipo B fueron desde un valor inicial de TRAM de 8.8 horas decreciendo hasta menos de 0.25 horas (ó 15 minutos) después de un periodo de 18 horas de almacenamiento a temperatura ambiente.

En el recuento de coliformes totales para muestras de leche tipo A y B se observó que las muestras testigo de tipo A tuvieron valores iniciales desde menos de 40 ufc/ml incrementándose los recuentos hasta 17×10^4 ufc/ml en un período de 18 horas. Las muestras de mala calidad variaron desde recuentos menores a 40 ufc/ml hasta 16×10^5 ufc/ml en el mismo período de tiempo. Ambos valores finales se encuentran fuera de lo establecido por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) para leche cruda.

El crecimiento de coliformes en las primeras horas luego de activado el Sistema Lactoperoxidasa (LPS) fue lento en todas las muestras de leche llegando a registrarse tasas de crecimiento de 9 ufc/ml/hora en las muestras de buena calidad y de 28 ufc/ml/hora en las de mala calidad (Figura X)

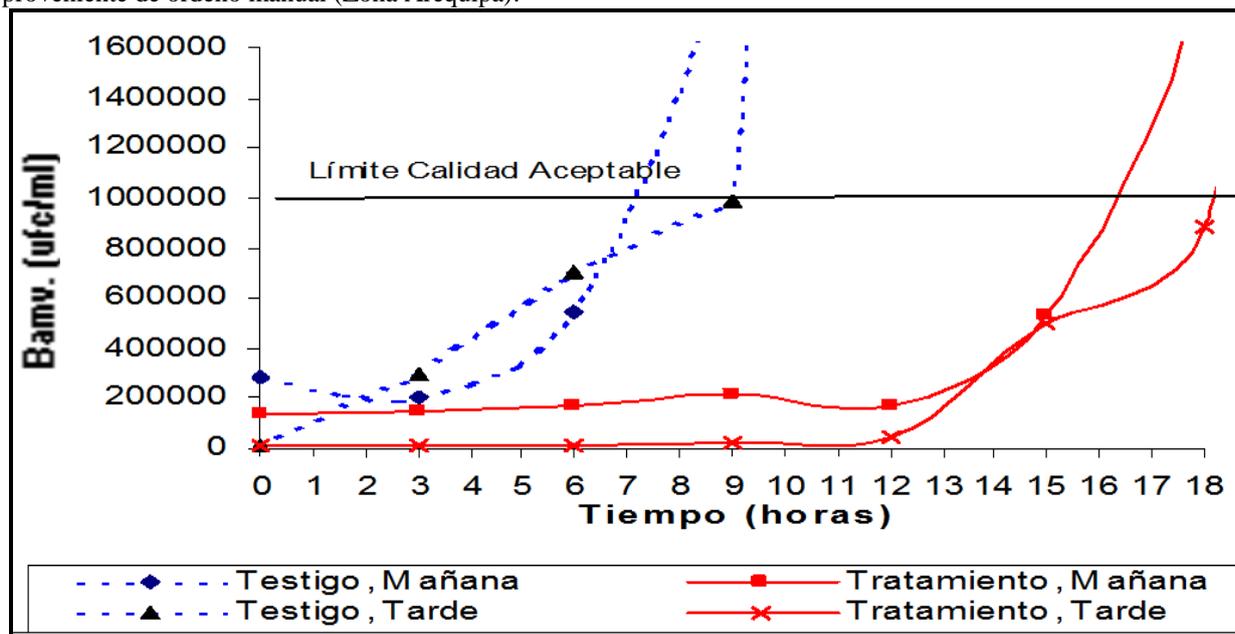
Figura X. Varación del recuento de califormes totales de muestras de leche tipo A proveniente de ordeño manual (Zona Arequipa).



En el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (b.a.m.v.) los recuentos iniciales de las muestras de leche testigos tipo A fueron de 15×10^4 ufc/ml incrementándose hasta 38×10^6 ufc/ml en 18 horas. Y para muestras de leche testigos tipo B tuvieron datos desde 26×10^4 ufc/ml hasta 62×10^6 ufc/ml en el mismo tiempo.

En todas las muestras tratadas se notó que el crecimiento de bacterias aerobias mesófilas viables fue mas lento que sus respectivas muestras testigo. Por ejemplo en las muestras de buena calidad (Figura Y) se nota que las curvas de crecimiento de las muestras testigo tiene una pendiente mucho mayor que las muestras con el tratamiento (LPS activo).

Figura Y. Variación del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (B.a.m.v) de muestras de leche tipo A proveniente de ordeño manual (Zona Arequipa).



En el Tabla 3 se muestra los tiempos de conservación de la leche cruda, obtenida con ordeño manual para los tratamientos y testigos de la zona de Arequipa

tomando como referencia los límites máximos especificados por la Norma Técnica Peruana para leche cruda NTP 202.001 (INDECOPI, 1998).

Tabla 3. Tiempos máximos de conservación de leche cruda (horas) en función de cada análisis en muestras provenientes de ordeño manual en la zona de Arequipa.

Calidad	Buena				Mala			
	Mañana		Tarde		Mañana		Tarde	
Horario	Testigo	Tratam.	Testigo	Tratam.	Testigo	Tratam.	Testigo	Tratam.
Acidez	17.76	26.29	14.92	19.23	10.81	18.37	8.38	11.68
TRAM ^a	12.36	19.74	10.95	19.26	9.89	17.73	6.97	10.39
Coliformes Tot	7.50	12.34	8.04	10.52	6.07	9.55	4.74	8.09
B.a.m.v. ^b	9.94	15.33	7.88	16.05	3.51	8.61	0.31	9.00

^a tiempo de reducción de azul de metileno

^b bacterias aerobias mesófilas viables.

En el cuadro anterior (Tabla 3) los tiempos que están en negritas son los máximos tiempos de conservación de las muestras de leche para cada combinación de factores teniendo en cuenta los requisitos de la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998). En este caso hay bastante diferencia en horas entre las muestras de leche testigos y tratamientos de la mañana y de la tarde tanto del tipo A como del tipo B. Y se debe a que los recuentos iniciales de tipo A y B tienen gran diferencia.

De acuerdo a estos resultados se puede decir que el LPS en una leche con menor carga microbiana (tipo A) tiene mayor tiempo de conservación que una leche con mayor carga microbiana (tipo B).

En el análisis de acidez láctica los factores de horario, calidad y tratamiento son significativos cada uno ($p < 0.05$). Esto quiere decir que los resultados tanto del horario de la mañana como de la tarde son diferentes, así también las muestras del tipo A con las del tipo B son diferentes y las muestras testigo con las de tratamiento son diferentes estadísticamente. En cuanto al horario de ordeño Walstra *et al.* (2000) menciona que algunas propiedades fisicoquímicas

varían: el porcentaje de contenido graso, el balance Na/K, etc.

En el análisis de acidez láctica, los resultados de la interacción de calidad con horario tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) es decir, que los valores de la leche tipo A del horario de la mañana son diferentes significativamente a las tipo A de la tarde, tipo B de la mañana y tipo B de la tarde.

En esta interacción, calidad con tratamiento, las muestras de leche tipo A testigo (16.34 horas de tiempo de conservación) presenta diferencias altamente significativas con las muestras de leche tipo A con tratamiento (22.76 horas) y las muestras de leche tipo B testigo (9.60 horas) como las muestra con tratamiento (10.03 horas). Se observó que los tiempos de conservación de las muestras de leche de la tarde fueron bastante prolongados debido posiblemente a las bajas temperaturas de la noche en esta zona.

En cuanto al análisis del TRAM los factores calidad, horario y tratamiento tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$). Además, las interacciones significativas han sido calidad con horario y calidad con tratamiento ($p < 0.05$).

En la interacción de los factores calidad con tratamiento de los resultados del TRAM tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$). Las muestras de leche tipo A con tratamiento versus las testigo se conservaron dentro del rango permitido por la norma técnica peruana 7.84 horas más, mientras que las muestras de leche tipo B con tratamiento versus las testigo solo conservaron 5.63 horas más.

Para el recuento de los coliformes totales los factores de calidad, horario y tratamiento explicaban significativamente los resultados ($p < 0.05$). Las dobles interacciones calidad con horario, calidad con tratamiento y horario con tratamiento presentaron diferencias alta significativas ($p < 0.05$).

El crecimiento de coliformes totales se pudo ver incrementado por la higiene del ambiente de ordeño. El polvo, barro, pelos, heces y manos del ordeñador transfieren microorganismos del tracto intestinal a las muestras de leche. El LPS es un sistema antibacterial teniendo un efecto bactericida en organismos gran negativos, catalasa positivos, esto es, *pseudomonas*, *coliformes*, *salmonellae* y *shigellae*, y bacteriostático para bacterias gram positivas, catalasa negativa, tal como estreptococos y lactobacilos (Wolfson, 1993).

Los resultados del factor tratamiento fueron significativos ($p < 0.05$) corroborando que la activación del Sistema Lactoperoxidasa (tratamiento) en comparación con sus respectivos testigos conservó por más tiempo las muestras de leche según el límite recomendado por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998).

La interacción de los factores calidad con tratamiento fue altamente significativa en la evaluación del recuento de coliformes totales. Se obtuvieron los tiempos de conservación de leche cruda en función del límite recomendado por la norma técnica peruana. En el caso de las muestras de leche tipo A la comparación de las de tratamiento versus las testigo resultó en 3.66 horas más de conservación; mientras que en el caso de las muestras de leche tipo B el resultado fue casi 3.41 horas más en la comparación de las de tratamiento versus las de testigo. En este caso las muestras de leche Tipo B tuvieron menor tiempo de conservación que las de tipo A debido al alto recuento inicial

La interacción de los factores horario con tratamiento en los resultados del recuento de coliformes totales fueron altamente significativos ($p < 0.01$). Las muestras de leche testigo del horario de la mañana tuvieron en promedio 6.79 horas de conservación y las muestras de leche con tratamiento del horario de la mañana tuvieron en promedio 10.95 horas. De la misma manera, las muestras de leche testigo del horario de la tarde tuvieron en promedio 6.39 horas de conservación y las muestras de leche con tratamiento del horario de la tarde tuvieron en promedio 8.82 horas. Se observó estas diferencias principalmente por los hábitos de higiene en el ordeño según la hora del día, fue así que en la tarde se descuidaba las buenas prácticas de ordeño.

En el recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (b.a.m.v.) los resultados de los factores calidad y

tratamiento presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Los resultados de la interacción de los factores calidad con tratamiento y calidad con horario presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$).

La interacción de los factores calidad con tratamiento en los resultados de b.a.m.v. presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0.05$). Las muestras de leche testigo tipo A tuvieron tiempos de conservación de 8.91 horas y las de testigo tipo B tuvieron valores de tiempo de conservación de 1.91 horas; las muestras de leche con tratamiento tipo A presentaron tiempos de conservación de 15.61 horas mientras que las muestras de leche con tratamiento tipo B solo de 8.35 horas. Las bajas temperaturas de la zona permiten tiempos de conservación bastante largos en las muestras de leche tipo A.

El tiempo de conservación de las muestras de leche a temperatura ambiente (15-20°C) independientemente de su calidad y del horario de ordeño sería de 5.41 horas para las muestras testigo y de 12.02 horas para las que tienen tratamiento teniendo en cuenta los requisitos establecidos por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) para leche cruda.

Zona: San Martín

En las evaluaciones fisicoquímicas de las muestras de leche tipo A y B referentes a acidez láctica, tomamos arbitrariamente un período de tiempo para efectos de comparación, se observó que los valores de la acidez láctica en las muestras de leche testigos se incrementaron desde 15.0° Dornic hasta 19.5° Dornic para las tipo A y desde 16.0° Dornic hasta 23.0° Dornic para las tipo B ambas en un período de 12 horas.

Ponce et al. (1992), menciona que en las experiencias realizadas ponen de relieve varios elementos de interés, como el efecto altamente beneficioso de la activación del Sistema Lactoperoxidasa en leche de muy mala calidad inicial. En leche ácida o muy cercana a la acidificación, la activación mejora el TRAM pero mantiene la alta acidez inicial, ya que en tales circunstancias es imposible eliminar el ácido láctico que se ha formado con anterioridad.

En los resultados de los valores de tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM) las muestras de leche testigos tipo A tuvieron valores iniciales de 6.8 horas decreciendo hasta valores de 1.8 horas. En las muestras de leche testigos tipo B los valores de TRAM decrecieron desde 7 horas hasta 0.05 horas (3 minutos), ambas en un período de 12 horas.

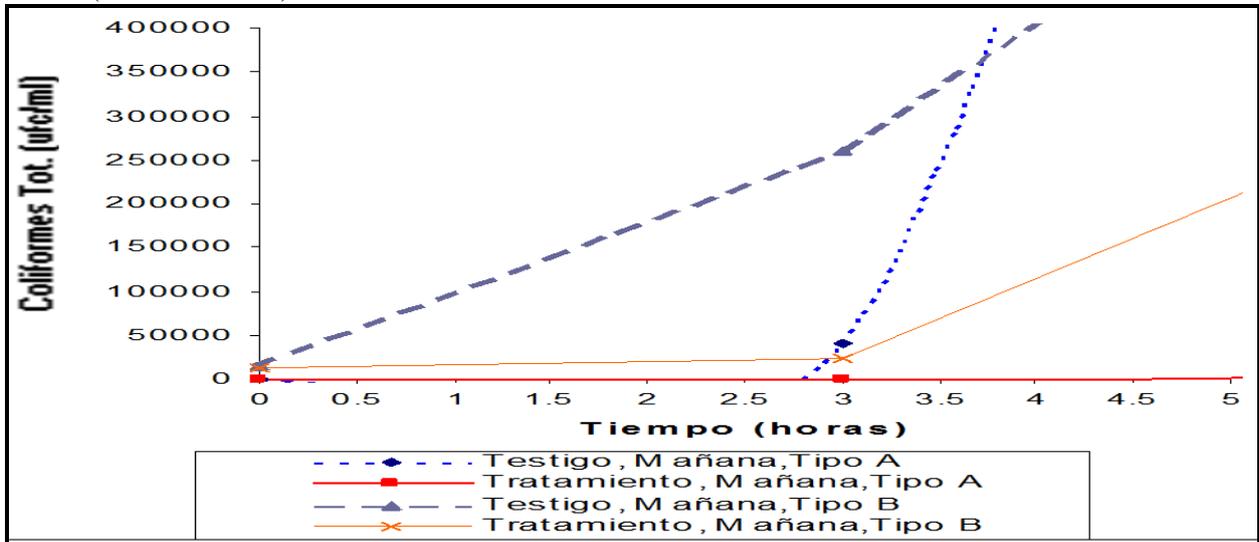
En los resultados del recuento de coliformes totales, las muestras de leche testigo tipo A comenzaron con una carga de 450 ufc/ml y llegaron hasta una carga final de 42×10^4 ufc/ml. También, la carga inicial de las muestras de leche testigo tipo B iniciaron con una carga de 14×10^3 ufc/ml. Este valor inicial excedió largamente el límite especificado por la Norma Técnica Peruana NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) que es de 1000 ufc/ml por tal razón el tiempo de conservación de las muestras de leche testigo tipo B a temperatura ambiente (28 – 32 °C) fue de 0 horas.

En el recuento de coliformes totales notamos que la carga inicial de las muestras de leche de mala calidad

parten con una carga de 14×10^3 ufc/ml, excediendo largamente el límite especificado por la Norma Técnica Peruana NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) que es de 1000 ufc/ml. Es por esa razón que el tiempo

de conservación en almacenamiento a temperatura ambiente en ese caso es 0 horas. La figura P nos muestra este ejemplo.

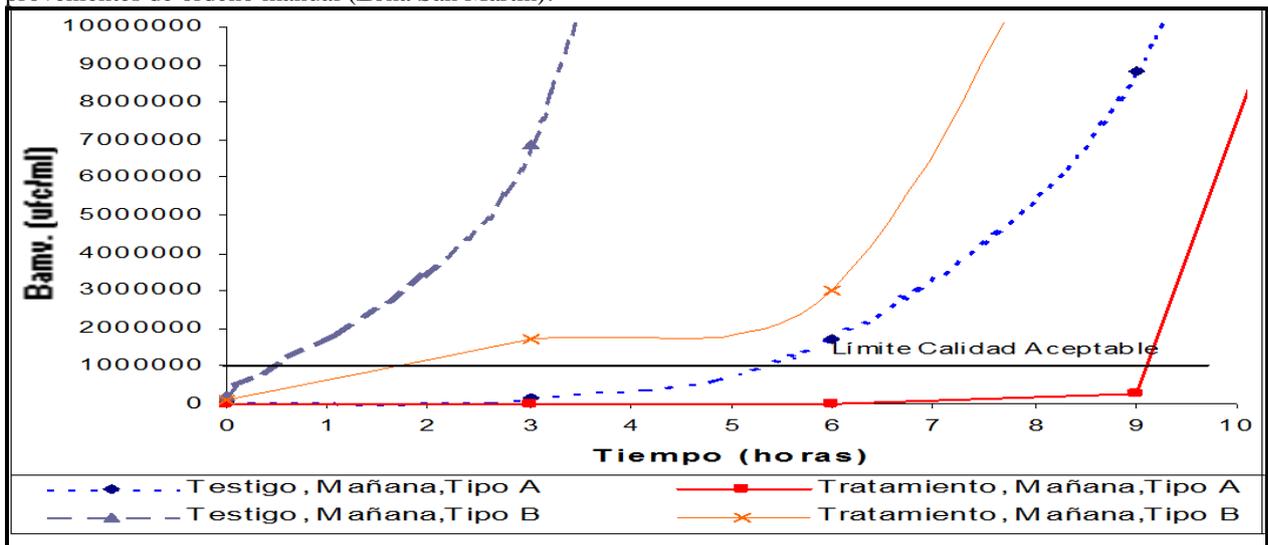
Figura P. Variación del recuento de coliformes totales en muestras de leche tipo A y B proveniente de ordeño manual (Zona San Martín).



En los resultados del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (b.a.m.v.) se observó que el valor inicial de las muestras de leche testigo tipo A se incrementó desde 56×10^3 ufc/ml hasta 30×10^6 ufc/ml y las muestras de leche testigo tipo B incrementaron sus recuentos desde 62×10^3 ufc/ml hasta 90×10^6 ufc/ml respectivamente, ambas en un período de 12 horas. Las muestras de leche con tratamiento tipo A incrementaron sus recuentos hasta 22×10^6 ufc/ml y

las muestras con tratamiento tipo B hasta 42×10^6 ufc/ml en un tiempo de 12 horas de almacenamiento. Los elevados recuentos tanto de coliformes como bacterias aerobias mesófilas viables se deben principalmente a la deficiente higiene que tiene el personal encargado del ordeño al realizar esta operación. En la figura Q observamos el desarrollo de las bacterias aerobias mesofilas viables

Figura Q. Variación del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables (B.a.m.v) en muestras de leche tipo A y B provenientes de ordeño manual (Zona San Martín).



En función de los resultados se determinaron los tiempos de conservación de la leche cruda, obtenida con ordeño manual para los tratamientos y testigos de la zona de San Martín tomando como referencia

los límites máximos especificados por la Norma Técnica Peruana para leche cruda. Estos resultados son presentados en el Tabla 4.

Tabla 4. Tiempos máximos de conservación de leche cruda (horas) para cada análisis en las muestras de leche de ordeño manual en la zona de San Martín.

Calidad	Buena		Mala	
Horario	Mañana		Mañana	
Análisis	Testigo	Tratamiento	Testigo	Tratamiento
Acidez	9.26	12.71	4.94	7.95
TRAM ^a	3.85	10.25	2.74	4.45
Coliformes Tot	0.40	2.81	0.00	0.00
B.a.m.v. ^b	5.52	9.87	0.92	3.45

^a tiempo de reducción de azul de metileno

^b bacterias aerobias mesófilas viables

En el Tabla 4 los tiempos que están en negritas son los máximos tiempos de conservación de las muestras de leche para cada combinación de factores teniendo en cuenta los requisitos de la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998). En este caso hay bastante diferencia en horas entre las muestras de leche testigos y tratamientos de la mañana y de la tarde tanto del tipo A como del tipo B. Y se debe a que los recuentos iniciales de tipo A y C tienen gran diferencia (Cuadro 18) sumado a esto, la elevada temperatura ambiente (28 – 32°C) favorece al rápido desarrollo de los microorganismos. En consecuencia, los tiempos de conservación de las muestras de leche son muy cortos.

En esta zona, la operación del ordeño no se desarrolla en las mejores condiciones higiénicas. La ICMSF (1983) dice que en los alimentos frescos o naturales de origen animal, la mayor parte de la *Enterobacteriaceae* proceden de contaminaciones de origen fecal y su presencia en gran número puede indicar una manipulación no higiénica y/o un almacenamiento inadecuado. Corroborándose esta información con los datos obtenidos en los análisis de recuento de coliformes totales. Del Tabla No 7 se observa que incluso una leche de buena calidad almacenada a temperatura ambiente, no demora más de media hora en exceder el límite máximo especificado por la Norma Técnica Peruana para leche cruda.

El análisis de acidez láctica nos muestra que la calidad de la leche influye significativamente ($p < 0.05$) en la acidez láctica, mientras que la interacción de los factores calidad con tratamiento no presentó diferencias significativas.

La comparación de los resultados de las muestras testigo y tratamiento tuvieron diferencias altamente significativas ($p < 0.05$) independientemente de la calidad, aunque los resultados de la interacción de la calidad con el tratamiento no la tuvieron.

Los factores calidad y tratamiento afectan significativamente a los resultados de la evaluación del tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM), además, los resultados de la interacción de la calidad con los testigos y tratamientos también tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$).

En la característica del TRAM, las muestras de leche tipo A con tratamiento versus testigo conservaron 6.40 horas más. En el caso de las muestras de leche tipo B con tratamiento versus testigo conservaron 1.71 horas más.

En el recuento de coliformes totales y recuento de bacterias aerobias mesófilas viables los factores de calidad y tratamiento presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los resultados evaluados.

En la evaluación del recuento de coliformes totales y recuento de bacterias aerobias mesófilas viables las interacciones de la calidad con tratamiento presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$).

En el caso del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables las muestras de leche testigo presentaron 0.92 horas de conservación y las muestras de leche con tratamiento tipo B presentaron 3.45 horas, sin embargo, estos datos no presentaron diferencias significativas por lo que no se puede afirmar que el tratamiento aumente el tiempo de conservación en las muestras de leche alta carga bacteriana inicial.

El tiempo de conservación de las muestras de leche testigo tipo A sería de 0.4 horas (24 minutos) y de 2.81 horas para las muestras de leche con tratamiento tipo A teniendo en cuenta los requisitos establecidos por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) para leche cruda.

El tiempo de conservación de las muestras de leche a temperatura ambiente (28–32°C) independientemente de su calidad sería de 0.2 horas para las muestras testigo y de 1.41 horas para las que tienen tratamiento teniendo en cuenta los requisitos establecidos por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) para leche cruda.

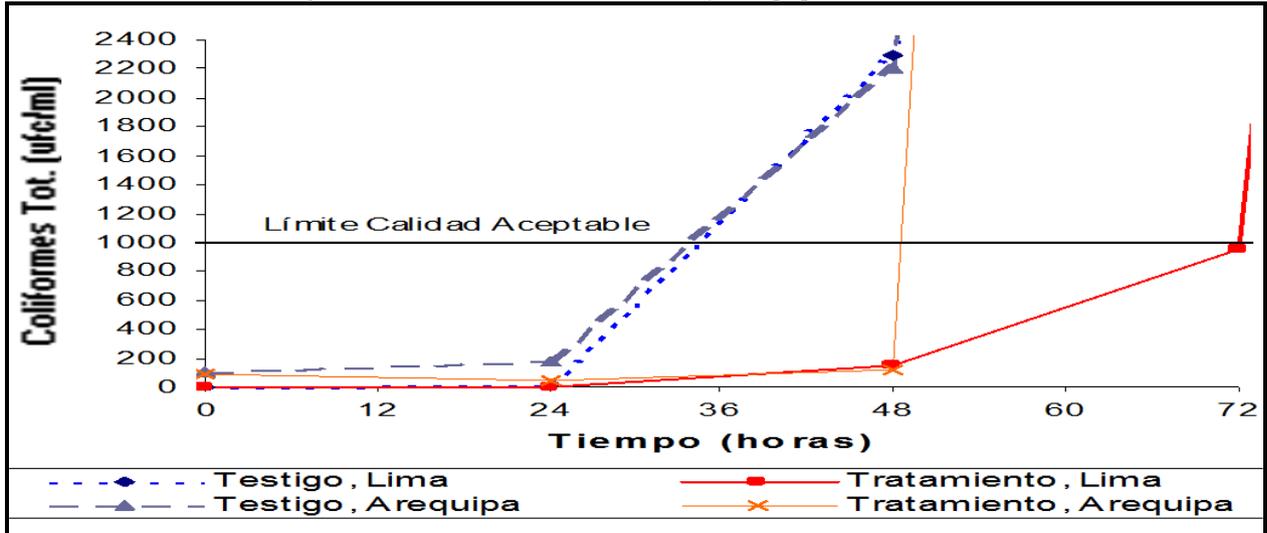
Ordeño Mecánico en Lima y Arequipa

En la acidez láctica inicial de las muestras de leche de la zona de Lima se incrementaron desde 15.5 ° Dornic hasta 22.5 ° Dornic. En la zona de Arequipa los valores iniciales aumentaron desde 14.7 ° Dornic hasta 24.75 ° Dornic, ambas muestras evaluadas en un período de 120 horas (5 días).

En el tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM) los valores iniciales variaron desde 8.17 horas hasta 0.1 horas (6 minutos) para la zona de Lima y desde 7.12 horas hasta 0.48 horas (28 minutos) en la zona de Arequipa.

En los resultados del recuento de coliformes totales se observó que las muestras testigo tipo A van desde 500 hasta 63×10^4 ufc/ml y las de tipo B desde 14×10^3 hasta 90×10^6 ufc/ml en un lapso de 12 horas. En las muestras tratamiento los valores de las muestras de leche tipo A se incrementaron desde 400 hasta 21×10^4 ufc/ml y las muestras tipo B desde 13×10^3 hasta 96×10^6 ufc/ml, ambas en un lapso de 12 horas. En la figura R podemos como se desarrollaron los coliformes en ambas zonas (Lima y Arequipa).

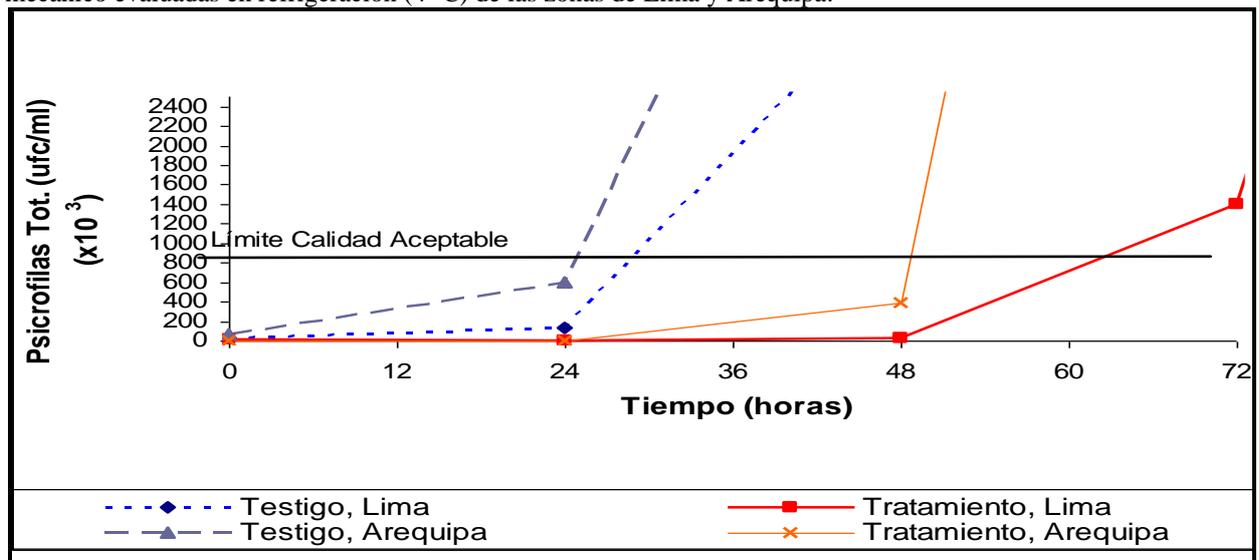
Figura R. Variación del recuento de califormes totales en muestras de leche tipo A proveniente de ordeño mecánico evaluadas en refrigeración (4 °C) de las zonas de Lima y Arequipa.



Los valores iniciales del recuento de bacterias psicrótrofas totales aumentaron desde 71×10^3 ufc/ml hasta 98×10^7 ufc/ml en un período de 120 horas en la zona de Lima y desde 31×10^3 ufc/ml hasta 24×10^7

ufc/ml en la zona de Arequipa en el mismo período de tiempo. En la Figura S podemos observar el efecto del tratamiento en el desarrollo de esta flora bacteriana.

Figura S. Variación del recuento de bacterias psicrófilas en muestras de leche tipo A proveniente de ordeño mecánico evaluadas en refrigeración (4 °C) de las zonas de Lima y Arequipa.



En el Tabla 5, se reportan los tiempos máximos de conservación de leche cruda en refrigeración

proveniente de establos con ordeño mecánico de la zona de Lima y Arequipa.

Tabla 5. Tiempos máximos de conservación de leche cruda (horas) para cada análisis en muestras provenientes de ordeño mecánico evaluadas en refrigeración de las zonas de Lima y Arequipa.

Zonas	Lima		Arequipa	
	Testigo	Tratamiento	Testigo	Tratamiento
Acidez	90.33	120.25	87.05	126.10
TRAM ^a	58.29	73.74	73.07	96.31
Coliformes Tot	54.41	69.22	35.17	47.95
Psicrotrofos Tot.	38.23	65.00	28.73	63.56

^a tiempo de reducción de azul de metileno.

En el Tabla 5 se muestra en negritas los tiempos de conservación de las muestras de leche en cada combinación. Se puede observar que tales tiempos de

conservación fueron definidas por los análisis del recuento de bacterias psicrótrofas.

En el análisis acidez láctica nos muestra que el factor tratamiento presenta diferencias significativas ($p < 0.05$). Asimismo, los resultados de la interacción de los factores zona con tratamiento presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$).

En la interacción de los factores zona con tratamiento los resultados de la acidez láctica presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Las muestras de leche testigo de Lima y Arequipa presentaron tiempos de conservación muy similares de 90.33 y 87.05 horas respectivamente. Las muestras de leche de la zona de Lima con tratamiento se conservaron por 120.05 horas en promedio y las muestras de leche tratadas de la zona de Arequipa por 126.10 horas.

En la variable del TRAM observamos que la interacción de los factores zona con tratamiento presentó diferencias significativas en sus resultados ($p < 0.05$), lo cual indica que a pesar que las muestras se han mantenido en la mismas condiciones de almacenamiento existen otros factores tales como alimentación, sexo, edad, etc, que influyen en el tiempo de conservación de las muestras de leche.

Los resultados del recuento de coliformes presentaron diferencias altamente significativas en la interacción de los factores de la zona y tratamiento ($p < 0.05$). Las muestras de leche de la zona de Arequipa, tanto de las muestras testigo como las que tenían tratamiento tuvieron tiempos de conservación de 35.17 y 47.95 horas. Las muestras de leche con tratamiento de la zona de Lima tuvieron tiempos de conservación de 69.22 horas.

Teniendo en cuenta que ambas zonas se evaluó en las mismas condiciones de temperatura, se deduce que las diferencias encontradas se pueden deber otros factores tales como: alimentación de ganado vacuno, época de lactancia, etc, que no se han considerado en este trabajo.

Los resultados reportados de las muestras de leche con tratamiento de la zona de Lima coinciden con los resultados reportados por Zajac *et al.* (1983) que mencionan que la activación del Sistema Lactoperoxidasa (LPS) extiende la vida en anaquel de la leche cruda de vaca a 10 °C por al menos 3 días.

El tiempo de conservación de leche cruda en refrigeración (4°C) independientemente de la zona de evaluación sería de 33.48 horas sin tratamiento de LPS y de 56.48 horas con tratamiento de LPS teniendo en cuenta los requisitos establecido por la NTP 202.001 (INDECOPI, 1998) para leche cruda.

Comparación de Ordeño Manual de la Zona de Lima, Arequipa y San Martín

Los resultados de las evaluaciones del tiempo de conservación de la leche cruda coinciden con las observaciones del manejo e importancia que se le da al ganado lechero en las tres zonas evaluadas.

En la zona de Lima se tiene gran tecnificación en los establos grandes, sin embargo, los pequeños ganaderos tienen poco conocimiento de las buenas prácticas de higiene en el ordeño.

Los ganaderos tanto grandes como pequeños de la zona de Arequipa son los que tienen mayor conocimiento y están más concientizados de la

importancia de las buenas prácticas de higiene en el ordeño así como de la influencia de esta en la calidad de la leche.

La zona de San Martín tiene una ganadería incipiente por lo que la mayoría de ganaderos no tiene mayor cultura de higiene. Tales observaciones coinciden con los resultados de coliformes totales de las tres zonas evaluadas. A esto se debe sumar que las temperaturas ambiente de las tres zonas son diferentes resultando en un menor tiempo de conservación la zona de San Martín.

De todas las variables analizadas la prueba de recuento de coliformes totales fue la que determinaba el tiempo de conservación pues el tiempo de conservación calculada en función de esta variable fue el menor.

Los factores zona, la calidad y tratamiento presentaron diferencias significativas en sus resultados ($p < 0.05$) de las pruebas de acidez láctica, tiempo de reducción de azul de metileno (TRAM), recuento de coliformes totales y el recuento de las bacterias aerobias mesófilas viables (b.a.m.v.). La interacción de los factores zona con tratamiento presentó efectos altamente significativos en los resultados de la evaluación del TRAM, recuento de coliformes totales y b.a.m.v.

En la interacción de los factores zona con tratamiento los resultados presentaron diferencias altamente significativas en la evaluación del recuento de coliformes totales. Los tiempos de conservación en orden fueron: Arequipa, tratamiento (10.95 horas), Arequipa, testigo (6.79 horas), Lima, tratamiento (5.54 horas), Lima, testigo (3.60 horas), San Martín, tratamiento (1.41 horas) y San Martín, testigo (0.2 horas).

Tales resultados coinciden con las temperaturas ambientes de cada lugar, Arequipa (10 – 13 °C), Lima (15 – 20 °C) y San Martín (28 – 32 °C). De tal manera se deduce que mejores tiempos de conservación se tuvo en la zona de Arequipa, luego Lima y San Martín.

4. Conclusiones

- Las muestras de leche cruda provenientes de la zona de Arequipa (temperatura ambiente de 15 a 20 °C), Lima (temperatura ambiente de 20 a 25 °C) y San Martín (temperatura ambiente entre de 28 a 30 °C) con tratamiento de activación del Sistema Lactoperoxidasa tuvieron diferencias altamente significativas en los tiempos de conservación al compararlas con las muestras sin tratamiento.
- En la zona de Lima, el tiempo de conservación a temperatura ambiente de la leche independientemente de su calidad inicial y del horario de ordeño es de 3.13 horas para el testigo y de 9.02 horas para el tratamiento.
- De las tres zonas evaluadas, en la zona de Arequipa se encontró los tiempos más prolongados de conservación de leche cruda a temperatura ambiente, independientemente de la calidad inicial y del horario de ordeño, fueron de 5.41 horas para el testigo y de 12.02 horas para el tratamiento.

- En la zona de San Martín, los tiempos de conservación a temperatura ambiente de las muestras de leche cruda testigo tipo A fue de 0.4 horas (24 minutos) y de 2.81 horas para el tratamiento.
- Los tiempos de conservación en refrigeración para las muestras de leche tipo A, proveniente de ordeño mecánico de las zonas de Lima y Arequipa fueron: Lima 38.23 horas para el testigo y 65 para el tratamiento; Arequipa 28.73 horas para el testigo y 63.56 horas para el tratamiento, presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) en el tiempo de conservación.

5. Referencias bibliográficas

- Bacteriological Analytical Manual 2001. Center for Food Safety & Applied Nutrition. United States Food & Drug Administration.
- Bjork, L., Claesson, O. y Schulthes, W. 1979. The lactoperoxidase / thiocyanate / hydrogen peroxide system as a temporary preservative for raw milk in developing countries. *Milchwissenschaft*, 34(12): 726 – 729.
- CAC/GL 13 – 1991. The Codex Alimentarius approved guideline © FAO, 2000.
- De la Cruz F. 1991. Determinación de la calidad sensorial de yogurt natural y/o saborizado mediante pruebas descriptivas. Tesis Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. Perú.
- Eck A. 1990. El queso. Ediciones Omega. Barcelona. España.
- FAO / OMS, 1991. Directrices para la conservación de la leche cruda mediante el sistema lactoperoxidasa.
- FAO. 2000. Manual sobre el uso de la lactoperoxidasa en la manipulación y la conservación de la leche. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Italia.
- Harnulv, B. G & Kandasamy, V. C. 1982. Increasing the keeping quality of milk by activation of its lactoperoxidase system. *Milchwissenschaft*, 37:8-15
- IDF 1983. Dictionary of dairy terminology. 1 vol. Elsevier ed. Amsterdam.
- INDECOPI 1998. NTP 202.116. LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Leche Cruda. Determinación de acidez de la leche. Método volumétrico.
- INDECOPI 1998. NTP 202.151. LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Queso fresco. Determinación de acidez del queso. Método volumétrico.
- INDECOPI 1998. NTP 202.014. LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Leche Cruda. Ensayo de reductasa o de azul de metileno. 2ª Edición. Reemplaza a la NTP 202.008:1981
- INDECOPI 1998. NTP 202.001. LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Leche Cruda. Requisitos fisicoquímicos y microbiológicos.
- INDECOPI 1998. NTP 202.088. LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Queso. Ensayos Microbiológicos. Determinación del número de coliformes.
- International Dairy Federation 1990. International IDF Standard 94B:1990. Milk Products. Numeration of Yeasts & Moulds. Colony Count Technique at 25 °C.
- Madrid A. 1996. Curso de industrias lácteas. Mundi Prensa Libros S. A. Madrid. España.
- Pimentel E. 1994. Caracterización de la ganadería lechera del Proyecto Majes. Tesis Ingeniero Zootecnista. UNALM. Lima. Perú.
- Ponce, P. López, M. G. y Martínez, E. 1987. Conservación de leche cruda mediante la activación del sistema lactoperoxidasa /tiocianato/peróxido de hidrogeno. *Rev. Salud Animal* 9:120-128
- Porter J. 1983. Leche y productos lácteos. Editorial Acribia. Zaragoza. España
- Robinson R. 1987. Microbiología lactológica. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España.
- Santos A. 1996. Leche y sus derivados. Editorial Trillas S.A. México. México.
- Spreer E. 1975. Lactología industrial. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- Ugarte K. 1995. Efecto del cuajo enzimático microbiano y genético en la calidad y conservación del queso fresco. Tesis Ing. Industrias alimentarias. UNALM. Lima. Perú.
- Valenza J. 1991. Caracterización de la ganadería lechera del sur III Arequipa (Campaña y la subcuena del río Majes), Moquegua (Provincia Gral. Sánchez Cerro). Tesis Ing Zootecnista. UNALM. Lima. Perú.
- Varnam H. y Sutherland J. 1995. Leche y productos lácteos. Tecnología química y microbiología. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- Veisseyre R. 1972. Lactología Técnica. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- Walstra P., Geurts T., Noomen A., Jellema A. y van Boekel M. 2000. Ciencia de los productos lácteos. Editorial Acribia S. A. Zaragoza. España