

# DIRECTRICES PARA LA CONSERVACIÓN DE LA LECHE CRUDA MEDIANTE LA APLICACIÓN DEL SISTEMA DE LA LACTOPEROXIDASA

CAC/GL 13-1991

## INTRODUCCIÓN

La leche es una materia prima fácilmente perecedera. Las bacterias que la contaminan pueden multiplicarse rápidamente y hacerla no apta para la elaboración ni para el consumo humano. El desarrollo de las bacterias puede retrasarse mediante la refrigeración, que reduce la velocidad del deterioro. En ciertas condiciones, puede ser imposible aplicar la refrigeración por razones económicas y/o técnicas. Las dificultades para aplicar la refrigeración constituyen un problema especial en ciertas zonas de países en los cuales la producción lechera es incipiente o se halla en expansión. En tales situaciones, es conveniente tener la posibilidad de recurrir a un método diferente de la refrigeración para retrasar el desarrollo de las bacterias en la leche cruda durante la recogida y el transporte de la leche a las plantas de elaboración.

En 1967, el Cuadro FAO/OMS de Expertos en la Calidad de la Leche llegó a la conclusión de que el empleo de peróxido de hidrógeno tal vez fuera una alternativa aceptable en las primeras fases de desarrollo de una industria lechera organizada, siempre y cuando se cumplieran ciertas condiciones. No obstante, este método no ha obtenido la aceptación general, porque presenta varias desventajas, la más importante de las cuales es la dificultad de controlar su utilización; puede utilizarse a veces para ocultar la calidad inferior de la leche producida en condiciones de higiene deficientes. También se han planteado los aspectos toxicológicos que lleva consigo el empleo de concentraciones relativamente elevadas de peróxido de hidrógeno en la leche.

Con todo, en ciertas condiciones constituiría una ventaja el poder aplicar un método químico para conservar la leche y por ello se ha seguido investigando en esa dirección. Recientemente, los estudios se han centrado en los sistemas antibacterianos naturales de la leche con miras a determinar si pueden utilizarse para conservar la leche cruda. En el último decenio, la investigación pura y aplicada ha demostrado que uno de esos sistemas, el de la lactoperoxidasa/tiocianato/peróxido de hidrógeno (sistema LP), puede dar buenos resultados.

## 1. AMBITO DE APLICACIÓN

- 1.1 El presente Código de Prácticas describe la utilización del sistema de la lactoperoxidasa para prevenir el deterioro de la leche cruda (de bovino y búfalo) por acción de las bacterias durante la recogida y el transporte a la central lechera. El Código expone los principios del método, describe las situaciones en que puede utilizarse, sus aplicaciones prácticas y la manera de ejercer un control. Cabe recalcar que este método debe utilizarse únicamente cuando no sea viable la refrigeración de la leche cruda.

## 2. PRINCIPIOS DEL MÉTODO

- 2.1 El método de la lactoperoxidasa/tiocianato/peróxido de hidrógeno es un sistema antibacteriano natural presente en la leche y en la saliva humana. La enzima lactoperoxidasa se halla en la leche de bovino y búfalo en concentraciones relativamente elevadas. Puede oxidar los iones de tiocianato en presencia del peróxido de hidrógeno. Esta reacción permite convertir el tiocianato en ácido hipotiocianoso (HOSCN). Con el pH de la leche, el HOSCN se disocia y se presenta principalmente en forma de iones de hipotiocianato (OSCN<sup>-</sup>). Este reacciona específicamente con los grupos de sulfhidrilos libres, inactivando así varias enzimas vitales para el metabolismo bacteriano y, en consecuencia, obstaculizando éste y la capacidad reproductora de las bacterias. Como las proteínas de la leche contienen muy pocos grupos de sulfhidrilos y los que se hallan presentes son relativamente inaccesibles al OSCN<sup>-</sup> (enmascarado), la reacción de este compuesto en la leche es bastante específica y combate las bacterias presentes en la leche.
- 2.2 El efecto antibacteriano depende de la especie y la cepa. Cuando la leche cruda tiene una flora mixta en la que predominan las bacterias mesófilas, el efecto es bacteriostático, (es decir, principalmente inhibidor). En presencia de algunas bacterias gram-negativas, por ejemplo, *Pseudomonas* o *Escherichia coli*, el efecto es bactericida. Dado el efecto principalmente bacteriostático del sistema, la aplicación de este método no permite ocultar la calidad inferior de la leche cuando ésta se halla contaminada ya por numerosas bacterias.
- 2.3 Los productos de la oxidación antibacteriana del tiocianato no son estables en un medio con un pH neutro. Dichos productos se descomponen espontáneamente en iones de tiocianato. La velocidad de la reacción depende de la temperatura, es decir, es más rápida a temperaturas más elevadas. La pasteurización de la leche elimina todos los productos activos remanentes de la oxidación.
- 2.4 La oxidación del tiocianato es limitada en la leche fuera de la ubre. No obstante, ésta puede iniciarse mediante la adición de pequeñas concentraciones de peróxido de hidrógeno (véase la sección 4). Las elevadas concentraciones de peróxido de hidrógeno utilizadas para conservar la leche (300-800 ppm) destruyen la enzima lactoperoxidasa e impiden la oxidación del tiocianato. Con este método, el efecto antibacteriano se debe al peróxido de hidrógeno.
- 2.5 El efecto antibacteriano del sistema LP es, dentro de ciertos límites, proporcional a la concentración de tiocianato en la leche (siempre y cuando haya una concentración molar equivalente de peróxido de hidrógeno). El nivel de tiocianato en la leche depende de la alimentación de los animales, y por lo mismo, es variable. En consecuencia, para dar al método una aplicación práctica es necesario añadir algo de tiocianato, a fin de que la leche tenga el nivel necesario para obtener el efecto deseado.
- 2.6 Los niveles de tiocianato resultantes de este tratamiento no son superiores a los niveles fisiológicos presentes en la leche en ciertas circunstancias y con ciertos regímenes de alimentación. Además, son muy inferiores a los niveles de tiocianato existentes en la

saliva humana y en ciertas hortalizas corrientes, por ejemplo, las coles y coliflores. Por otra parte, los resultados de la experimentación clínica demuestran claramente que la leche tratada con este método no interfiere en absoluto en la absorción de yodo por la glándula tiroidea, como se ha comprobado en personas con niveles normales de yodo y en personas con deficiencia de yodo.

### 3. APLICACIONES PREVISTAS DEL MÉTODO

- 3.1 El método debe utilizarse solamente en situaciones en las cuales, por razones técnicas, económicas y/o prácticas, no se pueden utilizar instalaciones de enfriamiento para mantener la calidad de la leche cruda. En los lugares donde hay una infraestructura insuficiente para la recogida de la leche líquida, la utilización del sistema-LP permitiría producir una leche inocua y saludable, lo que de otra manera sería prácticamente imposible.
- 3.2 El método no debe ser utilizado individualmente por el granjero, sino en un centro o punto idóneo de recogida. Estos centros deben estar equipados con instalaciones adecuadas para limpiar y asegurar las condiciones de salubridad de los vehículos empleados para conservar y transportar la leche.
- 3.3 El personal encargado de la recogida de la leche es quien debería ocuparse del tratamiento de la misma. Debe darse a ese personal una capacitación apropiada, incluida una capacitación en materia de higiene general de la leche, para que pueda cumplir con su cometido en forma correcta.
- 3.4 La central que reciba la leche tratada mediante la aplicación del sistema de la lactoperoxidasa durante la recogida debe comprobar que el mismo se haya aplicado en la forma debida. Esta planta debe establecer métodos de control apropiados (véase la sección 5) para verificar la aplicación del método, la calidad de la leche cruda y la calidad de la leche antes de la elaboración.
- 3.5 El método debe utilizarse principalmente para impedir la multiplicación indebida de bacterias en la leche cruda durante la recogida y el transporte a la planta de elaboración de la leche en las condiciones estipuladas en el apartado 3.1. El efecto inhibitor del tratamiento depende de la temperatura de la leche almacenada y los experimentos realizados en laboratorio y en el campo en diferentes países con leche cruda de buena calidad higiénica inicial han arrojado los siguientes tiempos:

Temperatura, en °C	Tiempo, en horas
30	7-8
25	11-12
20	16-17
15	24-26

- 3.6 La aplicación del método de la lactoperoxidasa no excluye la necesidad de pasteurizar la leche antes de destinarla al consumo humano. Tampoco excluye la necesidad de tomar las precauciones normales y seguir las rutinas de manipulación aplicadas para asegurar una buena calidad higiénica de la leche cruda.

#### **4. APLICACIÓN PRACTICA DEL MÉTODO**

- 4.1 Para obtener el efecto antibacteriano señalado más arriba, puede activarse el sistema de la lactoperoxidasa en la leche cruda mediante la adición de tiocianato en forma de tiocianato de sodio y peróxido de hidrógeno en forma de percarbonato de sodio siguiendo el procedimiento que se indica a continuación:
- Se añaden 14 mg de NaSCN por cada litro de leche. La leche debe luego mezclarse con un instrumento limpio durante aproximadamente un minuto, para asegurar una distribución uniforme del SCN<sup>-</sup>.
  - Luego, se añaden 30 mg de percarbonato de sodio por litro de leche. La leche se revuelve durante otros dos o tres minutos para asegurar que el percarbonato de sodio se haya disuelto completamente y el peróxido de hidrógeno esté distribuido uniformemente en la leche.
- 4.2 Es fundamental que el tiocianato de sodio y el percarbonato de sodio se añadan en el orden indicado antes. La reacción enzimática comienza en la leche cuando se añade el peróxido de hidrógeno (percarbonato de sodio). La reacción termina a los cinco minutos de haberse añadido el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, después de lo cual ya no queda más peróxido de hidrógeno en la leche.
- 4.3 La activación del sistema de la lactoperoxidasa debe comenzar en el plazo de dos o tres horas después del ordeño.
- 4.4 El tiocianato de sodio y el percarbonato de sodio deberán distribuirse al centro o punto de recolección en envases previamente medidos para tratar un determinado volumen de leche, por ejemplo 40 ó 50 litros, en cantidades suficientes para unas pocas semanas por vez. Las especificaciones técnicas del tiocianato y el percarbonato de sodio que deben seguirse se indican en los Apéndices I y II.

#### **5. CONTROL DEL USO**

- 5.1 La planta lechera que recibe la leche deberá controlar que el sistema de la lactoperoxidasa para conservar la leche cruda haya sido aplicado correctamente. Para ello, deben combinarse las pruebas de aceptación utilizadas corrientemente, por ejemplo, la de la acidez titulable, del azul de metileno, de la resazurina, del recuento viable total y análisis de la concentración de tiocianato en la leche. Dado que el tiocianato no se consume en la reacción, la leche tratada que llega a la planta lechera contendrá aproximadamente 10 mg en exceso de la cantidad natural de tiocianato (esta última puede determinarse analizando una muestra de leche no tratada proveniente de la misma zona) por cada litro de leche. El método analítico para determinar el SCN<sup>-</sup> se describe en el Apéndice

III. Las pruebas deben hacerse al azar. Si la concentración de tiocianato es demasiado elevada (o demasiado baja) debe hacerse una investigación para determinar por qué esa concentración es diferente de las especificaciones. La planta de elaboración lechera deberá encargarse también del control de las sustancias químicas que se utilizarán en el centro de recogida para activar el sistema de la lactoperoxidasa.

- 5.2 Deben efectuarse asimismo análisis para determinar la calidad bacteriológica de la leche (con azul de metileno, resazurina, recuento total en placa) para asegurar que no se han descuidado las normas de higiene. Dado que los efectos del sistema son predominantemente bacteriostáticos, las pruebas pueden revelar la presencia inicial de una población bacteriana numerosa en la leche.

## APÉNDICE I

### ESPECIFICACIONES TÉCNICAS PARA EL TIOCIANATO DE SODIO

#### Definición

Nombre químico	Tiocianato de sodio
Fórmula química	NaSCN
Peso molecular	81,1
Pureza	98-99 %
Humedad	1-2 %

#### Impurezas (de conformidad con las especificaciones del JECFA\*)

Metales pesados (como Pb)	< 2 ppm
Sulfatos (SO <sub>4</sub> )	< 50 ppm
Azufre (S)	< 10 ppm

\* Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios.

## APÉNDICE II

### ESPECIFICACIONES TÉCNICAS PARA EL PERCARBONATO DE SODIO

#### Definición

Nombre químico	Percarbonato de sodio (*)
Fórmula química	2Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ·3H <sub>2</sub> O
Peso molecular	314,0
Pureza	85 %

El percarbonato de sodio disponible en el comercio que se recomienda utilizar tiene las especificaciones siguientes:

Peroxidrato carbonato sódico	> 85 %
Metales pesados (como Pb)	< 10 ppm
Arsénico (como As)	< 3 ppm

\* Quien desee información acerca de dónde puede obtenerse comercialmente el percarbonato sódico debe dirigirse a la Secretaría general de la FIL, 41 Square Vergote, B-1040 Bruselas, Bélgica.

## APÉNDICE III

### ANÁLISIS DEL TIOCIANATO EN LA LECHE

#### Principio

Puede determinarse la presencia de tiocianato en la leche después de la desproteización con ácido tricloroacético (TCA), como el complejo férrico, midiendo la absorbancia a 460 nm. El nivel mínimo de detección con este método es de 1 a 2 ppm de SCN<sup>-</sup>.

#### Reactivos en solución

1. Acido tricloroacético al 20 %, (peso/volumen); se disuelven 20 g de TCA en 100 ml de agua destilada y filtrada.
2. Reactivo de nitrato férrico: se disuelven 16,0 g  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  en 50 ml de 2 M  $\text{HNO}_3$ \* y luego se diluyen con agua destilada hasta obtenerse 100 ml. La solución debe conservarse en un lugar oscuro y frío.

\* Se obtiene 2 M  $\text{HNO}_3$  diluyendo 138,5 ml de  $\text{HNO}_3$  al 65 % con agua destilada hasta obtener 1 000 ml.

#### Determinación

Se mezclan 4,0 ml de leche con 2,0 ml de solución de TCA al 20 %. Se mezcla bien y luego se deja reposar al menos 30 minutos. A continuación se hace pasar a través de un filtro de papel apropiado (Whatman N° 40). Se mezclan luego 1,5 ml del filtrado claro con 1,5 ml del reactivo de nitrato férrico y se mide la absorbancia a 460 nm. La medición debe efectuarse en el plazo de 10 minutos después de haberse añadido la solución de nitrato férrico, porque el complejo coloreado no es estable durante más tiempo. Luego se determina la concentración de tiocianato comparándola con soluciones normales de la concentración conocida de tiocianato, por ejemplo, 10, 15, 20 y 30 µg/ml de tiocianato.