

# EVALUACIÓN DE UN ACTIVADOR DEL SISTEMA LACTOPEROXIDASA EN LECHE SIN REFRIGERAR RECOLECTADA DE PEQUEÑOS PRODUCTORES

## Evaluation of an of Lacto-Peroxidase System Activator in Milk Without Refrigeration on Small Dairy Farms

*Néstor Sepúlveda, Alicia Muñoz y Reinaldo Jara*

*Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, CEBIOR, Universidad de La Frontera, Casilla 54-D. Temuco, Chile. E-mail: nestor@ufro.cl*

### RESUMEN

La investigación se realizó en el Centro de Acopio Lechero del sector Mune Alto, comuna de Pitrufrquén, IX región, Chile. Los objetivos de éste estudio fueron evaluar el efecto de la aplicación de un activador del Sistema Lactoperoxidasa compuesto por 700 tiocina de sodio y 1,7 grs de percarbonato de sodio. (Sistema LP), sobre el crecimiento bacteriano en leche entregada por los pequeños productores asociados al Centro de Acopio y mantenida a temperaturas ambientales durante la época de verano por 12 y 15 horas; evaluar la reactivación del sistema lactoperoxidasa luego de 8 horas y evaluar el activador del sistema lactoperoxidasa, bajo las condiciones de calidad higiénica exigidas por la industria lechera en Chile. Para evaluar el efecto del activador del Sistema LP, se seleccionaron al azar dos tarros de leche fresca recién ordeñada de 50 litros cada uno. Una vez homogenizado su contenido, esta mezcla se dividió nuevamente en dos tarros de 50 litros, que conformaron la leche cruda (LC), sin aplicación del activador y la leche tratada (LT), con aplicación del activador, procedimiento que se repitió en nueve oportunidades. Para evaluar el efecto de la reactivación del Sistema LP, se utilizó el mismo procedimiento anterior, homogenizando la leche de tres tarros, conformando la LC, sin aplicación del activador; la LT1, con aplicación del activador; y la LT2, con aplicación del activador y una segunda dosis de percarbonato de sodio a las 8 horas de almacenamiento. De todos los tarros de leche se obtuvieron muestras, a los distintos tiempos determinados para el estudio, las cuales fueron sometidas a análisis de recuentos bacterianos, presencia de inhibidores y peróxidos. Los resultados obtenidos muestran diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) en el incremento de recuentos bacterianos entre la

LC y LT al cabo de 12 horas de almacenamiento de la leche fresca a temperatura ambiente. La reactivación del Sistema LP, no muestra diferencias estadísticas significativas en el desarrollo de las cargas bacterianas entre el LT1 y LT2 ( $P > 0,05$ ), a las 15 horas de almacenamiento de la leche fresca a temperatura ambiente, pero sí entre estos dos y el LC ( $P < 0,05$ ). La utilización del activador del Sistema LP no fue detectado en las pruebas realizadas comúnmente por la industria, para detectar inhibidores y peróxidos, por lo que no puede considerarse como un agente adulterante de la leche. Se concluye, que si bien el activador del Sistema LP inhibe el desarrollo microbiano alcanzando recuentos bacterianos más bajos que en leches no activadas, esto no sería suficiente para alcanzar los estándares de calidad exigidos en el país.

**Palabras clave:** Calidad de leche, conservación de leche, recuentos bacterianos, lactoperoxidasa.

### ABSTRACT

Research was conducted from January to April 1998 in the "Centro Acopio Lechero Mune Alto", in Pitrufrquén, Region IX, in Chile. The objectives of the study was to evaluate the effect of an activator of a Lacto-peroxidase System (composed of 700 mg of sodium thiocyanate and 1.7 gr of sodium percarbonate) on bacteria growing in milk obtained during the summertime from small dairy farmers. The activation of the Lacto-peroxidase System was measured in milk conserved at room temperature during 12-15 hrs. in summertime. The Lacto-peroxidase System was evaluated after 8 hours under the hygienic conditions stipulated by the Chilean milk industry. 100 lt. of fresh milk were homogenized and divided in two milk containers (50 lt. each). The activator of Lacto-peroxidase System (LPS) was incorporated in one container (treated milk = LT) and the other container was the control (control milk = LC). This procedure was

repeated nine times. A second trial was conducted to evaluate the effect of the reactivation of the LPS. 150 lt. of fresh milk was placed into three milk containers; the control (LC) without activator LPS; a container in which LPS (LT1) activator was added; and a third container with LPS activator plus a second dose of sodium percarbonate eight hours after (LT2). Milk samples were obtained at different intervals from all the containers for analysis of bacterial count, presence of inhibitors and peroxide levels. Results show statistical differences ( $P < 0.05$ ) in the enhancement of bacterial counts between LC y LT after 12 hrs of storage, with increments in the function of basal value of 69.4 and 22.5 times respectively. The reactivation of LPS does not show significant differences ( $P > 0.05$ ) at 15 hrs of storage between LT1 and LT2 in bacterial concentration, however, both were significantly lower ( $P < 0.05$ ) compared with LC. Inhibitors and peroxides were not detected in either experiments. The use of the LP system activator was not detected in common tests applied by the milk industry for the detection of inhibitors and peroxides, and for this reason it cannot be considered as a adulterating agent in milk. The conclusion is that even the LP system activator inhibits the micro-bacterial growth, it is not sufficient in order to reach quality standards required in the country.

**Key words:** Milk quality, milk preservation, bacterial recounts, lacto-peroxidase.

## INTRODUCCIÓN

En muchos países de América Latina se ha estudiado y empleado la activación del Sistema Lactoperoxidasa (sistema lactoperoxidasa-tiocianato-peróxido de hidrógeno) en la leche con el propósito de evitar su deterioro, producir un efecto preservativo y reducir la flora bacteriana [2]. Harnulv y Kandasamy [4], explican que el Sistema Lactoperoxidasa (LP) consiste en la oxidación de los iones tiocianato por la acción de la enzima lactoperoxidasa en presencia de peróxido de hidrógeno y la consecuente acción de dichos iones oxidados sobre las bacterias presentes en la leche. La enzima lactoperoxidasa es un componente natural del suero lácteo [8], se encuentra en la leche en cantidades variables entre 10-40  $\mu\text{g/mL}$ , dependiendo de la especie de mamíferos y el estado fisiológico de la lactación. La fuente fundamental del tiocianato se origina de la propia transformación de los alimentos [8], encontrándose en altas concentraciones en el jugo gástrico, saliva y otros fluidos de los animales superiores incluido los rumiantes y el hombre. Los peróxidos son producidos por los sistemas enzimáticos del tejido mamario y también por los leucocitos [8], que generan peróxidos y superóxidos en pequeñas cantidades.

Ultimamente se ha desarrollado en forma comercial un activador del sistema lactoperoxidasa para ser utilizado en leche, este producto se emplea para el mantenimiento de la calidad de la leche cruda en condiciones del trópico, contribuyendo a potenciar el efecto biológico natural al adicionar cantidades extras de peróxido y tiocianato [9].

En Chile existen pocos antecedentes sobre el uso de este método y como una forma de entregar mayores antecedentes al respecto se realizó la siguiente investigación, cuyos objetivos fueron los siguientes:

1. Evaluar el efecto del activador del Sistema LP, sobre el crecimiento bacteriano en leche producida por pequeños productores lecheros y almacenada a temperatura ambiente.
2. Mediante una segunda dosis de percarbonato de sodio, evaluar la reactivación del Sistema LP sobre el crecimiento bacteriano en leche almacenada a temperatura ambiente.
3. Evaluar el efecto del activador del Sistema LP bajo las condiciones de calidad higiénica exigidas por la industria lechera en Chile.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Acopio Lechero (CAL) "Mune Alto", comuna de Pitrufrquén, región de la Araucanía, Chile, ( $38^{\circ}46'$  latitud sur y  $75^{\circ}19'$  longitud este y a 160 m.s.n.m.), ubicada en una zona templada con influencia mediterránea con temperaturas medias de  $12^{\circ}\text{C}$  y una precipitación anual de 1.500 mm.

El CAL lo constituyen 50 pequeños productores de leche que en su conjunto acopian una producción de aproximadamente 1.300.000 litros de leche por año. Estos ganaderos mantienen rebaños de 5 a 20 vacas lecheras en su mayoría de raza Frisona, caracterizándose por tener una alta estacionalidad de producción en los meses de primavera-verano y sólo un 40% de ellos cuentan con ordeño mecánico [3].

La activación del Sistema LP se realizó con el producto comercial, STABILAK®. Cada dosis de este producto está constituida por dos formulaciones: Stabilak 1 y Stabilak 2. El Stabilak 1 está formulado en tabletas, cada una de 700 mg de tiocianato de sodio ( $\text{NaSCN}$ ), dosis que se aplica en 50 lts de leche. El Stabilak 2, se presenta en un sobre como polvo, constituido por 1,7 gr de percarbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}_2$ ), cada sobre se aplica sobre 50 lts de leche.

Con el fin de evaluar el efecto de la adición de este activador del Sistema LP fueron realizadas 2 experiencias:

### Experiencia 1

Evaluación del activador del sistema lactoperoxidasa aplicado sobre leche cruda mantenida a temperatura ambiente por doce horas.

De la recolección de los tarros lecheros realizada diariamente en el CAL, fueron seleccionados al azar dos tarros de leche 50 l. cada uno, negativos a la prueba del alcohol a 70% v/v. La leche de los dos tarros fue mezclada, homogeneizada y posteriormente fue dividida nuevamente en dos tarros de 50 l. Uno de los tarros correspondió al control (leche control = LC) y al otro tarro (leche tratada = LT), se adicionó el producto acti-

vador del Sistema LP (STABILAK®). La operación se realizó de la siguiente forma: se adicionó primero el tiocianato de sodio y luego se agita la leche por 3 minutos, posteriormente se adicionó el percarbonato de sodio volviendo a agitar la leche por otros 3 minutos. Una vez adicionado el activador Sistema LP se obtuvo una muestra para determinar la carga bacteriana (hora 0) y una segunda muestra de cada uno de los toros, para medir la presencia de inhibidores y peróxidos. Ambos tarros fueron dejados a temperatura ambiente por 12 horas, luego de las cuales se tomaron nuevas muestras para evaluar inhibidores, peróxidos y carga bacteriana final (hora 12). Toda esta operación fue repetida en nueve oportunidades.

### Experiencia 2

Evaluación de la reactivación del sistema lactoperoxidasa en leche cruda mantenida a temperatura ambiente por 15 horas.

De la misma forma que en la experiencia 1, se seleccionaron al azar tres tarros de leche recién ordeñada cada uno de 50 l. negativos a la prueba del alcohol 70% v/v, los cuales fueron mezclados y divididos nuevamente en tres tarros de 50 l. Uno de los tarros correspondió al control (LC), y a dos de ellos, identificados como leche tratada 1 (LT1) y leche tratada 2 (LT2) se adicionó el producto activador del sistema lactoperoxidasa, utilizando el mismo procedimiento que en la experiencia anterior. Al cabo de 8 horas, se adicionó al tarro identificado como leche tratada 2 (LT2), una segunda dosis del percarbonato de sodio, procediendo a tomar muestras de todos los tarros para la medición de recuento bacteriano, inhibidores y peróxidos (hora 8). Los tarros fueron dejados a temperatura ambiente por siete horas más, luego de las cuales se tomaron muestras para evaluar carga bacteriana, inhibidores y peróxidos (hora 15). Esta operación también fue repetida en nueve oportunidades.

Las mediciones realizadas para la evaluación de las distintas experiencias fueron las siguientes.

**Prueba del alcohol:** Se realizó la prueba rutinaria que consiste en mezclar leche con alcohol (70% v/v), en una relación 1:1 y observar si existe coagulación de la leche.

**Recuento bacteriano:** La determinación de los recuentos bacterianos se realizó en el laboratorio de calidad de leche de COOPRINSEM, Osorno, Chile. Se utilizó el método Bactoscan [15], mediante el equipo contador electrónico de bacterias BACTOSCAN 8000S.

**Inhibidores:** La presencia de inhibidores se determinó a través del método microbiológico de inhibición de crecimiento, Delvotest P. Este ensayo mide el grado de inhibición de crecimiento de *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* en un medio sólido [14].

**Peróxidos:** La presencia de peróxido en las muestras de leche, se analizó a través de la reacción de Rothenfusser [13].

Los resultados de la experiencia 1 fueron analizados mediante la comparación de dos grupos independientes basada en la diferencia de las mediciones a las 12 horas frente al

valor basal, a través de la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. La experiencia 2 correspondió a un análisis de medidas repetidas usando el modelo GEE (Generalized Estimating Equations). El nivel de significancia para el análisis estadístico correspondió a un 5%.

## RESULTADOS

### Experiencia 1

**Recuento bacteriano:** Al analizar los resultados obtenidos, se pudo apreciar que el total de muestras, tanto las LC como LT, presentaron recuentos iniciales bajos (0 horas), con una media de 36.846 ufc/mL para LC y de 30.000 ufc/mL para LT. Manteniendo la leche durante 12 horas a temperatura ambiente que fluctuó entre los 28 y 32°C, se observó un aumento del recuento bacteriano en ambos grupos, con una media de  $2,56 \times 10^6$  ufc/mL en el LC y de  $0,68 \times 10^6$  ufc/mL en el LT. En la FIG. 1 se observan estos resultados expresados como ufc/mL en logaritmo de base 10 ( $\log_{10}$ ).

En el TABLA I se observa el incremento del recuento bacteriano a las 12 horas, en función del valor basal, tanto para LC como LT. La diferencia para la LC correspondió a 1,84 unidades logarítmicas, lo que representa un incremento relativo del recuento bacteriano en función del valor basal de 69,42 veces. Para LT, esta diferencia es de 1,35 unidades logarítmicas lo que representa un incremento relativo del recuento bacteriano en función del valor basal de 22,51 veces, existiendo según la prueba de Mann-Whitney, diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ( $P < 0,05$ ).

**Medición de inhibidores:** Los resultados obtenidos al analizar las muestras de leche de LC y LT, no evidencian presencia de inhibidores tanto a las 0 horas como a las 12 horas.

**Medición de peróxido:** El total de muestras LC como LT no presentaron reacción positiva a la prueba de peróxido tanto a las 0 horas como a las 12 horas.

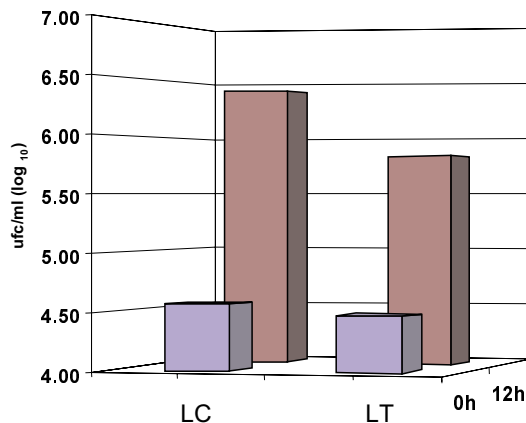


FIGURA 1. RECuento BACTERIANO A LAS 0 Y 12 HORAS DEL LECHE CONTROL (LC) Y LECHE TRATADA (LT) EXPRESADO EN LOGARITMO DE BASE 10. (LOG<sub>10</sub> UFC/ML).

**TABLA I**  
**INCREMENTO DE LOS RECUENTOS BACTERIANOS A LAS 12 HORAS EN FUNCIÓN DEL VALOR BASAL DEL GRUPO CONTROL (LC) Y GRUPO TRATADO (LT) EXPRESADOS EN LOGARITMO BASE 10**

	0 Horas Log <sub>10</sub> ufc/mL	12 Horas Log <sub>10</sub> ufc/mL	Incremento relativo Unidades logarítmicas
L.Control	4,57	6,41	1,84
L.Tratado	4,48	5,83	1,35

## Experiencia 2

**Recuento bacteriano:** En esta experiencia los recuentos bacterianos a las 0 horas, fueron iguales para los tres grupos (LC, LT1 y LT2), con una media de 30.000 ufc/mL. A las 8 horas todos los grupos aumentaron sus recuentos bacterianos, los promedios encontrados fueron de  $0,45 \times 10^6$  ufc/mL para LC;  $0,23 \times 10^6$  ufc/mL para LT1 y  $0,23 \times 10^6$  ufc/mL para LT2. Al cabo de las 15 horas, se observó un nuevo aumento, siendo los recuentos bacterianos de  $1,70 \times 10^6$  ufc/mL,  $0,58 \times 10^6$  ufc/mL y  $0,38 \times 10^6$  ufc/mL para LC, LT1 y LT2 respectivamente.

En la FIG. 2 se observa el desarrollo de las cargas bacterianas en el tiempo para la LC, para la LT1 y para la LT2, observándose diferencias estadísticamente significativas entre la LC y LT1 ( $P < 0,05$ ); entre la LC y LT2 ( $P < 0,05$ ), pero no así entre los grupos LT1 y LT2 ( $P > 0,05$ ), según el modelo GEE para análisis de medidas repetidas.

**Medición de inhibidores:** Los resultados obtenidos de la prueba de inhibidores practicada a las muestras de leche del grupo control (LC), grupo tratado 1 (LT1) y grupo tratado 2 (LT2) medidos a las 0 horas, 8 horas y 15 horas, no evidencian presencia de inhibidores a lo largo de toda la experiencia.

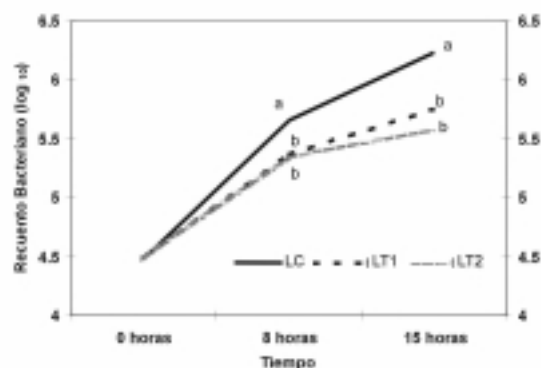
**Medición de peróxido:** Los resultados para la prueba de peróxido realizada a las muestras de leche del grupo control (LC), grupo tratado 1 (LT1) y grupo tratado 2 (LT2) muestran reacción negativa en todos los tiempos analizados.

## DISCUSIÓN

En ambas experiencias fue utilizada leche recién ordeñada, la cual no presentó reacción positiva a la prueba del alcohol, lo que hace suponer que la leche contaba con recuentos iniciales bajos, y por lo tanto, estaría en condiciones de ser utilizadas para evaluar el Sistema LP. Ponce [10], señala que si la leche presenta alguna anomalía, como por ejemplo, prueba del alcohol positiva o acidez muy baja, esta no debe utilizarse para activar el Sistema LP.

### Recuento bacteriano

Los resultados obtenidos en ambas experiencias, muestran leches con recuentos bacterianos iniciales considerados bajos, de acuerdo a los criterios utilizados por las empresas lecheras y son similares a los descritos para leche recién ordeñada [6].



**FIGURA 2. DESARROLLO DE LA CARGA BACTERIANA EN EL TIEMPO PARA EL GRUPO CONTROL (LC), GRUPO TRATADO 1 (LT1) Y GRUPO TRATADO 2 (LT2), EXPRESADO EN LOGARITMO DE BASE 10 (LOG<sub>10</sub> UFC/ML).**

El aumento de los recuentos iniciales para todos los grupos estudiados, después de mantener la leche a temperatura ambiente y medidos a las 12 horas en la experiencia 1, y a las 8 y 15 horas en la experiencia 2, refleja una situación esperada y que se explicaría según Heimlich y Carrillo [5], por los factores que influyen en la multiplicación bacteriana como fueron la temperatura a la cual fue mantenida la leche y el tiempo durante el cual estuvo expuesta. Alais [1], plantea que cualquiera que sea la composición de la microflora original de la leche, se observa una aceleración del desarrollo microbiano y por lo tanto un crecimiento de la microflora total cuando la conservación se realiza a temperatura ambiente. En este estudio, la leche permaneció a alta temperatura ambiente que fluctuó entre 28 y 32°C para la primera experiencia y entre 22 y 32°C para la segunda experiencia.

Como se observa en la TABLA I, el incremento del recuento bacteriano al cabo de 12 horas a temperatura ambiente, fue estadísticamente diferente entre el LC y LT ( $P < 0,05$ ). Así el incremento del recuento bacteriano al cabo de las 12 horas en función del valor basal fue de 69,42 veces (1,84 unidades logarítmicas) para el LC y de 22,51 veces (1,35 unidades logarítmicas) para el LT, lo que significó recuentos finales de  $2,56 \times 10^6$  ufc/mL y  $0,68 \times 10^6$  ufc/mL respectivamente. Este menor aumento del recuento bacteriano en el LT en relación con el LC, estaría dado por la acción del Sistema LP, a través de la adición del producto activador.

En el presente estudio la reducción del recuento bacteriano entre la leche activada y el testigo fue de aproximadamente 4 veces. Ponce [10], menciona que se observa común-

mente una reducción que puede ser 10 veces menor en la leche activada que en la testigo, sin embargo en este caso el método de análisis fue el tiempo de reducción del azul de metileno (TRAM) y la acidez titulable.

Analizando la relación entre los cambios del TRAM y la acidez de la leche al someterlas a temperaturas de almacenamiento de 20°C y 30°C, se señala que la leche con un TRAM superior a 3,5 horas almacenada a 20°C y activada, se mantiene entre 12 y 24 horas sin deteriorarse, mientras leches sin tratamiento se deterioran totalmente a las 4 horas [7]. Es necesario establecer que un TRAM de 3 horas implica recuentos del orden de 1 millón de ufc/mL de leche, por lo cual era de esperar que la leche control se deteriorara rápidamente [5]. Esta situación no se presentó en este estudio, ya que las condiciones higiénicas iniciales eran buenas, con recuentos bacterianos del orden de las 37.000 ufc/mL, lo que confirmaría que la conservación de la leche depende de la temperatura y de su calidad inicial.

Reyes [12], estudió la activación del sistema lactoperoxidasa en leche obtenidas de medianos y pequeños productores de la X Región, usando las mismas concentraciones de tiocianato y peróxido que contiene el producto STABILAK y manteniéndolas a distintas temperaturas de almacenamiento. En su estudio, las cargas bacterianas iniciales presentaron conteos de aproximadamente  $0.45 \times 10^6$  col/mL (colonias por mL), observándose que la leche activada y almacenada a 20°C tuvo un lento desarrollo bacteriano durante las primeras 15 horas. Posteriormente la población microbiana presenta un comportamiento similar al control. Los recuentos finales para la leche control y leche tratada fueron de aproximadamente  $19 \times 10^6$  col/mL y  $1,6 \times 10^6$  ufc. col/mL respectivamente. Sin embargo, el autor señala que con temperaturas menores de almacenamiento se observa una mejor conservación la calidad de la leche; a 15°C las leches tratadas conservaron su calidad hasta 16 a 24 horas y a 10°C se conservó hasta 48 horas.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran similitud a los de Reyes [12], cuando conserva la leche a 20°C ya que siguen el mismo patrón, donde no se observa un marcado efecto bacteriostático en las leches activadas, sino más bien un lento desarrollo bacteriano, lo cual estaría confirmando lo señalado por otros autores [15], respecto a que el Sistema LP funciona mucho mejor a temperaturas más bajas. Sin embargo, el efecto inhibitorio que se observa en este estudio, es suficiente como para obtener una diferencia significativa respecto al control al cabo de las 12 horas de mantener la leche a temperaturas entre los 28 y 32°C.

Una posibilidad que postulan los fabricantes del producto activador, para prolongar el tiempo de conservación de la leche, es la adición al cabo de 8 horas de una nueva dosis de percarbonato de sodio, situación que fue evaluada en la segunda experiencia de este estudio.

Los resultados encontrados en la experiencia 2 (FIG. 2), muestran que la adición de una segunda dosis de percarbonato de sodio 8 horas después, no redujo ( $P > 0,05$ ) el desarrollo de

las cargas bacterianas en relación al tratamiento con una sola aplicación, sin embargo en ambos tratamientos las cargas bacterianas son menores ( $P < 0,05$ ) respecto al control.

Reyes [12], sostiene que al duplicar las concentraciones de peróxido de hidrógeno y tiocianato, el efecto sobre la multiplicación de las bacterias, depende de la temperatura de almacenamiento: a 20°C el efecto es mínimo, pero a 10°C se presenta un efecto muy notorio. Aunque en el presente estudio sólo se duplicó la concentración de peróxido de hidrógeno, los resultados coinciden [12].

Aunque habitualmente se plantea utilizar concentraciones equimolares de tiocianato y peróxido de hidrógeno, la proporción óptima de  $[\text{SCN}^-]/[\text{H}_2\text{O}_2]$  también podría cambiar por efecto de la temperatura. Reyes [12], sugiere además la importancia de considerar cuidadosamente la cinética de acumulación de los compuestos intermedios, a través de la búsqueda de las concentraciones de tiocianato y peróxido de hidrógeno y la relación más adecuada entre ellos para cada temperatura.

En consecuencia, si bien la activación del Sistema LP permitiría mejorar las condiciones bacteriológicas de las leches almacenadas en las condiciones del presente estudio, desde el punto de vista de la industria y sus exigencias a los productores no sería una solución, ya que las contaminaciones finales son aún muy altas.

### **Inhibidores y peróxidos**

Los resultados de las pruebas de inhibidores y peróxidos para ambas experiencias en todos los tiempos medidos fueron negativas. Estos resultados concuerdan con lo señalado por Ponce [11], en relación a que la adición exógena de tiocianato no se considera como empleo de aditivo sino como la restauración de los niveles normales de tiocianato. Por otro lado, la adición de cantidades mínimas de peróxido de hidrógeno son consumidas rápidamente después de ser adicionado a la leche, sin tener efectos residuales. Debido a la estequiometría de la reacción en el Sistema LP la totalidad del peróxido se consume para la oxidación del tiocianato. Esto supera las limitaciones propias de la adición de mayores cantidades de peróxido de hidrógeno cuando se utiliza como único sistema de conservación. La prueba de peróxido siempre debe ser negativa, si hay positividad, es señal de la adición de agua oxigenada.

Respecto a la toxicidad de los compuestos utilizados Ponce [11], señala que el tiocianato de sodio clasifica dentro de las sustancias débilmente tóxicas al presentar una DL 50 oral en ratas de 764 mg/Kg y en ratones 484 mg/Kg, resultando necesario administrar en humanos 500 g para alcanzar dosis tóxicas agudas probables, lo que indica un amplio margen de seguridad para este producto. En relación con la toxicidad del peróxido, se ha reportado que es necesaria una exposición de 4.000 ppm durante 65 semanas para producir hiperplasia en la mucosa duodenal en 6 de 50 ratones.

## CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir que la adición de un activador del sistema lactoperoxidasa en leche fresca sin refrigerar y almacenada a temperaturas ambientales sobre 20°C por 12 a 15 horas, resultó ser un método efectivo para hacer más lento los recuentos bacterianos (ufc/mL). La leche a la cual se le aplicó del Sistema LP, presentó 12 horas después, menores recuentos bacterianos ( $P < 0,05$ ), que aquellas leches a las que no fue adicionado el activador. El desarrollo de las cargas bacterianas en leche fresca almacenada a temperatura ambiente por 15 horas, no presentó diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) entre la leche reactivada a través de una segunda dosis de percarbonato de sodio. El producto activador utilizado en este estudio y en las concentraciones usadas, no presenta positividad a las pruebas de inhibidores y peróxidos, por lo cual su uso no implicaría una alteración de la leche.

## AGRADECIMIENTO

Al Centro de Acopio Mune, al Centro de Gestión de Pitrufrquén (CEGE) y a la Planta Lechera SOPROLE de Pitrufrquén por las facilidades y ayuda otorgadas para la realización del presente trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALAIS, CH. **Ciencia de la leche**. 4ª ed. Editorial Reverte. S.A. Barcelona. España. 873 p. 1985.
- [2] BJORK, L.; CLAESON, O. Xantine oxidase as source of hydrogen peroxide for the lactoperoxidase system in milk. **Journal of Dairy Science**. 62 (8): 1211-1215. 1979.
- [3] CARRILLO, B.; VASQUEZ, A.; VIDAL, C. Informe final. **Mejoramiento de la calidad higiénica de la leche cruda para los centros de acopio lecheros (CAL) de Mune, Quitratúe y Casahue, IX Región, Chile**. Corporación de Fomento de la Producción (CORFO). 25 p. 1997.
- [4] HARNULV, B.G.; KANDASAMY, V.C. Increasing the keeping quality of raw milk by activation of its lactoperoxidase system. **Milchwissenschaft**. 37 (8): 454-457. 1982.
- [5] HEIMLICH, W.; CARRILLO, B. **Manual para centros de acopio de leche. Producción, operación, aseguramiento de la calidad y gestión**. Corporación de Fomento de la Producción (CORFO). Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 166p. 1995.
- [6] PEDRAZA, C.; AGÜERO, H.; GODOY, S. Efecto del tiempo de almacenamiento refrigerado sobre la calidad bacteriológica de la leche. **Agricultura Técnica**. (Chile). 47(2): 142-147. 1987.
- [7] PONCE, P.; CAPDEVILLA, J.; H.A., ALFONSO; LÓPEZ, M.G.; LEÓN, R.; TABOADA, A. Conservación de la leche en Cuba mediante la activación del sistema lactoperoxidasa. **Animal Zootecnia**. 73 (4):31-41. 1992.
- [8] PONCE, P. **Manipulación y conservación de la leche cruda en las condiciones del trópico americano**. Experiencia cubana sobre la activación del Sistema Lactoperoxidasa. Taller Regional FAO/CENSA. La Habana, Cuba. 1996.
- [9] PONCE, P. Garantía de calidad de la leche cruda: Enfoques actuales y perspectivas en América Latina. En: **III Taller internacional sobre calidad de la leche**. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Valdivia, Chile. 1996.
- [10] PONCE, P. **Aspectos prácticos sobre diseño para la evaluación de campo, pruebas de laboratorio y control de calidad de Stabilak, un activador del sistema lactoperoxidasa**. Centro de Ensayos para el Control de la Calidad de la Leche y Derivados Lácteos (CENLAC). Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). La Habana, Cuba. 10 p. 2000.
- [11] PONCE, P. **Stabilak. Información clínica**. Desarrollo del perfil farmacológico: Dosis máxima tolerada, dosis-efecto, duración efecto, efectos colaterales iniciales, farmacocinética. Centro de Ensayos para el Control de la Calidad de la Leche y Derivados Lácteos (CENLAC). Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). La Habana, Cuba. 4 p. 2000.
- [12] REYES, E. **Sistema combinado refrigeración/lactoperoxidasa para conservación de leche cruda**. Tesis. Magister en Ciencias y Tecnología de la Leche. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Centro tecnológico de la leche para Chile y América Latina. Valdivia, Chile. 94 p. 1983.
- [13] ROSELL, J.; DOS SANTOS, I. Investigación de la presencia de conservadores y colorantes. En: **Métodos analíticos de laboratorio lactológico y microbiología de las industrias lácteas**. Cap. XII. Tomo I. Editorial Labor S.A. Barcelona – Madrid – Buenos Aires – México – Montevideo. 273-274 pp. 1952.
- [14] SAN MARTÍN, B. Residuos químicos en la leche. Causas principales y métodos de detección. En: Curso de perfeccionamiento. **Mejoramiento de la calidad higiénica de leche de pequeños productores**. Escuela de post-grado y post-título. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile - UFOCO S.A. Osorno. 109 – 117 pp. 1999.
- [15] SUHREN, G.; REICHMUTH, J. Determination of the bacteriological quality of raw milk by automatic fluorescent microscopic counting of single bacteria (Bactoscan 8000)- a review. **Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte**. 49 (3): 163-186. 1997.