

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA
MONTEVIDEO - URUGUAY

LA PRUEBA DE LA RESAZURINA
EN 10 MINUTOS

POR

Ing. Agr. H. P. TOMEIO IBARRA



LA PRUEBA DE LA RESAZURINA EN 10 MINUTOS*

ING. AGR. H. P. TOMEO IBARRA **

Nuestro país es el único en América del Sur que tiene incorporada a su reglamentación municipal la obligatoriedad de la pasteurización de la leche para el consumo en la capital.

En el Decreto 9.015 de Montevideo se reglamenta, también, las condiciones del tambo productor de leche a pasteurizar, así como la calidad bacteriológica, etc., que debe tener dicha leche. Pero a nuestro juicio, deben hacerse controles más severos en la recepción de esa leche, para evitar que leches de no tan buena calidad pasen a ser industrializadas.

Todos los tarros de leche, a su llegada a la planchada de recepción, son sometidos a la prueba del alcohol a 70°, empleada como prueba de admisión, por ser rápida y de fácil ejecución. Aparte de los reparos que ofrece dicha prueba por los vicios inherentes a la mecanización de su ejecución, vemos que en investigaciones realizadas (1) ha quedado de manifiesto "que este ensayo arroja por término medio un resultado positivo solamente tres o cuatro horas antes de que cuaje la leche al hervir", y en el citado trabajo dice: "Por tanto, puede darse el caso de que leche que haya dado resultado negativo en este análisis, y por consiguiente aceptada para su pasteurización, haya experimentado una alteración importante."

Más adelante sienta como conclusión: "Por tanto, y pese a su conveniencia, no es posible considerar seriamente la prueba del etanol como método general para aceptar o rechazar leche a su llegada a depósito."

Se hace por consiguiente necesario adoptar un control, más positivo y que al mismo tiempo sirva de orientación para la industria, conociendo así la materia prima que recibe y pueda poner en sus manos una documentación eficiente para la clasificación de esa materia prima, con lo que se beneficiará el productor, que bien asesorado tratará de corregir deficiencias, pudiendo a la postre, llegar a lo que es necesario, remisiones de buena

* Trabajo realizado en colaboración entre el Depto. de Lechería de la Facultad de Agronomía y Planta Nº 2 de Conaprole.

** Jefe del Depto. de Lechería. Instituto de Tecnología. Facultad de Agronomía.

calidad, y a este respecto nos permitimos recordar un trabajo publicado anteriormente (2) y en el que decíamos: "Todos sabemos lo que significa pasteurizar, y también sabemos que una industria que recibe materia prima de mala calidad no puede nunca brindar productos de alta calidad." Y en el caso de la leche, el problema es aún mayor, pues la pasteurización no transforma, sino que se limita a eliminar los patógenos e inhibir al máximo (98-99 %) la flora banal, haciendo posible de esta manera la prolongación de la vida de la leche. Por lo tanto, la vida de esa leche, será tanto más larga, cuando mejor sea ella en su origen.

Es, repetimos, de interés de la industria y de las autoridades sanitarias, el cuidar el buen trabajo en la primera etapa que, indudablemente, es fundamental, con lo que al mismo tiempo se beneficiará el productor evitando pérdidas inútiles.

A propósito de controles, en Suiza, país del cual debemos tomar ejemplo en muchos aspectos de la industria lechera, encontramos (3) que el control de la calidad de la leche se efectúa por los organismos oficiales encargados de vigilar la calidad de los productos alimenticios, así como por el servicio de Inspección de Lecherías, en actividad coordinada, disponiendo su iniciación en el establo, continuando con el control de recepción y en la ruta de entrega al consumidor, teniendo este último una intervención en el control final. Debido a lo bien dispuesto de sus medidas sanitarias y de control, es que se considera mundialmente como de primera calidad la leche de Suiza.

No debemos olvidar, a propósito de esa calidad, que en la mayoría de los casos, es el tambero que, consciente o inconscientemente, incorpora a la materia prima un número más o menos grande de microorganismos, influyendo así directamente en su posterior conservación y en la calidad de los productos con ella elaborados.

Nuestro propósito es valorar la real calidad de la leche producida en nuestros tambos, mediante el empleo de una prueba de fácil manejo y que al mismo tiempo tenga reconocida solvencia técnica. En nuestro trabajo ya citado (2) indicamos a la prueba de la Resazurina como excelente valorador de calidad. En aquella oportunidad ensayamos la prueba en 60 minutos de duración, lo cual le quita agilidad y, en consecuencia, resolvimos ensayar la Prueba de la Resazurina en 10 minutos, de la que M. S. Mogensén (4), dice: "Actualmente los ensayos con Resazurina han ido reemplazando, en Inglaterra, Alemania y EE. UU., a los con Azul de Metileno." Y dicho investigador dice más adelante: "El ensayo con Resazurina comparado con el de Azul de Metileno, facilita una clasificación más rápida de la calidad bacteriológica de la leche. Permite descubrir leche de composición anormal, por lo cual su utilización es una gran ventaja para el control higiénico de leches de consumo."

En esta misma posición están N. O. Barret, H. Rutan y J. A. Keeman (5), en un trabajo de investigación realizado sobre 305 muestras de leche, y comprando las pruebas de Azul de Metileno, Resazurina, Placas y Breed, llegan a las siguientes conclusiones, que nos permitimos transcribir, pues las consideramos de fundamental interés:

“1) Con la prueba de la Resazurina, se obtienen en una hora indicaciones de la calidad de la leche desde el punto de vista higiénico, que pueden compararse a las contenidas en siete horas con el Azul de Metileno. 2) La prueba de la Resazurina es superior a la prueba de Azul de Metileno por el hecho de que ella es de una gran sensibilidad para las leches fisiológicas y patológicamente anormales, y 3) la prueba de la Resazurina puede ser íntimamente asociada al examen microscópico, ya que permite diferenciar rápidamente leches de buena calidad, de leches mediocres, dejando así más tiempo para la determinación de las causas que alteran estas últimas.”

Convenimos con el Ing. Luis Polledo (6) que para tener leche de buena calidad, solamente es necesario que de los tambos salga: *limpia, con menos acidez* y a TEMPERATURA MÁS BAJA.

Sabemos perfectamente, que su flora bacteriana proviene especialmente de una mala obtención y conservación posterior, ya que las temperaturas elevadas influyen positivamente en la multiplicación microbiana. Así observamos que la calidad de muchas de las leches que llegan a nuestra planchada, luego de varias horas de obtenida, acusa graves deficiencias de origen, que se ponen de manifiesto apenas se eleva algo la temperatura ambiente, traduciéndose en enormes cantidades de leches rechazadas al llegar a la Usina, por ser positiva a la prueba del alcohol a 70°, y para corroborar lo dicho, extractamos los siguientes datos, de los meses de agosto, setiembre y octubre de 1960.

Durante el mes de agosto y hasta el 18 de setiembre el horario de recepción fue de 7 a 13. A partir del 18 de setiembre se adelantó el trabajo una hora, recibiendo de 6 a 12 horas.

En el mes de agosto las temperaturas ambientes, tomadas en la Usina, oscilan entre 5°5 y 20°, en tanto que la temperatura de la leche en planchada tiene un mínimo de 8°5 y un máximo de 21°5, y si bien la cantidad mensual rechazada en este turno sólo llega a 7.742 litros, observamos que el día 12 en temperatura ambiente de 18°, la leche llega con 21°5 y marca el litraje mayor de rechazo, 3.294 litros, casi el 50 % del total mensual.

En términos generales observamos que del 1° al 7 y 13 al 21, cuyas temperaturas ambientes son inferiores a 15°, los rechazos son nulos, pero apenas sobrepasa esa temperatura de 15° aparecen partidas rechazadas y eso teniendo en cuenta que estamos tratando uno de los meses fríos.

En el mes de setiembre, tenemos el mismo panorama, del 1º al 5, la leche con temperaturas bajas, menos de 15° y rechazo nulo, pero a partir del 6 con temperaturas ambiente variable, la temperatura de la leche inicia una alza constante y aparecen frecuentes rechazos a la prueba del alcohol, totalizando al fin del mes 13.787 lts. y como en agosto observamos el día 23, con temperatura ambiente de 19°5, recibimos leche que llega a promediar 20°5 y el rechazo se eleva también, en este caso, a un 50 % del total del mes (6.568 lts.).

En el mes de octubre la temperatura ambiente está siempre por encima de 14° con un máximo de 26° el día 21, y la leche a su vez llega con temperaturas que oscilan entre 15°5 el 12 y 23° el 21, que es el día de mayor rechazo, 13.311 lts.

En este mes se producen rechazos casi diariamente, y sólo hacen excepción los días 26, 27 y 29.

Al finalizar el mes totalizamos 106.177 lts. de leche considerada no apta para el consumo.

En este mes las remisiones han aumentado considerablemente en comparación con las del mes de agosto, pero los rechazos también se han elevado, y observando el porcentaje vemos que en tanto en agosto sólo hay dos días, 10 y 12 que sobrepasan el 1 %, en octubre un 50 % de los rechazos se sitúan por encima del 1 %, llegando hasta un 5 y 6 %, lo que está revelando, a nuestro juicio, una falta de atención del productor, que debiera tener en cuenta el perjuicio que le causa, así como el perjuicio que causa a la industria que no tiene seguridad de la cantidad y, sobre todo, de la calidad del producto recibido, lo que nos afirma más en la necesidad de clasificar las leches por calidad, para poder orientar debidamente al productor.

Acá debemos recordar que en un trabajo publicado por el Ing. A. T. Besio en la *Revista de la Facultad de Agronomía* (7), y en el cual se hace una estadística de las temperaturas a que llegan las leches a la planchada, decía: "Se comprueban temperaturas máximas, en efecto, por encima de las «temperaturas críticas» de Sordelli (8), en los meses de noviembre a marzo inclusive." Esta «temperatura crítica» la sitúan entre 22-26° en que consideran que el incremento bacteriano es muy grande, y volviendo al antedicho trabajo del Ing. Besio, observamos en el cuadro de promedios de temperaturas máximas, que éstas oscilan entre 20 y 31°, en los meses ya estipulados, coincidiendo con

dicho colega en la conclusión final, que dice: "Por consiguiente, cualquiera sea la técnica que se adopte en el tambo por el productor, el correcto enfriamiento y transporte de la leche, es factor contribuyente al mejor logro de leches con bajo recuento microbiano."

En el presente trabajo damos cuenta de nuestras observaciones realizadas durante un año (agosto 1959 a julio 1960), sobre muestras de leche tomadas de las partidas que llegan diariamente a la planchada de la Usina N^o 2, en el turno de la mañana, con el siguiente horario: 1^o de agosto a 30 de setiembre, de 7 a 13 horas, y 1^o de octubre a 31 de marzo de 6 a 12 horas.

El ensayo se realizó inmediato a la descarga de la leche en planchada y empleamos la técnica de Shultz (9) en 10 minutos y realizando la observación de los tubos y su interpretación de acuerdo a la siguiente escala:

- 0 — Blanca.
- 1 — Rosado claro.
- 2 — Rosado brillante.
- 3 — Rosado violeta.
- 4 — Violeta rosado.
- 5 — Violeta.
- 6 — Gris-azulado-violeta.

Para no recargar en números, damos los resultados mensuales y de acuerdo a la escala antedicha valoramos:

- 4, 5 y 6 — Leches aptas para la pasteurización.
- 3 — Leches dudosas.
- 0, 1 y 2 — Leches que deben rechazarse.

Como lo consideramos de interés, hemos adjuntado en cada planilla de resumen mensual, los siguientes datos complementarios:

- a) Temperatura media mensual de la leche, tomada en el tanque de recepción.
- b) Máximas y mínimas de esas temperaturas.
- c) Temperatura media ambiente, tomada en la planchada, así como sus oscilaciones máximas y mínimas.

Estas temperaturas son tomadas diariamente y de hora en hora, por el Laboratorio de Recepción, durante su período de trabajo (6 a 12 ó 7 a 13 hs.).

AGOSTO 1959

<i>E n s a y o s</i>		% sobre recibidas	
Partidas recibidas	12.270		
” ensayadas	8.794	71,67	
		% sobre ensayadas	
Partidas aptas para pasteurizar ...	7.568	86,05	
dudosas	540	6,14	
” rechazadas	686	7,82	
<i>Suma</i> : Dudosas más rechazables	1.226	13,96	
<i>T e m p e r a t u r a s</i>		Leche	Ambientes (4)
Temperatura media ¹	14°1		12°3
máxima	19° (2)		16° (5)
” mínima	10° (3)		9° (6)

1. Tomada en planchada.
2. El día 5.
3. El día 19.
4. Tomada a la sombra en planchada.
5. Los días 11, 14 y 16.
6. Los días 18, 19 y 29.

SETIEMBRE 1959

<i>E n s a y o s</i>		% sobre recibidas	
Partidas recibidas	15.840		
” ensayadas	15.620	97,97	
		% sobre ensayadas	
Leches aptas para pasteurizar	12.792	81,88	
dudosas	922	5,90	
rechazables	1.906	12,20	
<i>Suma</i> : Dudosas más rechazables	2.828	18,10	
<i>T e m p e r a t u r a s</i>		Leche	Ambiente
Temperatura media	15°5		14°5
máxima	19°5 (1)		19°6 (3)
” mínima	12° (2)		10° (4)

1. Día 16.
2. Día 20.
3. Día 24.
4. Día 12.

OCTUBRE 1959

E n s a y o s		% sobre recibidas	
Partidas recibidas	22.410		
" ensayadas	5.798	25,87	
		% sobre ensayadas	
Leches aptas para pasteurizar	4.631	79,87	
" dudosas	440	7,59	
" rechazables	727	12,54	
Suma: Dudosas más rechazables ...	1.167	20,13	
T e m p e r a t u r a s		Leche	Ambiente
Temperatura media		17°6	17°7
" máxima		20° (1)	23°5 (3)
" mínima		15° (2)	12° (4)

1. Los días 6 y 24.
2. Los días 13, 15, 16 y 29.
3. Los días 24 y 31.
4. Los días 28.

NOVIEMBRE 1959

E n s a y o s		% sobre recibidas	
Partidas recibidas	18.810		
" ensayadas	2.697	14,28	
		% sobre ensayadas	
Leches apta para pasteurizar	2.093	77,60	
" dudosas	150	5,56	
" rechazables	454	16,87	
Suma: Dudosas más rechazables	604	22,43	
T e m p e r a t u r a s		Leche	Ambiente
Temperatura media		19°3	20°9
" máxima		23°5 (1)	26° (3)
" mínima		17° (2)	15°5 (4)

1. Día 29.
2. Días 21 y 25.
3. Días 2 y 29.
4. Días 7 y 24.

DICIEMBRE 1959

<i>E n s a y o s</i>		% sobre recibidas	
Partidas recibidas	26.520		
" ensayadas	4.365	16,45	
		% sobre ensayadas	
Leches aptas para pasteurizar	3.159	72,37	
" dudosas	408	9,34	
" rechazables	798	18,28	
Suma: dudosas más rechazables	1.206	27,62	
<i>T e m p e r a t u r a s</i>		Leche	Ambiente
Temperatura media		21°9	23°7
" máxima		26° (1)	30°5 (3)
" mínima		17° (2)	16° (4)

1. Día 29.
2. Día 25.
3. Día 28.
4. Días 10 y 25.

ENERO 1960

<i>E n s a y o s</i>		% sobre recibidas	
Partidas recibidas	41.400		
ensayadas	3.069	7,41	
		% sobre ensayadas	
Leches aptas para pasteurizar	2.027	66,04	
dudosas	229	7,46	
rechazadas	813	26,49	
Suma: dudosas más rechazables	1.042	33,95	
<i>T e m p e r a t u r a s</i>		Leche	Ambiente
Temperatura media		22°8	25°7
" máxima		26°5 (1)	33° (3)
" mínima		18°5 (2)	18°5 (4)

1. Días 9, 13, 14, 16 y 19.
2. Día 30.
3. Día 13.
4. Día 19.

FEBRERO 1960

<i>E n s a y o s</i>		% sobre recibidas	
Partidas recibidas	22.148		
" ensayadas	2.737	12,35	
		% sobre ensayadas	
Leches aptas para pasteurizar	1.598	58,38	
" dudosas	251	9,17	
" rechazables	888	32,40	
<i>Suma</i> : dudosas más rechazables	1.139	41,57	
<i>T e m p e r a t u r a s</i>		Leche	Ambiente
Temperatura media		22°8	25°6
" máxima		26°5 (1)	30° (3)
" mínima		19° (2)	20° (4)

1. Días 15 y 16.
2. Día 6.
3. Día 11.
4. Día 6.

MARZO 1960

<i>E n s a y o s</i>		% sobre recibidas	
Partidas recibidas	22.475		
" ensayadas	4.577	20,36	
		% sobre ensayadas	
Leches aptas para pasteurizar	3.294	72,05	
" dudosas	290	6,33	
" rechazables	993	21,69	
<i>Suma</i> : dudosas más rechazables	1.283	28,02	
<i>T e m p e r a t u r a s</i>		Leche	Ambiente
Temperatura media		22°2	23°4
" máxima		25° (1)	26° (3)
" mínima		20°5 (2)	21° (4)

1. Día 1º.
2. Día 25.
3. Días 13, 27 y 28.
4. Día 9.

ABRIL 1960

E n s a y o s		% sobre recibidas
Partidas recibidas	19.770	
" ensayadas	3.416	17,28
		% sobre ensayadas
Leches apatas para pasteurizar	2.852	84,07
dudosas	165	4,83
rechazables	399	11,68
<i>Suma:</i> dudosas más rechazables	564	16,51
T e m p e r a t u r a s		Leche
Temperatura media		Ambiente
" máxima	18°9	19°5
" mínima	23° (1)	24°5 (3)
	14°5 (2)	13° (4)

1. Día 7.
2. Día 29.
3. Días 2 y 7.
4. Día 29.

MAYO 1960

E n s a y o s		% sobre recibidas
Partidas recibidas	16.709	
ensayadas	2.829	16,93
		% sobre ensayadas
Leches aptas para pasteurizar	2.570	90,84
dudosas	114	4,02
" rechazables	145	5,13
<i>Suma:</i> dudosas más rechazables	259	9,15
T e m p e r a t u r a s		Leche
Temperatura media		Ambiente
" máxima	16°7	15°3
" mínima	20°1 (1)	19°5 (3)
	13°5 (2)	9° (4)

1. Día 8.
2. Día 23.
3. Día 7.
4. Día 20.

JUNIO 1960

<i>E n s a y o s</i>		% sobre recibidas
Partidas recibidas	15.810	
ensayadas	2.336	14,76
		% sobre ensayadas
Leches aptas para pasteurizar	2.064	88,35
" dudosas	117	5,00
rechazables	155	6,62
<i>Suma:</i> dudosas más rechazables	272	11,62
<i>T e m p e r a t u r a s</i>		
	Leche	Ambiente
Temperatura media	16°5	12°3
máxima	21° (1)	20°5 (3)
mínima	12°5 (2)	7°5 (4)

1. Día 8.
2. Día 29.
3. Día 7.
4. Día 26.

JULIO 1960

<i>E n s a y o s</i>		% sobre recibidas
Partidas recibidas	14.849	
ensayadas	1.936	13,03
		% sobre ensayadas
Leches aptas para pasteurizar	1.674	85,95
" dudosas	88	4,54
rechazables	174	8,98
<i>Suma:</i> dudosas más rechazables	262	13,52
<i>T e m p e r a t u r a s</i>		
	Leche	Ambiente
Temperatura media	14°8	11°7
máxima	20° (1)	18° (3)
mínima	9°5 (2)	6° (4)

1. Día 27.
2. Días 8 y 10.
3. Día 27.
4. Día 8.

Para poder abarcar mejor el panorama, hemos resumido en el siguiente cuadro:

CUADRO - RESUMEN

M e s	Ensayos en % (1)	Leches aptas % (2)	Leches dudosas %	Leches rechazo %	Suma dudosas- rechazos %	Temper. leche promedio
Agosto	71,67	86,05	6,14	7,82	13,96	14° 1
Setiembre	97,97	81,88	5,90	12,20	18,10	15° 5
Octubre	25,87	79,87	7,59	12,54	20,13	17° 6
Noviembre	14,28	77,60	5,56	16,87	(22,43)	19° 3
Diciembre	16,45	72,37	9,34	18,28	(27,62)	21° 9
Enero	7,41	66,04	7,46	26,49	(33,95)	22° 8
Febrero	12,35	58,38	9,17	32,40	(41,57)	22° 8
Marzo	20,36	72,05	6,33	21,69	(28,02)	22° 2
Abril	17,28	84,07	4,83	11,68	16,51	18° 9
Mayo	16,93	90,84	4,02	5,13	9,15	16° 7
Junio	14,76	88,35	5,00	6,62	11,62	16° 5
Julio	13,03	85,95	4,54	8,98	13,52	14° 8

1. Tomado sobre total de partidas recibidas en el mes.
2. Tomado sobre total de partidas ensayadas en el mes.

COMENTARIO FINAL

A través de los resultados acá expuestos y sin que se pretenda dar por terminantes las conclusiones a que llegamos, podemos no obstante observar:

1º) Que en los meses de octubre a marzo, inclusive, el porcentaje de leches dudosas y rechazables es demasiado elevado, más de 20 %.

2º) Que observando las temperaturas promedio de la leche de dichos meses se corrobora la influencia del ya citado factor temperatura en la multiplicación microbiana cuando rebasa los 20° C.

3º) Que convendría continuar las observaciones iniciadas acompañándolas de una intensa campaña de asesoramiento a los productores en general.

4º) Que una vez realizado lo antedicho, debería hacerse la clasificación de los productores para ir al asesoramiento particular en cada caso.

5º) Por último sería interesante hacer una bonificación por calidad bacteriológica, lo que encuadraría más en la obtención de leche para consumo flúido, que la actual bonificación por tenor graso.

BIBLIOGRAFIA

1. F. A. O.—*Pasteurización de la leche. Prueba del Etanol*. Setiembre 1954, pág. 176.
2. TOMEIO IBARRA, H. P.—Calidad de la leche y su estimación correcta. *Public. Nº 44 Fac. de Agronomía*, 1954.
3. KASTLI, P.—Control de la calidad de la leche de consumo. *Le Lait*, 662; 1957.
4. MOGENSEN, M. S.—Pruebas de reducción de Azul de Metileno y de la Resazurina. *Le Lait*, 1952, pág. 407.
5. BARRET, W. D.; RUTAN, H.; KEENAN, J. A.—La prueba de la Resazurina. Su uso y su aplicación en la práctica para el control de la calidad de la leche. *Journal of Dairy Science*, volumen XX, Nº 11, 705-10; Nov. 1937.
6. POLLEDO, LUIS A.—La calidad de la leche. *Rev. La Industria Lechera*, 150; 1944.
7. BESIO, ANGEL T.—Temperaturas de las leches que llegan a Montevideo procedentes de su cuenca lechera. *Rev. Fac. de Agr.*, Nº 35: 91; 1944.
8. SORDELLI, A.; RIVA, A.; SCHIAVONE, E. L.—El problema de la provisión de leche higiénica. Su solución. *Rev. La Industria Lechera*, 867; Dic. 1941.
9. ROSELL, J. M.; DOS SANTOS, I.—*Métodos analíticos de laboratorio lactológico*. Ed. Labor, 307; 1952.