

# Estudio sobre la calidad de la leche procedente de ganado abastecido con agua depurada para bebida

Sanjuán, E.; Pérez E.; Mauricio, C.; Carrascosa, C.; Raposo, A.; Millán, R.

Dpto. de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Trasmontaña s/n. CP 35413. Arucas. Las Palmas.

## STUDY ON THE MILK QUALITY FROM LIVESTOCK SUPPLIED WITH TREATED DRINKING WATER.

**RESUMEN:** El objetivo de este estudio fue apreciar posibles diferencias de calidad en leche obtenida de vacas, ovejas y cabras, abastecidas con agua de bebida de riego (AR) y agua depurada (AD). Para ello se tomaron animales de estudio control (AR) y problema (AD) y durante un año, se realizaron controles para observación de variables:

- físico-químicas: humedad, grasa, densidad,  $a_w$ , pH, cenizas, ácido láctico, proteínas y ESM.
- microbiológicas: aerobios mesófilos, enterobacterias, coliformes, hongos y levaduras, *Salmonella spp.*, clostridios sulfitorreductores y *Staphylococcus aureus*.

Los resultados en leche concluyeron, respecto a la influencia del agua de bebida para los animales de cualquier especie, que:

- no influyó en los valores  $a_w$ ,
- los animales AD presentaron valores de cenizas y proteínas superiores,
- no fue apreciable en la aparición de *Salmonella spp.*, clostridios sulfitorreductores ni *Staphylococcus aureus*, siendo los recuentos "ausencia" en todos los casos.

Contrastando los resultados obtenidos con los criterios legales vigentes, se observó nivel de cumplimiento:

- Físico-químico (Reglamento 1234/2007; para leche de vaca de consumo), con un ratio según vacas AR/AD que fue de 50%/50% (densidad), 66,6%/33,3% (proteína), y 26,8%/73,2% (grasa);
- Microbiológico (Reglamento 853/2004; microorganismos mesófilos totales), negativo, sin diferencia entre especies ni por animales AR/AD.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to assess possible differences in the milk quality from cows, sheep and goats, supplied with drinking water for irrigation (AR) and treated water (AD). This study took control (AR) and experimental animals (AD) and for one year, their milk was monitored to observe variables:

- Physicochemical: moisture, fat, density,  $a_w$ , pH, ash, lactic acid, proteins and EN (fat free dry matter).
- Microbiological: aerobic plate, *Enterobacteriaceae spp.*, coliforms, fungi and yeasts, *Salmonella spp.*, clostridia and *Staphylococcus aureus*.

The results concluded in milk, about the influence of drinking water for animals of any species, that:

- Did not influence the  $a_w$  values,
- AD animals showed values higher in ash and protein,
- Was not significant in the occurrence of *Salmonella spp.*, sulphite-reducing clostridia nor *Staphylococcus aureus*, with counts "absence" in all cases.

Contrasting results obtained with the current legal criteria, we observed the level of compliance for:

- Physicochemical (Regulation 1234/2007, for cow's drinking milk), with a ratio AR / AD cows of 50% / 50% (density), 66.6% / 33.3% (protein), and 26.8% / 73.2% (fat);
- Microbiology (Regulation 853/2004; total mesophilic microorganisms), negative, without difference between animal species or AR / AD ones.

**Palabras clave:** agua depurada, calidad leche, físico-química, microbiología.

**Key words:** treated drinking water, milk quality, physicochemical, microbiology.

## Introducción

“Regla número uno: si las vacas no beben, no producen leche. Regla número dos: si beben, dan más leche si el agua está bien”, (4).

En los últimos años, se ha suscitado un especial interés en la llamada reutilización planificada o directa de las aguas, definida como “la utilización para un segundo empleo de aguas procedentes de un uso previo, sin mediar para ello dilución o vertido en un cauce natural. Así el agua utilizada es tratada de modo que logre una calidad apropiada antes de conferírsele una nueva aplicación”, (5).

Actualmente, la reutilización de las aguas depuradas para distintos fines se intenta implantar con diversos objetivos:

- conseguir un ahorro estimable de agua de primera calidad de consumo humano,
- preservar la reserva de agua en el acuífero del subsuelo,
- disminuir el coste de explotación del agua,
- mentalización de la población en el ahorro efectivo del agua.

Se trata de una actividad que apuesta fuertemente por la sostenibilidad, ya que integra el conjunto de elementos sociales, económicos y medioambientales y que son especialmente ventajosas para aquellos municipios o ciudades que dispongan de una Estación Depuradora de Aguas Residuales.

El interés suscitado por esta actividad se ha consolidado desde el punto de vista legal en el Real Decreto 1620/2007 que establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas (9). Aquí se indican los mecanismos legales que permiten disponer del agua residual depurada como recurso alternativo. La norma incluye disposiciones relativas a los usos admitidos y exigencias de calidad precisas en cada caso, disponiendo que las aguas regeneradas podrán utilizarse para usos urbanos, agrícolas, industriales, recreativos y ambi-

entales. Por otro lado, se prohíben determinados usos que presentan riesgos para la salud humana y el medio ambiente.

## Planteamiento y objetivos

Dado que la legislación actual no contempla específicamente la prohibición del uso de aguas depuradas para bebida de animales en producción, pero sí la indica para *cualquier uso que la autoridad sanitaria considere riesgo para la salud de las personas o un perjuicio para el medio ambiente*, se plantea el presente estudio con el fin de determinar si la calidad de la leche para consumo humano obtenida de los animales abastecidos con aguas depuradas puede entrañar un riesgo o peligro, o provocar posibles efectos secundarios en los consumidores.

Para ello, con este estudio se pretende apreciar posibles diferencias en la calidad físico-química (humedad, grasa, densidad,  $a_w$ , pH, cenizas, ácido láctico, proteínas y extracto seco magro) y microbiológica (aerobios mesófilos, enterobacterias, coliformes, hongos y levaduras, *Salmonella spp.*, clostridios sulfitorreductores y *Staphylococcus aureus*) de la leche obtenida de animales de las especies vacuna, ovina y caprina, abastecidas con agua de bebida de riego (AR) y agua depurada (AD), respectivamente.

## Material y métodos

### Material Experimental

#### a) Animales de producción:

Los animales de los que se realizó el estudio de calidad de la leche, fueron (Tabla 1): 5 vacas, 4 cabras y 3 ovejas, de los cuales,

se consideraron como controles, los suministrados con agua de bebida de riego (AR), y como problema, los suministrados con agua depurada (AD).

#### b) Muestras de leche:

Las muestras de leche utilizadas para los análisis fueron suministradas por personal vinculado al estudio que las recogió *in situ* tras el ordeño de los animales.

## Metodología

#### a) Toma de muestras:

Tras el ordeño, se recogieron las muestras de leche directamente del recipiente en envases herméticos, tomando un volumen de unos 400 ml. Se mantuvieron a temperatura ambiente y se transportaron con la mayor rapidez posible (nunca transcurrieron más de 2 horas) al laboratorio. Una vez allí, se identificaron y etiquetaron convenientemente y se procesaron inmediatamente o bien se conservaron en refrigeración (nunca más de 24 horas), hasta el momento de sus análisis físico-químicos y microbiológicos. La Tabla 2 muestra el número de unidades de muestras recogido, a lo largo del período de un año que duró el estudio:

#### b) Técnicas analíticas:

Las técnicas seguidas para el control de los parámetros de **calidad físico-química** en las muestras de leche fueron:

- Humedad. Se realizó por desecación en estufa, hasta peso constante (1), siguiendo la técnica descrita por Kosikowski (3).
- Grasa. Se estimó por el método Gerber, utilizando butirómetros de Van Gulik. (NEN 3059, 1969).

**Tabla 1.** Distribución de los animales utilizados en el presente estudio.

Especie	Nº animales Control (AR)	Nº animales Problema (AD)
Vacas	2	3
Cabras	2	2
Ovejas	1	2

- Extracto Seco Magro (ESM). Se obtuvo mediante cálculo resultante de quitar el contenido graso, del extracto seco total.
- Densidad. Se valoró mediante termolactodensímetro, expresada a 15°C.
- Actividad del agua ( $a_w$ ). Se realizó mediante lectura digital con higrómetro de punto de rocío *AQUA LAB CX-2*, *DECAGON DEVICES, INC.*, *PULLMAN, USA*.
- pH. Se determinó mediante lectura directa con electrodo combinado, directamente en la muestra homogeneizada.
- Cenizas. Se obtuvieron después de incinerar en mufla a temperatura no superior a 550°C, siguiendo el método 16.241 de la A.O.A.C. (1980).
- Acidez (expresada en ácido láctico). Se llevó a cabo de acuerdo con el método 16.247 de la A.O.A.C. (1980).
- Proteínas. Se utilizó el método de Sorensen-Walker, neutralizando con NaOH, añadiendo formol y valorando la acidez liberada.

Tras la preparación de las diluciones decimales (Pascual, 2000), se realizó la siembra en los medios de cultivo para determinación de la **calidad microbiológica** de:

- Microorganismos *aerobios mesófilos*. Mediante recuento en placa (*APHA*) en PCA (Cultimed 413799.1210) tras incubación durante 24-48 horas a  $31^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ .
- Enterobacterias Lactosa positivo. Siembra en *Agar Bilis-Rojo Neutro-Violeta Cristal con Lactosa* (VRBL Cultimed 413746) mediante recuento en placa tras incubación durante 24 horas a  $31^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ .
- Coliformes fecales. Se utilizó el *Caldo Lactosado Bilis al Verde Brillante 2%* (VB, Difco, 0007-17-4), para el método del número más probable (NMP). Los tubos se incubaron a 37°C durante 24 horas, considerando positivos aquellos con gas y turbidez.
- *Samonella spp.* Se siguió el compendio de métodos APHA (1976), mediante enriquecimiento en *Caldo de Selenito y Cistina* (Cs, Cultimed 413809) y aislamiento en *Agar Hektoen* (Hx, Adsa-Micro 1-216), incubando 24 horas a 37°C, e identificación mediante tira *API 20E* (bioMérieux 20 100).
- Clostridios sulfito-reductores. Se realizó detección y recuento de formas vegetativas y esporuladas por siembra en tubos con *S.P.S. (Adsa-Micro, 1-050)* y capa de parafina estéril en

superficie. Se incubó a 46°C durante 24-48 horas.

- Hongos y levaduras. Las siembras se realizaron en *Agar Sabouraud* con cloranfenicol (Biomerieux, 52001), incubando a Tª ambiente durante 5 días.
- *Staphylococcus aureus*. Se utilizó *Agar de Baird-Parker* (BP) (Adsa-Micro 1-030) con emulsión de yema de huevo con telurito potásico (Adsa-Micro 6-026), incubándose las placas durante 24-48 horas a 37°C. Para confirmación de colonias sospechosas se observó si eran catalasa positivas (bioMérieux 55561), y coagulasa positivas (Difco 0803-46).

### Resultados y discusión

Los resultados de las **variables físico-químicas** investigadas individualmente para cada animal estudiado, expresan datos de aparente “normalidad”, dentro de la variabilidad aceptable para cada especie, estado fisiológico del animal y manejo en el momento de la recogida de muestras, presentándose, por lo general, una cierta homogeneidad en los resultados, y siendo quizá la variable *cenizas*, la que mayores cambios reflejó dentro de un mismo animal entre todos sus controles estudiados. En general, cambios cuantitativos puntuales de alguna de las variables estudiadas en las muestras de leche, motivadas por causas varias intrínsecas o extrínsecas al animal, respondieron con la compensación de aumento o disminución correspondientes, de los restantes componentes.

Partiendo de la base de que existe una variabilidad en cada componente físico-químico estudiado dentro de cada animal a lo largo de todos los controles efectuados y también dentro de cada grupo de animales considerados como AR y/o AD, la apreciación comparada de los datos medios de las variables físico-químicas estudiadas, obtenidos en las distintas especies animales de este estudio quedaría resumida en el Cuadro 1.

**Tabla 2.** Número de muestras analizadas por cada animal en este estudio.

Animal	Tipo agua bebida	Nº de muestras
Vaca 1	AR	13
Vaca 2	AR	14
Vaca 3	AD	17
Vaca 4	AD	8
Vaca 5	AD	11
Cabra 1	AR	3
Cabra 2	AR	2
Cabra 3	AD	4
Cabra 4	AD	7
Oveja 1	AR	7
Oveja 2	AD	6
Oveja 3	AD	6
<b>12</b>	<b>TOTAL</b>	<b>105</b>

A la vista del mismo, podría concluirse respecto a la influencia del agua de bebida AR y/o AD para los animales de cualquier especie, que:

- No influye en los valores de  $a_w$  de la leche.
- Presentan valores de cenizas (minerales) en la leche los animales abastecidos con AD algo mayores que los abastecidos con AR.
- El contenido proteico de la leche en los animales abastecidos con AD es mayor.

Los resultados obtenidos para las variables microbiológicas investigadas en cada muestra de leche, reflejan, en general, poca variabilidad en cada animal estudiado a lo largo de

los controles efectuados. Este hecho refleja una continuidad en las condiciones de higiene en la producción y manejo en las que se han encontrado los animales a lo largo de todo el estudio, así como de la metodología seguida para la obtención y recogida de las muestras. Los valores extremos encontrados en alguna ocasión para algún microorganismo en algún animal y en algún control determinado, indicaron cambios puntuales en las prácticas higiénicas de limpieza y desinfección, y/o manipulación del entorno y hábitat del animal.

En ningún caso fue detectada la presencia de *Salmonella spp.*, clostridios sulfito-reductores, ni *Staphylococcus aureus* en las muestras analizadas en este estudio. Esta ausencia

refleja unas condiciones de higiene en el mantenimiento y manejo de los animales aceptables.

Partiendo de la base de que existe una variabilidad en cada componente microbiológico estudiado dentro de cada animal a lo largo de todos los controles efectuados y también dentro de cada grupo de animales considerados como AR y/o AD, la apreciación comparada de los datos medios de las variables microbiológicas estudiadas, obtenidos en las distintas especies animales de este estudio quedaría resumida en el Cuadro 2:

A la vista del mismo, podría concluirse respecto a la influencia del agua de bebida AR y/o AD para los animales de cualquier especie, que:

- No influye en la aparición de *Salmonella spp.* en la leche.
- No influye en la aparición de clostridios sulfitorreductores en la leche.
- No influye en la aparición de *Staphylococcus aureus* en las muestras de leche.

Dada la ausencia de gérmenes patógenos en las muestras, pero no así de elevados recuentos de gérmenes indicadores de contaminación (enterobacterias, coliformes, hongos y levaduras), parece reflejarse que las condiciones ambientales en las que se mantiene a los animales y en las que se realiza la obtención y recogida de la leche, presentan deficiencias higiénicas que deberían solventarse mediante la mejora de las instalaciones, utensilios y maquinarias y de las prácticas higiénicas de limpieza y desinfección, con el fin de cumplir los requisitos legales establecidos por la legislación vigente para la comercialización de la leche.

Por todo esto, se considera de alta relevancia y máximo interés, el contrastar los resultados obtenidos en este estudio con los requisitos legales establecidos por la normativa legal respecto a la calidad físico-química y microbiológica que debe cumplir la leche cruda de distintas especies para que pueda ser destinada a tratamiento

**Cuadro 1.** Comparación de resultados de variables FQ por especies y por animales AR y AD.

	VACAS		CABRAS		OVEJAS	
	AR	AD	AR	AD	AR	AD
Humedad	=	=		>	>	
Grasa	>			>↓		>
Densidad	=	=	=	=		>
$a_w$	=	=	=	=	=	=
pH	>↓			>	>	
Cenizas		>↓		>↓		>↓
Ac. Láctico		>↓	=	=		>
Proteínas		>		>		>
ESM	=	=	>			>

= No se observa diferencia entre AR y AD  
 > Valor medio mayor  
 >↓ Valor medio ligeramente mayor

**Cuadro 2.** Comparación de resultados de variables microbiológicas por especies y por animales AR y AD.

	VACAS		CABRAS		OVEJAS	
	AR	AD	AR	AD	AR	AD
Aerobios						
Mesófilos		>↓	>↓		>↓	
Enterobacterias	=	=	>↓			>↓
Coliformes	=	=	≠	≠	≠	≠
Hongos y levaduras	=	=		>↓	=	=
<i>Salmonella spp.</i>	=	=	=	=	=	=
Clostridios sulfitorreductores	=	=	=	=	=	=
<i>Staphylococcus aureus</i>	=	=	=	=	=	=

= No se observa diferencia entre AR y AD  
 ≠ Se observan diferencias cualitativas entre AR y AD  
 >↓ Valor medio ligeramente mayor

y comercialización. De esta forma, se podrá concluir si la leche obtenida de los animales abastecidos con AD es apta para darle una salida comercial.

Contrastando los resultados obtenidos con los criterios legales vigentes, se observó el nivel de cumplimiento de las muestras de este estudio:

- Para los parámetros físico-químicos en leche cruda, no existen criterios legales. Tan sólo el Reglamento 1234/2007, en su anexo XIII, establece los criterios que debe cumplir la leche de vaca destinadas a consumo, en cuanto a densidad, proteína y grasa. En la Tabla 3, se presentan estos referentes legales y el porcentaje de cumplimiento respecto a estos valores que, de todas las muestras de leche de vaca analizadas, correspondían a leche procedente de vacas abastecidas con agua de riego y con agua depurada (AR/AD). El ratio de cumplimiento según vacas AR/AD fue de 50%/50% (densidad), 66,6%/33,3% (proteína), y 26,8%/73,2% (grasa).
- Respecto a parámetros microbiológicos, únicamente el Reglamento 853/2004 recoge criterios legales para leche cruda de diversas especies y lo hace exclusivamente para microorganismos mesófilos totales. Como puede verse en la Tabla 3, para estos gérmenes, ninguna de las muestras de leche analizadas procedente de cualquiera de las especies abastecidas con cualquier tipo de agua cumplió los requisitos exigidos por la normativa.

## Conclusiones

Los resultados de las variables físico-químicas estudiadas concluyen que el abastecimiento con aguas depuradas a los animales podría influir en un aumento de los contenidos en la leche de sustancias minerales y proteínas. Sería conveniente por tanto ampliar este estudio para la observación de los posibles beneficios o perjuicios de estos nuevos contenidos en leche cruda para el consumo. De tratarse de beneficios, teniendo en cuenta que en Canarias se cuenta con un considerable número de EDARs, se podría regularizar esta práctica de suministro de AD en la producción animal láctea.

En cuanto a las variables microbiológicas, no se aprecia influencia de la bebida de AD en la aparición de gérmenes patógenos (*Salmonella spp.*, clostridios sulfitorreductores ni *Staphylococcus aureus*), que no se detectaron en ninguna muestra del estudio. Los elevados recuentos de gérmenes indicadores de contaminación aparecieron indistintamente en leche procedente de animales AR y AD, por lo que se deduce que indicaban en general, la necesidad de mejoras de infraestructura y logística en la explotación de procedencia así como de las prácticas higiénicas de limpieza y desinfección.

Dada la ausencia (en el caso de variables físico-químicas) o escasez, (en el de las microbiológicas) de referencias legales con criterios específicos de calidad relativos a leche cruda de distintas especies, se plantea la necesidad de la redacción de nuevas normativas que incluyan los criterios

de aptitud de calidad y que permitan conocer el cumplimiento en cuanto a requisitos de composición y sanitarios de leches obtenidas con procedimientos alternativos, como es el caso de este estudio.

## Agradecimientos

El presente artículo se ha llevado a cabo gracias a los datos obtenidos al amparo del Convenio de colaboración entre el Consejo Insular de Aguas de Gran Canaria, la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y la Fundación Universitaria de Las Palmas, para la realización del proyecto "Definición de criterios de calidad y condiciones de manejo para la reutilización de aguas depuradas en el medio agrario: riego enterrado de especies forrajeras y uso para bebidas de animales".

## Bibliografía

1. Anónimo. (1963): British Standard Institution. Methods for the chemical analysis of cheese. B.S. 770.
2. A.O.A.C. Official Methods Analysis. (1980). 13ª Edición. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C. 376-384.
3. Kosikowski, F. (1970): Cheese and Fermented Milk Foods. Kosikowski and Associates. Nueva York. USA.
4. Maynard, H. (1992): Milk production linked to water quality, quantity. Ecological Agriculture Projects, McGill University.
5. Mujeriego, R. (2002): La reutilización planificada del agua. Aspectos reglamentarios, sanitarios, técnicos y de gestión. UPC, Barcelona. <http://www.canagua.com/es/pdf/reutilizacion.pdf>
6. Netherlands Standard NEN 3059. (1969): Butyrometric determination of the fat content of cheese (Gerber-Van Gulik method). *Neth. Milk Dairy*, 23, 214.
7. Palmquist D. L., Beaulieu, D. (1993): Feed and animal factors influencing milk fat composition.

**Tabla 3.** Parámetros de control legal y % de cumplimiento en las muestras del estudio (AR/AD).

Parámetro	Ref. legal	Criterio	% cumplimiento AR/AD
Densidad	Rgto. 1234/2007	≥ 1,028	50%/50%
Proteína	Rgto. 1234/2007	≥ 2,9%	66,6%/33,33%
Grasa	Rgto. 1234/2007	≥ 3,5%	26,8%/73,2%
Gérmenes 30°C	Rgto. 853/2004	Vaca: ≤ 100.000 Otras: ≤ 1.500.000	0%/0%

- Journal of Dairy Science*, Vol. 76, No. 6.
8. Pascual, M. R.; Calderón, V. (2000): Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas. 2ª Edición. Ed. Díaz de Santos.
  9. REAL DECRETO 1620/2007, de 7 de diciembre de 2007, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. B.O.E. 294 de 8/12/2007.
  10. REGLAMENTO (CE) N° 853/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.
  11. REGLAMENTO (CE) N° 1234/2007 DEL CONSEJO de 22 de octubre de 2007 por el que se crea una organización común de mercados agrícolas y se establecen disposiciones específicas para determinados productos agrícolas.