Test de Kay-Graham para contralor de la pasteurización

Por A. RIVA, E. L. SCHIAVONE y E. VADILLO

Con el propósito de ensayar un test que permitiera fiscalizar la correcta pasteurización de la leche en sus aspectos fundamentales de tiempo y temperatura de calentamiento, y contaminación con leche cruda, se ha utilizado el método de la fosfatasa descripto por Kay y Graham (modificación 1935).

Los estudios de Orla Jensen, demostraron que el calentamiento de la leche, cualquiera que fuera, destruye en grado variable las enzimas que se encuentran originariamente en la leche cruda. La completa destrucción de tales enzimas, depende de la temperatura y del tiempo durante el cual la leche ha sido expuesta a la acción del calor, aparte de las caracterísitcas de cada enzima, algunas de las cuales como las peroxidasas, son más termoestables que otras (por ejemplo las amilasas).

Los autores han basado su método en estos hechos utilizando en su test de pasteurización la investigación de la fosfatasa, constantemente presente en las leches crudas, cuya cantidad, revelada por su actividad, dependerá de la temperatura y tiempo de pasteurización, y de la mayor o menor contaminación con leche cruda.

Han sido descriptos dos tests, uno cuantitativo para determinar en unidades la cantidad de fosfatasa existente, y otro método rápido que podría ser calificado de cualitativo, para determinar si la leche ha sido o no calentada.

Dichos tests son modificaciones efectuadas por los autores, del primitivo método propuesto por los mismos, después de cuidadoso examen del sustrato buffer, del tiempo y temperatura de calentamiento, etc. Como resultado de todo ello se han introducido importantes variaciones de tal modo que estos nuevos tests difieren considerablemente del primitivo.

El método está basado en que la fosfatasa que no ha sido destruída por el calor hidroliza el éter fenil fosfórico, pudiendo determinarse colorimétricamente los productos finales de tal hidrólisis.

Primitivamente los autores usaron como éter fosfórico el beta glicero fosfato de sodio, sustituyéndolo luego por fenil fosfato disódico, el cual es hidrolizado por la fosfatasa cerca de dos veces más rápidamente que el glicerofosfato, como lo sostienen King y Armstrong; y en lugar de determinar el fósforo inorgánico liberado por la fosfatasa, siguiendo el consejo de los autores citados, determinan el fenol libre, usando el reactivo de Folin y Ciocalteu.

Como buffer usan el veronal sódico el cual según los autores del método es excelente en las condiciones experimentales del mismo.

Para comparaciones colorimétricas se usó el colorímetro Lovibond. Puede usarse el comparador que posee discos con unidades azules 1,5; 2,5 y 6.

Se señalan aquí algunos de los requisitos más elementales de los reactivos y útiles empleados en este método, que contribuyen a la eficacia y exactitud del mismo.

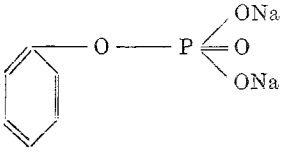
Los papeles de filtro han sido, como aconsejan los autores de Whatman, Nº 30.

Un baño maría regulable a 47°C con tolerancia de dos grados en más o en menos. Una estufa a temperatura constante regulada a 37°C.

Pipetas de un centímetro cúbico (los autores mencionan de 0,5 c.c.) y de 10 centímetros cúbicos; embudos de vidrio de capacidad adecuada para contener los papeles de filtro de 9 cms. de diámetro.

REACTIVOS NECESARIOS

1. — *Sustracto buffer*: disolver 1,09 gramos de fenil fosfato disódico



y 11,54 gramos de veronal sódico, en agua saturada con cloroformo, completando a un litro. Agregar luego unas gotas más de cloroformo para impedir el crecimiento de microorganismos y guardar en frío.

2. — *Reactivo de Folin y Ciocalteu para fenoles*: fué usado el reactivo preparado en el laboratorio de acuerdo a las indicaciones de los autores, y el de la British Drug House, diluyendo ambos en el momento de usarlo en la proporción de un volumen de reactivo

en dos volúmenes de agua destilada. Es necesario hacer constar que no se ha revelado ninguna diferencia entre ellos a pesar de ser un reactivo de relativa dificultad para su preparación.

Disolver 100 gramos de tungstato de sodio ($Mo.O_4Na_2\,2\,H_2O$) y 25 gramos de molibdato de sodio ($MoO_4Na_2\,2\,H_2O$), en 700 c. c. de agua destilada, en un balón de 1500 c. c. de capacidad al cual se adapta un refrigerante a reflujo con cierre esmerilado. Agregar 50 c. c. de ácido fosfórico siruposo al 85 % y 100 c. c. de ácido clorhídrico concentrado. Calentar la mezcla suavemente haciéndola hervir durante diez horas.

Después de este calentamiento enfriar y agregar 150 gramos de litio puro, 50 c. c. de agua destilada y 4 a 6 gotas de agua de bromo.

Calentar la mezcla sin condensador durante 15 minutos para quitar el exceso de bromo. Enfriar, llevar a 1000 c. c. y filtrar por papel. Una vez terminado, el reactivo debe tener un color amarillo de oro sin tinte verdoso. Cualquier reactivo con tinte verdoso debe ser desechado. El reactivo debe ser guardado de modo tal que esté protegido de la luz y del polvo.

3. — *Solución al 14 % de carbonato de sodio anhidro pro análisis.*

Antes de exponer los resultados obtenidos se detallará la técnica de los dos tests, que como los autores proponen se denominan con las letras « A » el método rápido cualitativo y « B » el método lento o cuantitativo.

TÉCNICA DEL TEST « A »

Primer tiempo. — A 10 c. c. de solución de substrato buffer colocados en tubo de ensayo de 25 c. c. se le agrega 0,5 c. c. de la leche en examen, bien mezclada previamente; se agita fuertemente y se coloca la mezcla al baño maría a 47°C durant 10 minutos.

Segundo tiempo. — Retirar el tubo y enfriar a 15 ó 20 grados por inmersión en agua fría.

Tercer tiempo. — Agregar 4,5 c. c. de reactivo diluído de Folin y Ciocalteu, dejar reposar durante tres minutos y filtrar.

Cuarto tiempo. — A 10 c. c. del filtrado tomado inmediatamente después de la filtración, agregar 2 c. c. de solución de carbonato de sodio, mezclar, colocar el tubo en agua hirviendo durante 5 minutos, filtrando después nuevamente.

Este test se efectuaba por duplicado, y al mismo tiempo y en idéntica forma, para probar si los reactivos se hallaban libres de fenoles, se ejecutaban ensayos en blanco, unos sin leche y otros con leche hervida. Cuando los reactivos no contienen fenoles libres los testigos deben dar una coloración azul muy débil.

TÉCNICA DEL TEST « B »

Primer tiempo. — A 10 c. c. de solución de substrato buffer contenidos en tubo de ensayo de 25 c. c. se le agrega 0,5 de la leche en examen, bien homogenizada y se agita fuertemente.

Segundo tiempo. — Añadir tres gotas de cloroformo, cerrar los tubos con tapones de goma y papel de estaño y llevar a la estufa a 37°C durante 24 horas.

Tercer tiempo. — Se enfrían los tubos en baño de agua y se agregan 4,5 c.c. de reactivo de Folin y Ciocalteu (diluído); mezclar, dejar en reposo durante tres minutos y filtrar.

Cuarto tiempo. — A 10 c. c. de filtrado agregar 2 c. c. de carbonato de sodio, agitar fuertemente, colocar en agua hirviendo durante 5 minutos y filtrar nuevamente. Comparar en el colorímetro Lovibond.

Como en el caso del test « A » los ensayos y controles (idénticos a los del test « A ») se practican por duplicado. De este modo se descarta cualquier error en la ejecución y se comprueba si los reactivos están desprovistos de fenol libre.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON EL TEST « A »

Siempre que el color obtenido pase de 2,3 unidades Lovibond significa que la leche no ha sido correctamente pasteurizada o que se ha mezclado con leche cruda.

La inversa no siempre es verdadera: por ejemplo si el color azul no alcanza las 2,3 unidades Lovibond no significa que la leche haya sido correctamente pasteurizada, porque el calentamiento a 60°C en lugar de 63°C, produce colores inferiores a 2,3 unidades azules.

Como se ve este test sirve solamente para indicar errores groseros en la pasteurización y tiene valor solamente cuando es positivo.

Cuando el test « A » da colores que se acercan a 2,3 unidades azules Lovibond, debe practicarse el test « B »; y cuando dé un color mayor debe considerarse la leche como no pasteurizada.

INTERPRETACIÓN DEL TEST « B »

Si el color producido excede de 2,3 unidades la leche ha sido mal pasteurizada, lo cual puede deberse: 1) A que la temperatura ha sido demasiado baja; 2) A que la duración del calentamiento ha sido insuficiente; 3) A que la leche pasteurizada se ha mezclado con leche cruda.

Los autores asignan a este test una sensibilidad capaz de revelar una mezcla de 0,2 % de leche cruda cuando da 2,5 unidades Lovibond; con 0,5 % de leche cruda las cifras ascienden a 3,7 unidades Lovibond.

Las leches calentadas a 61,4° durante media hora, dan, según los autores, de 4,4 a 5 unidades azules Lovibond.

Con leches calentadas a 63°C durante 25 minutos se obtienen de 1,9 a 3,1 unidades azules; durante 20 minutos dan más de 2,3 unidades azules.

En resumen, los resultados deben interpretarse de la siguiente manera:

a) Con menos de 2,3 unidades azules Lovibond la leche es correctamente pasteurizada.

b) Con 2,3 unidades azules a 6 unidades hay deficiencia en la pasteurización o mezcla con leche cruda.

c) Con más de 6 unidades, serios defectos en la pasteurización, o mezcla con grandes cantidades de leche cruda.

Los autores refieren los siguientes resultados:

En 38 muestras de leche, calentadas a 145°F (62,7°C), durante 30 minutos exactamente, y luego rápidamente enfriadas, obtuvieron para el test « B » valores que oscilaron entre un mínimo de 1,3 y un máximo de 2,2 unidades azules Lovibond.

Otras 12 muestras sometidas a diferentes temperaturas durante 20 minutos, dieron los siguientes resultados:

Para temperaturas de 137,5°F (58,6°C), valores que oscilaron entre 9,6 y 35 unidades azules.

Para temperaturas de 140°F (60°C), los valores variaron entre 3,7 y 24 unidades azules.

Temperaturas de 142,5°F (61,3°C), dieron entre 2,2 unidades como mínimo y 5 unidades como valor máximo.

Para temperaturas de 145°F (62,7°C) los resultados en las 12 muestras fueron de 2,3 a 1,6 unidades azules Lovibond.

En otra serie de experiencias en que las muestras de leche fueron calentadas a 145°F (62,7°C) durante 10, 20, 25 y 30 minutos, los resultados obtenidos, siempre aplicando el test « B », fueron los siguientes:

El calentamiento mantenido durante 10 minutos dió valores entre 7,8 y 24,6 unidades azules Lovibond.

El calentamiento durante 20 minutos dió valores que oscilaron entre 2,5 y 9 unidades azules. Durante 25 minutos entre 1,9 y 3,1 unidades.

Por último, cuando dicha temperatura se mantuvo durante 30 minutos, las cifras oscilaron entre 1,8 y 2,1 unidades azules.

Los autores consignan, además, un cuadro donde muestran los valores obtenidos contaminando leche correctamente pasteurizada por calentamiento a 145°F (62,7°C) durante 30 minutos, con diferentes proporciones de leche cruda.

Cantidad de leche cruda agregada %	Muestra 61	Muestra 62
	Unidades azules Lovibond	
0,00	1,7	1,6
0,05	1,8	1,9
0,10	2,1	2,0
0,15	2,5	2,3
0,20	2,5	2,5
0,25	2,6	2,9
0,50	3,7	4,2

A continuación se exponen los resultados obtenidos en nuestras experiencias por medio de los tests « A » y « B » de Kay y Graham.

Los primeros ensayos para medir la eficacia de dichos tests, fueron efectuados calentando la leche a las temperaturas de 56°, 58°, 60° y 63°C durante períodos de 10, 20 y 30 minutos, con el objeto de ver si defectos de temperatura y de tiempo en la pasteurización podían ser revelados, y en qué medida, por los tests « A » y « B ».

Para este fin se utilizó la misma técnica de calentamiento que se describe en otra comunicación, y que en esencia consiste en un dispositivo que permite una amplia superficie de contacto entre el agua del baño y la leche contenida en un tubo de forma especial.

Los resultados están consignados en los cuadros Nº 1 y Nº 2; en el primero los del test « A » y en el segundo los del test « B ».

CUADRO Nº 1. — *Test rápido cualitativo de Kay y Graham.* — *Test: A*

Temperatura	Tiempo	1 Exp.	2 Exp.	3 Exp.	4 Exp.	5 Exp.	6 Exp.	7 Exp.	8 Exp.	9 Exp.	10 Exp.	11 Exp.	12 Exp.	13 Exp.	14 Exp.	15 Exp.	16 Exp.	17 Exp.	18 Exp.	19 Exp.	20 Exp.
63°	30′	1,0	0,8	1,6	1,3	0,6	1,4	1,1	1,0	1,3	1,2	1,0	0,6	1,2	1,1	1,0	1,0	1,2	1,2	0,2	0,2
	20′	1,2	1,1	2,0	1,5	1,0	1,5	1,3	1,2	1,4	1,3	1,1	1,0	1,3	1,3	1,1	1,2	1,4	1,4	1,0	1,0
	10′	1,3	1,1	2,1	2,2	1,8	1,6	1,5	1,5	1,5	1,4	1,2	1,8	1,4	2,2	2,2	2,5	2,7	2,9	1,5	1,5
60°	30′	1,4	1,2	2,0	2,4	2,3	3,2	3,7	3,5	3,4	3,2	2,2	2,4	3,0	2,5	2,2	2,5	2,5	2,7	2,1	2,1
	20′	2,4	2,2	3,2	2,4	2,4	4,3	4,2	4,5	3,4	4,3	3,4	2,6	4,2	5,4	3,4	4,4	4,8	4,7	2,2	2,2
	10′	5,3	5,1	6,2	9,7	8,3	4,7	4,5	4,2	4,6	4,5	9,7	8,0	4,5	9,6	9,7	9,8	9,8	9,8	8,0	8,0
50°	30′	3,4	3,5	4,2	3,3	5,8	5,4	4,7	4,3	5,6	5,2	3,1	5,4	5,0	3,7	3,1	8,1	8,6	8,5	5,0	6,0
	20′	5,8	5,7	6,7	7,6	6,4	6,0	5,0	5,0	6,4	6,0	7,5	5,9	6,6	7,3	7,5	9,5	9,8	9,7	5,7	5,7
	10′	7,3	7,5	7,5	+ 10	+ 10	6,8	5,8	roto	6,7	6,7	+ 10	+ 10	6,7	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
56°	30′	2,8	2,9	3,8	+ 10	4,8	6,5	5,4	5,2	6,7	6,3	+ 10	4,6	6,3	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	4,2	4,2
	20′	5,4	6,1	6,6	+ 10	6,2	6,6	6,6	6,3	6,9	6,4	+ 10	6,0	6,8	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	5,5	5,5
	10′	7,8	7,6	7,4	+ 10	+ 10	7,8	7,5	7,6	7,8	7,6	+ 10	+ 10	7,8	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
Control cruda		+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10

Los resultados de las experiencias detalladas en el cuadro Nº 1, pueden observarse en el siguiente resumen:

Test « A »

Temp.	Tiempo	Nº de exámenes	Resultados: menos 2,3 u. L.	más 2,3 u. L.
56°C	10′	20	0	20
56°C	20′	20	0	20
56°C	30′	20	0	20
58°C	10′	19	0	19
58°C	20′	20	0	20
58°C	30′	20	0	20
60°C	10′	20	0	20
60°C	20′	20	3	17
60°C	30′	20	8	12
63°C	10′	20	17	3
63°C	20′	20	20	0
63°C	30′	20	20	0
Controles		20	0	20

Es decir que el test « A » dió invariablemente resultados superiores a 2,3 unidades azules Lovibond (leche no pasteurizada) por calentamiento a 56°C y 58°C aún durante 30 minutos, y por calentamiento a 60°C durante 10 minutos.

En calentamiento a 60°C durante 20 y 30 minutos, y a 63°C durante 10 minutos dió resultados variables, siendo a veces inferiores a 2,3 unidades azules (leche pasteurizada) y otras veces superiores (leche no pasteurizada).

Por último el calentamiento a 63°C durante 20 y 30 minutos, dió siempre resultados inferiores a 2,3 unidades Lovibond (leche pasteurizada).

CUADRO N° 2. — *Test lento cuantitativo de Kay y Graham. — Test: B*

Temperatura	Tiempo	1 Exp.	2 Exp.	3 Exp.	4 Exp.	5 Exp.	6 Exp.	7 Exp.	8 Exp.	9 Exp.	10 Exp.	11 Exp.	12 Exp.	13 Exp.	14 Exp.	15 Exp.	16 Exp.	17 Exp.	18 Exp.	19 Exp.	20 Exp.
63°	30′	1,0	1,0	2,0	2,0	1,8	1,3	2,0	1,8	1,2	1,1	1,8	1,1	1,1	1,3	1,1	1,3	1,8	1,6	1,8	1,8
	20′	1,2	1,1	2,1	2,0	2,0	1,8	2,1	2,3	1,6	1,4	2,1	1,1	1,5	1,6	1,3	1,5	2,3	2,1	2,3	2,3
	10′	5,4	5,8	7,3	4,1	7,0	8,9	7,3	8,9	6,1	7,2	8,1	6,8	7,4	6,2	8,5	6,4	8,9	8,7	8,9	8,9
60°	30′	7,8	9,7	5,2	+ 10	+ 10	+ 10	5,2	+ 10	7,6	8,2	7,8	7,9	8,1	7,6	8,9	8,6	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
	20′	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
	10′	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
58°	30′	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
	20′	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
	10′	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
56°	30′	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
	20′	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
	10′	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
Control cruda		+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10

A continuación se inserta un resumen de las experiencias detalladas en el cuadro Nº 2.

Test « B »

Temp.	Tiempo	Nº de exámenes	Resultados: menos 2,3 u. L.	más 2,3 u. L.
56°C	10′	20	0	20
56°C	20′	20	0	20
56°C	30′	20	0	20
58°C	10′	20	0	20
58°C	20′	20	0	20
58°C	30′	20	0	20
60°C	10′	20	0	20
60°C	20′	20	0	20
60°C	30′	20	0	20
63°C	10′	20	0	20
63°C	20′	20	20	0
63°C	30′	20	20	0
Controles		20	0	20

Es decir que el calentamiento a 56°, 58° y 60° hasta 30 minutos y el calentamiento a 63°C durante 10 minutos dió invariablemente resultados superiores a 2,3 unidades azules Lovibond, indicando por lo tanto leche no pasteurizada.

En cambio el calentamiento a 63°C durante 20 y 30 minutos dió siempre resultados inferiores a 2,3 unidades azules Lovibond indicando leche pasteurizada.

Como puede apreciarse por la comparación de ambos grupos de experiencias el test « B » muestra mayor sensibilidad que el test « A » para señalar deficiencias de tiempo o de temperatura en el calentamiento. Por esta razón se realizó una serie de experimentos aplicando solamente el test « B », con el objeto de apreciar más exactamente su sensibilidad. El detalle de tales experiencias puede observarse en el cuadro Nº 3.

CUADRO Nº 3. — *Test de B. de Kay y Graham*

Temperatura	Tiempo	1ª h.	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª	12ª	13ª	14ª	15ª	16ª	17ª	18ª	19ª	20ª
	30′	2,0	1,6	1,7	1,3	1,9	1,9	1,9	2,0	2,0	2,0	2,1	2,1	2,2	1,7	1,7	0,9	1	1,2	1,3	1,4
63°	25′	2,1	1,8	1,8	1,5	2,1	2,0	2,0	2	2	1,9	2,0	2,0	2,3	1,9	1,7	1,2	1,4	1,6	1,9	2
	20′	2,2	2,0	2,3	2,0	2,3	2,0	2,0	2,0	2,1	2,0	2,2	2,1	2,2	2,0	2,0	2,0	2,30	2,0	2,0	2,0
	15′	3,8	4,1	4,2	3,3	3,2	2,9	2,8	3,4	3,5	3,5	3,8	4,1	3,8	2,8	2,9	3,1	3,20	3,40	3,20	3,10
	30′	1,1	1,4	1,5	1,4	1,5	1,8	1,9	2,0	1,9	1,8	2,3	3,2	2,1	2,2	2,2	2,3	2,2	2,1	2,0	1,9
62°	25′	2,1	2,6	2,7	2,2	2,4	2,7	2,6	2,5	2,8	2,9	2,1	2,4	2,5	2,4	2,3	3,10	3,20	2,1	2,25	2,3
	20′	4,2	4,1	3,8	3,9	3,5	3,7	3,6	3,6	4,2	4,5	4,6	4,8	4,4	4,5	4,9	3,8	3,9	3,9	3,9	4,60
Control cruda		+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10

Los resultados resumidos del cuadro Nº 3 son los siguientes:

Test «B»

Temp.	Tiempo	Nº de exámenes	Resultados: menos 2,3 u L.	más 2,3 u. L.
62°C	20′	20	0	20
62°C	25′	20	7	13
62°C	30′	20	20	0
63°C	15′	20	0	20
63°C	20′	20	20	0
63°C	25′	20	20	0
63°C	30′	20	20	0

Es decir que el calentamiento a 62°C durante 30 minutos o a 63°C desde los 20 minutos en adelante dió siempre sultados inferiores a 2,3 unidades azules Lovibond (leche pasteurizada). Por debajo de estos límites los resultados fueron irregulares.

En otra serie de ensayos se midió la sensibilidad del test «B» para revelar el agregado de leche cruda a leche calentada a 63°C durante 30 minutos. El detalle de las experiencias puede verse en el cuadro Nº 4 que se inserta a continuación.

CUADRO Nº 4. — *Test B. de Kay y Graham*

Leche correctamente calentada a 63° durante 30', contaminada con diferentes proporciones de leche cruda

Leche cruda	Leche pasteurizada	Diluciones	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª	12ª	13ª	14ª	15ª	16ª	17ª	18ª	19ª	20ª
1 cc.	99 cc.	1 %	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
2 »	998 »	0,2 »	3,3	3,4	4,1	3,9	4,2	4,1	4,2	4,5	4,1	4,1	4,1	3,3	2,8	3,5	4,1	4,2	4,1	4,1	4	4
1 »	999 »	0,1 »	2	2,1	2,2	2,3	2,1	1,9	2	2	2	2,1	2,2	2,2	2,3	2	1,9	1,9	2	1,9	2,1	2,2
0,1 »	999,9 »	0,01 »	1,3	1,4	1,2	1,4	1,6	1,7	1,5	1,3	1,2	1,1	1,4	1,2	1,4	1,5	1,7	1,3	1,8	1,7	1,6	1,8
Control cruda . .			+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10	+ 10
Control pasteurizada			1,3	1,1	0,9	1,2	1,1	1,2	1,3	1,2	1,1	1,1	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,2	1,00	1,00	1,00

Resumen de las experiencias detalladas en el cuadro Nº 4

Cantidad de leche cruda agregada %	Nº de experiencias	Resultados: Unidades azules de Lovibond menos 2,3	Resultados: Unidades azules de Lovibond más 2,3
0,00	20	20	0
0,01	20	20	0
0,10	20	20	0
0,20	20	0	20
1,00	20	0	20

Por lo tanto cuando el agregado de leche cruda fué desde 0,2 % en adelante, se obtuvieron resultados siempre superiores a 2,3 unidades azules (leche no pasteurizada).

Cuando el agregado fué inferior a 0,2 % los resultados fueron inferiores a 2,3 unidades azules Lovibond (leche pasteurizada).

CONCLUSIONES

De las experiencias efectuadas con los tests de Kay y Graham se puede concluir:

1) El test « A » solamente es útil para revelar graves imperfecciones en el proceso de la pasteurización.

2) El test « B » es capaz de mostrar los defectos de pasteurización ocurridos por no haberse alcanzado la temperatura de 63°C o por no haber sido mantenida durante el tiempo necesario, entre los siguientes límites:

a) Calentamiento a 63°C, durante veinte minutos como mínimo: la leche aparece como correctamente pasteurizada.

b) Calentamiento a 63°C, durante menos de veinte minutos: el test revela leche mal pasteurizada.

c) Calentamiento a 62°C, durante 30 minutos o más: la leche aparece como correctamente pasteurizada.

d) Calentamiento a 62°C, durante menos de 30 minutos: la leche aparece como mal pasteurizada.

Es decir que el test « B » señala deficiencias de más de un grado o de más de 10 minutos en el calentamiento.

3) El test « B » es capaz de revelar el agregado a leche correctamente pasteurizada de proporciones desde un 2 por mil con leche cruda.