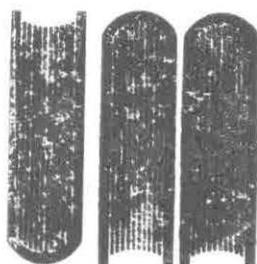


# UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES  
Y EXACTAS



UNIVERSIDAD  
DE MONTERREY

900711

DETERMINACION DEL GRADO DE  
CONTAMINACION MICROBIANA EN  
MANTEQUILLA Y MARGARINA

REPORTE DEL PROGRAMA DE  
EVALUACION FINAL  
QUE PRESENTA

BELINDA I. CHAVARRIA MARTINEZ

EN OPCION AL TITULO DE  
INGENIERO EN ALIMENTOS

MONTERREY, N. L. DICIEMBRE DE 1986



Hoy dá inicio el resto  
de tu existencia, reali-  
za aquello que en reali-  
dad ames.

A quienes con su esfuerzo y dedicación supieron infundir confianza en mí misma para lograr esta meta en mi realización personal:

MIS PADRES.

Gracias Oralia por orientarme y contribuir con tus conocimientos a mi realización.

A mis hermanos,  
amigos y maestros.

## I N D I C E

	Página
INTRODUCCION.....	1
MATERIALES Y METODOS.....	19
RESULTADOS.....	26
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	42
RESUMEN.....	45
BIBLIOGRAFIA.....	46

## I N T R O D U C C I O N

Los hongos son protistas superiores no fotosintéticos, que han desarrollado una organización biológica altamente distintiva y característica, la cual puede ser considerada como una adaptación a su habitat más común, que es el suelo (23).

La mayoría de los hongos son organismos cenocíticos y tienen una estructura vegetativa conocida como micelio; el cual consta de una masa citoplásmica multinucleada encerrada dentro de un sistema ramificado de tubos rígidos constituídos por el polisacárido quitina. Nor-

malmente, el hongo se desarrolla gracias al fenómeno de la germinación, que consiste fundamentalmente en la liberación de una espora, la cuál inicialmente emite un largo filamento o hifa que se ramifica repetidamente hasta formar un sistema de estructura arbórea que se llama micelio. El crecimiento de los hongos está característicamente confinado en los extremos de las hifas por medio de las cuales obtienen su energía de la respiración o fermentación de materiales orgánicos presentes en el suelo o en el agua. Algunos son parásitos de animales o plantas superiores (23).

Algunas diferencias que presentan los hongos con respecto a las bacterias en las técnicas de recuento microbiológico en alimentos incluyen:

- A. Velocidad de crecimiento menor que las bacterias.
- B. Demanda de un ambiente aeróbico.
- C. Tendencia de algunas especies a desarrollarse extensivamente sobre las placas de cultivo.
- D. Temperatura de crecimiento inferior a la de la mayoría de las bacterias mesofílicas de interés sanitario.
- E. Formación considerablemente mayor de colonias a las de naturaleza bacteriana, y limitadas a la superfi-

cie del medio.

- F. Notable tolerancia de la mayoría de las especies para desarrollarse en un medio de alta acidez (pH 3 a 4).
- G. Resistencia de los hongos y levaduras para desarrollarse en concentraciones altas de antibióticos, que resultan fuertemente inhibitorios para las bacterias (14).

Los requerimientos nutricionales de los hongos no son muy especializados ni estrictos; se desarrollan con facilidad en casi todos los medios simples de laboratorio. Sin embargo, dada la lentitud en su crecimiento, que demanda hasta 5 días de incubación para evitar la interferencia bacteriana, suelen adicionarse al medio de cultivo agentes selectivos; los más utilizados son antibióticos de amplio espectro contra bacterias (aureomicina, cloranfenicol) y la acidificación del medio con ácido orgánico. Los datos reportados por algunos autores muestran, que con estos artificios, no suele encontrarse una diferencia significativa en los recuentos microbiológicos al utilizar diferentes medios de cultivo como: agar-papa-dextrosa, agar malta, agar libre de azúcar o agar cuenta estándar (14).

Los alimentos preservados de la contaminación bacte-

riana pueden descomponerse por el desarrollo de hongos, debido a que éstos crecen a bajas temperaturas, en materiales con alta concentración de azúcar o sal, y en sustancias que son fuertemente ácidas (18).

Simultáneamente con el recuento de hongos puede realizarse el de las levaduras, ya que el mismo medio de cultivo les proporciona también buenas condiciones para su proliferación (14).

Se han definido las levaduras como hongos cuya forma de crecimiento es unicelular, con características esféricas, elípticas y cilíndricas. El protoplasma celular de las levaduras está confinado por una membrana rodeada de una pared celular, el interior está constituido principalmente por un núcleo, una gran vacuola, numerosos gránulos y glóbulos de grasa. El tamaño celular varía notablemente y son considerados microorganismos no móviles (8).

Las características nutricionales que manifiestan las levaduras, indica que suelen obtener el carbono de los azúcares, ácidos orgánicos, aldehídos o de la glicerina; el nitrógeno lo obtienen de los productos de la hidrólisis protéica como son las peptonas, los aminoácidos, el amoníaco, la urea o las aminas; el fósforo

y otros micronutrientes los obtienen en forma de sales inorgánicas (8).

Las levaduras necesitan ciertos factores de crecimiento como son el pH, la temperatura, el agua y el oxígeno principalmente. Estos microorganismos crecen en límites amplios de pH aunque el crecimiento óptimo suele presentarse en un rango de 4.5 y de 5.0. Toleran bajas  $A_w$  mucho mejor que la mayoría de las bacterias, incluso a valores menores de 0.75; algunos hongos y levaduras son los únicos organismos que pueden crecer. No presentan crecimiento a temperaturas superiores de 47°C; la temperatura óptima oscila entre los 20°C y los 30°C; la incubación a 30°C suele ser satisfactoria (8).

Los alimentos en los que suele realizarse el recuento de hongos y levaduras para conocer sus antecedentes sanitarios son: las salsas, las harinas, las especias, las mantequillas, las margarinas, la leche, huevo en polvo, frutas en conserva, gelatinas, escabeches, vinagre, y carnes ahumadas (14,18).

Desde épocas antiguas, la mantequilla ha sido considerada como uno de los elementos principales de la dieta humana, debido a su alto valor nutritivo y a que es un derivado natural de la leche.

La mantequilla está compuesta esencialmente de grasa de leche, una pequeña cantidad de sólidos de leche y agua (2,15).

La margarina es un alimento manufacturado y económico que se asemeja a la mantequilla en aspecto, forma y composición, excepto que los componentes de grasa están formados por grasas vegetales y/o animales que se derivan de otras fuentes distintas a la leche (10).

Tomando en cuenta que la única diferencia significativa entre margarina y mantequilla es su contenido graso, a lo largo de este trabajo se tratarán de la misma manera.

El arte de concentrar la fase lipídica de la leche para obtener mantequilla o aceite, ha pasado de generación en generación y no fué sino hasta la última parte del siglo pasado que la fabricación de mantequilla salió de los hogares gracias a los avances tecnológicos de la época, que dieron como resultado la invención del separador centrífugo de crema. Desde entonces se ha dedicado gran parte de la investigación a los problemas de fabricación de mantequilla, más que a cualquier otro producto lácteo. Su consistencia posee las siguientes propiedades reológicas:

- 1.- Aptitud para la extensión.- Es una de las propiedades más importantes de la mantequilla porque de ella depende el grado de apreciación del consumidor; ésta propiedad se designa también como "untabilidad" o sea la aptitud para recubrir la rebanada de pan o la tostada. La capa formada por la mantequilla debe ser continua y regular.
- 2.- Firmeza.- Debe tomarse como sinónimo de dureza; sin embargo, este término se emplea para designar más especialmente la resistencia de la mantequilla a la deformación ejercida por su propio peso cuando se encuentra en forma de bloques voluminosos.
- 3.- Textura.- Se refiere al aspecto del producto y depende a la vez, de otras propiedades reológicas y de la presencia de gotitas de agua o de grumos que le confieren heterogeneidad.
- 4.- Friabilidad.- Es consecuencia de una dureza excesiva y de una estructura cristalina inestable. Cuando se aplica cierta fuerza a la mantequilla se rompe en lugar de deformarse y fluir (2,10,15).

La calidad de la mantequilla está determinada principalmente por la nata usada en su elaboración. La separación de la nata en la granja complica bastante la inspección higiénica, sobre todo en el caso del desnate natural o espontáneo en el que la nata, mientras

permanece en los recipientes de desnatado, está más expuesta a contaminarse y se hace preciso evitar que los coladores y los recipientes usados en el desnatado ensucien y contaminen la leche; nunca se insistirá bastante en la importancia de la higiene de las granjas y vaquerías, así como también en la estricta necesidad de cuidar y limpiar esmeradamente los cubos, máquinas y demás materiales de ordeño. La nata debe tener siempre un olor y un sabor impecables, ya que un sabor pútrido, agrio o rancio es indicativo de mala calidad; los objetivos implicados en la pasteurización de la nata destinada a la fabricación de mantequilla, destruyen los gérmenes patógenos e incrementan el tiempo de su vida útil, además destruyen ciertas enzimas intrínsecas que de otra forma permanecerían activas y podrían ser la causa del desarrollo de diversos tipos de alteraciones químicas (15).

En las fábricas donde la mantequilla se produce sin interrupción, todo el material debe ser objeto de limpieza y desinfección a fin de evitar la contaminación de la nata durante el batido (1).

La mantequilla obtenida de una nata bien pasteurizada no debe contener gérmenes patógenos de ningún tipo, sin embargo, conviene adoptar todas las precauciones posi-

bles para evitar que ésta se contamine después de haber pasteurizado la nata y durante el proceso completo de su elaboración (1).

En relación a los procedimientos de elaboración de la mantequilla se conocen dos métodos que difieren en la forma de batido, ya que uno utiliza el método convencional o discontinuo y el otro un sistema continuo. Ambos procedimientos se inician con la obtención de la nata mediante la separación de la leche en dos fracciones, una de las cuales es la nata que contiene de un 30% a un 40% de grasa de la leche y la otra que es la leche desnatada, presenta entre un 0.01% a un 0.1% de grasa de la leche. El batido convencional o discontinuo se realiza mediante agitación intensa de la nata a una temperatura aproximada de 10°C. La mayor parte de las batidoras que hoy en día se emplean son de acero inoxidable o aleaciones de aluminio-magnesio. Durante el batido, los glóbulos grasos de la leche coalescen hasta que tiene lugar la separación de la grasa en forma de gránulos, la fase acuosa se retira y normalmente se condensa y se seca independientemente; los gránulos de mantequilla pueden o no lavarse con agua. La sal se puede añadir sobre la superficie de los gránulos o en una serie de cortes hechos después de que los gránulos han sido reunidos en una masa compacta. En este momen-

to, el sistema consiste en gránulos de grasa, agua residual procedente del suero o agua de lavado y sal. La etapa siguiente consiste en el trabajado de ésta masa compacta, que permite su levantamiento varias veces mediante paletas interiores y un lanzamiento al fondo de la batidora con aplicación concomitante de agitación; con este proceso se forma una masa compacta homogénea. Más adelante la mantequilla se coloca en grandes sacos o tubos en los cuales se almacena a temperaturas de refrigeración, o bien puede transferirse directamente a la máquina que se encarga de cortarla, darle forma y empaquetarla en porciones de menor tamaño, por medio de un proceso que se conoce con el nombre de preparación de porciones.

En el sistema continuo de fabricación de la mantequilla se emplean fundamentalmente dos tipos de procesos. El proceso Fritz emplea nata con un contenido en grasa de aproximadamente un 40%, ésta nata se transfiere a una máquina donde se somete a un proceso continuo y acelerado de batido y amasado; enseguida se retira el suero y los gránulos se lavan, para luego incorporar, si fuera necesario, la sal y el agua; la mantequilla así obtenida se amasa para darle homogeneidad e inmediatamente después se prepara en porciones y se envasa. El proceso Alpha también emplea nata con un contenido graso de 40% la cual se concentra mediante centrifugación

hasta alcanzar un contenido graso de 80%, posteriormente se enfría y se bate hasta que ocurra la inversión de las fases, el batido continúa hasta que la sal y el agua se distribuyan de manera uniforme y la masa que constituye la mantequilla sea homogénea (15).

La influencia de la técnica sobre las propiedades y por lo tanto sobre la calidad de la mantequilla se aprecia de diversas formas:

- 1.- La repartición de agua en la masa de la mantequilla. Un buen reparto mejora la consistencia y retarda el desarrollo microbiano; no deben formarse gotitas acuosas cuando se ejerce presión sobre la mantequilla a temperatura ambiente.
- 2.- La proporción de grasa libre que forma la fase continua actúa como lubricante en los desplazamientos de las partes sólidas; esto condiciona la dureza y la aptitud para la extensión; un exceso de esta fase líquida determina la textura grasienta.
- 3.- El alcance de la cristalización y la forma de los cristales de materia grasa. Debe observarse que la cristalización lenta favorece la consistencia firme, mientras que la refrigeración enérgica provoca una disminución de la friabilidad de las mantequillas demasiado duras.

- 4.- La cantidad de gas retenido. A mayor cantidad de gas retenido, mayor es el volúmen de un peso dado de mantequilla y mayores los riesgos de oxidación a causa de la presencia de oxígeno.
- 5.- La posibilidad de exudación de aceite por la mantequilla (2).

Comunmente la mantequilla sufre deterioro por contaminación micótica debida principalmente a especies de los géneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* y *Geotrichum*. Estos microorganismos crecen sobre la superficie de la mantequilla, donde producen coloraciones específicas debidas al color particular de sus esporas. La mantequilla es más susceptible de ser alterada por hongos que por bacterias a causa de su elevado contenido graso y su escasa proporción de agua (17).

En el laboratorio de Microbiología de Alimentos se han desarrollado una diversidad de medios de cultivo y técnicas para efectuar el aislamiento, recuento e identificación de hongos y levaduras. Los recuentos pueden referirse a fragmentos del micelio de los hongos que se han desarrollado en el alimento, o a las colonias presentes sobre placas de un medio apropiado. El primer caso puede usarse para conocer la calidad de la mate-

ria prima utilizada en la fabricación de un producto, habitualmente de naturaleza vegetal (14,16).

Los métodos microbiológicos utilizados para medir la calidad de la mantequilla, difieren de los que se usan comúnmente para verificar la calidad de las condiciones sanitarias en la elaboración de la mayoría de los otros productos lácteos, porque con frecuencia se le agrega a la crema antes de batirla o en el momento de elaborar la mantequilla, colorantes artificiales y un "cultivo iniciador" seleccionado para dar sabor y aroma. La adición de cultivos influye en el contenido bacteriano total de la mantequilla. Sin embargo, muchos fabricantes de mantequilla salada usan actualmente, en lugar de los métodos de cultivo vivo, un destilado del cultivo iniciador para obtener sabor de diacetilo (4).

Los métodos microbiológicos que se aplican a la mantequilla son:

- 1.- El método de cultivo en placa.- Se utiliza para determinar el contenido de levaduras, hongos, coliformes y microorganismos proteolíticos.
- 2.- La prueba de selección.- Es un método de cultivo realizado en agar inclinado (Burri) para estimar el contenido bacteriano.

3.- El método microscópico.- Se utiliza para estimar los hongos filamentosos.

En el método de cultivo en placa para determinar el contenido de levaduras, las colonias pueden aparecer sobre la superficie o en el seno de la gelosa. En el primer caso son circulares y de diámetro mayor; en el seno del medio, suelen aparecer estrellados y algo más pequeñas (4,14).

El recuento de levaduras y hongos indica el cuidado con que se ha limpiado y desinfectado el material durante la elaboración de la mantequilla, y debe dar cifras inferiores a 10 elementos por gramo (1).

La crema dulce o ácida es la principal fuente contaminante de microorganismos en la mantequilla, debido a que en la crema suele encontrarse la flora normal de la leche completa y las gotitas de grasa al ascender a la superficie arrastran a los microorganismos. La mantequilla elaborada por métodos sanitarios adecuados no debe contener más de 10 coliformes por mililitro (4,17).

Es indeseable la presencia de hongos y levaduras en grandes cantidades en la mantequilla; como ellos mueren con una pasteurización adecuada, su presencia en

la mantequilla salada generalmente indica, que la pasteurización de la crema se llevó a cabo inadecuadamente y/o que ocurrió una contaminación posterior a la pasteurización. Generalmente, el recuento elevado de levaduras y hongos puede atribuirse a mantequeras insalubres o a mantequeras de madera con duelas viejas y agrietadas cuyo saneamiento adecuado es casi imposible (4).

La mantequilla sin sal puede mostrar un recuento elevado de hongos y levaduras debido al crecimiento de los mismos después de pocos días de batida o puesta en moldes. Los recuentos elevados de levaduras y hongos en muestras batidas recientemente indican: limpieza y procedimientos de esterilización inadecuados, pasteurización deficiente o descuido en la limpieza y manipulación del equipo (4).

Entre la fabricación y la venta de la mantequilla suele transcurrir un tiempo considerable por lo que conviene que el producto esté en condiciones de resistir un almacenamiento duradero. Las pruebas microbiológicas no siempre dan una idea de la capacidad de conservación de la mantequilla, ya que algunas de ellas sólo permiten determinar su calidad inmediatamente después de su elaboración (1).

La mantequilla llamada pasteurizada es en realidad una mantequilla elaborada con crema pasteurizada. El agua es probablemente la causa más importante de contaminación en la fabricación de las mantequillas pasteurizadas (2).

Muchos de los métodos usados para la conservación de los alimentos se basan no en la destrucción o eliminación de los microorganismos sino más bien en retrasar su germinación o impedir su crecimiento una vez iniciado. Los métodos empleados para controlar las actividades microbianas en la mantequilla son:

- a) Salado.- Es el procedimiento de conservación más antiguo; para detener la proliferación de los gérmenes es necesario alcanzar una concentración de sal del 15 al 20% en la fase acuosa o del 2.4 al 3.2% en la mantequilla, puede tolerarse hasta el 10%. El salado se hace con sal fina durante el malaxado que se realiza por el choque de las masas de mantequilla entre sí y contra las paredes.
- b) Congelación.- En la actualidad se hace necesario conservar en frigorífico cantidades importantes de mantequilla, con el fin de nivelar la producción de una estación a otra. Esta circunstancia plantea numerosos problemas que no están del todo resueltos.

Aún tratándose de mantequillas de buena calidad siempre es posible que se produzcan alteraciones en el frigorífico. La congelación a una temperatura de  $-15^{\circ}\text{C}$  es necesaria para una conservación de varios meses, a esta temperatura los procesos bioquímicos transcurren lentamente y la proliferación microbiana se detiene, por lo que la mantequilla debe congelarse poco después de su fabricación.

- c) La mantequilla debe contener menos de  $0.07\text{mg/kg}$  de cobre y  $0.02\text{ mg/kg}$  de fierro.
- d) Envasado.- Se envasa en cajas con papel aluminio evitando las bolsas de aire entre la mantequilla y la hoja de papel (2).

Se debe considerar el aspecto nutritivo de los alimentos desde dos puntos de vista que podemos expresar en forma de preguntas: ¿Cuales elementos nutritivos contienen los alimentos? y ¿En que cantidades son requeridas por el hombre?. La mantequilla posee las propiedades nutritivas de la crema pasteurizada asociadas a las vitaminas liposolubles A y D. Es un buen complemento alimenticio; una ración diaria de 50grs. de mantequilla satisface en el adulto el 15% de las necesidades de energía y del 20 al 50% de las necesidades de vitamina A. En el niño, el 25% de las necesidades de energía son cubiertas; del 20 al 50% de las necesida-

des en vitamina A y el 15% de las necesidades en vitamina D (2).

Como todas las materias grasas de bajo punto de fusión, la mantequilla es absorbida casi íntegramente en el curso de la digestión si se ingiere en cantidades moderadas. Es un hecho comprobado, que la mantequilla es una de las materias grasas mejor toleradas (2).

Una mantequilla de buena calidad debe reunir los siguientes requisitos: a) ausencia de microbios patógenos y de sustancias tóxicas de cualquier tipo; b) elevado valor nutritivo; c) ausencia de materias extrañas nocivas; d) consistencia y sabor agradables (19).

La inspección higiénica de la fabricación de la mantequilla es, por consiguiente, un requisito indispensable para obtener un producto de primera calidad (19).

Debido a que uno de los grupos importantes en la alimentación del hombre es la leche y sus derivados, se ha enfocado ésta investigación al recuento total de hongos y levaduras en mantequilla y margarina, para verificar la limpieza y desinfección del material y equipo utilizado ó una posible contaminación post-pasteurización.

## M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

Para la realización de esta investigación se seleccionaron al azar un total de 10 marcas comerciales de mantequilla y margarina, de las cuáles se analizaron 10 muestras de cada marca dando un total de 100 muestras de mantequilla y margarina, envueltas en papel aluminio y papel encerado. Estas muestras se obtuvieron en diferentes localidades del Area Metropolitana de la Ciudad de Monterrey, N. L.

Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Microbiología de la División de Ciencias Naturales Y E-

xactas de la Universidad de Monterrey, en el período comprendido entre los meses de Agosto a Noviembre de 1986.

A cada una de las muestras se les realizaron las siguientes pruebas: Recuento total de hongos y Recuento total de levaduras.

#### I. RECOLECCION DE LA MUESTRA.

Las muestras se recolectan directamente del lugar de distribución y se transportan inmediatamente al laboratorio.

#### II. RECUESTO TOTAL DE HONGOS.

- 1.- Pesar 10g de muestra. Adicionarlas a 90ml de solución Ringer (dilución 1:10), (R-3).
- 2.- Transferir 1 ml a cada una de dos cajas petri estériles (dilución 1:10'). Adicionar 10 ml a un frasco con 90 ml del diluyente. Agitar. Inocular 1 ml de la suspensión del segundo frasco (dilución 1:100) a cada una de dos cajas petri estériles y 0.1 ml a dos cajas de petri (dilución 1:1000) en el caso de muestra muy contaminada.
- 3.- Acidificar el medio de agar-papa-dextrosa (R-1) con

- el ácido tartárico (R-4) hasta pH 3 (aproximadamente 1.5 ml por cada 100 ml del medio, cuando aquel se encuentre fundido y enfriado a 45°C. Ya acidificado y solidificado debe desecharse). Agregar a una serie de cajas 15-20 ml del medio. Dejar solidificar.
- 4.- A la otra serie de cajas adicionar extracto de malta (R-2) acidificado con ácido tartárico (R-4), hasta pH de 3 a 3.5.
  - 5.- Incubar a 20°C durante 3 días y sin destapar, efectuar un recuento presuntivo de las colonias de hongos desarrolladas, si éste ya se hiciera muy evidente sobre las placas. En caso contrario prolongar hasta 5 días la incubación y entonces proceder al recuento final de cada colonia. Si después de 5 días el desarrollo extensivo no permite el recuento de las colonias, reportar el número obtenido a los 3 días haciendo notar en el informe este período de incubación.
  - 6.- Multiplicar la cifra obtenida, por la inversa de la dilución correspondiente y reportar las colonias de hongos por gramo de muestra.

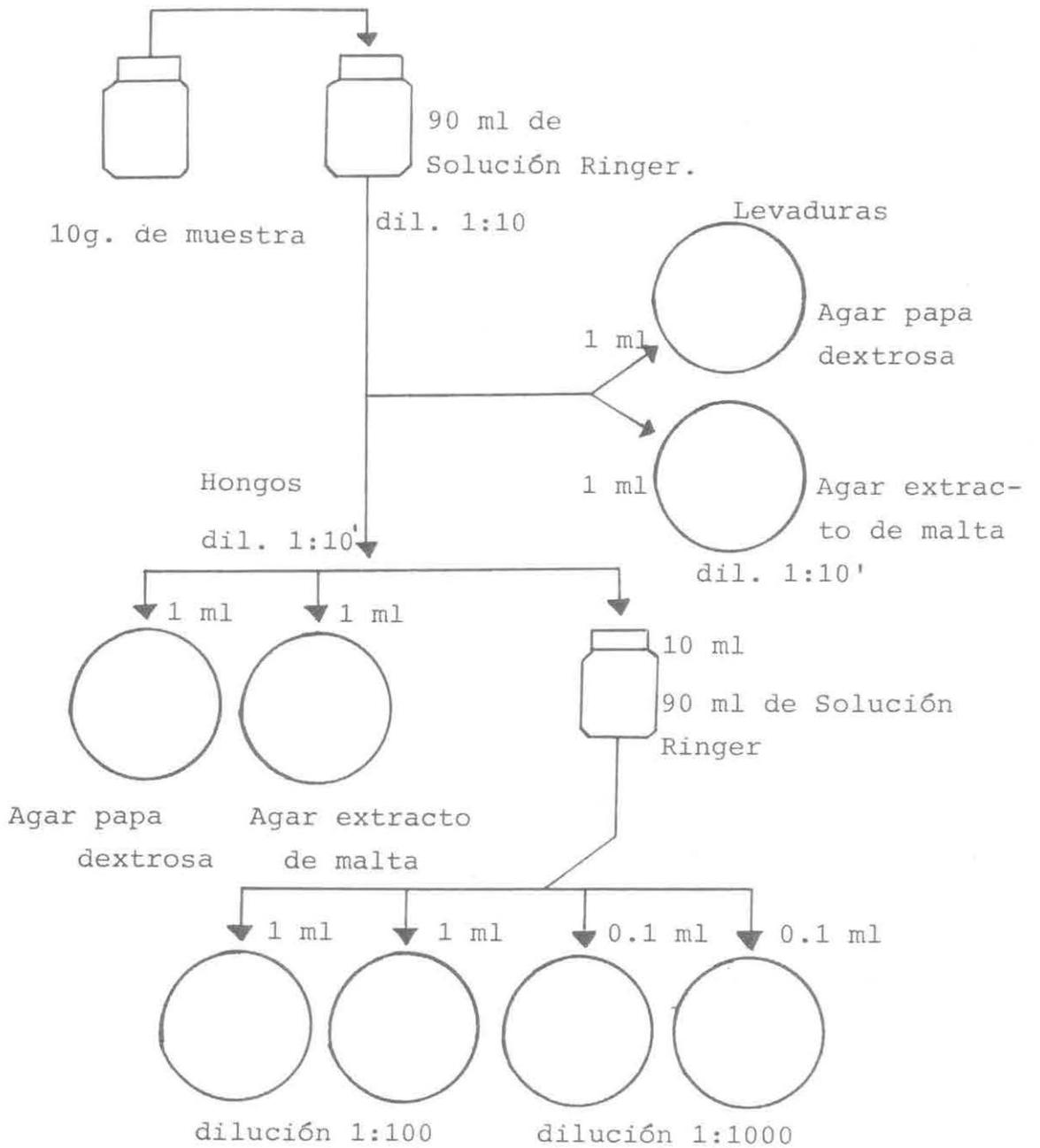
### III. RECUENTO TOTAL DE LEVADURAS.

- 1.- Sembrar 1 ml de la dilución (1:10) en cada una de dos cajas petri, adicionar agar-papa-dextrosa (R-1)

a una caja petri. y agar extracto de malta (R-2), acidificado a otra caja petri e incubar a 35°C durante 24 horas, contar en las placas las colonias de levaduras.

- 2.- Multiplicar la cifra obtenida por el inverso de la dilución correspondiente y reportar como colonias de levaduras por gramo de muestra.

RECUESTO TOTAL DE HONGOS Y LEVADURAS



## REACTIVOS

(R-1) AGAR PAPA DEXTROSA.

El agar papa dextrosa se rehidrata de acuerdo a las instrucciones y se esteriliza a 121°C por 15 minutos. El medio se enfría a 45°C y se añaden 1.5 ml de ácido tartárico al 10% por cada 100 ml del medio.

(R-2) AGAR EXTRACTO DE MALTA.

Caldo extracto de malta ..... 33.60g  
Agar bacteriológico ..... 15.00g  
Agua destilada ..... 1000.00ml

Disolver el caldo extracto de malta y el agar bacteriológico en el agua destilada. Se calientan agitando frecuentemente y se lleva a ebullición para disolver. Se esteriliza en autoclave a 121°C por 15 minutos.

(R-3) SOLUCION RINGER.

NaCl ..... 8.50g  
KCl ..... 0.20g  
NaCO<sub>3</sub> ..... 2.20g  
Agua destilada ..... 1000.00ml

Se disuelven las sales en el agua y se esteriliza a 121°C por 15 minutos.

(R-4) ACIDO TARTARICO AL 10%.

Acido tartárico ..... 10.00g

Agua destilada ..... 100.00ml

Disolver el ácido tartárico en agua destilada,  
esterilizar a 121°C por 15 minutos.

## R E S U L T A D O S

Se analizaron 100 muestras de mantequilla y margarina por recuento total de hongos y levaduras y los resultados se muestran en la Tabla No. 1. Cada uno de los datos reportados corresponden al número total de microorganismos por gramo de muestra detectados en la mayor dilución de la muestra.

En las tablas No. 2 y No. 3 se encuentran agrupados el número de muestras que corresponden a los diferentes rangos de la cuenta total; indicando los resultados de acuerdo a los dos medios de cultivo utilizados por el

análisis. Encontrándose en la cuenta total de hongos una diferencia significativa en el total de muestras contaminadas entre  $0-10^3$  colonias/gr. para cada uno de los medios utilizados (Tabla No. 2)

El recuento de hongos y levaduras osciló entre 0-Incontables colonias/gr. de producto (Tablas No. 2 y No. 3). Por otra parte, se observa en la Tabla No. 3 que un alto porcentaje de las muestras no contenían levaduras en cifras significativas, en agar papa dextrosa como en agar extracto de malta.

En la Tabla No. 4 se agrupan las muestras contaminadas en base a la marca comercial con el objeto de observar una posible correlación. Los resultados generales del análisis microbiológico indicados en esta Tabla muestran que el 73% del total de muestras resultaron contaminadas en el recuento practicado en el agar papa dextrosa; y el 59% del total de muestras resultaron contaminadas en el recuento practicado en el agar extracto de malta.

TABLA No. 1

Número total de microorganismos por gramo de muestra  
en agar papa dextrosa

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 1	0	Incontables
Muestra 2	10	0
Muestra 3	0	0
Muestra 4	0	0
Muestra 5	0	Incontables
Muestra 6	0	0
Muestra 7	0	0
Muestra 8	0	Incontables
Muestra 9	0	0
Muestra 10	0	0
Muestra 11	50	Incontables
Muestra 12	0	0
Muestra 13	0	0
Muestra 14	0	Incontables
Muestra 15	0	0
Muestra 16	0	0
Muestra 17	0	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 18	10	0
Muestra 19	0	0
Muestra 20	1000	0
Muestra 21	2200	0
Muestra 22	0	0
Muestra 23	200	0
Muestra 24	1000	0
Muestra 25	100	0
Muestra 26	1000	0
Muestra 27	300	0
Muestra 28	12000	0
Muestra 29	4000	0
Muestra 30	500	0
Muestra 31	15000	40
Muestra 32	5000	0
Muestra 33	4000	0
Muestra 34	1000	0
Muestra 35	8000	0
Muestra 36	1000	0
Muestra 37	2000	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 38	3000	0
Muestra 39	2000	60
Muestra 40	3000	0
Muestra 41	0	0
Muestra 42	1000	10
Muestra 43	800	0
Muestra 44	20	0
Muestra 45	4000	0
Muestra 46	0	20
Muestra 47	0	0
Muestra 48	10000	0
Muestra 49	40	0
Muestra 50	0	150
Muestra 51	3000	0
Muestra 52	200	0
Muestra 53	1000	0
Muestra 54	1000	0
Muestra 55	400	0
Muestra 56	2000	0
Muestra 57	10	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 58	10000	0
Muestra 59	200	0
Muestra 60	3000	0
Muestra 61	0	0
Muestra 62	0	0
Muestra 63	0	0
Muestra 64	8000	0
Muestra 65	1000	0
Muestra 66	0	0
Muestra 67	1100	0
Muestra 68	300	0
Muestra 69	4000	0
Muestra 70	5000	0
Muestra 71	0	0
Muestra 72	1000	0
Muestra 73	0	0
Muestra 74	1000	0
Muestra 75	3000	0
Muestra 76	1000	0
Muestra 77	1000	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 78	2000	0
Muestra 79	1000	0
Muestra 80	300	0
Muestra 81	1000	0
Muestra 82	0	0
Muestra 83	1000	0
Muestra 84	0	0
Muestra 85	100	0
Muestra 86	1000	0
Muestra 87	200	0
Muestra 88	2000	0
Muestra 89	100	0
Muestra 90	1000	0
Muestra 91	1000	0
Muestra 92	0	0
Muestra 93	1000	0
Muestra 94	0	0
Muestra 95	100	0
Muestra 96	1000	0
Muestra 97	200	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 98	2000	0
Muestra 99	100	0
Muestra 100	1000	0

Número total de microorganismos por gramo de muestra en agar extracto de malta

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 1	0	Incontables
Muestra 2	0	0
Muestra 3	0	Incontables
Muestra 4	0	Incontables
Muestra 5	0	Incontables
Muestra 6	0	0
Muestra 7	0	0
Muestra 8	0	Incontables
Muestra 9	0	0
Muestra 10	0	0
Muestra 11	0	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 12	0	0
Muestra 13	0	0
Muestra 14	0	Incontables
Muestra 15	600	40
Muestra 16	0	0
Muestra 17	0	0
Muestra 18	6000	0
Muestra 19	0	0
Muestra 20	0	0
Muestra 21	5000	Incontables
Muestra 22	0	0
Muestra 23	0	0
Muestra 24	1000	0
Muestra 25	1000	0
Muestra 26	1000	0
Muestra 27	100	0
Muestra 28	7000	0
Muestra 29	8000	0
Muestra 30	6000	0
Muestra 31	35000	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 32	3000	0
Muestra 33	5000	0
Muestra 34	7000	10
Muestra 35	4000	0
Muestra 36	10000	0
Muestra 37	7000	0
Muestra 38	8000	0
Muestra 39	20000	500
Muestra 40	10000	0
Muestra 41	0	0
Muestra 42	0	0
Muestra 43	1000	0
Muestra 44	0	0
Muestra 45	0	0
Muestra 46	5500	0
Muestra 47	0	0
Muestra 48	900	0
Muestra 49	100	0
Muestra 50	0	40
Muestra 51	1000	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 52	0	0
Muestra 53	0	0
Muestra 54	0	0
Muestra 55	100	0
Muestra 56	0	0
Muestra 57	1000	0
Muestra 58	4000	0
Muestra 59	0	0
Muestra 60	0	0
Muestra 61	100	0
Muestra 62	0	0
Muestra 63	0	0
Muestra 64	0	0
Muestra 65	100	0
Muestra 66	1000	0
Muestra 67	0	0
Muestra 68	1000	0
Muestra 69	2000	0
Muestra 70	1000	0
Muestra 71	0	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 72	0	0
Muestra 73	1000	0
Muestra 74	100	0
Muestra 75	100	0
Muestra 76	1000	0
Muestra 77	0	0
Muestra 78	20	0
Muestra 79	0	0
Muestra 80	0	0
Muestra 81	200	0
Muestra 82	300	0
Muestra 83	40	0
Muestra 84	10	0
Muestra 85	100	0
Muestra 86	0	0
Muestra 87	200	0
Muestra 88	2000	0
Muestra 89	300	0
Muestra 90	100	0
Muestra 91	10	0

Continuación...

Muestras de mantequilla	Hongos col./gr.	Levaduras col./gr.
Muestra 92	0	0
Muestra 93	0	0
Muestra 94	Incontables	0
Muestra 95	200	0
Muestra 96	0	0
Muestra 97	0	0
Muestra 98	200	0
Muestra 99	1000	0
Muestra 100	0	0

TABLA No. 2

Cuenta total de hongos  
en las muestras de mantequilla

Colonias/gramo	% del total de muestras en APD *	% del total de muestras en AEM **
$0 - 10^1$	37	50
$10^1 - 10^2$	7	11
$10^2 - 10^3$	31	19
$10^3 - 10^4$	22	17
$10^4 - 10^5$	2	2
Incontables	1	1
TOTALES	100.0	100.0

\* APD: agar papa dextrosa.

\*\* AEM: agar extracto de malta.

TABLA No. 3

Cuenta total de levaduras  
en las muestras de mantequilla

Colonias/gramo	% del total de muestras en APD *	% del total de muestras en AEM **
0 - 10 <sup>1</sup>	91	90
10 <sup>1</sup> - 10 <sup>2</sup>	3	2
10 <sup>2</sup> - 10 <sup>3</sup>	1	1
10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>	0	0
10 <sup>4</sup> - 10 <sup>5</sup>	0	0
Incontables	5	7
TOTALES	100.0	100.0

\* APD: agar papa dextrosa.

\*\* AEM: agar extracto de malta.

TABLA No. 4

Cuenta total de hongos y levaduras

Muestras de mantequilla	% de muestras contaminadas del total de muestras en APD <sup>*</sup>	% de muestras contaminadas del total de muestras en AEM <sup>**</sup>
Muestra 1	7	7
Muestra 2	6	2
Muestra 3	5	5
Muestra 4	8	7
Muestra 5	9	9
Muestra 6	6	5
Muestra 7	6	4
Muestra 8	10	10
Muestra 9	8	5
Muestra 10	8	5
TOTALES	73.0	59.0

\* APD: agar papa dextrosa.

\*\* AEM: agar extracto de malta.

## D I S C U S I O N Y C O N C L U S I O N E S

El rápido crecimiento demográfico en México, ha generado la necesidad de producir y preservar alimentos nutricionalmente adecuados y elaborados higiénicamente. De aquí la importancia de determinar el contenido microbiano de alimentos como la mantequilla y la margarina, ya que éstos, en la actualidad, forman parte de la dieta diaria del ser humano.

Los resultados obtenidos del análisis del total de muestras, demuestran que un 73%, presentó contaminación por hongos y levaduras en el medio de agar papa dextrosa y un 59% presentó contaminación en el agar extracto

de malta; lo cual representa un grado de contaminación altamente significativo e indicativo de: posibles fallas de higiene durante el proceso de elaboración, contaminación posterior a la pasteurización, adición de cultivos iniciadores inadecuados y uso de materia prima contaminada.

Los límites recomendables que garantizan una alta calidad del producto, establecen que la mantequilla no debe presentar más de 10 elementos por gramo. Los resultados de las Tablas No. 2 y No. 3 indican un grado mayor de contaminación por hongos que por levaduras.

En relación a los dos medios de cultivo utilizados, dichas tablas señalan una correlación directa para el análisis de levaduras (Tabla No. 3) y una falta de correlación entre la sensibilidad de los medios para el cultivo de hongos.

El grado de contaminación microbiana de cada una de las marcas analizadas (Tabla No. 4) es de utilidad para llegar a desarrollar ciertos criterios acerca de los diferentes tipos de empaque utilizados, tomando como base los resultados observados en este estudio que relaciona el grado de contaminación de los productos con presentación en papel aluminio o en papel encerado. Es-

te último correspondiendo a un grado de contaminación mayor.

Los resultados obtenidos no son indicativos de la capacidad de conservación de la mantequilla, ésto debido a que los análisis microbiológicos se practicaron a muestras obtenidas directamente del mercado y no al término de su elaboración. Por lo tanto con los resultados obtenidos en este trabajo, no es posible hacer inferencia respecto a la proliferación de microorganismos y a una posible contaminación de origen externo durante las etapas de: almacenamiento, distribución y consumo del producto.

Uno de los factores que posiblemente estén involucrados en la proliferación microbiana del producto es la temperatura ambiental a la cuál se exponga éste, durante el período comprendido entre la terminación del producto y su consumo.

La determinación de la presencia de hongos y levaduras en el producto final es un aspecto importante del control de calidad en la mantequilla y margarina.

## R E S U M E N

Se determinó la presencia de hongos y levaduras en mantequilla y margarina, adquiridas en diferentes localidades del Area Metropolitana de la Ciudad de Monterrey, N. L. Se utilizaron los medios de agar papa dextrosa y agar extracto de malta para efectuar un recuento total.

De las 100 muestras examinadas un 73% presentó contaminación por hongos y levaduras en agar papa dextrosa, y un 59% presentó contaminación en agar extracto de malta.

## B I B L I O G R A F I A

1. Adbussalam, M. 1966. Higiene de la leche. Printed in Switzerland.
2. Alais Charles. 1971. Ciencia de la leche. 2<sup>a</sup> Edición. Editorial C. E. C. S. A. España.
3. Alfa Editores Técnicos, S. A. 1985. Nuevo producto totalmente vegetal equivalente a la manteguilla. Industria Alimentaria. 31-37.
4. Asociación Americana de Salud Pública. 1963. Normas para el exámen de los productos lácteos. Decimo primera edición. U. S. A.
5. Batish, V. K. 1984. Screening of milk and milk products for thermonuclease. Journal of Food Science.

49: 1196-1197.

6. Batish, V. K. 1984. Incidence of Enterococcal Thermonuclease in milk and milk products. 49: 1610-1611.
7. Bavernfeind, J. C. 1983. El Acido ascórbico en los productos lácteos. Industria Alimentaria. 5: 5-13.
8. Carpenter, L. P. 1969. Microbiología. 2a Edición. Editorial Interamericana, S. A. México.
9. Collins, C. H. 1969. Métodos Microbiológicos. Editorial Acribia. España.
10. Desrosier, W. N. 1985. Elementos de Tecnología de Alimentos. 3a Edición. Editorial C. E. C. S. A. México.
11. Divo, A. 1971. Microbiología Médica. 2a Edición. Editorial Interamericana. México.
12. Frazier, W. C. 1972. Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia. España.
13. Garduño, A. T. 1973. Margarina Líquida. Tecnología de Alimentos. 242:5
14. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Manual de Prácticas de Microbiología Sanitaria. 3a Edición.
15. International Commission On Microbiological Specifications for Foods. 1980. Ecología Microbiana de los Alimentos 2, Productos Alimenticios. Editorial Acribia. España.
16. International Commission on Microbiological Speci-

- fications for Foods. 1981-1983. Microorganismos de los Alimentos. 2a Edición. Editorial Acribia. España.
17. Jay, M. J. 1978. Microbiología Moderna de los Alimentos. 2a Edición. Editorial Acribia. España.
  18. Kenneth, L. B. 1974. Microbiología. Editorial PCSA. México.
  19. Nickerson, T. J. 1978. Microbiología de los Alimentos y sus Procesos de Elaboración. Editorial Acribia. España.
  20. Potter, N. N. 1978. La Ciencia de los Alimentos. 1a Edición. Editorial EDUTEX. México.
  21. Rodríguez Martínez, C. Cisneros, F. 1986. Utilización de proteínas precipitadas del suero de mantequilla en productos cárnicos. Tecnología de Alimentos. 21: 4-13.
  22. Seeley, W. H. Jr. 1973. Manual de Laboratorio para Microbiología. Editorial Blume. España.
  23. Stanier, Y. R. 1965. El Mundo de los Microbios. Editorial Aguillar.
  24. Strocchi, A. 1982. Fatty Acid Composition and Triglyceride Structure of Corn oil, hydrogenated corn oil, and corn oil margarine. Journal of Food Science. 47: 36-39.

