

DATOS COMPARATIVOS DE GERMENES LIPOLITICOS ENTRE LECHE CRUDAS INDIVIDUALES Y DE MEZCLA

CARUSO, Nenúfar S. de; - FEDER, A.

Se analizaron 200 muestras correspondientes: 100 a leche de mezcla y 100 muestras individuales, por vaca.

Se hicieron recuentos de microorganismos lipolíticos, utilizando el Agar Sulfato de Azul Nilo (según modificación técnica FIL).

Se emplearon diluciones desde 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} y 10^{-8} incubando a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 72 Hs.

Las muestras de gran mezcla fueron transportadas a la usina pasteurizadora por camiones en bidones de 30 lts. Las individuales fueron obtenidas directamente en el tambo, con ordeño a mano, observando en ambas, precauciones de asepsia y siendo trabajadas dentro de las cuatro horas.

El 70% de las muestras de leche de bidones fueron incontables en diluciones de 10^{-2} , 10^{-4} y 10^{-6} , del 30% restante 24% dieron resultados negativos en dilución 10^{-8} ; 6% $< 60 \times 10^4$ según estándar para lipolíticos (FIL).

El 80% de las muestras individuales fueron negativas para microorganismos lipolíticos en diluciones 10^{-2} y 10^{-4} ; 9% $< 60 \times 10^4$, 1.1% 60×10^4 .

Múltiples manipulaciones sufridas por la leche (trasvasado a tarros, transporte, vuelco en balanza, circulación en cañerías) desde el tambo a la planta, contribuyen a desarrollar una flora altamente lipolítica que repercute tecnológicamente y en su periodo de conservación.

*Cátedra de la Tecnología de la Leche. Instituto de Leche
Facultad de Veterinaria. Universidad Mayor de la
República Oriental del Uruguay.*

SUMMARY

200 samples were analyzed: 100 of them corresponded to bulk milk and 100 to individual samples, per cow.

Lypolitic microorganisms were counted, employing the Blue Nile Sulfate (modification of the IDF technique).

Dilutions from 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} and 10^{-8} were used incubating for 72 hours at $30^{\circ}\text{C} \pm 1$.

Bulk milk samples were carried by trucks to the dairy, in 30 liters cans. Individual samples were obtained directly from manual milking farms, with special care in hygiene, being analyzed within a four hours period.

70% of the cans samples were not possible to be counted in the 10^{-2} , 10^{-4} and 10^{-6} dilutions. From the other 30%, 24% were negative in the 10^{-8} dilution; and 6% $< 60 \times 10^4$ according to the lypolitic standard (IDF).

80% of individual samples were negative for lypolitic microorganisms in the 10^{-2} and 10^{-4} dilutions; 9% $< 60 \times 10^4$, 11% 60×10^4

Handling milk from the farm to the dairy, contribute to the growth of a highly lipolitic flora that produce damage in technology and keeping quality.

INTRODUCCION

La leche de vaca contiene siempre un sistema lipolítico que puede provenir del tejido mamario o ser de origen microbiano. (9) En condiciones normales existen ácidos grasos libres producidos por hidrólisis de los lípidos. Este tipo de lipólisis se acentúa con la mecanización de los métodos de ordeño, transporte y malos caminos, intervalos prolongados de espera de la leche a ser recogida, uso del acero inoxidable, métodos de limpieza utilizados en el tambo y en los camiones cisterna. Existen parámetros fisiológicos que probablemente sensibilizan la leche a la lipólisis, (FIL) (1), tales como avanzado ciclo de lactación, bajo rendimiento lechero, alimentación. Se la ha relacionado también al recuento celular, Jellema y Schipper (2) (10); la lipólisis aparecería con más frecuencia en tambos con promedios de

300.000 a 500.000 células somáticas por ml. que en aquellos con menos de 300.000.

La actividad lipolítica de origen microbiano. El crecimiento de microorganismos psicrotrofos de la leche ha sido implicado como causante de sabores extraños y olor alterado Stewart et al, (3). Los ácidos grasos se descomponen más rápidamente que los triglicéridos intactos en carbonilos y otros componentes volátiles responsables de las malos sabores en las grasas.

La tecnología lechera tiende a completar en nuestro país la cadena del frío desde el productor hasta el consumidor en forma ininterrumpida. A pesar de esto, el frío se revela insuficiente para detener el desarrollo de ciertos microorganismos que conservan su actividad a bajas temperaturas. Ellos o sus enzimas pueden causar deterioro considerable principalmente en los derivados lácteos. Realizamos el presente estudio para estimar la incidencia en nuestras leches de estos microorganismos, dado que entre la flora psicrotrofa se encuentra una gran mayoría de lipolíticos.

MATERIAL Y METODOS

Las muestras proceden de leches individuales extraídas en tambos de ordeño manual de la cuenca lechera de Montevideo. Las muestras de leches de mezcla fueron obtenidas directamente de los tarros en el momento de su recepción.

Se trabajaron muestras individuales y de mezcla, teniendo presente factores ecológicos tales como carga inicial, preincubación, mencionada en un trabajo anterior, Caruso, Feder (4), calidad de las aguas, Laborde, Bonilla (5) y transporte.

Las muestras fueron refrigeradas durante 2 a 3 hs. y trabajadas dentro de ese periodo.

El medio empleado fue el agar-sulfato de Azul Nilo.

Recuento de gérmenes lipolíticos.

a) Preparación del agar-sulfato de azul Nilo (modificación de la técnica según Norma FIL).



Partiendo de 100 grs. de manteca fresca, se llevó a temperatura de fundición a BM. Se agregó agua caliente y se dejó decantar en la estufa a $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Transcurridas 2 horas, se extrajo la fase lípida amarilla de la fase acuosa (blanca) y del insoluble, pasándola a un matraz Erlenmeyer. Se agregó agua caliente $45^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, dejando decantar. Esta operación se repitió 3 veces. A cada 60 ml. de grasa se agregó 1 ml. de sulfato de azul Nilo, preparado en solución acuosa al 1%. Se volvió a calentar la mezcla, previo agregado de 2 o 3 gotas de NaOH al 30% hasta pH alcalino, coloreándose la fase acuosa de azul, mientras que la grasa se torno color naranja. Se esterilizó a 121°C 15 minutos.

b) Siembras.

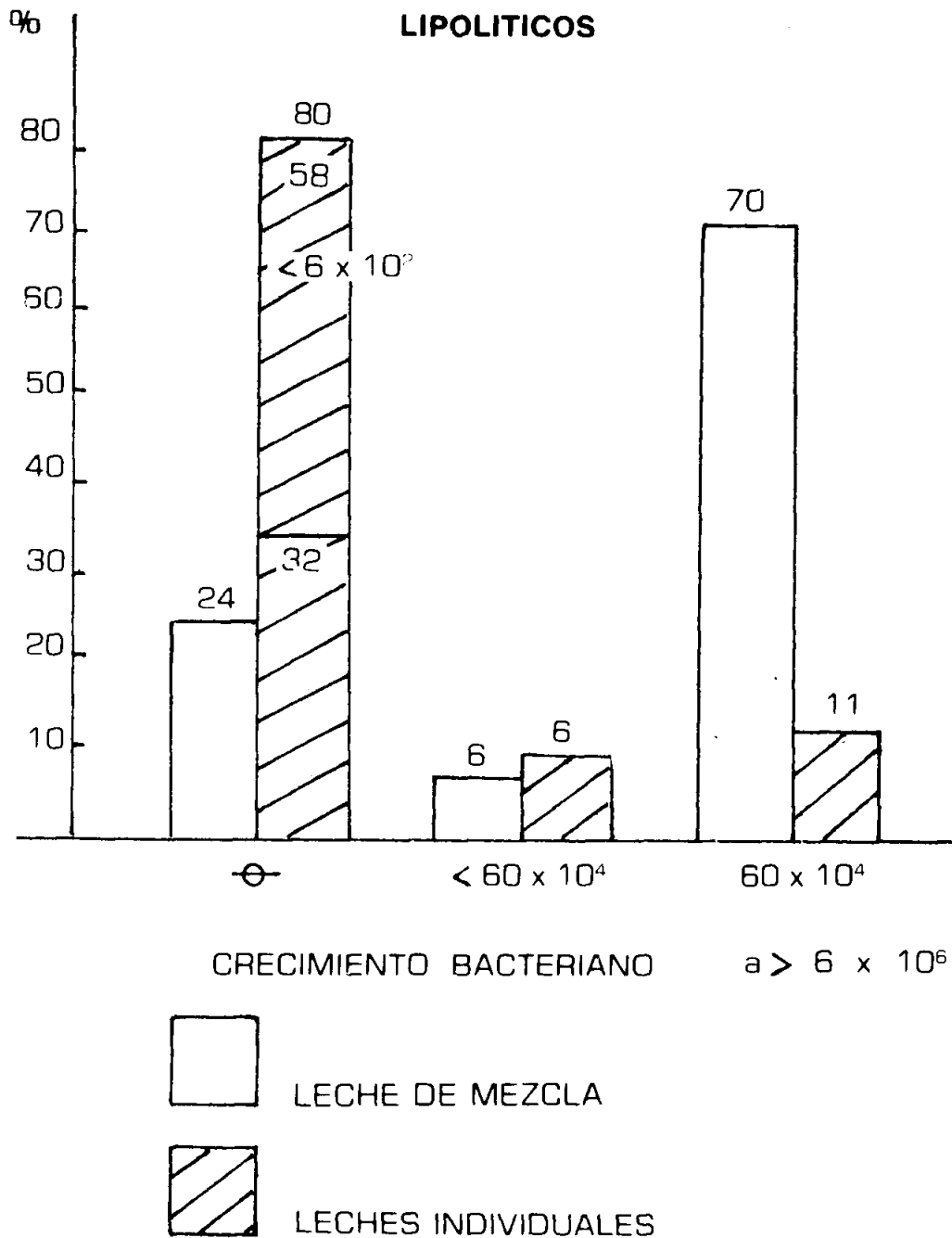
A partir de diluciones 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} y 10^{-8} para las leches crudas de mezcla y de 10^{-2} y 10^{-4} para leches individuales, se sembró en profundidad, incubando a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 72 Hs. Las colonias pertenecientes a gérmenes lipolíticos se colorearon de azul intenso en las zonas circuntantes Demeter (6).

Los colorantes de las grasas exceptuando al azul Nilo, son soluciones alcohólicas. Este es soluble en agua y posee dos componentes: una oxazona azul y una oxazona roja. Los triglicéridos, saturados o no, se colorean de rojo por la oxazona. Los lípidos ácidos, incluyendo ácidos grasos y fosfolípidos, se colorean de azul por la base oxazona (rosada) en forma de sales.

Rath (7), ha propuesto un método en base al colorante Azul Victoria, coloreando las colonias sólo cuando estas han crecido. Hartley (8) llama la atención sobre la acción inhibitoria tóxica ejercida por el sulfato de azul Nilo frente a otros microorganismos que entorpecerían el crecimiento de los lipolíticos, otra de las razones por las cuales seleccionamos este método.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las cepas seleccionadas para los recuentos en cada dilución fueron aquellas con un número de colonias entre 6 y 60, ya que en caso de ser superada esta cifra resultaría enmascarada la actividad lipolítica de las colonias desdobladoras de las grasas (6).



De acuerdo a lo que se observa en la gráfica, en el rango de 60×10^4 a $> 6 \times 10^6$ se registraron los mayores porcentajes de crecimiento (70%) para las leches de mezcla, no desarrollando crecimiento el 24% de las muestras. En leches individuales el mayor porcentaje (8) no desarrollo crecimiento o fue muy escaso, menor de 6×10^2 (58%). En el rango menor de 60×10^4 , los porcentajes de crecimiento tanto para leches individuales como para leches de mezcla, resultaron similares (6 y 9%).

El estudio de estos porcentajes indicaría que a partir de la obtención de la leche individual hasta su llegada a la planta (leche de mezcla) intervendrían los factores ya mencionados afectando la calidad bacteriológica y de conservación. Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Hartley (8) sobre alteraciones de las propiedades organolépticas (sabor amargo, oxidado, rancio, etc.) encontradas.

En un trabajo anterior (4) hemos evidenciado altas cargas de gérmenes psicotrofos en leches colectadas en tarros, que fueron previamente enfriadas 3 horas a 5°C antes de su análisis. Esta flora psicotrofa en un alto porcentaje estaba constituida por *Pseudomonas* spp. Stewart Murray et. Neil, (3) mencionan que cultivos de ***Pseudomonas*** spp. son capaces de producir una lipasa extracelular con marcada actividad lipolítica y que este género se encuentra con predominio entre los psicotrofos.

Evidentemente deben ser estudiados todos los parámetros ecológicos que favorecen la contaminación por psicotrofos lipolíticos en las leches crudas de mezcla.-

CONCLUSIONES

1) Es necesario reducir los riesgos de alteración de la calidad química y bacteriológica de la leche a consecuencia de los fenómenos de lipólisis.

2) Resaltamos la importancia de los gérmenes lipolíticos en leches de consumo y destinadas a la industria. La utilización del frío cada vez más expandida, permitiendo prolongar el período que va desde el ordeño a la venta o transformación en derivados lácteos, significa una conquista tecnológica, pero no se ha llegado aún a la aplicación racional del mismo.

3) Los tambos deberán adecuar sus instalaciones a requerimientos higiénicos-sanitarios y tecnológicos, incluyendo la aplicación del frío.

4) Es conveniente advertir a la industria lechera de los riesgos que implica lo que aparentemente sería una solución.

5) La lipólisis provocada por la acción mecánica en las tuberías, en los camiones cisterna, y la agitación excesiva no puede evitarse tan sólo por la refrigeración a 4°C.

6) Finalmente, un elevado nivel de ácidos grasos libres en la leche de consumo o en los productos lácteos puede deberse a una excesiva lipólisis natural, a un elevado crecimiento microbiano o a la presencia de enzimas termoestables producidas por bacterias psicrotrofas lipolíticas.

BIBLIOGRAFIA

- 1) FIL. ANNUAL BULLETIN. 1975. *Proceedings of the lipolysis simposium. Cork. Ireland.*
- 2) JELLEMA, A., SCHIPPER, C. 1975. *Influence of physiological factors on the lipolytic susceptibility of milk. Proceedings of the lipolysis simposium. Cork. Ireland.*
- 3) STEVART, D.B., MURRAY, J.G. and NEILL, S.D. 1975. *Lipolytic activity of organisms isolated from refrigerated bulk milk. Proceedings of lipolysis simposium. FIL. Cork. Ireland. Document N° 86.*
- 4) CARUSO, N.S., FEDER, A. 1977. *Influencia del predominio de ciertos psicrotrofos en las pruebas de reducción de colorantes en leches crudas. 7º Congreso Latinoamericano de Microbiología.*
- 5) LABORDE, J., BONILLA, M. 1975. *Análisis bacteriológico de agua en tambos del sur del país. Revista Veterinaria. Tomo XII N° 60.*
- 6) DEMETER, K.J. 1969. *LACTOBACTERIOLOGIA. Ed. Acribia.*
- 7) PORTMAN, J. 1963. *Observations sur la numeration des microorganismes lipolytiques du beurre, selon la technique de RATH. Le Lait, Nov. Dic.*
- 8) HARTLEY, J.C. 1976. *Cálidad de la leche. Informe Final. Cuaderno Técnico N° 35 LATU.*