

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA
(TERCERA EPOCA)
DIRECTOR AD-HONOREM : ENRIQUE C. CLOS

Tomo XLII La Plata (Prov. Buenos Aires), diciembre de 1966 Entrega 2ª

LA PRESENCIA DE ESPORULADOS EN EL DULCE DE LECHE

(CONTRIBUCION PREVIA)¹

POR JULIO CESAR OCAMPÓ²

I. INTRODUCCION

a) CONSIDERACIONES GENERALES.

La observación de muestras de dulce de leche, que presentaban alteraciones durante su conservación, nos sugirió la realización de una serie de ensayos, sobre las causas que provocaban las deficiencias, y el origen de los agentes que las producían.

Si consideramos, que tanto la leche como el azúcar, materias primas que intervienen en su elaboración, son portadoras de una más o menos rica flora microbiana, —en particular, de esporulados y termófilos— pensamos que éste podría ser el origen de los agentes causales de las alteraciones observadas. No obstante que la temperatura y tiempo de elaboración, hacen dudosa esta posibilidad; por otra parte, queda la posibilidad de contaminaciones posteriores a la elaboración, durante el enfriado y envasado.

Sin perjuicio de las anteriores objeciones, y considerando que en la elaboración del azúcar, que también sufre un tratamiento térmico elevado, subsiste una flora termófila característica, decidimos seguir esa vía en el caso del dulce de leche.

¹ Trabajo realizado en la Cátedra de Industrias Agrícolas de Lechería de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Plata.

² Ingeniero Agrónomo. Profesor Adjunto, con dedicación exclusiva, de Industrias Agrícolas de Lechería.

b) FORMA EN QUE SE ENCARA EL TEMA.

En el presente trabajo nos limitaremos a exponer los ensayos realizados, con la finalidad de comprobar experimentalmente, la supervivencia de esporulados en el dulce de leche.

Se presenta como una contribución preliminar, destinada a comprobar, que el número de esporos presentes en la leche cruda, está en relación directa con los esporulados que desarrollan posteriormente en el producto elaborado, causando accidentes en su conservación.

c) REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Debido a la inexistencia de bibliografía sobre el tema, hemos debido recurrir a la consulta de trabajos publicados sobre leches condensadas azucaradas —que en muchos aspectos es similar al dulce de leche—, leches esterilizadas y azúcares.

Por ser sus referencias colaterales al tema, no entraremos a su análisis.

II. MATERIAL Y METODOS

Para la ejecución del trabajo se planeó el siguiente esquema: inocular leche esterilizada, con una suspensión de esporulados, y elaborar dulce de leche. Investigar sobre este dulce la presencia de esporulados.

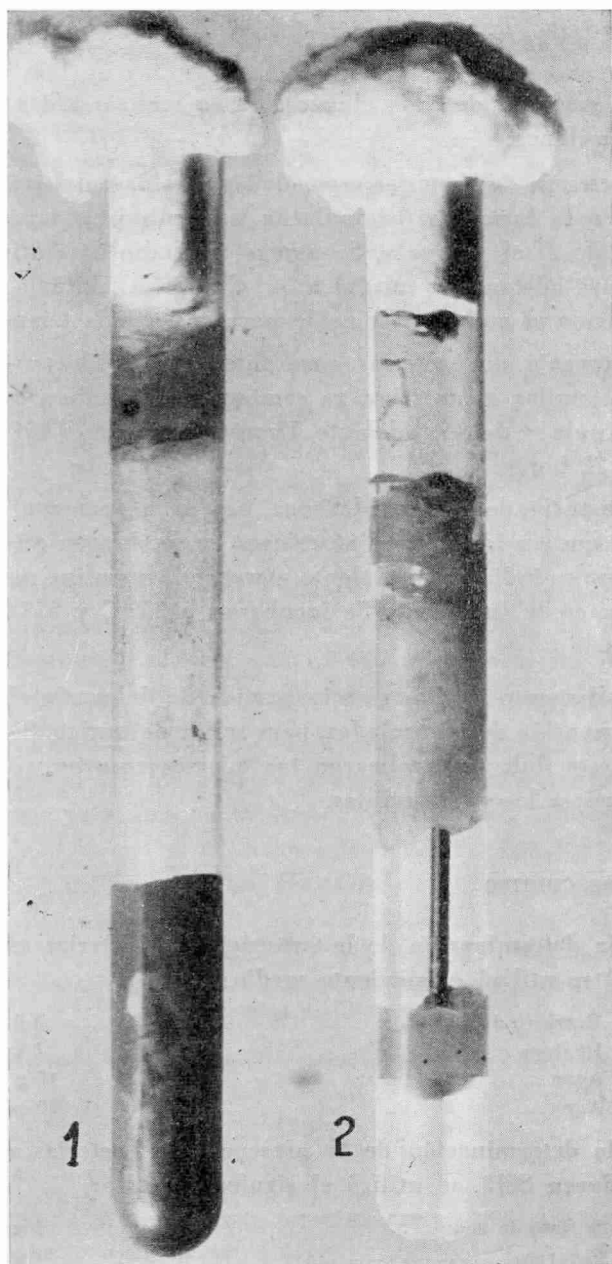
El material a utilizar fue preparado de la siguiente manera:

1) se preparó una suspensión de tierra, 20 g en 100 cc de agua, sometiéndola a 5 minutos de ebullición.

2) con los 100 cc de suspensión, se inocularon dos litros de leche con la que se elaboró dulce. Finalizada la misma, fue envasado en un frasco esterilizado.

Previo a la extracción de muestras para analizar, se incubaba el material 48 horas a 30° C.

Las muestras de dulce, 20 cc, eran tomadas asépticamente y transferidas a un Erlenmeyer de 200 ml con 100 ml de agua esterilizada, una vez diluido el dulce, se sometía a 5 minutos de ebullición. Para la ejecución de los cultivos, se siguieron las técnicas citadas por Tanner, Cameron, Soriano y Garassini.



Cultivos de bacterias esporuladas termófilas : 1, bacterias productoras de gas ;
2, bacterias productoras de SH_2

MÉTODOS DE ANÁLISIS

Sobre muestras de cada elaboración se realizaron las siguientes determinaciones:

a) Presencia de bacterias esporuladas aerobias: del material preparado en la forma arriba indicada, se sembró en cajas de Petri a razón de 2 ml por caja. Se agregó el medio de cultivo que se indica más adelante, e incubó a 35° C y 55° C durante 48 horas, manteniendo el ambiente húmedo para la segunda temperatura.

b) Presencia de bacterias anaerobias que producen SH₂: con material similar al anterior, se sembraron seis tubos, con medio, cuya fórmula se da más adelante. Fueron incubados a 35° C y 55° C durante 72 horas.

c) Presencia de esporulados que producen gas: con el mismo material que en los ensayos anteriores, se sembraron seis tubos en medio que se indica más adelante, agregando parafina para formar un tapón en la superficie. Se incubaron a 35° C y 55° C durante 72 horas.

Separadamente se elaboró otra partida de dulce, sin el agregado de la suspensión de esporulados, para servir de testigo. Sobre muestras de este dulce se realizaron los mismos ensayos y en iguales condiciones a las ya descriptas.

MEDIOS DE CULTIVO

Para la determinación de la presencia de bacterias esporuladas aerobias, se utilizó el siguiente medio:

Extracto de carne.....	3 g
Peptona.....	5 g
Agar.....	15 g
Agua.....	1.000 cc

Para la determinación de la presencia de bacterias anaerobias que producen SH₂, se utilizó el siguiente medio:

Sulfato de sodio.....	1 g
Sacarosa.....	30 g
Agar.....	20 g
Agua de levaduras.....	1.000 cc

(Antes de repartir el medio, colocar un clavo bien limpio en cada tubo).

Para determinación de la presencia de bacterias esporuladas que producen gas, se utilizó el siguiente medio:

Hígado de vaca.....	500 g
Agua destilada.....	1.000 cc
(hervir a fuego lento una hora, filtrar y llevar a volumen con agua destilada.)	
Agregar	
Peptona.....	10 g
Fosfato bi potásico.....	1 g
(corregir a pH 7. Repartir en tubos, agregando a cada uno un pedacito de hígado. Tindalizar).	

III. ENSAYOS Y RESULTADOS

Se realizaron cinco ensayos, uno con material no inoculado, para servir de testigo. En los ensayos se ha determinado la presencia de los siguientes grupos de bacterias esporuladas:

- 1º grupo: bacterias aerobias.
- 2º grupo: bacterias anaerobias productoras de SH₂.
- 3º grupo: bacterias anaerobias que producen gas.

En el cuadro 1 se dan los resultados obtenidos en las cinco determinaciones. De los ensayos realizados se comprueba, que los esporulados presentes en la leche, resistieron el tratamiento térmico de la elaboración del dulce, que es de 101° C a 105° C durante dos horas y media, aproximadamente.

CUADRO 1
Presencia de bacterias esporuladas aerobias, y anaerobias productoras de SH₂ y de gas

Ensayo	Desarrollo de colonias en cajas de Petri		Producción de SH ₂		Producción de gas	
	35°C	55°C	35°C	55°C	35°C	55°C
1 (testigo).....	—	—	—	—	—	—
2 »	—	—	p	p	p	p
3 »	p	—	—	—	p	p
4 »	p	—	—	p	p	p
5 »	p	—	—	—	—	—

IV. ANALISIS DE LOS RESULTADOS

El desarrollo de colonias en las cajas de Petri, sembradas para determinar la presencia de bacterias esporuladas aerobias, fue positivo en las incubadas a 35° C. A partir del ensayo N° 3 se introdujo la variante de incubar previamente la muestra de dulce ya diluida, durante 48 horas a 30° C, obteniéndose buenos resultados.

Con respecto a la presencia de bacterias esporuladas productoras de SH₂, únicamente se manifestó en los ensayos N° 2 y N° 4. En los restantes ensayos, se observó fuerte producción de gas, pero no SH₂, pues tanto el clavo como las bandeletas de papel impregnado con acetato de plomo que se usaron, no acusaban ennegrecimiento alguno.

La determinación de la presencia de bacterias esporuladas que producen gas, fue positiva en los ensayos N° 2, 3 y 4, aparte de la consignada en el caso anterior.

Según Tanner, refiriéndose a leches condensadas, el azúcar y la materia grasa, dificultan la destrucción de las esporas. Por otra parte la abundante espuma que se produce en las pailas, y el gotear de los vapores condensados, es un factor favorable a la subsistencia de esporas. Además, y para este caso en particular, la alta concentración de esporulados agregada a la leche.

Finalmente consignaremos que el valor y significación de los datos registrados, radica en la simple comprobación del hecho, ya que hasta el presente no existía experiencia alguna al respecto. Servirán, por otra parte, en su carácter de ensayos preliminares, para otro estudio que hemos iniciado con la finalidad de conocer la flora microbiológica del dulce de leche.

Corresponde dejar aclarado, que la validez de estos ensayos, es para dulces elaborados en pailas abiertas, a presión normal, según el tipo industrial común.

V. CONCLUSIONES

Los ensayos realizados nos permiten anticipar la siguiente conclusión general:

La temperatura y tiempo de elaboración del dulce de leche, fabricado a presión normal según el método corriente, no alcanza a destruir las esporas introducidas con la leche.

RESUMEN. — En el presente trabajo, se exponen los resultados obtenidos, en cinco ensayos destinados a demostrar la resistencia de bacterias esporuladas aerobias y anaerobias, productoras de SH_2 y de gas, al tratamiento térmico que representa la elaboración del dulce de leche — 101°C a 105°C , dos horas aproximadamente.

RESUME. — *Présence des sporulées dans la confiture du lait*, par JULIO CÉSAR OCAMPO. — Ce travail expose les observations de 5 elaborations experimentales de confiture du lait.

Les données experimentales demontrent la résistance des bacteries sporulées aérobie et anaérobie avec dégagement de gaz et SH_2 , dans l'elaboration, chauffé à 101°C - 105°C pendant 2 heures.

BIBLIOGRAFIA

1. CAMERON, E. J. (1936). *Report on methods for detecting and estimating numbers of thermophilic bacteria in sugar*. Journ. of the Assoc. of Official Agaic. Chem., 19 : 438-440.
2. HAMMER, B. W. (1938). *Dairy Bacteriology*. J. Wiley and Sons, Inc.-New York.
3. SORIANO, ANGELA M. y GARASSINI, L. A. (1942). *Determinación de bacterias termófilas en azúcares*. Rev. Argentina de Agronomía, 9 : 28-38.
4. TANNER, F. W. (1944). *The microbiology of food*. Garrard Press. Illinois.
5. *Standards methods for the examination of dairy products* (1959). X edition. American Public Health Association, Washington.