

## CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE MANTEQUILLAS ESPAÑOLAS \*

(MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SPANISH BUTTER).

por

JUAN SERRANO MOLINA \*\*

### *Introducción.*

El consumo de mantequilla ha experimentado en nuestro país un importante avance. de 5.000 Tm, por valor de 475 millones de pesetas en 1968, se ha pasado a 12.500 Tm, en 1973.

En la presente investigación estudiamos la posible presencia de gérmenes patógenos (estafilococos y salmonelas), y el recuento de coliformes, *E. coli*, mohos, levaduras y microorganismos lipolíticos, microorganismo que recomienda determinar la norma legal española para la mantequilla destinada al mercado nacional.

### *Revisión bibliográfica.*

Cantoni y colaboradores (1974), en un estudio de la calidad microbiológica sobre mantequilla comercial de Italia hacen recuentos de mohos, coliformes, estafilococos patógenos y salmonelas. Marjan (1972) realiza un estudio de mohos, coliformes, levaduras y microorganismos lipolíticos en mantequilla comercial de Noruega. El Comité Técnico Departamental de la Leche de Lille-et-Vilaine, en 1964, estudia la presencia de mohos, coliformes, levaduras y microorganismos lipolíticos en mantequilla de la región francesa de Rennes. Rakshi y colaboradores (1969) en mantequilla comercial de la India efectúan recuentos de coliformes. Singh (1973) hace recuentos de mohos y levaduras en mantequilla fresca y almacenada. Jooste (1974) investiga estafilococos patógenos en mantequilla comercial de Sudáfrica y encuentra presencia de estafilococos en 1 muestra de las 101 que analiza. Ghosh y colaboradores, 1971, investigan estafilococos patógenos en mantequilla de la India y obtienen presencia en un 30 p. 100 de las muestras analizadas. Jordanov y colaboradores (1954) investigan la presencia de salmonelas en mantequilla búlgara y revelan la presencia de *S. typhimurium* en algunas de las muestras analizadas.

---

\* Extracto de tesina de licenciatura, dirigida por el Prof. Dr. Rodrigo Pozo Lora.

\*\* Cátedra de Bromatología y Microbiología de los Alimentos. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba. Sección de Bromatología del Instituto de zootecnia, C. S. I. C. Córdoba. España.

En resumen, los autores citados han investigado, en mantequillas comerciales, varios grupos de microorganismos representativos de la calidad microbiológica. Nosotros en el objetivo que nos hemos propuesto abarcamos la totalidad de los grupos de microorganismos que definen la calidad microbiológica, ya que investigamos coliformes, *E. coli*, mohos, levaduras, microorganismos lipolíticos y gérmenes patógenos (estafilococos patógenos y posibles salmonelas).

Históricamente se ha utilizado el grupo coliforme como un indicador de contaminación fecal. Tanto el *E. coli* como otros coliformes son un buen indicador de malos procesados y del grado de saneamiento durante el procesado, conservación y distribución de los alimentos.

La contaminación de la mantequilla por levaduras es causa de la fermentación de los hidratos de carbono, de la liberación de ácidos y gases, del cambio de sabor y la rancidez.

Por otra parte es un hecho bien conocido que los microorganismos lipolíticos cuando están en contacto con un producto alimenticio que contiene grasas, pueden ser el origen de alteraciones de diversa naturaleza, dando como resultado final compuestos diversos tales como peróxidos, hidroperóxidos, compuestos cetónicos o aldehídicos.

De los gérmenes patógenos destacamos que la enterotoxina estafilocócica es una de las causas más frecuentes de la intoxicación alimentaria. Los almacenamientos defectuosos y la poca higiene en la manipulación de los alimentos son los responsables de la producción de enterotoxinas. La presencia de *St. aureus* en un alimento se interpreta por lo general como indicativo de contaminación a partir de la piel, boca y fosas nasales de los manipuladores, no obstante, a veces, la inadecuada limpieza del equipo puede ser objeto de la contaminación.

Con respecto a las salmonelas se presupone que todas las especies y cepas de salmonelas son patógenas para el hombre, según cita Jay (1973). La presencia y persistencia de las salmonelas en la mantequilla durante largos períodos de tiempo ha sido asociada con intoxicaciones alimentarias o salmonelosis.

### *Material y métodos.*

#### *Presentación comercial de la muestras.*

Nuestra investigación se ha centrado en el estudio de mantequilla de peso unitario inferior a 0'25 Kg. Se han estudiado 100 muestras correspondientes a 10 marcas comerciales distintas, que designamos por letras, investigándose 10 muestras por cada marca que designamos por letras y que tenían las siguientes características: todas sin sal, marca "A" 230 g, envasada con papel parafinado. Marca "B" 90 g envasada con papel metalizado. Marca "C" 130 g, en envase metálico. Marca "D" 130 g, en envase metálico. Marca "E" 90 g, envasada con papel metalizado. Marca "F" 125 g envasada de plástico, Marca "G" 100 g con envase de papel metalizado.

zados. Marca "H" 100 g con envoltura de papel metalizado. Marca "I" 100 g con envoltura de papel metalizado. Marca "J" 125 g, envase de plástico, fueron adquiridas durante el año 1975.

Las muestras analizadas presentaban unos caracteres organolépticos normales, y fueron adquiridas en los mercados de Córdoba, Granada y Sevilla. Correspondían a marcas de fabricación en Asturias, Córdoba, Granada, León, Madrid, Santander y Sevilla.

#### *Preparación y diluciones de las muestras.*

Para las diluciones de las muestras utilizamos como diluyente citrato sódico al 2 p. 100 (Keller, Sklan y Gorden, 1973).

En la preparación, obtención de la fase no grasa y diluciones, seguimos la técnica utilizada por Sainclivier y colaboradores (1969).

#### *Determinación de la presencia de estafilococos coagulasa positivos.*

Hemos seguido la técnica de la Asociación Americana de Salud Pública (1966); no obstante, utilizamos como medio de cultivo el agar Baird-Parker adicionado de yema de huevo, señalado por Thatcher y Clark (1973).

Las colonias coagulasa negativas se someten a las pruebas de la fosfatasa y DNasa, según Pijk y Schutyzer (1972) y Blaevic y Ederer (1975). Los estafilococos coagulasa positivos se consideran patógenos. Los estafilococos coagulasa negativos, pero positivos a las pruebas de la fosfatasa y DNasa son considerados también como patógenos según citan Moustardier y colaboradores (1968).

#### *Determinación de la posible presencia de organismos del género Salmonella.*

Se han empleado dos medios de enriquecimiento: el caldo selenito y el caldo tetrationato, utilizados clásicamente.

Para el aislamiento hemos utilizado los medios recomendados por la Asociación Americana de Salud Pública (1966), y por Rodrigues Ribeiro (1967); etc.

Las pruebas bioquímicas se han realizado siguiendo a Machala (1961); a la Asociación Americana de Salud Pública (1966); y a Galton (1968); etc.

Pasado el tiempo de incubación se observa la reacción sobre los medios de cultivo y se consultan las correspondientes tablas de enterobacterias de Breed (1957).

#### *Recuento de organismos coliformes.*

Hemos utilizado los medios de cultivo recomendados por la Asociación Americana de Salud Pública (1966), de acuerdo con el protocolo que dicha Asociación recomienda para la investigación y enumeración de coliformes en medio sólido. Se contaron las colonias rojo-amoratas con diámetro superior a 0' mm, según indica Mosel (1974).

#### *Recuento de E. Coli.*

Seguimos la técnica de Eijkman modificada por Mackenzie, descrita por Thatcher y Clark (1973).

#### *Recuento de mohos y levaduras.*

Utilizamos las técnicas recomendadas por los Métodos Standard Británicos para el examen microbiológico de mantequilla (1940). Rebajamos el pH a 3'5, según indica los Métodos Standard para el examen de productos lácteos de la Asociación Americana de Salud Pública (1867). Las colonias de mohos y levaduras las contamos por separado.

#### *Recuento de microorganismos lipolíticos.*

Seguimos la técnica de Harrigan (1968).

### *Resultados y discusión.*

La orden de la Presidencia del Gobierno del 7 de enero de 1975, por la que se aprueba la norma para la mantequilla destinada al mercado nacional, en su apartado 4 preconiza como factores esenciales de composición y calidad.

Sanitarios: ausencia total de gérmenes patógenos. Ausencia de gérmenes coliformes en 0'1 g. Ausencia de *Escherichia coli* en 0'1 g. Recuento de mohos, máximo 10 por g. Recuento de levaduras, máximo 100 g. Recuento de microorganismos lipolíticos, máximo 10 por g.

Los resultados obtenidos los resumimos en las tablas del I al X.

Los organismos coliformes los hemos encontrado en el 21 p. 100 de las muestras siendo la marca "F" la única que los presenta en sus muestras correspondientes. El rango obtenido en las 100 muestras de mantequilla (cuadro XI) ha oscilado entre 0 y 39 coliformes/0'1 g. De las 10 marcas comerciales analizadas (cuadro XI) los recuentos más altos correspondieron a la marca "F" con envase de plástico (39 coliformes/0'1 g) y los más bajos a las marcas "C", "D", "E", "G" e "I" (0 coliformes/0'1 g).

Cantoni y colaboradores (1974) en un estudio microbiológico sobre mantequilla comercial en Italia obtienen recuentos que oscilan entre 0 y 1.000 coliformes/g (0-100/0'1 g). Marjan Milohnoja (1972) en mantequilla comercial de Noruega encuentra que el 14'6 p. 100 de las muestras analizadas contienen más de 10 coliformes/g. El Comité Técnico Departamental de la Leche de Ille-et-Vilaine (1964), según cita Alais (1970), encuentra en mantequilla de la región francesa de Rennes 0'8 coliformes/g de media. Rakshi y colaboradores (1969) encuentran en mantequilla comercial contajes de 190 coliformes/g.

CUADRO I. Resultados de la marca "A" (envasada con papel parafinado).

Muestra	Coliformes/0'1 g	E. coli/0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipolíticos/g	Estafilococos patógenos	Salmonella
1	0	0	10	95	600	—	—
2	0	0	785	410	1.350	—	—
3	0	0	400	100	2.000	—	—
4	1	0	500	100	800	—	—
5	1	0	10.000	1.000	300	—	—
6	1	0	35.000	2.000	7.500	—	—
7	0	0	44.000	10.000	1.030.000	—	—
8	0	0	16.000	2.000	3.200	—	—
9	0	0	48.000	15.000	640.000	—	—
10	0	0	52.000	31.000	550.000	—	—
Medias	0'3	0	20.669'5	6.170'5	223.575	0 p. 100	0 p. 100

CUADRO II Resultados de la marca "B" (envasada con papel metalizado).

Muestra	Coliformes/0'1 g	<i>E. coli</i> /0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipolíticos/g	Estafilococos patógenos	<i>Salmonella</i>
1	0	0	6.400	1.300	111.000	—	—
2	0	0	5.225	1.000	90.000	—	—
3	7	0	0	1.000	0	—	—
4	0	0	0	0	2.000	—	—
5	6	0	650	140	60.000	—	—
6	2	0	4.225	1.600	560.000	—	—
7	3	0	120.000	33.000	50.500	—	—
8	0	0	188.000	8.000	12.000	—	—
9	0	0	800	100	660.000	—	—
10	0	0	0	105	370.000	—	—
Medias	1'80	0	32.530	4.624'5	191.550	0 p. 100	40 p.100

CUADRO III. Resultados de la marca "C" (envase metálico hermético).

Muestra	Coliformes/0'1 g	E. coli/0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipofíticos/g	Estafilococos patógenos	Salmonella
1	0	0	10	0	100	-	-
2	0	0	0	0	100	-	-
3	0	0	0	0	400	-	-
4	0	0	100	10	0	-	-
5	0	0	100	0	0	-	-
6	0	0	0	0	100	-	-
7	0	0	0	0	0	-	-
8	0	0	55	30	0	-	-
9	0	0	0	100	0	-	-
10	0	0	0	0	0	-	-
Medias	0	0	26'5	14	70	0 p. 100	0 p. 100

CUADRO IV. Resultados de la marca "D" (envase metálico hermético).

Muestra	Coliformes/0'1 g	<i>E. coli</i> /0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipolíticos/g	Estafilococos patógenos	Salmonella
1	0	0	0	0	0	—	—
2	0	0	0	0	100	—	—
3	0	0	0	0	200	—	—
4	0	0	200	40	0	—	—
5	0	0	0	0	0	—	—
6	0	0	55	0	0	—	—
7	0	0	55	0	0	—	—
8	0	0	0	0	0	—	—
9	0	0	0	20	0	—	—
10	0	0	0	0	0	—	—
Medias	0	0	31	6	30	0 p. 100	0 p. 100

CUADRO V. Resultados de la marca "E" (envasada con papel metalizado).

Muestra	Coliformes/0'1 g	<i>E. coli</i> /0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipolíticos/g	Estafilococos patógenos	<i>Salmonella</i>
1	0	0	0	1.856	2.300	—	—
2	0	0	100	0	1.000	—	—
3	0	0	0	1.320	500	—	—
4	0	0	0	780	900	—	—
5	0	0	0	3.733	4.700	—	—
6	0	0	20	840	900	—	—
7	0	0	125	2.676	2.200	—	—
8	0	0	345	1.155	800	—	—
9	0	0	70	10	2.000	—	—
10	0	0	70	375	4.000	—	—
Medias	0	0	73	1.274'5	1.930	0 p. 100	0 p. 100

CUADRO VI. Resultados de la marca "F" (envase de plástico).

Muestra	Coliformes/0'1 g	E. coli/0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipofílicos/g	Estafilococos patógenos	Salmonella
1	33	0	0	0	211.000	—	—
2	29	0	20	65	220.000	—	—
3	21	0	0	70	207.000	—	—
4	39	0	0	30	121.500	—	—
5	12	0	10	40	195.000	—	—
6	30	0	0	80	202.000	—	—
7	24	0	55	30	154.500	—	—
8	14	0	20	85	138.500	—	—
9	25	0	55	60	173.000	—	—
10	32	0	10	20	200.500	—	—
Medias	25'9	0	17	48	182.350	0 p. 100	0 p. 100

CUADRO VII. Resultados de la marca "G" (envasada con papel metalizado).

Muestra	Coliformes/0'1 g	<i>E. coli</i> /0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipofílicos/g	Estafilococos patógenos	<i>Salmonella</i>
1	0	0	0	120	600	-	-
2	0	0	60	200	1.300	+	-
3	0	0	55	0	0	-	-
4	0	0	0	135	700	-	-
5	0	0	0	560	200	-	-
6	0	0	0	155	600	-	-
7	0	0	0	0	100	-	-
8	0	0	0	330	600	-	-
9	0	0	10	165	0	-	-
10	0	0	0	195	1.100	-	-
Medias	0	0	12'5	186	520	10 p. 100	0 p. 100

CUADRO VIII. Resultados de la marca "H" (envasada con papel metalizado).

Muestra	Coliformes/0'1 g	E. coli/0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos hipolíticos/g	Estafilococos patógenos	Salmonella
1	0	0	100	125	100	-	-
2	0	0	10	72.000	0	-	-
3	0	0	0	76.000	24.260	-	-
4	7	3	100	89.000	20.760	-	-
5	0	0	10	24.000	900	-	+
6	0	0	0	4.933	800	-	-
7	13	1	230	97.000	16.360	-	+
8	9	0	55	192.000	12.530	-	-
9	0	0	245	170.000	7.000	-	-
10	0	0	0	45.000	0	-	-
Medias	2'90	0'40	75	77.005'83	8.270	0 p. 100	20 p. 100

CUADRO IX. Resultados de la marca "I" (envasada con papel metalizado).

Muestra	Coliformes/0'1 g	E. coli/0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipolíticos/g	Estafilococos patógenos	Salmonella
1	0	0	0	0	650	-	-
2	0	0	0	0	0	-	-
3	0	0	0	0	550	-	-
4	0	0	0	0	600	-	-
5	0	0	0	0	100	-	-
6	0	0	0	0	0	-	-
7	0	0	0	0	300	-	-
8	0	0	0	0	0	-	-
9	0	0	0	0	0	-	-
10	0	0	10	0	0	-	-
Medias	0	0	1	0	220	0 p. 100	0 p. 100

CUADRO X. Resultados de la marca "J" (envase de plástico).

Muestra	Coliformes/0'1 g	E. coli/0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Microorganismos lipolíticos/g	Estafilococos patógenos	Salmonella
1	0	0	1.000	35.000	21.200	—	—
2	0	0	10	13.950	12.500	—	—
3	0	0	3.000	500	2.150	—	—
4	0	0	10	245	100	—	—
5	0	0	125	9.050	4.150	—	—
6	0	0	20	130	2.800	—	—
7	1	1	60	6.350	5.100	—	—
8	0	0	30	250	600	—	—
9	0	0	1.000	200	500	—	—
10	0	0	0	7.453	6.130	—	—
Medias	0'1	0'1	525'5	7.312'83	5.523'3	0 p. 100	0 p. 100

En general, los recuentos obtenidos en nuestra investigación están muy próximos a los recomendados ( $< 10$  coliformes/g) en diversos "standards" (Nordisk Metodik-Comité for Naeringsmidler, 1955, Druce y Thomas, 1959; Yugoslavia, 1966, Suiza, Eschmann, 1968, Davis, 1968).

En resumen, el 21 p. 100 de las muestras analizadas no cumplen con la norma legal española (ausencia de germen coliformes en 0'1 g) (cuadro XII), siendo 10 de las citadas 21 muestras de una misma marca (marca "F") envasada en plástico.

En cuanto a la carga de *E. coli* los recuentos han sido más bajos, obteniéndose ausencia en 8 de las 10 marcas comerciales analizadas y siendo la media más elevada de 0'4 *E. coli*/0'1 g correspondiente a una marca envuelta en papel metalizado (marca "H").

Sólo el 3 p. 100 de las muestras analizadas no cumplen la norma legal española (cuadro XII), en cuanto a la carga de *E. coli*.

El recuento de mohos en las muestras analizadas ha oscilado entre 0 y 188.000 mohos/g. Las medias más altas correspondieron a las marcas "B" (32.530 mohos/g) y "A" (20.669'5 mohos/g) envasadas respectivamente en papel parafinado y papel metalizado, y las más bajas, las marcas "I" (1 moho/g) y "G" (12'5 mohos/g) envasadas respectivamente en papel metalizado.

Cantoni y colaboradores (1974) encuentran en mantequilla comercial de Italia recuentos que oscilan entre 0 y 1.500 mohos/g. Singh (1973) obtiene rangos de 40-4.900 mohos/g y 2.000-20.000 mohos/g, con medias de 248 y 6.100 en mantequilla fresca y almacenada, respectivamente. Amato y colaboradores (1970) obtienen un rango de 0 a 1.400 mohos/g. Marjan Milohnoja (1972), en mantequilla comercial de Noruega, encuentra que el 16'7 p. 100 de las muestras analizadas contienen más de 100 mohos/g. Bridge y colaboradores (1976) obtienen contajes de 1.200 mohos/g y 58.000 mohos/g en diferentes tipos de mantequillas. Los contajes obtenidos en nuestra investigación, en general, están próximos a los recomendados ( $< 100$  mohos/g) en diversos "standards" (Davis, 1968).

De las 100 muestras analizadas 46 de ellas no cumplen la norma legal española (recuento de mohos, máximo 10 por g). De las 10 marcas consideradas, sólo la "I", con envoltura de papel metalizado, cumple la norma legal española en sus 10 muestras.

Por lo que respecta al recuento de levaduras el rango ha oscilado entre 0 y 192.000 levaduras/g; obteniéndose como medias más elevadas las de las marcas "H" (77.005'83 levaduras/g) y "J" (7.312'8 levaduras/g) envasadas respectivamente en papel metalizado y en recipiente de plástico, y las más bajas las de las marcas "I" (0 levaduras/g) y "D" (6 levaduras/g) envasadas respectivamente en papel metalizado y en recipiente metálico.

Singh (1973) obtiene un rango de 0-4.900 levaduras/g y una media de 1.268 levaduras/g en mantequilla fresca, y un rango de 3.000-21.600 levaduras/g con media de 70.167 levaduras/g en mantequilla almacenada.

Marjan Milohnoja (1972) en mantequilla de Noruega obtiene que el 86,7 p. 100 de las muestras contienen más de 100 levaduras/g.

Nuestros recuentos son en general más elevados que los recomendados por el "standards" de Davis  $10^2$  levaduras/g (1968), próximos o más bajos que el "standards" de la "Nordisk Metodik-Komité for Naerings midler"  $10^4$  levaduras/g (1955) y mucho más bajos que los "standars" de Suiza  $< 5 \times 10^4$  levaduras/g (Eschmann, 1968).

Con respecto a la norma legal española (recuento de levaduras, máximo 100, por g) no la cumplen el 51 p. 100 de las muestras que pertenecen a las marcas "A", "B", "E", "G", "H" y "J" (cuadro XII) envasadas en papel parafinado, papel metalizado y recipiente de plástico.

Numerosos autores realizan un recuento conjunto de mohos y levaduras, tal es el caso de Baker y colaboradores (1969) que obtienen medias de 11 a 13 mohos y levaduras/g y rangos de 0-50 y 0-100 mohos y levaduras/g, según se trate de mantequilla obtenida por métodos continuos y convencionales respectivamente. El Comité Técnico Departamental de la Leche de Ille-et-Velaine (1964) obtiene recuentos de dos mohos y levaduras/g en la región francesa de Rennes.

Marjan Milohnoja (1972) en recuentos conjuntos de mohos y levaduras/g. También son varios los "standards" recomendados para el recuento de mohos y levaduras.  $< 50$  mohos y levaduras/g. (Druce y Thomas, 1959),  $< 100$  mohos y levaduras/g (Dlg Wettbewerb, 1967).

El número de microorganismos lipolíticos en las muestras analizadas ha oscilado entre 0 y 1.030.000 microorganismos lipolíticos/g. Las medias más altas correspondieron a las marcas "A" (223.575 microorganismos lipolíticos/g) y "B" (191.550 microorganismos lipolíticos/g) envasadas respectivamente con papel parafinado y papel metalizado, y las más bajas a las marcas "D" (30 microorganismos lipolíticos/g) y "C" (70 microorganismos lipolíticos/g), envasadas en recipiente metálico. El Comité Técnico Departamental de la leche de Ille-et-Vilaine (1974) obtiene recuentos de 21 microorganismos lipolíticos/g. Amato y colaboradores (1970) encuentran contajes de 10 microorganismos lipolíticos/g. Marjan Milohnoja (1972) obtiene que el 80 p. 100 de las muestras contienen más de 10 microorganismos lipolíticos/g.

En general nuestros recuentos están muy próximos a los "standards" recomendados por Davis (1968) y Yugoslavia (1966)  $< 10^3$  y  $< 10^4$  microorganismos lipolíticos/g, respectivamente.

De todas las muestras analizadas, en nuestra investigación, el 76 p. 100 de ellas no cumplen con la norma española (microorganismos lipolíticos, máximo 10 por gramo).

Solamente hemos encontrado una muestra perteneciente a la marca "G" envasada en papel metalizado que presentaba estafilococos patógenos, confirmados mediante las pruebas de la coagulasa, fosfatasa y DNasa. Jooste (1974) encuentra en mantequilla comercial de Sudáfrica presencia de estafilococos en una muestra de las 101 que analiza. Cantoni y colaboradores (1974) en 20 muestras de mantequillas comerciales de Italia obtienen ausencia de estafilococos. Ghosh y colaboradores (1971) obtienen presencia de estafilococos en un 30 p. 100 de las muestras analizadas. En lo que se refiere a nuestra investigación, de 100 muestras analizadas 1 no cumple la norma legal española (ausencia total de gérmenes patógenos) (cuadro XII).

En cuanto a la posible presencia de organismos del género *Salmonella*, 4 muestras de la marca "B", 1 de la marca "E" y 2 de la marca "H", envasadas en papel metalizado, tenían posible presencia de estos gérmenes. Cantoni y colaboradores (1974), en 20 muestras de mantequilla comercial, obtienen ausencia total de salmonelas. Jordanov y colaboradores (1954) en una investigación realizada durante 1945-1950, revelan la presencia de *S. typhimurium* en algunas muestras de mantequilla búlgara.

De las muestras por nosotros investigadas 7 de ellas no cumplen la norma legal española (cuadro XII).

### Conclusiones.

#### Primera.

El contenido en organismos coliformes y *E. coli* en las muestras investigadas está, en general, dentro de las normas bacteriológicas legales en diferentes países o propuestas por diversos investigadores, excepto una marca con envase de plástico (marca "F") que presentó coliformes en todas sus muestras, y una marca envasada en papel metalizado (marca "H") que presentó *E. coli* en dos de sus muestras. Con respecto a la norma legal española, son 21 las muestras con coliformes (pertenecientes a cinco marcas envasadas en papel parafinado, papel metalizado y plástico) y tres las muestras con *E. coli* (pertenecientes a dos marcas envasadas en papel metalizado y plástico) que no la cumplen.

#### Segunda.

Los recuentos de mohos en general están próximos a las diversas normas microbiológicas, pero con respecto a la norma legal española un 46 p. 100 de las

muestras no la cumplen. Solo una marca, envasada con papel metalizado, cumple la citada norma en todas sus muestras (marca "I").

*Tercera.*

El contenido en levaduras está dentro de las normas legales de diferentes países o recomendadas por diversos autores, excepto una marca envasada con papel metalizado (marca "H") que las sobrepasa, y una marca envasada con papel metalizado (marca "I") que no presenta levaduras en sus correspondientes muestras. Con respecto a la norma legal española no la cumplen el 55 p. 100 de las muestras que pertenecen a marcas envasadas con papel parafinado, papel y plástico (marcas "A", "B", "E", "H" y "J").

*Cuarta.*

El número de microorganismos lipolíticos, en general, está próximo a los recuentos obtenidos por otros autores y cumple con las diversas normas recomendadas, excepto una marca envasada con papel parafinado (marca "A"), otra envasada con papel metalizado (marca "B") y otra marca envasada en recipiente de plástico (marca "F") que las sobrepasan ampliamente. Con respecto a la norma legal española los recuentos obtenidos son muy elevados, el 76 p. 100 de las muestras no la cumplen.

*Quinta.*

El porcentaje de estafilococos encontrados es semejante, en términos generales, a los porcentajes encontrados en otros países. De las 100 muestras analizadas, una muestra de una marca envasada en papel metalizado (marca "G") no cumple con la norma legal española.

*Sexta.*

La posible presencia de organismos del género *Salmonella* ha sido señalada en siete muestras, cuatro de las cuales pertenecen a una marca envasada con papel metalizado (marca "B").

*Séptima.*

Se observa que las marcas que mejor cumplen la norma legal española son las marcas "C" y "D" envasadas ambas en recipientes metálicos herméticos, de lo que se deduce, como era previsible, que el tipo de envase o envoltura tiene una importancia decisiva en la calidad microbiológica de las mantequillas analizadas.

CUADRO XI. Calidad microbiológica de mantequilla. Resultados (media y rango) obtenidos en cien muestras analizadas.

Muestras marca	n°	Coliformes/0'1 g		E. coli/0'1 g		Mohos/g	
		rango	media	rango	media	rango	media
"A"	10	0 1	0'30 0'14	0 0	0 0	10 52.000	20.669'5 6.522'07
"B"	10	0 7	1'80 0'81	0 0	0 0	0 188.000	32.530 19.811'4
"C"	10	0 0	0 0	0 0	0 0	0 100	26'5 12'69
"D"	10	0 0	0 0	0 0	0 0	0 200	31 19'09
"E"	10	0 0	0 0	0 0	0 0	0 345	73 31'87
"F"	10	12 39	25'9 2'55	0 0	0 0	0 55	17 6'45
"G"	10	0 0	0 0	0 0	0 0	0 60	12'5 7'19
"H"	10	0 13	2'9 1'47	0 3	0'4 0'29	0 245	75 28'27
"I"	10	0 0	0 0	0 0	0 0	0 10	1 0'95
"J"	10	0 1	0'1 0'095	0 1	0'1 0'095	0 3.000	525'5 287'39

CUADRO XII. Calidad microbiológica de mantequilla. Resultados (media y rango) obtenidos en cien muestras analizadas.

Muestras marca n°	Levaduras/g rango	media	M. lipofíticos/g rango	media	Estafilococos patógenos (p. 100)	Salmonella (p. 100)
"A" 10	95 31.000	6.170·5 3.023·98	300 1.030.000	223.575 112.836·9	0	0
"B" 10	0 33.000	4.624·5 3.074·79	0 660.000	191.550 73.885·4	0	0
"C" 10	0 100	14 9·51	0 400	70 37·5	0	0
"D" 10	0 40	6 4·05	0 200	30 29·2	0	0
"E" 10	0 3.733	1.274·5 358·18	500 4.700	1.930 429·9	0	10
"F" 10	0 85	48 8·43	121.500 220.000	182.350 10.116·8	0	0
"G" 10	0 560	186 48·83	0 1.300	520 134·8	10	0
"H" 10	125 192.000	77.005·8 19.334	0 24.260	8.270 2.840·5	0	20
"I" 10	0 0	0 0	0 650	220 83·7	0	0
"J" 10	130 35.000	7.312·8 3.262·42	100 21.200	5.523·3 1.986·3	0	0

CUADRO XIII. Calidad microbiológica de mantequilla: n.º de muestras analizadas que no cumplen la norma legal española en cada grupo de microorganismos.

Marca	n. muestras analizadas	Número de muestras que no cumplen la norma legal española						Microorganismos lipolíticos/g	Estafilococos patógenos	Salmonella
		Coliformes/0'1 g	<i>E. coli</i> /0'1 g	Mohos/g	Levaduras/g	Levaduras/g	Microorganismos lipolíticos/g			
"A"	10	3	0	9	7	10	0	0	0	
"B"	10	4	0	7	8	9	0	0	4	
"C"	10	0	0	3	0	4	0	0	0	
"D"	10	0	0	3	0	2	0	0	0	
"E"	10	0	0	6	8	10	0	0	1	
"F"	10	10	0	4	0	10	0	0	0	
"G"	10	0	0	2	8	8	1	0	0	
"H"	10	3	2	5	10	8	0	0	2	
"I"	10	0	0	0	0	5	0	0	0	
"J"	10	1	1	7	10	10	0	0	0	
	100	21	3	46	51	76	1	7		

*Octava.*

Una marca envuelta en papel metalizado, (marca "I"), es la excepción más significativa entre las marcas con esta envoltura; presenta unos índices de calidad que mejoran incluso a los de las marcas con envase metálico. Esto nos hace suponer la posible presencia de conservadores.

*Novena.*

Es de hacer notar que las marcas con envase de plástico, marcas "F" y "J" han presentado los peores índices de calidad encontrados en nuestra investigación.

*Resumen.*

Se ha investigado la calidad microbiológica de 100 muestras de mantequilla de 10 marcas diferentes procedentes de Asturias, Madrid, Granada, Córdoba, Sevilla, León y Santander, comercializadas en envoltentes de papel metalizado, papel sulfurizado, materiales de plástico y envases metálicos, adquiridas en diferentes establecimientos de las ciudades de Córdoba, Granada y Sevilla (España). Se han realizado recuentos de coliformes y *E. coli*; recuentos de mohos, levaduras y microorganismos lipolíticos; presencia de estafilococos patógenos y posible presencia de gérmenes del género *Salmonella*.

Como consecuencia de esta investigación se considera al alimento estudiado como de mediano-bajo riesgo para la salud del consumidor, tanto por la calidad microbiológica como por su probable contenido, en algunas marcas, de conservadores. Se ha observado que las marcas que mejor cumplen la norma legal española son las envasadas en recipientes metálicos herméticos y que las que han presentado los peores índices de calidad en nuestra investigación son las marcas envasadas en recipientes de plástico. Además, llamamos la atención para que se adopten las oportunas medidas en orden a evitar una excesiva contaminación del producto.

*Summary.*

The microbiological quality of a 100 samples of different brands of butter have been studied. The samples proceded from Asturias, Madrid, Granada, Córdoba, Sevilla, León and Santander. and were aquired in different commercial establishments in the cities of Córdoba, Granada and Sevilla, in Spain. The samples came wrappd in metalised paper, in sulphurised paper, in plastic materials or in metal containers. Recounts of coliforms and *E. coli* were made, along with recounts of mould, yeasts

and lipolytic microorganism. The presence of pathogenic staphylococcus and the possible presence of germs of the *Salmonella* genus were looked for.

As a consequence of this investigation, this food product is considered to be of medium-low risk to the consumer, as much for its microbiological quality as for the possible content, in some brands, of preservatives.

It has been observed that the brands that best comply to the legal Spanish standards are those placed on the market in hermetically closed metal containers, and those with the worst indices of quality are the brands presented in plastic recipients. We also ask that the necessary steps be taken in order to avoid excessive contamination of this product.

#### *Agradecimiento.*

Al director de esta tesis de licenciatura Prof. Dr. R. Pozo Lora, por habernos iniciado en la investigación y por su estímulo, orientación y ayuda.

Al Dr. L. M. Polo Villar, por su constante ayuda y valiosa orientación.

Al Dr. A. Herrera Marteache, por sus orientaciones y consejos.

A la Srta. María Gloria Fernández Marín, Ayudante de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, por su ayuda constante y desinteresada.

Al Ministerio de Educación y Ciencia por habernos concedido los cursos 1974-75 y 1975-76 beca colaboración para trabajar en la Cátedra de Bromatología y Microbiología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba.

#### *Dedicatoria.*

A la memoria de mi abuelo, D. Juan Serrano Ferríz, cuya trayectoria humana y consejos han contribuido decididamente en mi formación.

#### *Bibliografía.*

Alifax, R. 1972.—Le lait 52: 515-516.

Amato, F.; L. Becheroni y A. Dracos, 1970.—Nuovi ann Ig. Microbiol. Ital. 21: 341-361.

American Public Health Association 1966.—Recommended methods for the microbiological examination of foods. 2th ed. New York. Am. Publ. Hlth. Assoc. Inc.

- American Public Health 1967.—Standard methods for the examination of dairy products, 2th. ed. New York. Am. Publ. Hlth. Assoc. Inc.
- Association of Food and Drug Officials of the United States 1966.—Microbiological examination of precooked frozen foods. Assoc. Food. Drug. Officials, U. S., Suppl. Issue.
- Baker, B. C.; B. D. Dixon y G. T. Lloyd, 1969.—Aust. J. Dairy Technol. 24; 164-167.
- Blazevic, D. J. y G. M. Ederer, 1975.—Principles of biochemical tests in diagnostic microbiology. New Yprk. John Wiley and sons.
- Cantoni, C.; S. D'Aubert y S. Nani, 1974.—Arch, Vet. Ital. 25: 137-144.
- Commission de bacteriologie des produits laitiers 1969.—Ann. Nutr. Alim. 23: A 1 - A 88.
- Cooke, Wm. B. y R. Brazis, 1968.—Mycopathol. Mycol. Appl. Pays-Bas 35; 281-289.
- Davis, J. C. 1958.—Lab. Practice 7: 30.
- Davis, 1968.—Apud: Marjan Milohnoja 1972.
- Druce y Thomas, 1959.—Apud: Marjan Milohnoja 1972.
- Dwivedi, H. B. y N. S. Kushwaha, 1972.—Indian J. Anim. Sci. 42: 193-194.
- Eddy, B. P. 1960.—J. Appl. Bact. 23: 189-190.
- Fishbein, M. y B. F. Surkiewicz, 1964.—Appl. Microbiol. 12: 127-131.
- Galton, M. M.; G. K. Morris y W. T. Martin, 1968.—Salmonellae in foods and feeds. Review of insolation methods and recommended procedures. U. S. Department of Health, Education and Welfare.
- García Rodríguez, J. 1968.—Med. Trop. Esp. 44: 99-154.
- Ghosh, S. S. y H. Laxminarayana 1972.—Indian. J. Anim. Sci. 42: 492-498.
- Grossley, E. L. 1959.—Féd. Int. Lait VI Doc. 7.
- Guerzoni, G. 1939.—Boll. inst. sieroter. Milano 18: 21.
- Harrigan, W. F. 1968.—Métodos de laboratorio en microbiología. León. Academia.
- Ingram, M. 1965.—Ann. Inst. Pasteur. Lille 16: 103-110.
- Iordanov, M.; I. Zlatev;; I. Slavkov y K. Dechev, 1954.—Izv. Mikrobiol. Inst., Sofia 5: 277.
- Keller, P.; D. Skan y S. Gordin, 1973.—J. Dairy Sci. 57: 127-128.
- Lovell, R. T. y J. A. Barkate, 1969.—J. Fd. Sci. 34: 268-271.
- Machala, W. E. 1961.—J. Milk Fd. Technol. 24: 323-327.
- Mackenzie, E. F.; E. W. Taylor y W. E. Gilber, 1948.—J. Gen. Microbiol. 2: 197-204.
- Marjan Milohnoja, 1972.—Nord. Vet. Med. 24: 139-145.
- Minor, T. E. y E. H. Marth, 1972.—J. Dairy Sci. 55: 1.410-1.414.