

EVOLUCION DE LA CONTAMINACION DEL YOGUR POR COLIFORMES, E. COLI Y ENTEROCOCOS.

(THE EVOLUTION OF YOGHOURT CONTAMINATION BY COLIFORMS, E. COLI AND ENTEROCOCCI).

por

Rafael Jordano Salinas

Departamento de higiene, inspección y microbiología de los alimentos; y Sección de bromatología del C.S.I.C. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba (España).

Palabras clave: Bacteriología. Higiene de los alimentos. Yogur. Lactología.

Keywords: Bacteriology. Higiene. Yoghourt. Dairy industries.

Summary

We have done a research work on the evolution of the presence of coliforms, E. coli and enterococci in yoghurt which was kept at 7° C for 40 days. We have dealt with 100 samples of two varieties: natural and strawberry flavour yoghurt, both of them from a very well known commercial make. It has also been measured the pH and acidity of them. It has been checked the presence of coliforms and of E. coli, and in ten days time, we have noticed their extinction which was due to a higher level of acidity. We agree with Aleksieva (3) in the fact that research on coliforms and E. coli in yoghurt as a proof of its hygienic quality should be done not later than 24 hours after its process of elaboration finished. It has also been checked contamination by enterococci, which persisted throughout the wole period of controlled conservation. Consequently, we think that search on enterococci in yoghurt as a proof of its hygienic quality throughout its time of commercial life is more appropriate than search on coliforms and E. coli.

Recibido para publicación el 25-1-1983.

Resumen

Se ha investigado la evolución de la presencia de coliformes, E. coli y enterococos en yogur conservado durante cuarenta días a 7º C, en 100 muestras de dos variedades elaboradas en España: natural y sabor a fresa, pertenecientes a una marca de gran difusión comercial. También se ha medido el pH y la acidez. Se ha constatado la presencia de coliformes y de E.coli comprobándose, a los diez días de conservación, que resultaba inhibida a consecuencia del nivel de acidez alcanzado; por ello se coincide con Aleksieva (3) en que la investigación de coliformes en el yogur, incluido el E.coli, como indicadores de su calidad higiénica, debe de realizarse no más tarde de veinticuatro horas desde que terminó de elaborarse. Se ha evidenciado igualmente una contaminación por enterococos que persistió durante todo el período de conservación controlado. Por ello estimamos que la búsqueda de enterococos en el yogur es más adecuada que la de coliformes y E.coli, como indicadores de su calidad higiénica, durante todo el período de vida comercial.

Introducción y revisión bibliográfica

Aunque la acidez del yogur reduce notablemente el desarrollo de microorganismos indeseables (Robinson y Tamine (25)), son muchos los países y organismos que consideran que debe de realizarse la investigación de coliformes y de otros gérmenes contaminantes. Buttiaux y Mossel (9) estiman que el E.coli tiene especial interés como microorganismo indicador, en alimentos ácidos, debido a su relativa resistencia a valores de pH bajos. Sin embargo Aleksieva (3) señaló que la determinación de enterococos es, en este caso, más adecuada que la de E.coli.

Son numerosas las investigaciones que conocemos de la presencia de coliformes en el yogur (Van Uden y Sousa (29); Foster y Gasser (15); Hudec (17); Amato y col. (4); Feils (14); Davis y col. (11); Tzanetakis (27,28); Ottogalli y col. (22); Puhan y col. (24); Papavassiliou y col. (23); Arnott y col. (7); Davis y McLachlan (12); Iconomov (18); Alary y col. (1); Brum y Denardin (8); Martínez y col. (21); Rodríguez y col. (26) y Dubois y col. (13)). Sobre la evolución de la contaminación del yogur por las mencionadas bacterias se han realizado los trabajos siguientes: Ceran (10) estudió la relación entre acidez y supervivencia de coliformes y comprobó que su recuento descendía de forma gradual.

Goel y col. (16) inocularon separadamente Enterobacter aerogenes y E. coli en yogur comercial; los productos fueron conservados a 7,2º C y controlados diariamente, durante diez días, y se modificaron el número de coliformes y los valores de pH. Por otra parte, Aleksieva (3) investigó el desarrollo del E. coli en dos lotes de yogur mantenidos a diferentes temperaturas.

Son escasos los trabajos que conocemos sobre enterococos en yogur. Pavassiliou y col. (23) investigaron la presencia de dichas bacterias en cien muestras. Aleksieva (2) estudia la contaminación por enterococos en yogur conservado a 5-8º C. También Arnott y col. (7) y Dubois y col. (13) investigan estos gérmenes en el yogur.

Material y métodos

Los yogures pertenecían a una marca de gran difusión comercial de la que hemos estudiado las variedades de mayor consumo: natural y de sabor a fresa. Las muestras se comercializaban en envases de material plástico con un contenido de aproximadamente ciento veinte gramos. Se han investigado cien muestras agrupadas en dos lotes, natural y aromatizado, conseguidos directamente de la factoría el mismo día de su elaboración. En ningún caso transcurrieron más de veinticuatro horas desde el término de aquella hasta el examen de laboratorio o el almacenamiento a 7º C (temperatura habitualmente utilizada durante la comercialización del producto). Las muestras fueron transportadas al laboratorio en lotes de cincuenta debidamente refrigeradas. De cada lote de cincuenta yogures se tomaban al azar diez, para el control inicial. Los cuarenta restantes eran almacenados a 7º C y controlados al cabo de diez, veinte, treinta y cuarenta días de conservación. En cada control se investigaban diez muestras, sobre las que se llevaban a cabo las siguientes determinaciones: recuento de coliformes, E. coli y enterococos; medida del pH y de la acidez titulable.

En la investigación de coliformes hemos seguido los procedimientos recomendados por los Métodos para el examen de productos lácteos, de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA, 1968). En el recuento de E. coli hemos utilizado la técnica del número más probable (NMP). Para la enumeración de enterococos hemos empleado la metódica de la Asociación Americana de Salud Pública (APHA, 1956). El pH se ha medido mediante un pH-metro; y la acidez titulable se ha valorado según los Métodos para el examen de productos lácteos (APHA, 1968).

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla I y se representan en las figuras 1 y 2. Niveles de contaminación próximos a los detectados por nosotros son los apreciados por Hudec (17), Tzanetakis (27) e Iconomov (18), quienes comprueban la presencia de coliformes en el 55,40, en el 46,54 y en el 62 p.100 de los yogures investigados, respectivamente. Papavassiliou y col. (23) constatan que el 30 p.100 de las muestras examinadas estaban contaminadas con coliformes, y de ellas el 24 p.100 lo eran con E. coli. Arnott y col. (7) encuentran coliformes en el 13,8 p.100 de los yogures analizados; Rodríguez y col. (26), en el 20 p.100; y Alary y col. (1) señalan la presencia de E. coli y otros coliformes en el 22,22 p.100 de los lotes investigados. En cambio Feils (14), Puhan y col. (24), Brum y Denardin (8), Martínez y col. (21) y Dubois y col. (13) detectan porcentajes de contaminación muy bajos. Por otra parte Amato y col. (4), Davis y col. (11), Ottogalli y col. (22) y Davis y McLachlan (12) no detectan la contaminación por coliformes en yogures conservados a diferentes temperaturas. Sin embargo, Ceran (10) comprobó en yogur inoculado con bacterias coliformes que, tras una hora de incubación a 44-45° C, la reducción es del 65 p.100, respecto al número inicial, mientras que transcurridas tres horas llega a ser del 99,64 p.100. Cuando los yogures se mantenían a 5° C la reducción al cabo de veinticuatro horas llegaba hasta el 99,99 p.100. Resultados semejantes fueron obtenidos por Goel y col. (16). Igualmente Aleksieva (3) constata que el E. coli no se multiplicaba en el yogur y que su número inicial decrecía a cero, después de cuarenta y ocho horas a 7-10° C y tras veinticuatro horas a 18-22° C.

En la presente investigación hemos comprobado la presencia de coliformes, incluido el E. coli, en yogur natural y aromatizado, en las determinaciones realizadas no más tarde de veinticuatro horas, contabilizadas a partir del término de su elaboración, y hemos igualmente apreciado que, tras diez días de almacenamiento de los yogures a 7° C, la presencia de coliformes y la de E. coli resultaba inhibida como consecuencia del incremento de los niveles de acidez presentes en relación con los que existían inicialmente. Nuestros resultados coinciden con los de la mayoría de los autores citados, en que es posible la presencia de coliformes en el yogur comercial, aunque de acuerdo con otras investigaciones (Ceran (10), Goel y col. (16) y Aleksieva (3)) hemos apreciado que los niveles de acidez presentes llegan a reducir completamente la presencia de coliformes, incluido el E. coli en dicho producto. Como consecuencia

de lo expuesto y al objeto de que la detección de coliformes y de E. coli en el yogur pueda utilizarse como índice de su calidad higiénica, coincidimos con Aleksieva (3) en que la investigación de los citados microorganismos debe de llevarse a cabo no más tarde de la veinticuatro horas posteriores a la elaboración.

La contaminación del yogur por enterococos ha sido constatada por Aleksieva (2), Arnott y col. (7), en el 36,20 p.100 de las muestras investigadas; y por Dubois y col. (13). La presencia de enterococos en el yogur la interpretamos como índice de una calidad higiénica deficiente y estimamos, teniendo en cuenta la gran resistencia de dichos microorganismos a condiciones adversas y los resultados de la investigación de coliformes y E. coli, que en el yogur la búsqueda de enterococos es más adecuada que la de coliformes y E. coli como indicadores de su calidad higiénica, durante todo el período de vida comercial. Finalmente hemos comprobado, mediante el cálculo del coeficiente de correlación por rangos ordenados, de Spearman, que no existe correlación estadísticamente significativa entre los porcentajes de presencia de enterococos detectados y las tasas de ácido láctico que les corresponden.

Bibliografía

1. Alary, J., J. Chouteau, M.C. Boujeau y A. Coeur. Ann. Fals. Exp. Chim. 68, 513-520 (1975).
2. Aleksieva, V. Vet. Sci. 10, 73-80 (1973).
3. Aleksieva, V. Vet. Sci. 16, 70-77 (1979).
4. Amato, F., L. Becheroni y A. Dracos. Nuovi Ann. Ig. Microbiol. Ital. 21, 341-361 (1970).
5. Apha. Recommended Methods for the Microbiological examination of Foods. 2 ed. American Public Health Association. Washington (USA) (1966).
6. Apha. Standard methods for Examination Dairy Products. 14th ed. American Public Health Association. Washington (USA) (1978).
7. Arnott, D.R., C.L. Duitschaeffer y D.H. Bullock. J. Milk Foods Technol. 37, 11-13 (1974).
8. Brum, M.R. e I.I. Denardin. Rev. Centro Ciências Rurais. 6, 407-410 (1976).
9. Buttiaux, R. y D.A. Mossel. J. Appl. Bacteriol. 24, 353-364 (1961).

10. Ceran, G. Turk Askeri Veteriner Hekimleri Dergisi. 48, 26-49 (1971).
11. Davis, J.G., T.R. Asthon y M. McCaskill. Dairy inds. 36, 569-573 (1971).
12. Davis, J.G. y T. McLachlan. Dairy Inds. 39, 149-177 (1974).
13. Dubois, G., F. Desaulniers-Therrien y R. Charbonneau. Le Lait. 60, 393-396 (1981).
14. Feils, G. Archiv für Lebensmittelhygiene. 21, 252-254 (1970).
15. Foster, H. y H. Gasser. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. u. Hyg. 53, 230 (1962).
16. Goel, M.C., D.C. Kulshrestha, E.H. Marth, D.W. Francis, J.G. Bradshaw y R.B. Reard. J. Milk Food Technol. 34, 4-58 (1971).
17. Hudec, I. Prumysl. Potravin. 19, 636-640 (1968).
18. Iconomov, L. Vet. Sci. 11, 47-52 (1974).
19. Jordano, R. Tesis doctoral. Dpto. Reprografía. Facultad de veterinaria. Córdoba (1982).
20. MacKenzie, E.F., E.W. Taylor y W.E. Gilbert. J. Gen. Microbiol. 2, 197-204 (1948).
21. Martínez, R.G., E. Garay y J.P. Martínez. Alimentaria. 97, 55-62 (1978).
22. Ottogalli, G., P. Resnini, G. Rondinini y S. Saracchi. Ann. Microbiol. 22, 71-79 (1972).
23. Papavassiliou, J., D. Dimitracopoulos y C. Economou-Stamatelopoulou. Alimenta. 12, 151-152 (1973).
24. Puhan, Z., O. Flüeler y M. Banhegyi. Schweiz. Milchw.Forsch. 2, 37-52 (1973).
25. Robinson, R.K. y A.Y. Tamine. Soc. Dairy Technol. 29, 147-155 (1976).
26. Rodríguez, F., E. Díaz y M.E. Alvarez. Alimentaria. 91, 35-42 (1978).
27. Tzanetakis, N.M. Ellen. Kten. 2, 79-80 (1972).
28. Tzanetakis, N.M. Ellen. Kten. 2, 92-98 (1973).
29. Van Uden, N. y L.D. Sousa. Dairy Inds. 22, 1028-1029 (1957).

Tabla I. Porcentajes de muestras en las que se detectó la presencia de coliformes, E. coli y enterococos, y valores medios de pH y acidez titulable.

Control (*)	Coliformes		E.coli		Enterococos		pH		Acidez p.100	
	col./g	nat.arom.	NMP/g	nat.arom.	NMP/g	nat.arom.	nat.arom.	nat.arom.	láctico	nat.arom.
Inicial	70	70	90	20	100	100	4,33	4,32	0,74	0,74
A los 10 días	--	--	--	--	100	100	3,97	4,01	0,93	0,90
A los 20 días	--	--	--	--	100	100	3,82	3,87	1,01	0,98
A los 30 días	--	--	--	--	100	100	3,76	3,82	1,03	1,01
A los 40 días	--	--	--	--	100	100	3,80	3,84	1,02	1,00

(*) En cada control se han analizado diez muestras de cada variedad: natural y aromatizada.

Evolución de la contaminación y de los niveles de acidez en yogur conservado a 7°C.

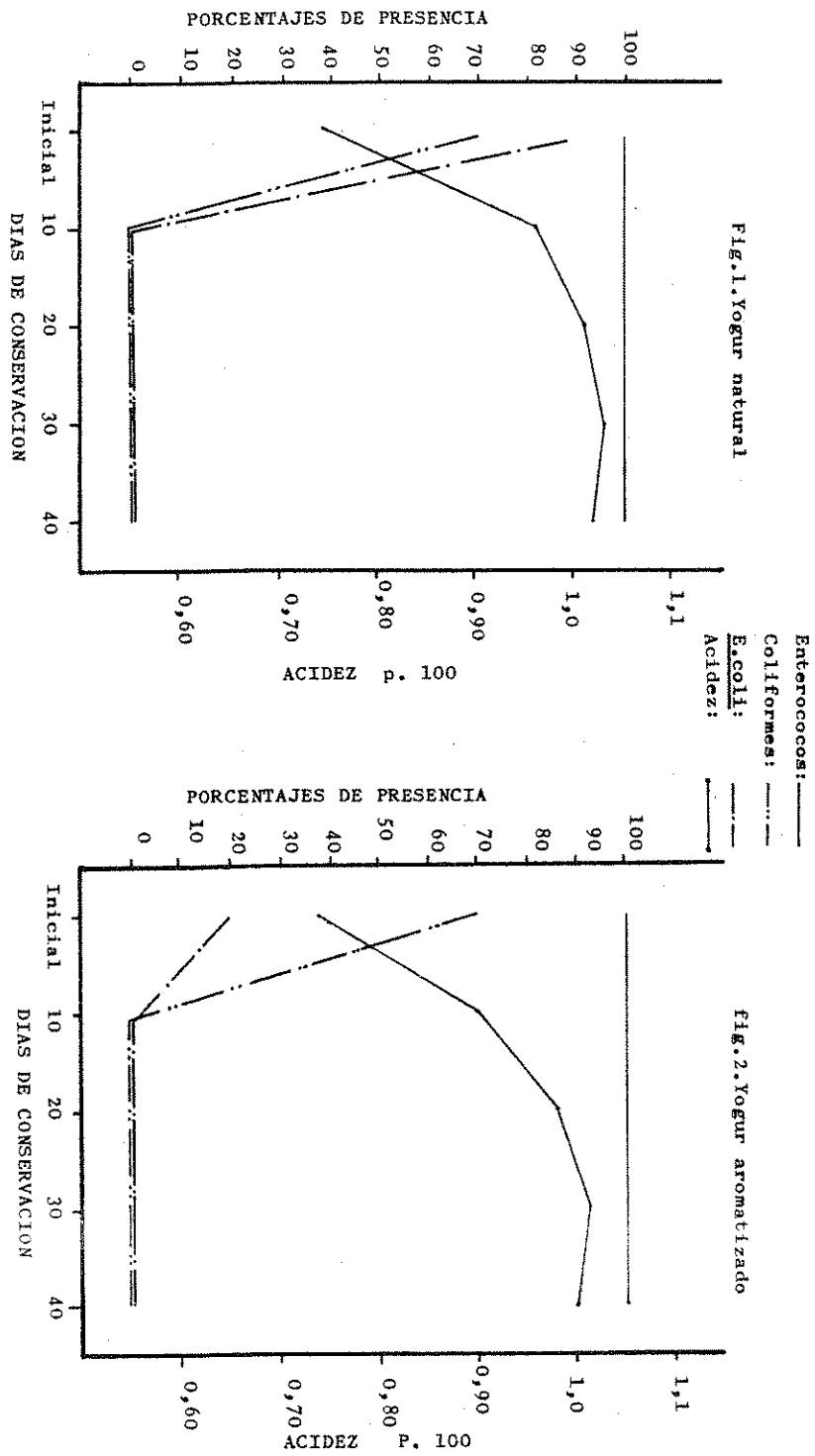


Figura 2