

INFORME DE ACTIVIDADES	
ACTIVIDAD	“CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA/QUÍMICA DE LAS MMC RECIBIDAS (TRAS EL PRIMER REFRESCO REALIZADO EN CNTA)”
EMPRESA	Club Richemont España (CRE)
Nº DE PÁGINAS:	11
FECHA:	13- Junio- 2016
Realizado por:	Patricia Arrubla. Técnico de laboratorio del área de I+D+i de CNTA
Revisado por:	Dra. Ana Moreno Investigador del área de I+D+i de CNTA Dra. Leyre Urtasun Investigador del área de I+D+i de CNTA Dra. Raquel Virto Responsable Técnico-Científica del área de I+D+i de CNTA

INDICE

1. OBJETIVO DEL ESTUDIO.....	3
2. ALCANCE	3
3. RESULTADOS	3
Tarea 1. Definición de los protocolos de refrescos para cada una de las MMC proporcionadas	3
Tarea 2. Caracterización microbiológica/química de las MMC recibidas (tras el primer refresco realizado en CNTA).....	4
2.1. Caracterización química	4
2.2. Caracterización microbiológica.....	6
2.2.1. Recuento de bacterias lácticas y levaduras.....	6
2.2.2. Identificación de bacterias lácticas:.....	8
2.2.3. Identificación de levaduras:.....	9
4. CONCLUSIONES:.....	10
5. ANEXO:.....	11

1. OBJETIVO DEL ESTUDIO

De acuerdo al presupuesto aceptado por la empresa CRE (PE20151342) se planteó como el objetivo del estudio, la “*caracterización microbiológica y química de las masas madres de cultivo (MMC) de las empresas Richemont y Alfacar tras el primer refresco realizado en CNTA*”.

2. ALCANCE

El coste que se incluye en el presupuesto corresponde al análisis de un lote de 2 masas madres de cultivo enviadas por las empresas Richemont y Alfacar con objeto de caracterizar microbiológica y químicamente las MMC de estas empresas. Se ha calculado el coste en base a horas de dedicación de un investigador superior y un técnico de laboratorio de acuerdo a las pruebas que se han ido realizando hasta la fecha (sin coste).

Las tareas incluidas en el alcance del proyecto han sido las siguientes:

- ✓ Tarea 1. Definición de los protocolos de refrescos para cada una de las MMC proporcionadas
- ✓ Tarea 2. Caracterización microbiológica/química de las MMC recibidas (tras el primer refresco realizado en CNTA)

Para la caracterización CNTA ha realizado los siguientes análisis:

- Caracterización química:
 1. Determinación del pH
 2. Cuantificación de azúcares reductores
 3. Reparto de azúcares reductores
 4. Cuantificación de la acidez total (TTA)
 5. Cuantificación de ácidos orgánicos
 6. Cuantificación de etanol
- Caracterización microbiológica
 1. Recuento de bacterias lácticas
 2. Recuento de levaduras
 3. Aislamiento e identificación de bacterias lácticas
 4. Aislamiento e Identificación de levaduras

3. RESULTADOS

Tarea 1. Definición de los protocolos de refrescos para cada una de las MMC proporcionadas

Las dos empresas participantes proporcionaron a CNTA su masa madre, su harina, así como el agua que utilizan de forma habitual para la realización de los refrescos. Del mismo modo, proporcionaron la “receta/procedimiento” de mantenimiento de las dos MMC seleccionadas a CNTA, quien llevó a cabo en sus instalaciones un refresco.

En ambos casos, el proceso de refresco consistió en la mezcla de MMC, agua y harina en las proporciones que se muestran a continuación.

Tabla 1. Proporción de ingredientes utilizado en el refresco de MMC1 (Richemont) y MMC2 (Alfacar)

	MMC 1 (Richemont)	MMC 2 (Alfacar)
Masa Madre	250 g	250 g
Agua	250 g	250 g
Harina	150 mL	130 mL

El refresco se realizó por duplicado para cada una de las masas.

En la Tabla 2, se muestran las temperaturas de los ingredientes que se emplearon para el refresco, así como la temperatura de la masa inmediatamente después del refresco.

Tabla 2. Temperatura (°C) de la masa madre inicial, agua, harina y de la mezcla para MMC1 (Richemont) y MMC2 (Alfacar)

	MMC 1 (Richemont)		MMC 2 (Alfacar)	
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2
Masa Madre	10°C	10°C	13°C	12°C
Harina	33°C	33°C	33°C	33°C
Agua	21°C	22°C	17°C	16°C
Tª final masa	27°C	28°C	25°C	23°C

Tras el refresco, se tomó muestra de las masas. Los resultados se encuentran recogidos en la tarea 2 del proyecto.

Tarea 2. Caracterización microbiológica/química de las MMC recibidas (tras el primer refresco realizado en CNTA)

2.1. Caracterización química

Las siguientes tablas recogen los resultados obtenidos para ambas MMC.

Tabla 3. Reparto de azúcares de MMC1 (Richemont) y MMC2 (Alfacar)

Fecha recepción 26/01/2016		MMC1 (Richemont)	MMC2 (Alfacar)
Reparto azúcares Cl	Fructosa (g/100g)	<0,10	0,10
	Glucosa (g/100g)	0,27	0,19
	Sacarosa (g/100g)	<0,10	<0,10
	Maltosa (g/100g)	1,35	0,62
	Lactosa (g/100g)	<0,10	<0,10
DNS (Glucosa) (g/100mL)		1,81	1,40

De los resultados del reparto de azúcares se observa que en ambas MMC aún quedan azúcares libres tras 3,5 horas de refresco y cabe destacar que la MMC1 (Richemont) presenta el doble de concentración de maltosa que MMC2 (Alfacar).

El valor de cuantificación de azúcares reductores (azúcares que pueden fermentarse) (DNS) es mayor en MMC1 (Richemont) que en MMC2 (Alfacar), dato que concuerda con la concentración obtenida del reparto de azúcares.

Los azúcares son el sustrato de fermentación de bacterias y levaduras, la presencia de azúcares libres en ambas MMC tras las 3,5 horas de reposo después del refresco nos indica que no se han consumido totalmente, por tanto, podríamos alargar más el tiempo de mantenimiento de la MMC antes del refresco si quisiéramos una mayor acidez o concentración de etanol en el producto, ya que las bacterias y levaduras podrían seguir fermentando, sobre todo en la MMC1 (Richemont).

CONCLUSIÓN 1: AL FINALIZAR EL PROCESO, TODAVÍA QUEDAN AZÚCARES LIBRES EN AMBAS MASAS.

Tabla 4. Ácidos orgánicos, ratio ácido láctico/ácido acético, TTA, Etanol y pH de MMC1 (Richemont) y MMC2 (Alfacar)

Fecha recepción 26/01/2016		MMC1 (Richemont)	MMC2 (Alfacar)
Ácidos Orgánicos	ácido láctico (g/100g)	0,271	0,144
	ácido butírico(g/100g)	<0,025	<0,025
	ácido acético (g/100gr)	0,059	0,028
Ratio láctico/acético	82/18	84/16	
TTA (mL NaOH 0,1N/10g)	6,2	5,5	
Etanol (g/100g)	0,66	1,19	
pH	4,01	4,60	

En el caso de los ácidos orgánicos, se observa que en ambas MMC hay producción de ácido láctico, lo que indica una fermentación láctica. En el caso de la MMC1 (Richemont) se determinaron 0,271 g/100g de ácido láctico. En la MMC2 (Alfacar), se determinaron 0,144 g/100g.

En ambas masas madres, la concentración de ácido acético obtenida es menor comparada con el valor de ácido láctico. En el caso de la MMC1 (Richemont), el ratio ácido láctico/ácido acético es 82/18, proporción similar a la determinada en la MMC2 (Alfacar), 84/16.

No hay presencia de ácido butírico en ninguna de las muestras.

El valor de acidez total en MMC1 (Richemont) es de 6,2 mLNaOH 0,1N/10g, frente al 5,5 mLNaOH 0,1N/10g de la MMC de Alfacar.

Y finalmente, de acuerdo a todo lo anterior, el valor de pH de la MMC1 (Richemont) es más ácido el pH de la MMC2 (Alfacar)

CONCLUSIÓN 2: EN AMBAS MASAS PREDOMINA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO.

En ambas MMC hay producción de etanol, lo que indica una fermentación alcohólica, y es especialmente relevante en la MMC2 (Alfacar).

Las fotos obtenidas tras el refresco de ambas MMC nos confirman estos resultados. La MMC2(Alfacar) presenta un grannúmero de alveolos, debido a una gran fermentación alcohólica que da lugar a la generación de CO₂ y etanol.

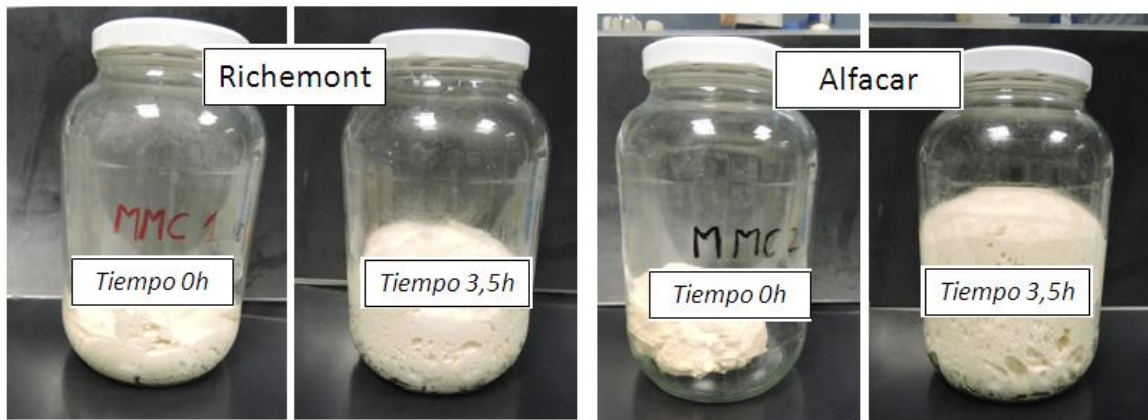


Figura 1. MMC1 (Richemont) t0h y t3,5h (izquierda) y MMC2 (Alfacar) t0h y t3,5h (derecha)

2.2. Caracterización microbiológica

Se ha llevado a cabo el recuento en placa de bacterias lácticas y levaduras en diferentes medios de cultivo para obtener el valor de la concentración total. La siguiente tabla recoge los valores de los recuentos expresados como UFC/g de cada una de las MMC estudiadas.

2.2.1. Recuento de bacterias lácticas y levaduras

Para saber cuántas bacterias y/o levaduras hay una MMC hay que coger una muestra de la MMC y “sembrarla en agar”. Sembrar en agar es poner la muestra de MMC en una placa de petri con el agar (figura 2). Esas placas se incuban a una temperatura adecuada y en unas condiciones adecuadas para que se formen las colonias de bacterias y levaduras y un técnico de laboratorio las cuenta para obtener el resultado.



Figura 2. Placa de agar (color amarillo) en la que se ha puesto la muestra de MMC y, tras incubación a una temperatura y durante un tiempo determinado han crecido las bacterias (puntitos blancos) que hay en la muestra.

Los ágares que se utilizan para conseguir que crezcan las bacterias son distintos dependiendo de qué microorganismo (bacteria o levadura) se busque. Por ello, y puesto que en la MMC conviven muchas especies distintas de bacterias y levaduras la dificultad radica en probar el número suficiente de ágares que permitan “recuperar” el máximo número de estos microorganismos. Por ello, para la recuperación de las bacterias lácticas se han utilizado 3 ágares distintos: (1) MRS modificado (MRSm), (2) MRS (medio comercial) y (3) glucosa M17. Los medios MRS modificado y glucosa M17 presentan antibiótico cicloeximida en su formulación, por lo que puede verse afectado el crecimiento de la flora láctica.

Para la recuperación de las levaduras se han utilizado los agares: (1)PotatoDextrosa Agar (PDA) y (2) DichloranRose BengalChloramphenicol agar (DRBC). El medio DRBC presenta antibiótico chloramphenicol en su formulación.

Con todo ello, se han obtenido los siguientes resultados:

Tabla 5. Resultados microbiológicos de las MMC1Richemont y MMC2 Alfacar

	AGARES	MMC1 (Richemont)		MMC2 (Alfacar)	
		UFC/g	UFC/gramo (VALOR MEDIO)*	UFC/g	UFC/gramo (VALOR MEDIO)
Bacterias lácticas	<i>mMRs</i>	3,70E+07	6,97E+07	2,70E+09	1,56E+09
	<i>MRS</i>	1,60E+08		4,80E+08	
	<i>Glu M17</i>	1,20E+07		1,50E+09	
Levaduras	<i>DRBC</i>	1,80E+08	1,70E+08	4,50E+08	4,40E+08
	<i>PDA</i>	1,60E+08		4,30E+08	
ratio bacterias/levaduras			0,5/1		1/0,25

* La forma de interpretar los recuentos es la siguiente:

- UFC = Unidades Formadoras de Colonias = Número de microorganismos

- 6,97E+07 = 69.700.000

Se pone el número y tantos ceros como el número que hay después de la E

De la tabla se deduce que:

CONCLUSIÓN 3: LA MMC1 (RICHEMONT) TIENE MAYOR CANTIDAD DE LEVADURAS QUE DE BACTERIAS LÁCTICAS.

CONCLUSIÓN 4: LA MMC2 (ALFACAR) TIENE MAYOR CANTIDAD DE BACTERIAS LÁCTICAS QUE DE LEVADURAS.

La interpretación de estas dos conclusiones y la traducción al mundo panadero es que, la MMC 2 tiene más actividad microbiana, tanto hacia la fermentación láctica (producción de ácidos) como hacia la fermentación alcohólica (producción de Alcohol y gas CO₂).

CONCLUSIÓN 5: EL RATIO BACTERIAS/LEVADURAS de la MMC 1 (RICHEMONT) ES SUPERIOR A LA DE LA MMC 2 (ALFACAR). SIN EMBARGO, LAS BACTERIAS LÁCTICAS DE LA MMC1 (RICHEMONT) SON MÁS ACTIVAS QUE LAS DE ALFACAR Y PRODUCEN MÁS LÁCTICO.

La traducción de esta conclusión al mundo panadero es curiosa e importante, porque, a pesar de que la MMC2 de Alfacar tiene un mayor recuento de bacterias lácticas que la MMC1 de Richemont, la actividad que predomina en esta MMC2 es la alcohólica (ver la tabla 1). Esto significa que la MMC 2 de Alfacar tiene levaduras muy activas que compiten y “ganan” a las bacterias lácticas por los azúcares de la MMC. Sin embargo, en el caso de la MMC1 de Richemont, aunque con menor recuento de bacterias lácticas estas son más activas que las levaduras y se impone el metabolismo de fermentación láctica heterofermentativa con formación de ácidos. Las levaduras son menos activas.

CONCLUSIÓN 6: NO UN MAYOR RECUENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS EN UNA MASA MADRE CON RESPECTO A OTRA IMPLICA QUE SEA MÁS ACIDA!!!!!! DEPENDERÁ DEL TIPO DE

MICROORGANISMOS Y DE LA COMPETENCIA POR LOS AZÚCARES FERMENTABLES QUE EN CADA MASA MADRE HAYA ENTRE BACTERIAS Y LEVADURAS.

2.2.2. Identificación de bacterias lácticas:

Para conocer más qué hay en cada una de las MMC se han identificado quienes son esas bacterias lácticas y esas levaduras que se han mostrado en la tabla 2.

La siguiente tabla recoge los resultados obtenidos para las bacterias lácticas:

Tabla 6. Identificación de las bacterias lácticas distintas que hay en las MMC1 (Richemont) y MMC2 (Alfacar)

Identificación Bacterias	
MMC1 (Richemont)	MMC2 (Alfacar)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactococcus garviaceae</i>
<i>Leuconostoc citreum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	<i>Weissella cibaria</i>
	<i>Pediococcus pentosaceus</i>

Es importante decir, en primer lugar que puede ser que haya especies microbianas que “se hayan escapado” a la identificación, y que estas que aparecen en la tabla son las mayoritarias, las que forman la mayor parte de la población láctica.

Ya sabemos los nombres de las bacterias que hay en cada MMC pero, ¿qué importancia tiene esto para el panadero?

CONCLUSIÓN 7: LA MMC2 DE ALFACAR TIENE GRAN VARIEDAD DE ESPECIES DE BACTERIAS LÁCTICAS. POR OTRO LADO, DE ACUERDO A LOS DATOS QUÍMICOS, LAS BACTERIAS DE LA MMC 1 (RICHEMONT) (*L. plantarum* y *Lc. citreum*) SERÍAN MÁS ACTIVAS QUE LAS DE LA MMC 2 (ALFACAR) PUESTO QUE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS ES MAYOR EN RICHEMONT QUE EN ALFACAR.

A continuación se muestran que papel relevante o propiedad importante podrían tener las bacterias identificadas en las MMC.

Cualquiera de vosotros podéis buscar en internet el nombre de estos microorganismos y curiosear sobre si tienen algún papel relevante en el pan o en la MMC.

- *Lactobacillus plantarum* → actividad antibacteriana¹ (HETEROFERMENTATIVO: produce láctico + acético)

La actividad antibacteriana tiene interés en panadería si además fuese antifúngico frente a mohos..por ejemplo podría tener interés para pan de molde.

- *Leuconostoc citreum* → productor de inulina² (HETEROFERMENTATIVO: produce láctico + acético)

A falta de una revisión de las posibilidades más amplia es productor de una fibra muy interesante. Podría enriquecerse en fibra un pan “blanco” si se fermenta con este microorganismo??

¹Todorov, S. et al., *International Journal of Food Microbiology*, **1999**, 48(1), 167-177

²Tieking, M. et al., *Appl. Environ. Microbiol.*, **2003**, 69(2), 945-952

- *Leuconostocgarviaceae* → actividad frente a listeria³⁴ (HETEROFERMENTATIVO: produce láctico + acético)

Lo mismo que *L. plantarum*.

- *Leuconostocmesenteroides* → productor de exopolisacáridos⁵ (HETEROFERMENTATIVO: produce láctico + acético)

La producción de exopolisacáridos tiene interés en aspectos relacionados con textura. Si una bacteria produce muchos exopolisacáridos durante la fermentación se podría modificar la textura del pan sin añadir espesantes o gomas.

- *Weissellacibaria* → productor de exopolisacáridos⁶ (HETEROFERMENTATIVO: produce láctico + acético)

Lo mismo que en el caso anterior.

- *Pediococcus pentosaceus* → actividad proteolítica⁷, actividad frente a listeria⁸ (HOMOFERMENTATIVO: produce láctico)

Lo mismo que *L. plantarum* y *Leuconostocmesenteroides*.

No se ha realizado una revisión exhaustiva y desde CNTA se anima a los panaderos a hacerlo para evaluar las posibilidades de estos microorganismos.

2.2.3. Identificación de levaduras:

Tras el recuento de levaduras se ha llevado a cabo el aislamiento e identificación de las mismas. La siguiente tabla recoge el listado de las levaduras identificadas.

Tabla 7. Identificación de las levaduras distintas que hay en las MMC1 (Richemont) y MMC2 (Alfacar)

Identificación Levaduras	
MMC1 (Richemont)	MMC2 (Alfacar)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Cepa 1)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Cepa 1)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Cepa 2)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Cepa 2)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Cepa 3)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Cepa 3)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Cepa 4)	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Cepa 5)	
<i>Candida humili</i> (Cepa 1)	
<i>Candida humilis</i> (Cepa 2)	
<i>Candida humilis</i> (Cepa 3)	

De la tabla se desprende, algo que a priori, también podría parecer contradictorio. De la MMC1 (Richemont) se aíslan dos especies de levaduras mientras que MMC Alfacar únicamente tiene 1 aunque, como hemos

³ Sip, A. et al, *Food Control*, **2011**, 26(1), 117-124

⁴ Corsetti, A. et al., *LWT - Food Science and Technology*, **2008**, 41(7), 1173-1182

⁵ Palomba, S. et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, **2012**, 78(8), 2737-2747

⁶ Galle, S. et al., *Food Microbiol.*, **2011**, 28(3), 547-553

⁷ Gerez, C.L. et al., *Lett. Appl. Microbiol.*, **2006**, 42(5), 459-464

⁸ Corsetti, A. et al., *LWT - Food Science and Technology*, **2008**, 41(7), 1173-1182

visto en la interpretación de la tabla 1, esta segunda MMC es mucho más alcohólica. La posible explicación a esta contradicción está en que, en el caso de la MMC de Richemont, las levaduras compiten por los azúcares y *Candida humilis* tiene menor actividad fermentativa que *Saccharomyces cerevisiae*. (es una hipótesis)

En el caso de la MMC2 (Alfacar), *Saccharomyces cerevisiae* se impone y está sola. Es una levadura muy adaptada a la fermentación de MMC y, sin competencia de otra levadura, realiza la fermentación alcohólica y produce Etanol y CO₂ en gran cantidad como muestra la tabla 1 y la figura 1.

CONCLUSIÓN 8: LA MMC2 (ALFACAR) ÚNICAMENTE TIENE A SACCHAROMYCES CEREVISIAE ENTRE SUS LEVADURAS MIENTRAS QUE EN LA DE RICHEMONT SE HAN IDENTIFICADO 2 ESPECIES, *S. Cerevisiae* y *C. Humilis*. DE ACUERDO A LOS DATOS QUÍMICOS, LAS LEVADURAS DE LA MMC 2/ALFACAR (*S. Cerevisiae*) SERÍAN MÁS ACTIVAS QUE LAS DE LA MMC 1 (RICHEMONT) PUESTO QUE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL ES MAYOR EN ALFACAR QUE EN RICHEMONT.

4. CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN 1: AL FINALIZAR EL PROCESO, TODAVÍA QUEDAN AZÚCARES LIBRES EN AMBAS MASAS.

CONCLUSIÓN 2: EN AMBAS MASAS PREDOMINA LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO LÁCTICO.

CONCLUSIÓN 3: LA MMC1 (RICHEMONT) TIENE MAYOR CANTIDAD DE LEVADURAS QUE DE BACTERIAS LÁCTICAS.

CONCLUSIÓN 4: LA MMC2 (ALFACAR) TIENE MAYOR CANTIDAD DE BACTERIAS LÁCTICAS QUE DE LEVADURAS.

CONCLUSIÓN 5: EL RATIO BACTERIAS/LEVADURAS de la MMC 1 (RICHEMONT) ES SUPERIOR A LA DE LA MMC 2 (ALFACAR). SIN EMBARGO, LAS BACTERIAS LÁCTICAS DE LA MMC1 (RICHEMONT) SON MÁS ACTIVAS QUE LAS DE ALFACAR Y PRODUCEN MÁS LÁCTICO.

CONCLUSIÓN 6: NO UN MAYOR RECUENTO DE BACTERIAS LÁCTICAS EN UNA MASA MADRE CON RESPECTO A OTRA IMPLICA QUE SEA MÁS ACIDA!!!!!! DEPENDERÁ DEL TIPO DE MICROORGANISMOS Y DE LA COMPETENCIA POR LOS AZÚCARES FERMENTABLES QUE EN CADA MASA MADRE HAYA ENTRE BACTERIAS Y LEVADURAS.

CONCLUSIÓN 7: LA MMC2 DE ALFACAR TIENE GRAN VARIEDAD DE ESPECIES DE BACTERIAS LÁCTICAS. POR OTRO LADO, DE ACUERDO A LOS DATOS QUÍMICOS, LAS BACTERIAS DE LA MMC 1 (RICHEMONT) (*L. plantarum* y *Lc. citreum*) SERÍAN MÁS ACTIVAS QUE LAS DE LA MMC 2 (ALFACAR) PUESTO QUE LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDOS ES MAYOR EN RICHEMONT QUE EN ALFACAR.

CONCLUSIÓN 8: LA MMC2 (ALFACAR) ÚNICAMENTE TIENE A SACCHAROMYCES CEREVISIAE ENTRE SUS LEVADURAS MIENTRAS QUE EN LA DE RICHEMONT SE HAN IDENTIFICADO 2 ESPECIES, *S. Cerevisiae* y *C. Humilis*. DE ACUERDO A LOS DATOS QUÍMICOS, LAS LEVADURAS DE LA MMC 2/ALFACAR (*S. Cerevisiae*) SERÍAN MÁS ACTIVAS QUE LAS DE LA MMC 1 (RICHEMONT) PUESTO QUE LA PRODUCCIÓN DE ETANOL ES MAYOR EN ALFACAR QUE EN RICHEMONT.

5. ANEXO:

Por petición de CRE, CNTA repitió el 24 de Abril del 2016 durante el curso de “Masas Madre” celebrado en CETECE (Palencia), los recuentos microbiológicos correspondientes a la muestra de Masa Madre Richemont.

La siguiente tabla recoge la comparativa de la primera y la segunda tanda de análisis:

Tabla 8. Comparación de los recuentos de bacterias lácticas y levaduras en la MMC Richemont correspondientes a los análisis realizados el mes de enero y el mes de abril

	AGARES	MMC1 (Richemont)		diferencia de recuentos (Log UFC/g)
		UFC/g		diferencias de recuento entre enero y abril de la MMC richemont
		enero	abril	
Bacterias lácticas	<i>mMRs</i>	3,70E+07	7,15E+07	-0,29
	<i>MRS</i>	1,60E+08	9,35E+06	1,23
	<i>Glu M17</i>	1,20E+07	1,70E+04	2,85
Levaduras	<i>DRBC</i>	1,80E+08	2,10E+07	0,93
	<i>PDA</i>	1,60E+08	5,60E+07	0,46
proporción BAL:LEV		1:1	1:1	

En amarillo se señalan los recuentos cuyas diferencias podrían considerarse significativas. Los recuentos de abril no solo no fueron más altos sino que fueron en general más bajos.

Possible explicación a los bajos recuentos de la MMC Richemont: Tal vez sería útil repetir los recuentos en dos agaresmas, el agar SDB y el MRS-5 que algunas referencias bibliográficas indican que sería el más adecuado para algunas especies microbianas.