

ENVASADO DE ALIMENTOS EN PELÍCULAS CON DIFERENTE PERMEABILIDAD AL OXÍGENO Y SU EFECTO EN EL CRECIMIENTO MICROBIANO DURANTE EL ALMACENAMIENTO REFRIGERADO COMO TRABAJO DE LABORATORIO PARA ALUMNOS DE GRADO

M. Dello Staffolo¹, A. Pinotti¹ y M. C. Tomas¹*

¹CIDCA (Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos), CICPBA, CONICET, Facultad de Ingeniería (Universidad Nacional de La Plata)

47 y 116 - 1900 La Plata - Argentina

marinadellostaffolo@gmail.com

Resumen. Este trabajo experimental fue realizado para la asignatura Microbiología y Toxicología de los Alimentos de la carrera de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata. El objetivo general fue introducir un trabajo de laboratorio para que los alumnos adquieran experiencia práctica y criterio en temática de la asignatura. Se llevó a cabo el estudio microbiológico de alimentos envasados en películas de diferente permeabilidad al oxígeno durante su almacenamiento refrigerado. Se realizó un recuento en placa con la técnica de agar volcado para mesófilos aerobios para determinar la carga microbiana del alimento recién preparado o adquirido y luego del envasado y almacenamiento refrigerado durante 7 días. Los resultados pedagógicos fueron: i) los alumnos mostraron un gran interés ya que se utilizó un alimento adquirido en un comercio o preparado en un domicilio particular; ii) se observó que tomaban contacto por primera vez con las técnicas de siembra por agar volcado y con la preparación de las diluciones seriadas empleadas rutinariamente en microbiología de alimentos; iii) se logró que los alumnos adquirieran práctica en el conteo en placa de microorganismos así como en el cálculo de los resultados en UFC/g y iv) los alumnos afianzaron los conceptos adquiridos en las clases teóricas. Por lo tanto, se pudo concluir que la incorporación de este Trabajo Práctico fue significativamente positiva y contribuye a la educación integral (teórico-práctica) de los alumnos de la carrera de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de La Plata.

Palabras clave: Trabajo práctico, Envasado, Microbiología

1. Introducción

El deterioro microbiano de los alimentos es tema de gran preocupación para los productores, comerciantes y consumidores de alimentos. El crecimiento de microorganismos ya sea patógenos o de descomposición, no es deseado en materia de seguridad alimentaria, así como desde el punto de vista económico (Giannuzzi, Pinotti y Zaritzky, 1997). El envasado al vacío se está utilizando cada vez más,

* A quien debe enviarse toda la correspondencia

como una técnica para mejorar la vida útil de los alimentos perecederos. Por ejemplo, durante el almacenamiento refrigerado, el deterioro de los cortes de carne fresca en contacto con el aire, difiere considerablemente de la carne fresca envasada al vacío, aunque en ambos casos el deterioro se produce principalmente en la superficie del producto. Para el envasado al vacío, generalmente se utilizan películas plásticas de diferentes permeabilidades al oxígeno, dióxido de carbono y vapor de agua. El uso de películas de baja permeabilidad disminuye el crecimiento microbiano en el almacenamiento refrigerado (Giannuzzi, Pinotti y Zaritzky, 1998).

Teniendo en cuenta esta temática de gran interés no solo desde el punto de vista técnico sino también de importancia comunitaria, se ideó este trabajo experimental para que los alumnos tomaran contacto directo con la práctica microbiológica de rutina en el control de calidad de alimentos, ya que hasta ese momento no se realizaban este tipo de prácticas en la asignatura. De esta manera, el objetivo pedagógico fue preparar a los alumnos para su futuro escenario práctico laboral, considerando que muchos de los Ingenieros Químicos recién recibidos se incorporan al laboratorio de control de calidad de industrias procesadoras de alimentos.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales empleados y diagrama temporal del trabajo práctico

Se analizó un alimento adquirido en un comercio en los años 2015 y 2016 o preparado en un domicilio particular en el año 2014. El alimento elegido fue una ensalada fría compuesta por papa hervida cortada en cubos, pechuga de pollo hervida cortada en cubos y mayonesa. Se realizó un recuento en placa para mesófilos aerobios para determinar la carga microbiana del alimento recién preparado o adquirido ($t=0$ día), a tiempo inicial y luego de 7 días de almacenamiento refrigerado ($t=7$ días). Este trabajo experimental se llevó a cabo durante tres clases prácticas de la asignatura. En la primera se realizó la toma de muestra y siembra de diluciones a $t=0$, el envasado al vacío y el comienzo del almacenamiento. En la segunda, se realizó la toma de muestra y siembra de diluciones de $t=7$ días y en la tercera, el recuento de microorganismos y discusión.

2.2. Toma de muestra

En un ambiente de esterilidad proporcionado por dos mecheros encendidos (Fig. 1a), se tomaron en forma aséptica, con cuchara de metal limpia y esterilizada en el momento con alcohol y llama de mechero, 20 g de alimento que se colocaron en bolsa para Stomacher estéril (Fig. 1b). Se adicionaron 80 mL de agua peptonada al 0.1% estéril (Fig. 2) y se agitó en el equipo Stomacher durante 60 s a velocidad normal para triturar bien el alimento y poder realizar las diluciones requeridas para la técnica de recuento en placa. La dilución del alimento contenido en la bolsa se consideró la dilución 10^0 .



Fig. 1. a) Zona de trabajo estéril y b) Toma de muestra



Fig. 2. Agregado de agua peptonada estéril a la bolsa de Stomacher con la muestra

2.3. Diluciones seriadas

Se realizó a partir de la bolsa de Stomacher. Se tomó 1 mL con pipeta estéril o pipeta automática y punta estéril y se transfirió a un tubo con 9 mL de agua peptonada al 0.1% estéril agitando con vortex durante 15 s (Fig.3). Este tubo así preparado se considera la dilución 10^{-1} . Luego se tomó 1 mL de este tubo y se transfirió al tubo siguiente con 9 mL de agua peptonada conformándose la dilución 10^{-2} y así sucesivamente hasta la dilución 10^{-5} para $t=0$ día ó 10^{-10} para $t= 7$ días, presuntivamente.



Fig. 3. Preparación de la dilución 10^{-1}

2.4. Siembra de las diluciones en el medio de cultivo, incubación de las placas y recuento de microorganismos

Se rotularon placas de Petri estériles dentro del ambiente estéril generado por los dos mecheros con el nombre de la muestra y las diluciones. A cada placa se le adicionó con punta estéril, 1 mL de cada dilución comenzando por la más diluida y aproximadamente 15 mL de agar fundido previamente y enfriado a $43-44^{\circ}\text{C}$ aproximadamente, para cubrir el fondo de la placa de cultivo. Se rotó la placa antes que solidifique el agar, en sentido horario y anti horario y en cruz, de forma tal de distribuir lo más uniformemente posible las bacterias que pudieran encontrarse en el mL de la dilución sembrada. Esta es la técnica de siembra por agar volcado. Los microorganismos se desarrollan en todo el espesor de agar. Se dejaron reposar las placas sembradas el tiempo necesario para que se solidifique el agar. Una vez solidificado el medio de cultivo en cada placa, se dieron vuelta, cuidando que no se abran en ningún momento, se reunieron y llevaron a la estufa de 37°C durante 48-72h. Transcurrido este tiempo, las placas se retiraron de la estufa y se realizó el conteo de los microorganismos informando UFC/g de muestra.

2.5. Envasado al vacío y almacenamiento refrigerado

Se utilizó una máquina envasadora al vacío para envolver el alimento y sellarlo al vacío (Fig. 4). Se envasó una parte de la muestra en una bolsa de polietileno de baja densidad, cuya permeabilidad al

oxígeno es $6.898 \text{ cm}^3 / [\text{m}^2 \cdot \text{día}]$ y para la otra parte de la misma muestra una bolsa de plástico BK1 cuya permeabilidad reducida al oxígeno es $152 \text{ cm}^3 / [\text{m}^2 \cdot \text{día}]$. Estos valores de permeabilidad fueron evaluados previamente al envasado, mediante un equipo Mocon OXTRAN 2-21 (USA) a temperatura am-



Fig. 4. Alimento envasado al vacío en dos bolsas plásticas de diferente permeabilidad

biente ($21 \pm ^\circ\text{C}$). Se almacenaron ambos alimentos envasados a temperatura de refrigeración ($4\text{-}8^\circ\text{C}$) durante siete (7) días. Transcurrido este tiempo se realizaron los mismos pasos (2.2 a 2.4) para el ensayo microbiológico, que a tiempo inicial.

2.6. Clase de discusión de los resultados

Durante esta clase se aplicó la metodología establecida en las clases teóricas para el recuento de microorganismos mesófilos aerobios y se compararon los datos obtenidos a $t=0$ y $t=7$ días y se analizó la existencia o no de diferencias significativas entre las películas utilizadas para envasar el mismo alimento.

2.7. Análisis estadístico de los resultados

En este trabajo se presentan los resultados de las prácticas realizadas durante los años 2014, 2015 y 2016, a los cuales se les realizó el test ANOVA de un solo factor para determinar si hubo diferencias significativas entre las dos películas de envasado mediante el software Systat 12 (USA).

3. Resultados

3.1. Resultados experimentales

En la Tabla 1 se muestran los recuentos obtenidos para $t=0$ día y $t=7$ días con distinta película de envasado durante los años que se implementó este nuevo trabajo experimental en la asignatura. En el primer año de realización de este trabajo práctico surgió la dificultad de no poder hacer el recuento de microorganismos a los 7 días de almacenamiento debido al excesivo desarrollo microbiano. En los años siguientes, si bien se obtuvo un valor de recuento aceptable, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las dos películas plásticas empleadas. Este hecho puede deberse a que el alimento utilizado (ensalada de ave), tiene muchos intersticios donde el aire puede quedar atrapado, dificultándose alcanzar el vacío total cuando se realiza el envasado. Este inconveniente podría subsanarse utilizando otro alimento más compacto, como por ejemplo una muestra de carne, etc. La idea de utilizar una ensalada de ave se basa en experiencias previas donde se vio un gran crecimiento microbiano en alimentos listos para consumir de los comercios donde se expenden este tipo de alimentos muy elegidos por nuestra población en los últimos tiempos. De este modo, se contribuye además a desarrollar el criterio de seguridad alimentaria entre los alumnos de la carrera de Ingeniería Química que eligen la orientación de Alimentos en el último año de carrera. Otra opción para mejorar estos resultados sería almacenar durante más tiempo las muestras, dando lugar a que los microorganismos consuman todo el aire remanente que pudo haber quedado por una deficiente extracción del mismo durante el proceso de envasado al vacío. Esto permitiría

que los microorganismos que están dentro del envase con escasa permeabilidad al oxígeno no puedan obtenerlo por difusión del ambiente a través de la película deteniendo así su crecimiento y diferenciándose de aquellos que se encuentran dentro de un envase con alta permeabilidad al oxígeno.

Tabla 1. Recuentos de mesófilos aerobios [UFC/g] a tiempo inicial y final del almacenamiento refrigerado de muestras de ensalada de ave envasadas en películas con diferente permeabilidad al oxígeno. BC: bolsa de alta permeabilidad, BK1: bolsa de baja permeabilidad.

	t =0 día	t =7días	
		BC	BK1
2014	35	^a dil. 10^{-10} : incontable	dil. 10^{-10} : incontable
2015	145	$2,4 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$
2016	75	$7,1 \times 10^6$	$1,12 \times 10^7$

^a dil.= dilución

En la Figura 5 se pueden observar placas de crecimiento microbiano de la ensalada de ave a t = 0 día y a t = 7 días muestra envasada con película BK1.

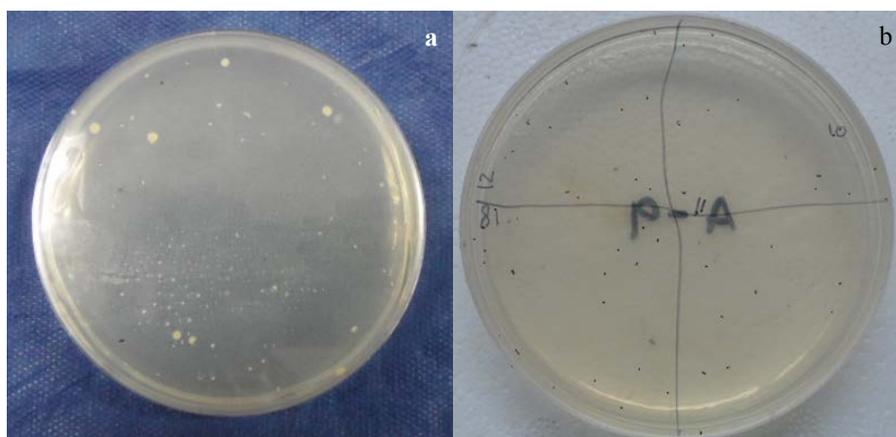


Fig. 5. a) placa de cultivo de dilución 10^{-2} a t=0 días. b) dilución 10^{-9} de muestra envasada en película de baja permeabilidad

3.1. Resultados pedagógicos

Los alumnos manifestaron un gran interés en este trabajo experimental ya que se utilizó un alimento muy consumido el cual fue adquirido en un comercio o preparado en un domicilio particular. También se observó que tomaron contacto por primera vez con el material de laboratorio, la preparación de las diluciones seriadas y las técnicas de siembra por agar volcado empleadas rutinariamente en los laboratorios de control de calidad y microbiología de alimentos. Se logró que los alumnos adquirieran práctica en el conteo en placa de microorganismos así como en el cálculo de los resultados en UFC/g teniendo en cuenta las reglas establecidas por los organismos internacionales de seguridad alimentaria presentadas en las clases teóricas. Además, los alumnos tomaron conciencia de la presencia de los microorganismos de deterioro que pueden crecer en los alimentos que consumimos a diario y que debido al mejoramiento de las condiciones de conservación de los mismos en los últimos tiempos, tal vez pasan más desapercibidos que en otras épocas. Los alumnos afianzaron los conceptos adquiridos en las clases teóricas sobre tipos de microorganismos de deterioro de los alimentos, tipos de almacenamiento, vida útil, características de películas plásticas utilizadas para envasar alimentos, técnicas del laboratorio microbiológico, entre otros.

4. Conclusiones

La implementación de este trabajo experimental ha sido significativamente positiva para los alumnos y contribuye a la educación integral (teórico-práctica) de la carrera de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de La Plata, por lo que con ciertas modificaciones sobre algunos aspectos experimentales, seguirá llevándose a cabo en los años subsiguientes.

Reconocimientos

Se agradece el apoyo económico brindado por la Facultad de Ingeniería y la participación del Técnico del Lab. Claudio Piccone en la preparación del lugar para realizar el trabajo práctico con los alumnos.

Referencias

- Giannuzzi, L., Pinotti, A., Zaritzky, N. (1997). Modelling of Microbial Growth in Potato Homogenate. *J. Sci. Food Agric.*, 73, 425.
- Giannuzzi, L., Pinotti, A., Zaritzky, N. (1998). Mathematical modelling of microbial growth in packaged refrigerated beef stored at different temperatures. *Int. J. Food Microbiol.*, 39, 101.
- Systat® 12 Statistics-I. Copyright 2007 by Systat Software, Inc. Chicago, IL, USA.