

efecto de la irradiación sobre la contaminación microbiológica de los productos chacinados

dra. graziella verger
dra. maya piñeiro
q.f. esteban marchelli
q.f. alfredo m. dovat

monografías tecnológicas

serie microbiología

1



Laboratorio Tecnológico del Uruguay

EFFECTO DE LA IRRADIACION SOBRE LA CONTAMINACION MICROBIOLOGICA DE LOS PRODUCTOS CHACINADOS

RESUMEN

Se estudió el efecto de diferentes dosis de radiación gama (750 y 1000 Krad/hora) sobre la contaminación microbiológica de mortadela en rodajas envasadas al vacío, tomando como índice el recuento total de microorganismos mesófilos, el Número Más Probable de Coliformes totales y el Número Más Probable de Estafilococos. Se estudió también la influencia del tiempo de mantenimiento (20 y 40 días) a bajas temperaturas (4° C) sobre la densidad microbiana de las tres poblaciones estudiadas.

Los resultados obtenidos demuestran la eficacia de las radiaciones gama en la disminución del número de microorganismos presentes, inmediatamente después de la irradiación, y sobre su control durante el período de almacenamiento. Esta eficacia se traduce de manera diferente según la dosis de radiación y la población estudiada, siendo mayor para con los coliformes que para con los estafilococos.

ABSTRACT

THE EFFECT OF IRRADIATION ON THE MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF COLD-CUTS

The effect of different doses of gamma radiation (750 and 1000 Krad/hour) was studied on the microbiological contamination of vacuum packed slices of mortadella. The total count of mesophilic organisms, the Most Probable Number of total Coliforms and the Most Probable Number of Staphylococcus were taken as the indexes of microbiological contamination. The influence of the conservation time (20 and 40 days) at low temperature (4°) on the microbial density of the three populations, was also studied.

The results obtained demonstrate the efficiency of gamma radiation on the reduction of the number of microorganisms present, immediately after the irradiation and on its control during the storage period. The efficiency is manifested in different ways according to the radiation dose and the population studied, being greater for Coliforms than for Staphylococcus.

RESUME

EFFET DE L'IRRADIATION SUR LA CONTAMINATION MICROBIOLOGIQUE DES PRODUITS DE CHARCUTERIE

On a étudié l'effet de différentes doses de radiation gamma (750 et 1000 Krad/heure) sur la contamination microbiologique de tranches de mortadella sous emballage fermé au vide, en prenant comme indicateurs le dénombrement des germes mésophiles totaux, le Nombre Plus Probable des Coliformes totaux et le Nombre Plus Probable des Staphylocoques. On a étudié également l'influence du temps de conservation (20 et 40 jours) à basses températures (4° C) sur la densité microbienne des trois populations étudiées.

Les résultats obtenus ont démontré l'efficacité des radiations gamma sur la diminution du nombre de germes présents, immédiatement après l'irradiation, et sur leur contrôle pendant la période de stockage. L'efficacité est traduite de façon différente d'après la dose de radiation, et elle est plus importante pour les Coliformes que pour les Staphylocoques.

INTRODUCCION

Existen tecnologías bien desarrolladas que se emplean con éxito en los países industrializados para el tratamiento y la conservación de los alimentos, pero se encuentran importantes limitaciones para extender su aplicación de una manera completa a los países en desarrollo, principalmente por insuficiencia de recursos energéticos. Estas consideraciones enfatizan la necesidad de adoptar tecnologías que requieran necesidades energéticas mínimas.

La generalización del empleo de la irradiación para la conservación de los alimentos, cuyas exigencias son mínimas en lo que respecta a costos de inversión, infraestructura industrial y energía, si se compara esta técnica con la de refrigeración y congelación, puede proporcionar múltiples ventajas (5). Es una tecnología multifuncional, que permitiría ampliar la duración de la conservación de los principales alimentos perecederos, evitando su pérdida por deterioro, y que contribuiría positivamente a la protección de la salud pública minimizando los riesgos que representan los microorganismos patógenos contenidos en los productos alimenticios.

El efecto general de la irradiación sobre un alimento se resume en la reducción del número de microorganismos presentes. Desde el momento que

los microorganismos patógenos no son las formas más resistentes (4) tienden a ser preferentemente y rápidamente reducidos o eliminados, si bien la acción selectiva de la irradiación depende de la resistencia de las distintas especies. Estas son las bases fundamentales para el tratamiento de los alimentos por radiaciones gama.

Los objetivos generales de este trabajo tienden a determinar la eficiencia de los diferentes niveles de radiación, la calidad microbiológica de los productos resultantes, la seguridad microbiológica del consumidor y el tiempo de conservación de ese alimento.

Para encarar estos ensayos se tuvo en cuenta la naturaleza del alimento problema, el grado inicial de contaminación, la sensibilidad de los microorganismos contaminantes y el nivel final de contaminación deseado, con verificación de las condiciones de mantenimiento luego de la irradiación.

MATERIAL Y METODOS

1 — Obtención de las muestras:

1.1. Primera etapa:

Las muestras estuvieron representadas por bolsas de plástico conteniendo 200 gramos de mortadela en rodajas, envasadas al vacío, y fueron extraídas al azar en el momento de la producción normal en una firma de plaza. Estas muestras fueron divididas en 4 lotes de acuerdo a la intensidad del tratamiento por irradiación, separando el primer lote no irradiado. Estos 4 lotes fueron subdivididos en 3 grupos cada uno teniendo en cuenta el tiempo de almacenamiento a baja temperatura transcurrido entre la producción y el análisis.

1.2. Segunda etapa:

Las muestras fueron extraídas en bolsas de plástico de gran contenido, esterilizadas por irradiación, a medida que las rodajas de mortadela eran cortadas por la máquina en la misma fábrica, pero observando estrictas condiciones de higiene. Estas muestras fueron reembaladas en nuestro Laboratorio en bolsas de plástico similares a las utilizadas en la industria, esterilizadas previamente por irradiación, y en condiciones de estricta asepsia bajo una campana de flujo laminar.

Estas muestras fueron divididas en tres lotes de acuerdo a la intensidad de irradiación, y subdividiendo cada lote en 3 grupos teniendo en cuenta el tiempo de almacenamiento a bajas temperaturas transcurrido entre el momento de la irradiación y el del análisis.

2 – Intensidad de la irradiación:

2.1. Primera etapa :

Las dosis de rayos gama utilizadas fueron de 500 Krad/h, de 750 Krad/h y de 1000 Krad/h(3).

2.2. Segunda etapa:

Fue eliminada la dosis de 500 Krad/h, manteniendo la de 750 Krad/h y la de 1000 Krad/h.

3 – Tiempo y temperatura de almacenamiento:

Teniendo en cuenta la vida útil del producto no irradiado, se determinaron los siguientes tiempos de almacenamiento a bajas temperaturas:

3.1. Primera etapa:

0, 30 y 60 días a 4° C.

3.2. Segunda etapa:

0, 20 y 40 días a 4° C.

4 – Metodología analítica:

4.1. Preparación de las muestras:

De cada unidad de muestra se procedió a la abertura de la bolsa de plástico mediante tijeras y pinzas estériles, y eliminando la rodaja superficial se procedió a tomar 11 gramos representativos de la misma.

Se colocó esta cantidad en bolsas especiales de polietileno estériles, se agregaron 99 mililitros de agua fosfatada tamponada (2) como diluyente de manera de obtener una dilución de 1 en 10, y se homogenizó la muestra

durante 1 minuto en un Stomacher Lab Blender 400 (6). Luego de un tiempo de revivificación de 30 minutos, se prepararon las sucesivas diluciones, transfiriendo asepticamente 11 ml. de la dilución anterior a 99 ml. de agua fosfatada tamponada.

4.2. Recuento total de microorganismos mesófilos (Rto. total):

En placas de Petri estériles (10 x 100 mm.) se colocó, por duplicado, 1 ml. de las diferentes diluciones de la muestra homogenizada como en 4.1. De inmediato se adicionaron aproximadamente 10 a 12 ml. de Agar para Cuenta Standard(1) a 45-50° C. Se mezcló la muestra plaqueada por suave agitación, se dejó enfriar sobre una superficie fresca y horizontal, y una vez solidificado se cubrió la superficie con 3 a 5 ml. de emulsión de agar agar estéril al 15 por 1000 a 45-50° C.

Luego de solidificado el medio, se invirtieron las placas y se incubaron a 35° C durante 48 horas.

Terminada la incubación, se contaron las placas que presentaron entre 30 y 300 colonias, multiplicando el resultado del promedio de las placas en duplicado por el factor dilución, y se expresó este resultado por gramo de producto.

4.3. Determinación del Número Más Probable (NMP) de Coliformes Totales:

Se procedió a la preparación de la muestra y de las sucesivas diluciones como descrito en el numeral 4.1. Se empleó como medio de cultivo el Caldo Lauril Sulfato Triptosa(1) distribuido en tres series de tres tubos, conteniendo cada uno 10 ml. de medio y campanas de Durham. En la primera serie se sembró 1 ml. de la dilución 1:10, en la segunda serie 1 ml. de la dilución 1:100 y en la tercera serie 1 ml. de la dilución 1:1000.

Se agitaron los tubos y se incubaron a 35° C durante 48 horas. Al término de este período se consideraron positivos todos los tubos que mostraron formación de gas. Se calculó el Número Más Probable empleando las tablas correspondientes, referido a un gramo de producto.

4.4. Determinación del Número Más Probable (NMP) de Estafilococos:

Se procedió a la preparación de la muestra y de las sucesivas diluciones como en 4.1. Se empleó como medio de cultivo el Caldo Tripticasa Soja con 10 o/o de NaCl(1) distribuido en tres series de tres tubos conteniendo ca-

da uno 10 ml. de medio. En la primera serie se sembró 1 ml. de la dilución 1:10, en la segunda 1 ml. de la dilución 1:100, y en la tercera 1 ml. de la dilución 1:1000. Se agitaron los tubos y se incubaron durante 48 horas a 35° C. Al término de este período se consideraron como positivos todos los tubos que mostraron crecimiento.

De cada tubo positivo se transfirió un ansa a una placa independiente de agar Vogel-Johnson(1) sembrándola por estría. Se incubaron las placas a 35° C durante 48 horas. Se consideraron como positivas todas las placas que mostraron colonias típicas de estafilococos que hubieran fermentado el manitol y reducido el telurito. A partir de las placas positivas se calculó el Número Más Probable de estafilococos empleando las tablas correspondientes y refiriéndolo a un gramo de producto.

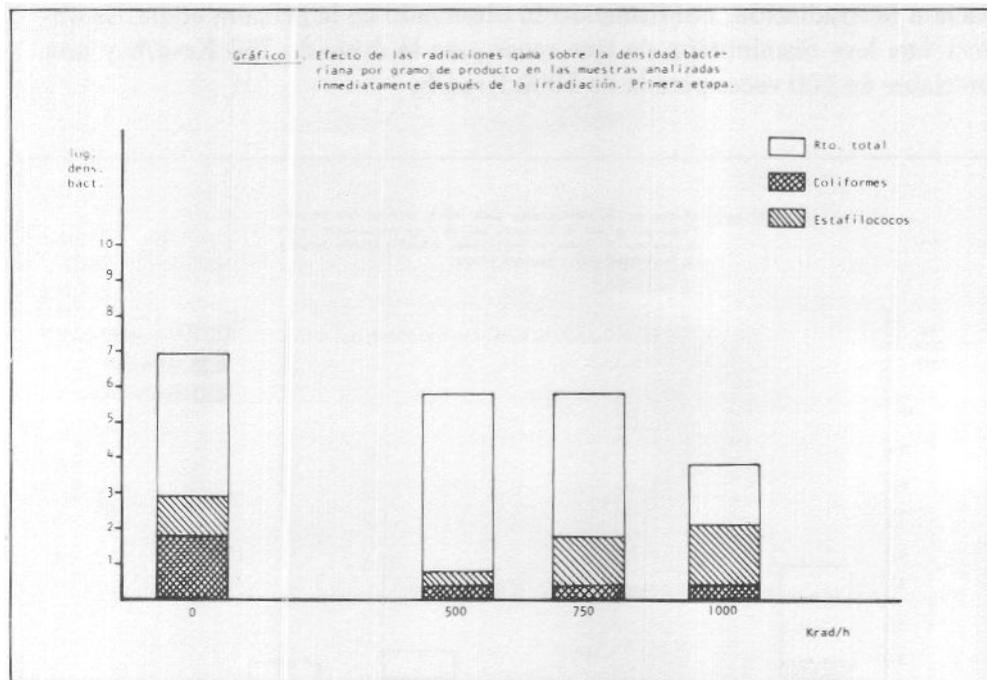
RESULTADOS

Primera etapa:

Los análisis fueron efectuados sobre rodajas de mortadela envasadas al vacío extraídas al azar de la producción normal de una fábrica. En el *Gráfico 1* vemos el efecto de las tres dosis de radiación gama sobre la densidad bacteriana por gramo de producto en las muestras analizadas inmediatamente después de la irradiación. La eficiencia de las radiaciones se manifiesta en los tres parámetros estudiados: cuenta total de microorganismos mesófilos, coliformes totales y estafilococos. En los tres casos hubo un descenso de la población bacteriana de 10 a 1000 veces.

Se observa también un efecto diferencial sobre los gérmenes patógenos estudiados, donde los estafilococos presentan mayor resistencia, mientras que el grupo coliforme es el más sensible, disminuyendo a niveles no detectables con la dosis menor de radiación.

Debido al elevado grado de contaminación inicial (8×10^6 gérmenes/g) y a la heterogeneidad de los valores iniciales de las muestras analizadas, fue difícil evaluar con precisión la eficiencia de los diferentes niveles de radiación. Por este motivo, y por los importantes cambios organolépticos que sufrieron las muestras conservadas durante 30 y 60 días a 4° C, se procedió a rediseñar el trabajo.



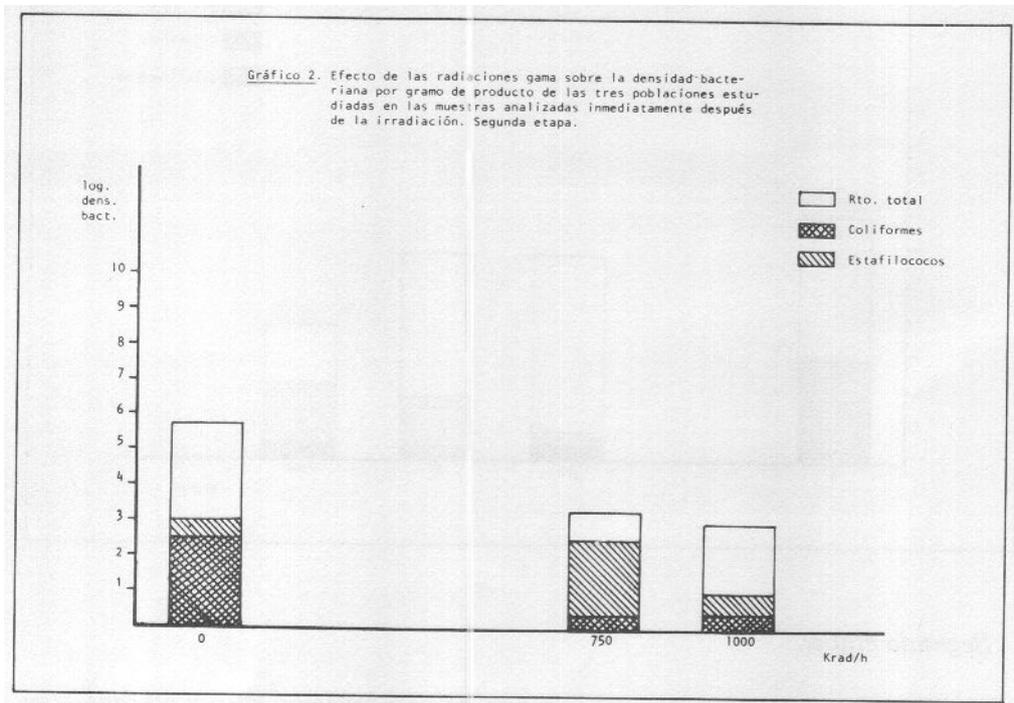
Segunda etapa:

En esta etapa se redujo el período de conservación a 20 y 40 días, y se eliminó la dosis de 500 Krad/h que producía efecto muy similar a la de 750 Krad/h pero mostraba resultados erráticos. Se introdujo también un cambio en la metodología con el fin de eliminar la heterogeneidad de los resultados de las muestras y disminuir la contaminación inicial. Se realizó una elaboración piloto en la fábrica, evitando la contaminación agregada y la variabilidad incorporada por los diferentes operarios de planta. El envasado y cerrado se efectuó en el laboratorio en condiciones asépticas.

En el *Gráfico 2* observamos el efecto de las radiaciones gama sobre la densidad bacteriana por gramo de producto de las tres poblaciones estudiadas en las muestras analizadas inmediatamente después de la irradiación. En las muestras irradiadas comprobamos un descenso notorio en la cuenta total bacteriana, del orden de 270 veces para la dosis de 750 Krad/h y de 500 veces para la de 1000 Krad/h.

En la determinación de los coliformes totales se repite este fenómeno, con una disminución de más de 100 veces para ambas dosis, llegando a niveles no detectables. Los estafilococos, en cambio, demuestran mayor resis-

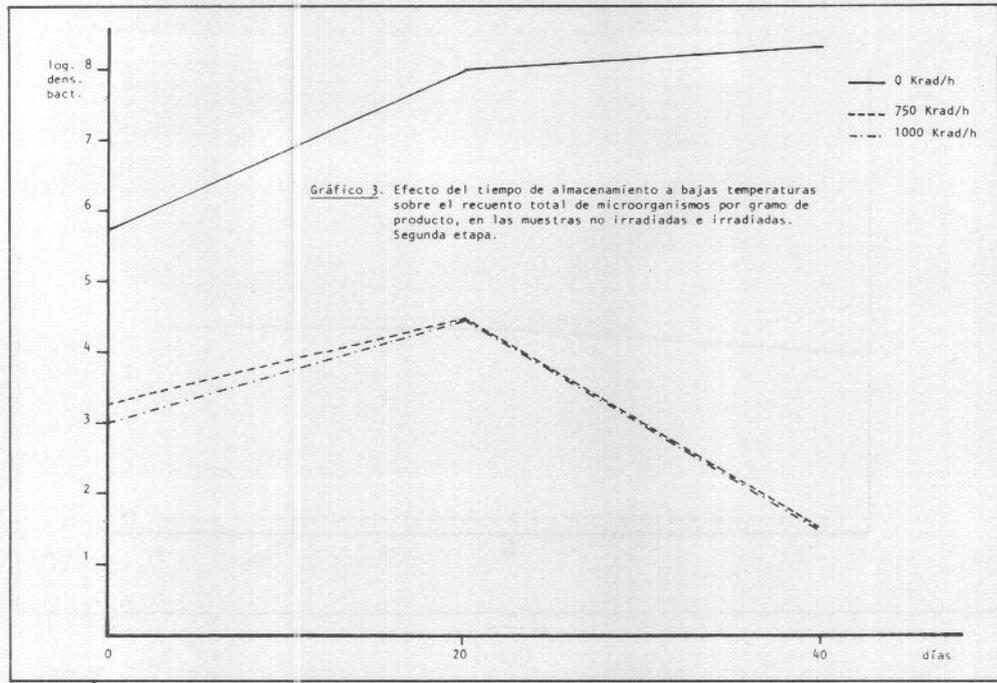
tencia a la irradiación, confirmando lo observado en la primera etapa. Se observa una leve disminución de tres veces para la dosis de 750 Krad/h y una apreciable de 100 veces para la de 1000 Krad/h.



En los Gráficos que siguen se pueden observar dos fenómenos principales: la influencia del tiempo de mantenimiento a bajas temperaturas (20 y 40 días) sobre la densidad microbiana, y el efecto de las diferentes dosis de radiación en las tres poblaciones estudiadas.

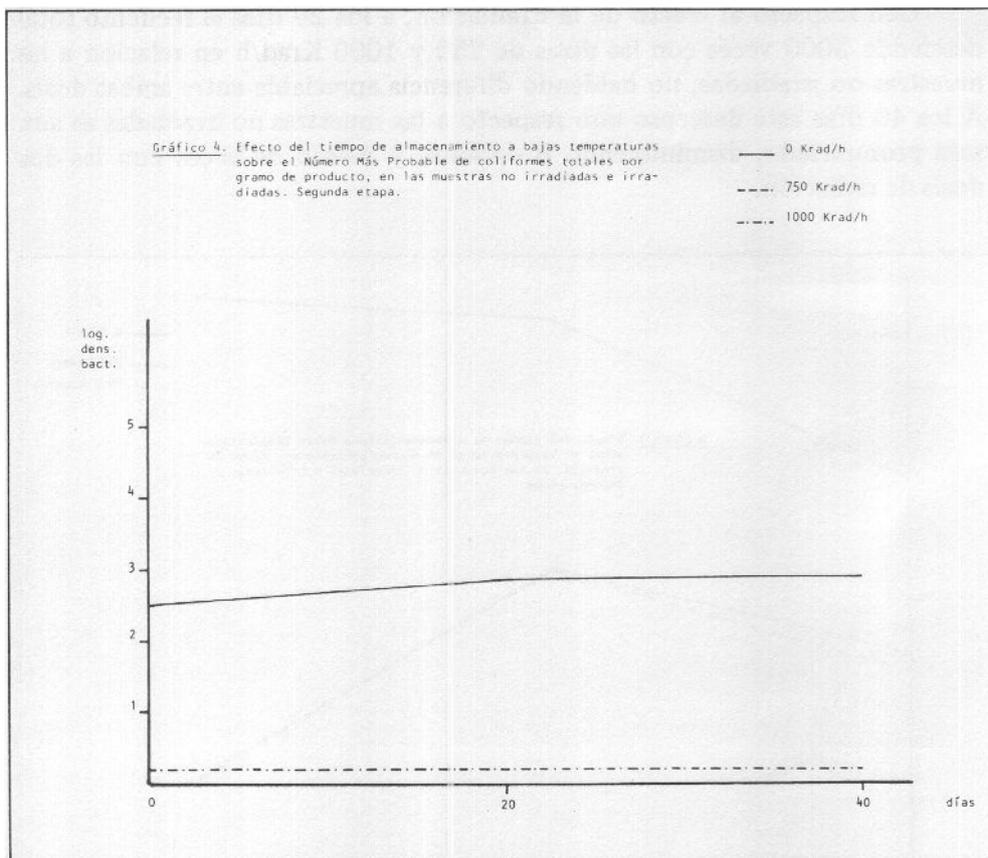
En el *Gráfico 3* observamos el efecto del tiempo de almacenamiento a bajas temperaturas sobre el recuento total de microorganismos por gramo de producto y el diferente comportamiento de las muestras no irradiadas e irradiadas. Vemos claramente el efecto del tiempo en la densidad bacteriana para cada dosis de radiación. Existe inicialmente en las muestras no irradiadas un aumento de la población de 195 veces a partir del tiempo 0 hasta los 20 días, manifestándose posteriormente sólo un ligero aumento hasta los 40 días. En las muestras irradiadas existe un leve aumento de 16 veces hasta los 20 días para la dosis de 750 Krad/h, de 30 veces para la de 1000 Krad/h, y un marcado descenso de 1000 veces a partir de los 20 días para las muestras irradiadas con ambas dosis.

Con respecto al efecto de la irradiación, a los 20 días el recuento total desciende 3000 veces con las dosis de 750 y 1000 Krad/h en relación a las muestras no irradiadas, no habiendo diferencia apreciable entre ambas dosis. A los 40 días este descenso con respecto a las muestras no irradiadas es aún más pronunciado, disminuyendo 6 millones y medio de veces con las dos dosis de radiación.



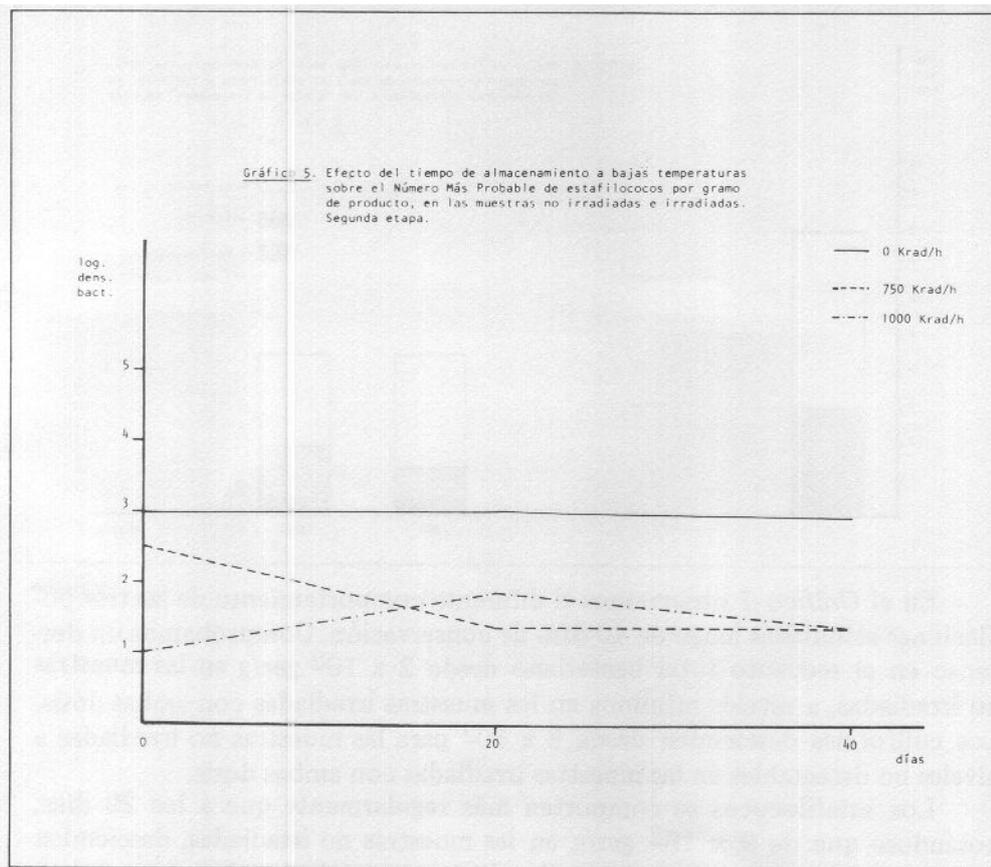
En el *Gráfico 4* observamos el efecto del tiempo de almacenamiento a bajas temperaturas sobre el Número Más Probable de coliformes totales por gramo de producto en las muestras no irradiadas e irradiadas. Los valores de los coliformes en las muestras sin irradiar permanecen en el mismo nivel, salvo un ligero aumento de dos veces a los 20 días, manteniéndose este nivel prácticamente sin cambios hasta los 40 días.

El efecto de las radiaciones sobre los coliformes se traduce a los 20 días en una disminución con respecto a la densidad bacteriana de las muestras no irradiadas de más de 230 veces con ambas dosis. Esto se repite a los 40 días, donde la densidad bacteriana desciende más de 260 veces con respecto a las muestras no irradiadas. Estos gérmenes se mantienen en niveles no detectables desde el momento de la irradiación con ambas dosis.

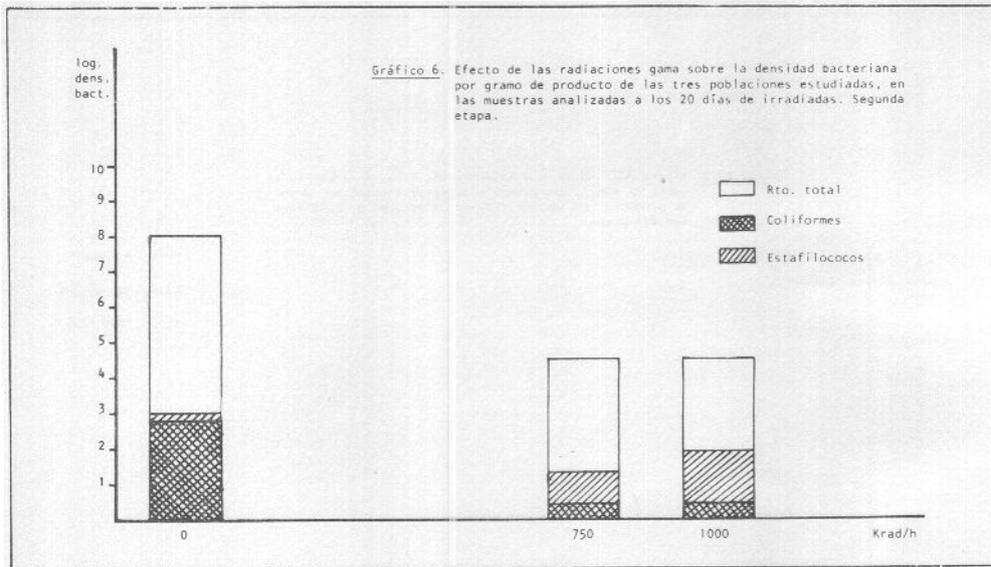


En el *Gráfico 5* observamos el efecto del tiempo de almacenamiento a bajas temperaturas sobre el Número Más Probable de estafilococos por gramo de producto en las muestras no irradiadas e irradiadas. Los estafilococos de las muestras sin irradiar se mantienen en los mismos valores que en el día 0 luego del almacenamiento durante 20 y 40 días a 4° C.

Con respecto al efecto de la irradiación, a los 20 días se produce un descenso de 40 veces para la dosis de 750 Krad/h, y de 14 veces para la de 1000 Krad/h. Entre los 20 y 40 días de almacenamiento, las muestras irradiadas con 750 Krad/h permanecen en el mismo nivel, mientras que con la dosis de 1000 Krad/h se nota un ligero descenso, llegando a valores similares a los obtenidos con la irradiación de 750 Krad/h al cabo de los 40 días.

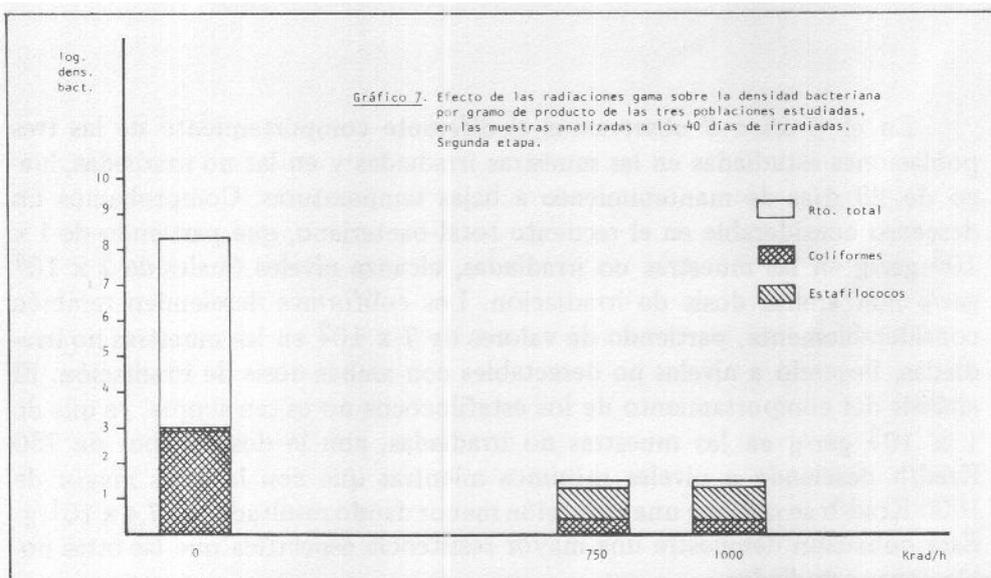


En el *Gráfico 6* observamos el diferente comportamiento de las tres poblaciones estudiadas en las muestras irradiadas y en las no irradiadas, luego de 20 días de mantenimiento a bajas temperaturas. Comprobamos un descenso considerable en el recuento total bacteriano, que partiendo de 1×10^8 ger/g en las muestras no irradiadas, alcanza niveles finales de 2×10^4 ger/g con ambas dosis de irradiación. Los coliformes descienden también considerablemente, partiendo de valores de 7×10^2 en las muestras no irradiadas, llegando a niveles no detectables con ambas dosis de irradiación. El análisis del comportamiento de los estafilococos no es tan simple, ya que de 1×10^3 ger/g en las muestras no irradiadas, con la dosis menor de 750 Krad/h desciende a niveles mínimos mientras que con la dosis mayor de 1000 Krad/h se obtiene una reducción menor dando resultados de $7,4 \times 10^1$ /g. Esta población demuestra una mayor resistencia específica que las otras poblaciones estudiadas.



En el *Gráfico 7* observamos el diferente comportamiento de las tres poblaciones estudiadas luego de 40 días de conservación. Comprobamos un descenso en el recuento total bacteriano desde 2×10^8 ger/g en las muestras no irradiadas, a niveles mínimos en las muestras irradiadas con ambas dosis. Los coliformes descienden desde 8×10^2 para las muestras no irradiadas a niveles no detectables en las muestras irradiadas con ambas dosis.

Los estafilococos se comportan más regularmente que a los 20 días, notándose que de 9×10^2 ger/g en las muestras no irradiadas, descienden a niveles mínimos para las muestras irradiadas con ambas dosis.



DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados anteriores demuestran:

1 — Las radiaciones gama son efectivas inicialmente para disminuir el número de microorganismos presentes en los productos alimenticios de las características anteriormente citadas, siendo esta disminución diferencial según las dosis utilizadas y la población estudiada:

- Para el Recuento Total, esta disminución es apreciable, habiéndose demostrado más efectiva la dosis de 1000 Krad/h.
- Para los Coliformes Totales, esta disminución llega hasta niveles no detectables con ambas dosis, siendo esta población específica la más sensible a las radiaciones.
- Los Estafilococos se mostraron como la población más resistente al efecto inicial de las radiaciones, sobre todo para la dosis de 750 Krad/h, habiéndose mostrado mucho más efectiva la dosis de 1000 Krad/h con la que disminuyeron a niveles mínimos.

2 — Las tres poblaciones estudiadas se comportaron de diferente manera luego de irradiadas y mantenidas a bajas temperaturas:

- El Recuento Total en las muestras irradiadas con ambas dosis aumenta ligeramente hasta los 20 días, momento a partir del cual se produce un pronunciado descenso que se hace particularmente evidente a los 40 días con recuentos totales insignificantes. Esto demostraría la eficacia de las radiaciones con respecto a la calidad microbiológica durante un período de 40 días.
- Los Coliformes Totales se mantienen en niveles no detectables desde el momento de la irradiación con ambas dosis hasta los 40 días de almacenamiento, lo que demuestra la eficacia de este tratamiento sobre el control de estos gérmenes.

Los Estafilococos en las muestras irradiadas con ambas dosis mostraron muy poca variación, tanto a los 20 como a los 40 días de almacenamiento, comportándose como la población más resistente a las radiaciones y al mantenimiento a bajas temperaturas luego de la irradiación.

- 3 — Las muestras irradiadas con ambas dosis sufren importantes cambios organolépticos luego de su almacenamiento a bajas temperaturas. Estos cambios comienzan a manifestarse a los 20 días con la aparición de manchas marrones, que a los 40 días se extienden a todo el producto. Esto indicaría un aspecto negativo de las radiaciones gamma como agente prolongador del tiempo de almacenamiento de estos productos.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Centro de Investigaciones Nucleares (CIN) de la Universidad de la República la valiosa colaboración prestada durante la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — American Public Health Association, Inc. 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.
- 2 — American Public Health Association, Inc. 1978. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Fourteenth edition.
- 3 — Ingram, M., J. Farkas, 1977. Microbiology of foods pasteurised by ionising radiation. Acta Alimentaria. Vol. 6, 2: 123-185.
- 4 — International Atomic Energy Agency. 1970. Microbiological Specifications and Testing Methods for Irradiated Food. Technical Reports Series N° 104, Vienna, Austria.
- 5 — Organismo Internacional de Energía Atómica. 1976. Ciencia y Tecnología Nucleares en la Agricultura y la Alimentación. 20ª Reunión de la Conferencia General del OIEA. Rio de Janeiro, Brasil.
- 6 — Sharpe, A. N., A.K. Jackson. 1972. Stomaching: a new concept in bacteriological sample preparation. Applied Microbiology 24: 175-178.

Comisión del Papel
Edición impresa al
amparo del Art. 79
de la Ley 13.349

D. Legal 163086/81

Imprenta ROSGAL
S.A. - Gral. Urquiza
3090 - Teléfono
80.05.29