



LABORATORIO TECNOLÓGICO DEL URUGUAY

www.latu.org.uy

Platos listos para consumo tratados por irradiación gamma para pacientes inmunocomprometidos

SORIA Alejandra^{*1}, MUSSIO Paula¹, MAQUIEIRA Ana M.¹, MERLADETT José¹, MARTÍNEZ Gonzalo¹, TORRENDELL María¹, GALIETTA Giovanni², ABREU Aníbal V.¹

^{*1} Laboratorio Tecnológico del Uruguay, irradiación@latu.org.uy - ² Universidad de la República, Facultad de Agronomía

Introducción

El objetivo fundamental del tratamiento nutricional en pacientes inmunocomprometidos, se basa en dos aspectos importantes: el aporte adecuado de nutrientes y el aseguramiento de la calidad microbiológica de los alimentos que reciben. La dieta para este tipo de pacientes se denomina comúnmente dieta baja en bacterias y consiste principalmente en la exclusión de vegetales frescos, con alimentos sometidos a cocción prolongada, poco diversificada y escasa en algunos micronutrientes, con poca variedad de colores y texturas. La irradiación de alimentos es un tratamiento físico que consiste en exponer los alimentos, ya sean envasados o a granel, a una cantidad de energía controlada de radiación ionizante durante un tiempo determinado. Los objetivos de la aplicación son amplios y dependiendo de la dosis pueden ser, inhibir la germinación,

retardar la maduración e inclusive reducir el número de microorganismos hasta producir su esterilización. Los beneficios que brinda la radiación ionizante son muy importantes ya que posibilita diversificar la alimentación garantizando la inocuidad microbiológica de las preparaciones, pudiendo consumir frutas y verduras frescas mínimamente procesadas. Además la irradiación causa mínimas alteraciones nutricionales y sensoriales en comparación con otros métodos de conservación, debido a que no aumenta la temperatura del alimento. En este trabajo se evaluó la eficacia del proceso de irradiación como método para garantizar la seguridad microbiológica y extender la vida útil de alimentos, la preservación del valor nutritivo y sus cualidades sensoriales a lo largo del tiempo de almacenamiento.

Objetivo general

Contribuir a la oferta de alimentos disponibles para personas inmunocomprometidas mediante la tecnología de irradiación, de forma de brindar preparaciones más seguras, nutritivas, variadas y atractivas para su dieta, ampliando así la oferta de alimentos de forma tal que no sólo cumplan con su objetivo nutricional sino que además resulten placenteros, como forma de mejorar su calidad de vida.

HAMBURGUESAS

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron hamburguesas cocidas congeladas con queso y pan con sésamo, de consumo comercial en el mercado nacional (Figura 1).

Caracterización de ambos productos: Se realizaron los siguientes análisis: Humedad a presión reducida, Cenizas - Basado en Unit 548-82., Proteínas - Método Kjeltel, Foss-Tecator, Fibra Alimentaria Total Basado en AOAC, 1^o Ed. 1996-método 985.29, Carbohidratos Totales (g/100g) = 100 - [Humedad (g/100g) + Cenizas (g/100g) + Materia Grasa (g/100g) + Fibra alimentaria total (g/100g) + Proteínas (g/100g)], Valor energético (Kcal/100g) = 4 x [(Carbohidratos Totales (g/100g) + Proteínas (g/100g)) + 9 x Materia Grasa (g/100g)].

Determinación de sodio por Espectrometría de Absorción Atómica llama aire acetileno (FAAS) según método AOAC 973.54:2007 adaptado, en muestra digerida en sistema cerrado a alta presión según método AOAC 999.10:2005 adaptado y composición de los ácidos grasos por Cromatografía Gaseosa - Espectrometría de Masa (Tabla 1 y Tabla 4).

Componente	Valor
Humedad (g/100g)	45,6
Cenizas (g/100g)	2,3
Proteína (g/100g) (f=6,25)	15,6
Fibra alimentaria total(g/100g)	< 1,0
Carbohidratos totales (g/100g)	19
Sodio (mg/100g)	6,1E+02
Grasa Total (g/100g)	16,77
Grasa Saturada	6,68
Grasa Monoinsaturada	6,09
Grasa Poliinsaturada	2,07
Grasa Trans	1,78
CLA	0,13
Valor energético (kcal/100g)	289



Fig. 1. Hamburguesa cocida congelada

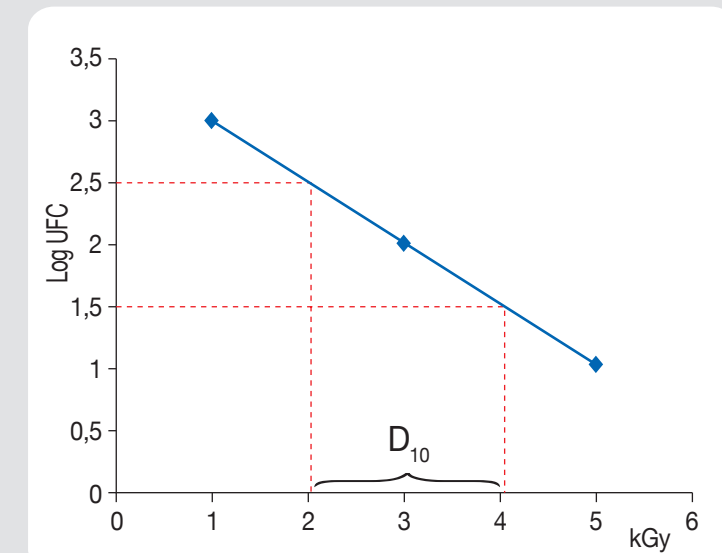


Fig. 2. Demostración de la determinación del Valor D₁₀

Determinación de D₁₀: La determinación del D10 para *Listeria* spp, es el valor que expresa el efecto muerte en los microorganismos y que corresponde a la cantidad de irradiación necesaria para reducir 1 ciclo logarítmico de los recuentos bacterianos versus dosis de irradiación (Fig 2).

En esta experiencia se inocularon un total de 18 hamburguesas con una suspensión de *Listeria innocua* (ATCC 33090). Para el desarrollo de la suspensión de inoculación se sembró la cepa en Caldo Nutritivo (Oxoid) y se realizó una incubación con agitación de 16 h a 37°C, 100rpm. La suspensión crecida fue centrifugada (5000 rpm, 15 min) y el pellet resuspendido en suero fisiológico. El inóculo fue estandarizado por medio de un patrón MacFarland 0,5 y su concentración comprobada mediante un recuento en placa (Plate Count Agar - Merck, 48h a 35,5°C). Para la inoculación de las hamburguesas congeladas se agregó 1 mL de la suspensión distribuido de modo homogéneo dentro de las diferentes capas de la misma (pan-queso, queso-carne). El proceso de inoculación fue realizado de forma rápida para evitar el descongelamiento de las muestras y luego del agregado de la suspensión las hamburguesas fueron devueltas a su empaque original y colocadas en el freezer (-20°C).

La irradiación se realizó en la Unidad de Irradiación de LATU-Equipo Irradiador Modular EMI-9 de origen argentino, con fuente de Cobalto-60 y contenedores cilíndricos de aluminio con 23 litros de capacidad. Las muestras se dividieron en 6 grupos. Se irradiaron 18 hamburguesas congeladas previamente inoculadas con *Listeria innocua* a cada dosis seleccionada Fig. 3.



Fig. 3. Irradiación de hamburguesas cocidas congeladas

La tasa de dosis fue de 0,4 KGy/min y las dosis de irradiación aplicadas fueron de 1, 2, 2,5, 3,5 y 4,5 KGy. La medición de la dosis se realizó con dosímetros de alanina, basado en ISO/ASTM 51607:2004 y PMMA ambar, basado en ISO/ASTM 51276:2002, ambos de la marca comercial HARWELL.

A las muestras inoculadas irradiadas y sin irradiar se le realizaron recuento de aerobios mesófilos totales (Plate Count Agar - Merck, 48h a 35,5°C) y recuentos de *Listeria* spp. (Palcam - Oxoid, por 48h a 35,5°C). La búsqueda de *Listeria* spp. se realizó de acuerdo a la metodología de referencia ISO 11290 (enriquecimiento en Caldo Fraser - Oxoid, con posterior repique a agares selectivos y diferenciales).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de recuentos para la determinación de D10 de *Listeria* spp 1 día post irradiación se analizaron mediante regresión lineal simple entre la variable logaritmo de recuento de *Listeria* spp en ufc/g y la variable regresora dosis de irradiación en KGy, se obtuvo un valor de D10=0.39 KGy (p-valor 0.005) Fig. 4

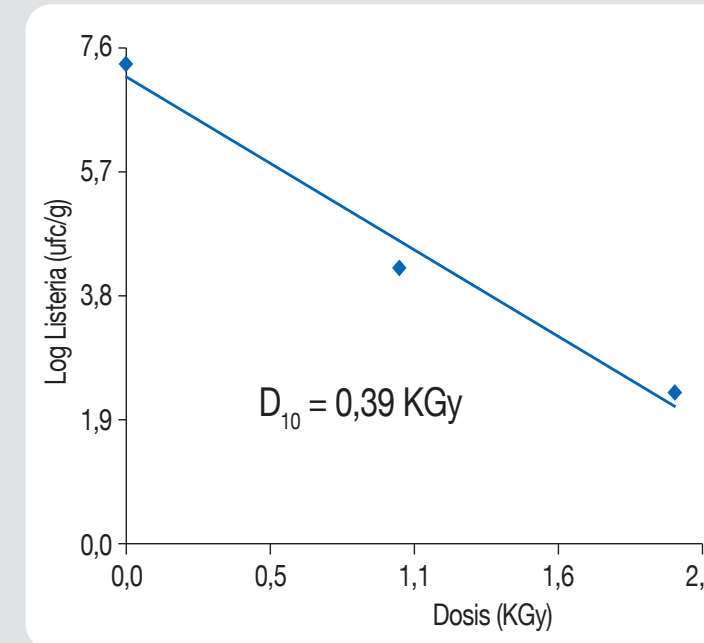


Fig. 4. Curva para la determinación del valor D₁₀ para *Listeria innocua*.

Dosis Irradiación (kGy)	Recuento <i>Listeria</i> spp. (UFC/g)	Recuento Aerobios (UFC/g)	Búsqueda <i>Listeria</i> spp.
0	2,4E+07	3,9E+07	----
1,0	2,0E+04	4,3E+04	----
2,0	2,0E+02	1,4E+02	----
2,5	<10 ¹	<100 ¹	Presencia
3,5	<10 ¹	<100 ¹	Ausencia
4,0	<10 ¹	<100 ¹	Ausencia

(¹) Límite de detección de la técnica

Se observa una marcada disminución en el recuento de *Listeria* spp. a medida de aumenta la dosis aplicada. A partir de 4,0 kGy, el efecto de la radiación se evidencia como bactericida al no poderse recuperar ninguna colonia viable tras un enriquecimiento, Tabla 2. Las hamburguesas cocidas congeladas irradiadas a 4KGy y las muestras no irradiadas 0 KGy, fueron estudiadas en cuanto al perfil de ácidos grasos. En la Tabla 3 se presentan los resultados en g/100g para ácidos grasos saturados, insaturados y trans no habiéndose manifestado diferencias que supongan cambios a nivel de la composición lipídica a las dosis aplicadas.

Dosis Irradiación	4 KGy	0 KGy
Grasa Total	16,60	16,77
Grasa Saturada	6,35	6,68
Grasa Monoinsaturada	6,04	6,09
Grasa Poliinsaturada	2,26	2,07
Grasa Trans	1,83	1,78
CLA	0,11	0,13

ENSALADAS

MATERIALES Y MÉTODOS

Se elaboraron 67 ensaladas de vegetales frescos, Fig. 5 (lechuga 30g, zanahoria rallada 75g, cebolla 25g, tomates cherry 4 unidades) mínimamente procesados - lavado, cortado, lavado con agua clorada a 5°C 150ppm de NaClO durante un minuto, enjuague con agua corriente a 5°C durante un minuto, centrifugado, envasado y conservación a 5°C., Tabla 4.

Caracterización de ambos productos: Se realizaron los siguientes análisis: Humedad a presión reducida, Cenizas - Basado en Unit 548-82., Proteínas - Método Kjeltel, Foss-Tecator, Fibra Alimentaria Total Basado en AOAC, 1^o Ed. 1996-método 985.29, Carbohidratos Totales (g/100g) = 100 - [Humedad (g/100g) + Cenizas (g/100g) + Materia Grasa (g/100g) + Fibra alimentaria total (g/100g) + Proteínas (g/100g)], Valor energético (Kcal/100g) = 4 x [(Carbohidratos Totales (g/100g) + Proteínas (g/100g)) + 9 x Materia Grasa (g/100g)].

Determinación de sodio por Espectrometría de Absorción Atómica llama aire acetileno (FAAS) según método AOAC 973.54:2007 adaptado, en muestra digerida en sistema cerrado a alta presión según método AOAC 999.10:2005 adaptado y composición de los ácidos grasos por Cromatografía Gaseosa - Espectrometría de Masa (Tabla 1 y Tabla 4).

Componente	Valor
Humedad (g/100g)	92,1
Cenizas (g/100g)	0,5
Proteína (g/100g) (f=6,25)	0,7
Fibra Alimentaria Total(g/100g)	2,4



Fig. 5. Elaboración de ensalada de vegetales mínimamente procesados

Estudio de vida útil microbiológica: Se realizaron recuentos de hongos y levaduras (Potato Dextrosa Agar - Difco, 25°C por 5 días) y de aerobios mesófilos totales (Plate Count Agar - Merck, 35,5°C por 48h) en las ensaladas irradiadas y sin irradiar a diferentes tiempos de conservación en refrigeración (0, 7, 14 y 22 días).

Evaluación sensorial: Paralelamente al estudio microbiológico se evaluó la aceptabilidad sensorial de las muestras irradiadas a 2 KGy. La muestra consistía en una bandeja completa de ensalada para evaluar apariencia y una muestra más pequeña representativa de la bandeja para evaluar el agrado general, Fig. 9. Se comparó la evolución del parámetro a lo largo del tiempo de góndola: 0, 7, 14, 18 días.

Evaluación sensorial: Paralelamente al estudio microbiológico se evaluó la aceptabilidad sensorial de las muestras irradiadas a 2 KGy. La muestra consistía en una bandeja completa de ensalada para evaluar apariencia y una muestra más pequeña representativa de la bandeja para evaluar el agrado general, Fig. 9. Se comparó la evolución del parámetro a lo largo del tiempo de góndola: 0, 7, 14, 18 días.

La aceptabilidad de las muestras irradiadas se evaluó, utilizando una escala hedónica estructurada de nueve puntos (1-Me disgusta mucho, 5-Me es indiferente, 9-Me gusta mucho). Cada integrante del panel respondió si compraría o no las muestras. Los datos se analizaron utilizando el software R versión 2.7.0 (2008-04-22) Copyright (C) 2008, ajustando los datos al modelo paramétrico de Weibull.

Efecto de dosis aplicada en *Listeria* spp.: Se inocularon 8 bandejas de ensaladas con *Listeria innocua* (ATCC 33090). Para el desarrollo de la suspensión de inoculación se sembró la cepa en Caldo Nutritivo (Oxoid) y se realizó una incubación con agitación de 16 h a 37°C, 100rpm. La suspensión crecida fue centrifugada (5000 rpm, 15 min) y el pellet resuspendido en suero fisiológico. El inóculo fue estandarizado por medio de un patrón MacFarland 0,5 y su concentración comprobada mediante un recuento en placa (Plate Count Agar - Merck, 48h a 35,5°C). Para la inoculación se colocó la ensalada en una bolsa estéril y se agregó 1 L de la suspensión realizada. Se masajó la muestra con el líquido por 5 minutos y se retiró todo el líquido sobrante. Posteriormente se secó en campana de flujo laminar por unos 10 minutos y se colocó la muestra nuevamente en su empaque original.

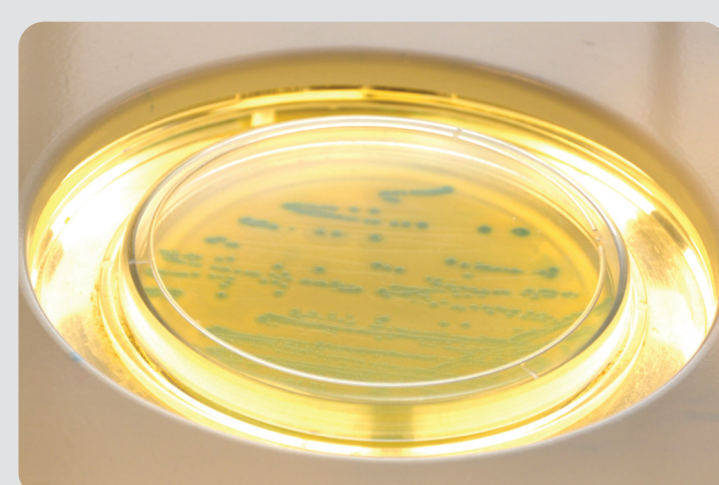


Fig. 6. Recuento de *Listeria*

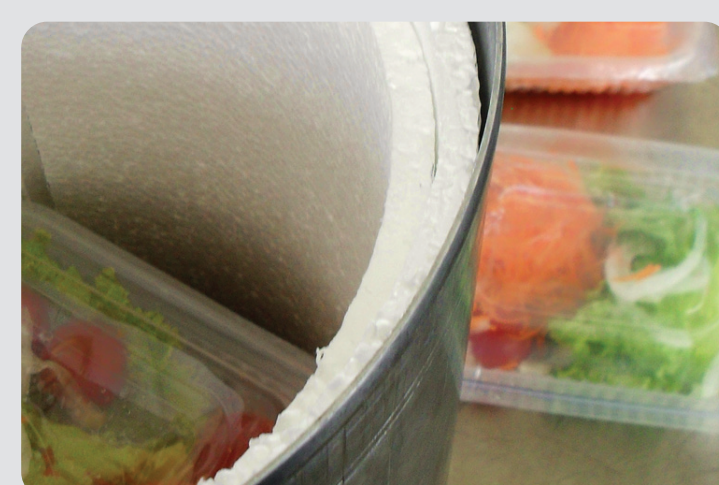


Fig. 7. Irradiación de ensaladas vegetales

La irradiación se realizó en la Unidad de Irradiación de LATU-Equipo Irradiador Modular EMI-9 de origen argentino, con fuente de Cobalto-60 y contenedores cilíndricos de aluminio con 23 litros de capacidad. La tasa de dosis fue de 0,4 KGy/min y la dosis de irradiación aplicada fue de 2KGy. La medición de la dosis se realizó con dosímetros de alanina, basado en ISO/ASTM 51607:2004 y PMMA ambar, basado en ISO/ASTM 51276:2002, ambos de la marca comercial HARWELL, Fig. 7.

A las muestras irradiadas y sin irradiar se le realizaron recuento de aerobios mesófilos totales (Plate Count Agar - Merck, 48h a 35,5°C) y recuentos de *Listeria* spp. (Palcam - Oxoid, por 48h a 35,5°C) Fig. 6. La búsqueda de *Listeria* spp. se realizó de acuerdo a la metodología de referencia ISO 11290. En todos los casos los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA). Se calculó la mínima diferencia significativa utilizando el test de Tukey (p<0.05). Los análisis estadísticos se realizaron con el software Infostat versión 2008

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo del tiempo se observa una diferencia significativa en los valores tanto de recuento de aerobios (p-valor 0,0002) como de hongos y levaduras (p-valor 0,0033), en las muestras irradiadas y sin irradiar.

La Figura 8 denota el importante efecto de la irradiación en la calidad microbiológica del producto durante su vida útil. Por otro lado, se evaluó la efectividad de la dosis aplicada a las ensaladas frente a *Listeria innocua*, observándose una disminución

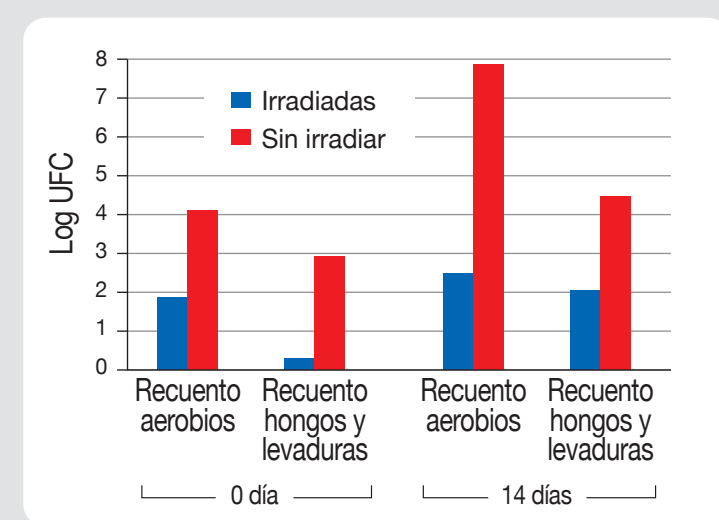


Fig. 8. Efecto de la dosis de irradiación y el tiempo de almacenamiento en la vida útil microbiológica de ensalada de vegetales mínimamente procesados.

de la carga de *Listeria* spp. de 3 órdenes logarítmicos (inóculo inicial 9,0x10⁴ UFC/g). Si bien los recuentos de *Listeria* spp. arrojaron valores <10 UFC/g (Límite de detección de la técnica), al realizar la búsqueda de este microorganismo se detectaron células viables. Esto demuestra que la dosis aplicada de 2KGy para una carga inicial de aprox. 10⁵ UFC/g de *Listeria* spp., no fue suficiente para generar un efecto bactericida en toda la población inoculada. La evaluación sensorial de las ensaladas fue realizada tomando en cuenta el efecto combinado de la dosis de irradiación y el tiempo de almacenamiento. Los resultados de agrado general muestran que se observó diferencia significativa (p-valor 0,0324) entre el agrado general de las muestras evaluadas al inicio de la vida útil y al final del periodo de estudio, Tabla 6. Paralelamente y como una primera aproximación, se estimó una vida útil sensorial de 16 días después de elaboradas siendo el LCI y LCS de 11 y 22 días respectivamente. Considerando como límite el valor para el cual el rechazo es del 25%



Fig. 9. Evaluación sensorial de ensaladas

Tiempo almacenam. a 5°C	Aceptabilidad
1 día	7,8 b
8 días	7,1 a, b
18 días	6,9 a

Letras distintas indican diferencia significativa para ese atributo.

Conclusiones

En hamburguesas cocidas congeladas con queso dosis bajas como 2,5 KGy permiten reducir 6 ciclos logarítmicos el recuento de *Listeria innocua* (ATCC 33090) y a partir de 3,5 KGy en las condiciones de este estudio se consigue un efecto bactericida sin cambios en la calidad comercial.

La aplicación de radiación ionizante a dosis de 4KGy se presenta como una herramienta alternativa y factible de ser aplicada para la obtención de hamburguesas inocuas listas para consumo.

Dosis de 2 KGy, reducen los recuentos de aerobios totales al inicio de la vida útil en 3 ciclos logarítmicos para muestras sin continuar de ensalada de vegetales mínimamente procesadas. Sensorialmente las muestras irradiadas tuvieron una aceptación muy buena por parte de los consumidores inclusive al día 18 después de elaboradas, por lo cual en su aporte a la seguridad alimentaria el uso de la irradiación confirma el efecto positivo en la vida de góndola del producto fresco.

El tratamiento con rayos gamma sumado a buenas prácticas de manufactura, como herramienta tecnológica no solo brinda la posibilidad de diversificar la dieta, mejorando la calidad y la variedad de la alimentación de las personas inmunocomprometidas, sino que puede constituirse en un vehículo apropiado para que este tipo de alimentos se encuentre en góndola al alcance de la población inmunocomprometida siendo extensivo a la población general de consumidores asegurando la inocuidad y los valores nutricionales requeridos en cada caso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Giselle Scartaccini, a las estudiantes de Ingeniería de Alimentos de la UDELAR, Isabel Elzaurdia-Natalia Milman y de Nutrición de la UCUJAL, Lucía Pienovi-Mariano Bueno por su aporte. Agradecemos también a todos los funcionarios de LATU por su colaboración.