

# **ANÁLISIS DE LA CARGA MICROBIANA EN ENSALADAS ENVASADAS**

Profesor Coordinador IES Isaac Peral: Inmaculada Sánchez Rodríguez  
Profesor Coordinador UPCT: Alfredo Palop Gomez  
IES Isaac Peral: Paseo Alfonso XIII, 59, 30203 Cartagena, Murcia  
Departamento Ingeniería Agronómica Upct

## **RESUMEN**

Nuestro proyecto trata de analizar el contenido microbiano de ensaladas envasadas. Para ello llevamos a cabo un trabajo experimental en el laboratorio durante tres días. El primer día se llevó a cabo la preparación de los medios de cultivo, el segundo día se procedió a la siembra de las muestras de las diferentes ensaladas y el último día se llevó a cabo el recuento y la interpretación de los resultados. En este trabajo se ha procedido a analizar los microorganismos coliformes fecales, los aerobios mesófilos y por último, los hongos y levaduras presentes en las distintas muestras de ensaladas de tres marcas diferentes contando con dos ensaladas de cada marca. Se encontraron recuentos elevados de todos los grupos microbianos en todas las muestras analizadas. Según los resultados obtenidos durante nuestra investigación los vegetales envasados en bolsas presentan abundante carga de microorganismos. Esto puede deberse a una falta de medidas higiénicas, una inadecuada manipulación o a un elevado tiempo de envasado y en ningún caso supone un peligro para la salud de los consumidores. Con estos resultados debemos de rechazar nuestra hipótesis inicial de trabajo: "La carga microbiana de una ensalada no tiene relación con su precio".

## **ABSTRACT**

Our project is based on analyzing the microbial content of prepared salads. Particularly in this case we did an experiment at the laboratory for three days. The first day we prepared the culture mediums, the second day we proceeded to the sowing of the samples of the different salads, and the last day we recounted and interpreted the results.

In this project we have analyzed fecal coliforms, aerobic mesophiles, fungus and yeast microorganisms present in the samples from two salads of three distant food brands. Finally we obtained high recounts from all the groups of microorganisms. According to the results obtained during our investigation, the packaged vegetables in plastic bags present a rich load of microorganisms. This can be due to a lack of hygienic measures, inappropriate manipulation or an elevated amount of time packaged, and in no cases does it mean a danger for the health of the consumers. With these results we must reject our initial hypothesis of the project: the microbial load from a salad has no relation with its price.

## **INTRODUCCIÓN**

En el momento de iniciar nuestro proyecto nos surge la curiosidad por saber cuál de las marcas de ensaladas preparadas de las escogidas tendrá más carga microbiana, en ese momento decidimos basarlo en la comparación de las distintas marcas. Lo cual nos llevó a una investigación basada en analizar la carga

microbiana presente en distintas ensaladas procedentes de diferentes supermercados y marcas, también contado con una diferencia de precios entre ellas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

- Placa Petri con agar agar.
- Asa de siembra
- Estufa de laboratorio.
- Mechero Bunsen.
- Agua destilada.
- Rotulador permanente..
- Papel secante.

- Guantes de látex.
- Ordenadores
- Autoclave
- Agar Rosa de Bengala
- Caldo Biliado al 2% con Verde Brillante (caldo BLBG)
- Agua de peptona al 1%

Parte Práctica: En cuanto a la práctica nuestra investigación comenzó con una sesión en el laboratorio de la UPCT donde realizamos la preparación de los medios de cultivo para el recuento microbiológico, en total llegamos a realizar 4 medios de cultivo los cuales fueron: Agua de Peptona al 1%, Agar PCA, Agar rosa de Bengala y por último Caldo Biliado al 2% con Verde Brillante. La segunda sesión fue donde llevamos a cabo la realización de muestras de las 6 ensaladas seleccionadas para dicho objetivo a determinar. Para la segunda sesión comenzamos por preparar los materiales que se usarían durante la sesión como puede ser el agua destilada, preparación de los guantes de látex, puesta en marcha de los mecheros Bunsen y estufas de laboratorio para comprobar su funcionamiento, a continuación la esterilización de las asas bacteriológica, preparación de las placas petri con los diferentes medios de cultivo y puesta en marcha del autoclave para comprobar que funciona correctamente. Para la preparación de baterías de dilución realizamos el siguiente procedimiento:

Pesar 10 gramos de la ensalada, asépticamente, procurando que contenga cantidades proporcionales a la cantidad de cada ingrediente

- Introducir en una bolsa de homogeneización estéril.
- Añadir asépticamente 90 mL de agua de peptona.
- Homogeneizar durante 1 min en el "homogeneizador de paletas"  
Esto constituye la dilución madre, 1, 1/10 o 10<sup>1</sup>.
- Tomar una pipeta estéril, pipetear asépticamente 1 mL de la dilución -1 y añadirlo a un tubo de 9 mL de agua de peptona. Esto constituye la dilución-2, 1/100 o 10<sup>-2</sup>.
- Tomar una pipeta estéril, pipetear asépticamente 1 mL de la dilución -2 y añadirlo a un tubo de 9 mL de agua de peptona. Esto constituye la dilución-3, 1/1000 o 10<sup>-3</sup>.
- Tomar una pipeta estéril, pipetear asépticamente 1 mL de la dilución -3 y añadirlo a un tubo de 9 mL de agua de peptona. Esto constituye la dilución-4, 1/10.000 o 10<sup>-4</sup>.
- Tomar una pipeta estéril, pipetear asépticamente 1 mL de la dilución-4 y añadirlo a

un tubo de 9 mL de agua de peptona. Esto constituye la dilución-5 , 1/100.000 o 10<sup>-5</sup>.

Tras esto, comenzamos con la siembra de las muestra empezando con la de determinar el número de aerobios mesófilos presente en las distintas muestras siguiendo los siguientes pasos:

- Preparar dos placas de Petri, vacías por dilución y marcarlas con la dilución correspondiente e identificación de la muestra.
- Pipetear 1 mL de cada una de las diluciones, por duplicado(empleando una pipeta por dilución) y depositar cada mL en el fondo de cada placa Petri.
- Añadir de 15-20 mL de Agar PCA (fundido previamente y atemperado a 50°C)
- Mezclar inmediatamente las diluciones con el Agar haciendo un movimiento de rotación de las placas, diez veces en el sentido de las agujas del reloj y diez veces en sentido inverso,seguido de un movimiento de vaivén realizado diez veces de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo.
- Dejar solidificar el Agar.
- Incubar las placas en la estufa en posición invertida a 37± 1° durante 24/48 horas.

Tras finalizar esta práctica, continuamos con los hongos y levaduras que igualmente seguimos las siguientes instrucciones:

- Marcar dos placas con Agar Rosa de Bengala solidificando por dilución, con la dilución correspondiente e identificación de la muestra. Sembrar solamente las diluciones -1,-2 y -3 (dado que este grupo está presente en menos número, será suficiente con sembrar estas diluciones)
- Pipetear 0,1 mL de cada una de las diluciones, por duplicado(empleando una pipeta esteril para cada placa) y depositarlo sobre la superficie del agar.

- Extender la dilución sobre el agar mediante una varilla de plástico esteril.
- Incubar las placas en la estufa en posición invertida a 25°C durante 5/7 días.

Por último, para finalizar la sesión llevamos a cabo la siembra de coliformes totales de la siguiente forma:

- "Preparar 3 tubos de caldo BGBL por cada dilución y marcarlos con la dilución correspondiente e identificación de la muestra. **Sembrar solamente las Diluciones -1,-2 y -3.**
- Pipetear 1 ml de cada una de las diluciones (empezando por la disolución más diluida) y depositarlo en un tubo de caldo BGBL, **por triplicado.**
- Incubar los tubos en la estufa a 37±1°C durante 24/48 h.

Dando por terminada las prácticas en el laboratorio de la UPCT pasamos al recuento de los microorganismos para finalizar esta investigación con la ayuda de nuestro tutor Alfredo Palop Gomez.

Primeramente iniciamos contabilizando aerobios mesófilos de la siguiente forma:

—Contar las colonias de las placas que tienen entre 30 y 300 colonias

- El nº de colonias debe disminuir en forma inversamente proporcional a la dilución, reduciéndose en cada caso a la décima parte.

- Las dos placas correspondientes a una misma dilución deben presentar un número similar.

—Expresar el resultado en UFC (Unidades Formadoras de Colonias) / g de alimento, haciendo la media de los recuentos de las dos placas correspondientes a la misma dilución y multiplicando por el factor dilución

- Por ejemplo, si se cuentan 56 y 60 UFCs en las placas correspondientes a la dilución 10<sup>-2</sup>, el resultado se expresa como:

$$((56 + 60)/2) \times 10^2 =$$

$$5,8 \times 10^3 \text{ UFC/g}$$

Continuando con los hongos y levaduras, siempre prestando minuciosa atención a la instrucciones que se nos proporcionaron las cuales son las siguientes:

- Contar las colonias de las placas que tienen entre 25 y 250 colonias (dado que la siembra se realizó en superficie, los límites son más bajos)
- Expresar el resultado en UFC /g de alimento, haciendo la media de los recuentos de las dos placas correspondientes a la misma dilución y multiplicando por el factor dilución y por 10 (teniendo en cuenta que se han sembrado 0,1 mL de cada dilución).

Y por último para finalizar el recuento llevamos a cabo la contabilización de Coliformes siguiente unas directrices mostradas a continuación:

- Determinar los tubos positivos por la presencia de turbidez en el medio y de gas en la campana.

- Calcular el número más probable de coliformes totales por g de alimento, empleando las tablas del NMP.

*- A partir de cada tubo positivo se podría hacer una resiembra en un nuevo tubo de caldo BGBL estéril, con incubación a 44,5°C durante 24 h para conocer los coliformes fecales, que son indicativos de falta de higiene y alertan de la posible presencia de microorganismos patógenos.*

Para finalizar, queremos mostrar expresando máxima transparencia los resultados obtenidos para determinar si nuestra hipótesis y justificación concuerdan con los objetivos planteados.

#### Recuento de Aerobios Mesófilos

<b>MARCA</b>	<b>MUESTREO</b>	<b>Log UFC / g</b>	<b>Desviación</b>
Ensalada A	Dilución -5	7,538 Log UFC/g	69,65 x 10 <sup>5</sup>
Ensalada B	Dilución -5	7,877 Log UFC/g	106,066017 x 10 <sup>5</sup>
Ensalada C	Dilución -5	7,5635 Log UFC/g	33,9411255 x 10 <sup>5</sup>
Ensalada D	Dilución -5	7,791 Log UFC/g	75,3068722 x 10 <sup>5</sup>
Ensalada E	Dilución -5	7,405 Log UFC/g	24,7487373 x 10 <sup>5</sup>
Ensalada F	Dilución -5	7,4425 Log UFC/g	17,3241161 x 10 <sup>5</sup>

#### Recuento de Hongos y Levaduras

<b>MARCA</b>	<b>MUESTREO</b>	<b>Log UFC / g</b>	<b>Desviación</b>
Ensalada A	Dilución -2	4,196 Log UFC/g	24,74873734 x 10 <sup>2</sup>
Ensalada B	Dilución -2	3,5798 Log UFC/g	13,08147545 x 10 <sup>2</sup>
Ensalada C	Dilución -2	3,628 Log UFC/g	6,7175144 x 10 <sup>2</sup>
Ensalada D	Dilución -2	4,3385 Log UFC/g	5,65685425 x 10 <sup>2</sup>
Ensalada E	Dilución -2	3,806 Log UFC/g	0
Ensalada F	Dilución -2	4,3096 Log UFC/g	6,01040764 x 10 <sup>2</sup>

## AGRADECIMIENTOS

Debemos comenzar agradeciendo la labor de nuestro tutor del proyecto, Alfredo Gomez Palop, que en todo momento estuvo disponible para proporcionarnos ayuda y resolver todas nuestras dudas.

También debemos resaltar el magnífico trabajo que hizo nuestra co-tutora, Inmaculada Sanchez Rodrigo, dispuesta a corregir cada uno de nuestros errores y a darnos consejos para hacer todo un poco mejor

Agradecer la profesora que imparte la asignatura de Investigación , Encarnación Boluda Carbonell por su apoyo, ideas y sugerencias para mejorar nuestro trabajo

Por último, mostrar nuestro agradecimiento a la UPCT por permitirnos experimentar en su centro de agricultura agrónoma

## BIBLIOGRAFÍA

ANMAT (2003): *Guía de Interpretación de Resultados Microbiológicos de Alimentos*.

Disponible en:

[http://www.anmat.gov.ar/alimentos/guia\\_de\\_interpretacion\\_resultados\\_microbiologicos.pdf](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf)

[Documento consultado: 10/11/22].

Arumí Rovira, M (2021): *Microbiología para humanos*.

Disponible en: <https://microbiologiaparahumanos.wordpress.com/medios-de-cultivo/>

[Documento consultado:17/11/22]

Caicedo Hoyos, B. (2021): *Calidad microbiológica de verduras semiprocesadas y prácticas de manipulación en centros de abasto*.

Disponible en:

<https://repositorio.untrm.edu.pe/handle/20.500.14077/2325>

[Documento consultado: 10/11/22].

R. Swistock, Bryan (2020): Bacterias coliformes.

Disponible en:

<https://extension.psu.edu/bacterias-coliformes>

[Documento consultado: 2/02/2023]