

PRODUCTOS EN ENVASES HERMÉTICOS

Los alimentos que son colocados en latas, frascos de vidrio y bolsas con cierre hermético, están protegidos del pasaje de gases o microorganismos y pueden permanecer inalterados indefinidamente si han sido sometidos a un tratamiento térmico adecuado y si el cierre permanece intacto (1).

La calidad de las conservas y su vida de estante dependen de la materia prima y los aditivos usados. La carga microbiana del producto final está relacionada con la microbiota presente en la materia prima y la eficacia del proceso de envasado.

Los alimentos tratados por el calor, estables a temperatura ambiente, se dividen en dos clases: los que son completamente estériles (la mayoría de origen animal) y los que contienen un pequeño número de endosporos bacterianos viables, aunque en estado latente (muchas de origen vegetal). A esta última clase se la llama conserva con esterilización comercial (2).

La supervivencia microbiana durante el procesamiento por calor depende de la temperatura alcanzada, la duración del tratamiento y la composición del alimento, además del tipo de organismos presentes en la materia prima (3).

Con respecto a la composición del alimento cabe considerar el efecto de varios parámetros: a) pH (a medida que descienden los valores aumenta el poder microbicida del calor), b) concentración de cloruro de sodio (hasta 4% favorece la termorresistencia bacteriana y a mayores valores el efecto es inhibitorio), c) concentración de carbohidratos y grasa (a medida que aumentan mayor es la termorresistencia de los microbios), d) contenido de agua (los gérmenes toleran más el calor seco que el calor húmedo) (1).

Si bien las conservas son los productos alimenticios más resistentes al deterioro no están exentas de posibles alteraciones debido a causas físicas, químicas o microbiológicas, siendo la más apreciable el abombamiento o hinchazón de la tapa y/o la base por la formación de gas en el interior (3).

DETERIORO

Las conservas alteradas por el desarrollo microbiano suelen presentar ablandamiento del producto enlatado, descomposición, olor repugnante, sabor amargo, líquido turbio o decoloración. En las conservas de frutas o verduras que por su termosensibilidad deben someterse a tratamientos térmicos suaves, comúnmente el deterioro se debe a una microbiota heterogénea entre la que se destacan *Lactobacillus* spp, *Leuconostoc* spp y *Streptococcus thermophilus*. Cuando las bacterias lácticas son heterofermentativas, producen abombamiento por la formación de CO₂.

La asociación microbiana alterante de los pescados enlatados, conservados mediante adición de cloruro de sodio, reducción de pH y con frecuencia conservantes autorizados, está constituida principalmente por especies de lactobacilos y *Pediococcus*. Un ejemplo de este tipo de alimentos son los filetes de anchoas en aceite o salmuera (2).

En los alimentos con poca acidez, como las hortalizas, los agentes de deterioro son de origen bacteriano, pero algunas bacterias lácticas pueden desarrollar en ambientes tan ácidos como una conserva de tomates. En las conservas de productos con mucha acidez, como las frutas, los agentes de alteración predominantes son los mohos y levaduras. Ambos suelen ser sensibles al calor, sin embargo algunas especies de mohos tienen ascosporas resistentes, por ejemplo *Byssochlamys fulva* presenta un valor D entre 1 y 12 minutos a 90°C según el sustrato (4).

Por otra parte, los contaminantes que pueden aparecer luego del tratamiento térmico, debido a los defectos en los cierres y/o la contaminación del agua de enfriamiento o las cintas transportadoras, son *S. aureus* y enterobacterias (2)

Entre las bacterias forman endosporos muy resistentes al calor están los productores de gas *Paenibacillus polymyxa* y *P. macerans* que suelen estar asociados con el deterioro de las conservas de arvejas, espinacas, chauchas, espárragos y tomates. Las especies que no sintetizan gas, como *Bacillus subtilis* y *P. megaterium*, son responsables de la alteración de las conservas neutras o poco ácidas (3).

Las especies de *Clostridium* se desarrollan sin problemas en ambientes anaerobios, tales como los recipientes cerrados al

vacío o aquellos donde el oxígeno residual fue consumido por los organismos aerobios acompañantes. En los productos poco ácidos, *C. butyricum* y *C. pasteurianum* causan la fermentación butírica con producción de gases que dan lugar a la hinchazón del envase. Este tipo de deterioro se suele observar en los productos ricos en carbohidratos, como los tomates, peras, manzanas, ananás y otros, sometidos a un tratamiento térmico inferior a 100°C (1).

Se conocen tres tipos de alteraciones producidas por los microorganismos termófilos: a) agriado debido a la fermentación causada por *Bacillus coagulans* y *Geobacillus stearothermophilus* que origina ácidos orgánicos, b) producción de gases (H_2 , CO_2) por *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* que conduce al abombamiento, c) formación de H_2S por *Desulfotomaculum nigrificans* y *C. bifermentans* dando mal olor y ennegrecimiento debido a los sulfuros (3).

Clostridium botulinum produce una potente neurotoxina y su ingestión da lugar al botulismo, una intoxicación grave y muchas veces mortal. Las conservas afectadas no siempre tienen alterados los caracteres organolépticos. Esta bacteria no desarrolla en alimentos con $pH \leq 4,5$ (1).

Hay 7 serotipos de neurotoxinas, de A hasta G. Las toxinas A, B y E están relacionadas con frecuencia a los casos humanos, el tipo F pocas veces y los C y D solo ocasionalmente. El tipo G no ha sido observado en intoxicaciones humanas pero fue aislado del suelo en la Argentina (*C. argentinensis*).

Las neurotoxinas son proteínas grandes, antigénicas, que producen una parálisis muscular flácida. Se pueden utilizar reacciones inmunológicas para la detección de las mismas en los alimentos, en lugar de la prueba biológica con ratones (5).

Sin embargo el bioensayo con ratones es altamente sensible con un límite cercano a 10 pg/mL, equivalente a una unidad ratón. Este método requiere animales vivos y no es específico a menos que se use el antisuero correspondiente al serotipo de la toxina, en la neutralización para los animales testigo (6).

El Código Alimentario Argentino (CAA) en el art. 926 establece que los productos en envases herméticos deben sufrir un tratamiento que garantice la inactivación de los endosporos

de *C. botulinum*, lo cual se podrá comprobar en los registros del tratamiento térmico provistos por el fabricante.

En el capítulo XI indica que las conservas de palmitos, pimientos, tomates, aceitunas, duraznos, damascos, peras y otras serán envasados con el agregado de ácidos cítrico, tartárico, láctico o málico para obtener un pH inferior a 4,5.

En el art. 280 dice que las conservas de origen animal después del tratamiento térmico adecuado en tiempo y temperatura, deberán permanecer a 30°C durante un tiempo no menor de 15 días (7).

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Las conservas deben estar libres de células somáticas bacterianas, mohos y levaduras viables, así como de toxinas, sin deterioro de sus propiedades organolépticas.

El número de envases tomados al azar durante el muestreo depende del tamaño del lote, comúnmente 200. Se examinan para detectar defectos en el cierre y abombamiento. Si se encuentran tres o más envases defectuosos se rechaza el lote, pero si se detectan uno o dos se vuelve a muestrear el lote para examinar los envases.

RECUESTO DE BACTERIAS ESPORULADAS DEL AGRIADO

Hacer las diluciones de 10^{-1} a 10^{-4} y calentar los tubos a 80°C durante 10 minutos. Sembrar 0,1mL de cada dilución sobre sendas placas de agar glucosa púrpura, extendiendo con una varilla de vidrio en L. Luego cubrir con una capa gruesa del medio de cultivo fundido y a 50°C.

Incubar las placas invertidas a 55°C durante 48 horas.

Contar las colonias en cada placa y calcular el número multiplicando por el factor de dilución correspondiente.

Las colonias de *B. coagulans* son de color amarillo pálido, rodeadas de una zona ácida. *G. stearothermophilus* puede crecer formando colonias puntiformes.

Repicar en agar glucosa triptona de pH 5 e incubar a 55°C durante 48 horas. Crece *B. coagulans* pero no las otras especies (2)

Si esta selección revela 1% o más productos defectuosos, se rechaza el lote, pero si es menor se hace la prueba de incubación a 20 latas tomadas al azar. Los alimentos pocos

ácidos y las carnes curadas se colocan a 30-37°C durante al menos 10 días, los muy ácidos se mantienen a 25°C por más tiempo. Si el producto se comercializa en zonas cálidas se incuba la mitad de los envases a 55°C (8).

PRUEBA DE INCUBACION

Incubar a 30°C un número de envases, tomados rigurosamente al azar, colocando cada uno sobre una caja de Petri provista de una hoja circular de papel de filtro para absorber cualquier material expulsado durante la prueba.

Observar diariamente y las latas hinchadas o las que pierden contenido se examinan sin demora.

Lavar las superficies con agua jabonosa, enjuagar y desinfectar con etanol 70%. Colocar sobre el envase un largo clavo que pasa a través del vástago de un embudo invertido, para evitar salpicaduras hacia el operador quien llevará un protector de los ojos. Golpear el clavo con un solo golpe vertical y luego abrir las latas bajo condiciones de asepsia.

Inspeccionar la consistencia del contenido, sentir el olor y tomar el pH, comparándolo con el de un envase idéntico al no incubado, como testigo.

Tomar 10 g y agregar 90 mL de diluyente en un frasco con perlas de vidrio o en una bolsa para 'stomacher'. Homogeneizar y dejar sedimentar. Tomar 10 µL y extenderlo sobre un área de 1 cm². Secar, fijar y colorear según Gram. Sobre otro extendido hacer la coloración de endosporos.

Diferenciar y contar los principales tipos morfológicos de los organismos observados en diez o más campos microscópicos separados.

Conociendo la superficie del campo microscópico, calcular el número aproximado de células de cada uno de los grupos de bacterias presentes en 1 g de la muestra.

Repetir las mismas operaciones con las muestras incubadas a 55°C (2).

Las verduras ácidas y las frutas enlatadas con un pH inferior a 4,5 no presentan ningún problema microbiológico en relación con la salud pública. Sin embargo suele requerirse la realización de pruebas de incubación cuando no se disponen de los registros del tratamiento térmico y la integridad de los envases (8).

El CAA en los art. 280, 926 y 1340 establece que las conservas de origen animal y vegetal y los alimentos dietéticos en envases herméticos, respectivamente, deben ser sometidos a la prueba de incubación. La mitad de las muestras, extraídas estadísticamente, serán colocadas a 35°C durante 14 días y la otra mitad a 55°C durante 7 días. Después de incubadas y enfriadas no presentarán hinchazón ni modificaciones en sus propiedades organolépticas y pH (7).

Los filetes de anchoas en aceite o en salmuera después de una incubación a 17°C durante tres días, no deben exceder las 10⁴ ufc de lactobacilos y levaduras /g y si el pH máximo está muy por debajo de 4,5 no son necesarias más pruebas (2).

ESPORULADOS TERMOFILOS SULFITO-REDUCTORES

Mezclar 20 g de muestra con 80 mL de agua estéril. Llevar a ebullición y mantener la temperatura durante 5 minutos. Agregar 5 mL a cada uno de 5 tubos con 25 mL de agar sulfito fundido y a 50°C. Dejar gelificar y cubrir con 3 mL de agar-agua estéril. Incubar a 57°C durante 24-48 horas.

Contar las colonias negras inmersas en el medio y referir los resultados a 10 g de muestra.

AGAR SULFITO. Extracto de carne 8 g, peptona de caseína 5 g, peptona de carne 5 g, almidón 1 g, extracto de levadura 1 g, clorhidrato de cisteína 0,5 g, glucosa 1 g, agua 1 litro. Esterilizar a 120°C durante 20 minutos. Enfriar a 50°C y agregar 7,5 mL de sulfito de sodio al 10% recién preparado en agua estéril y 5 mL de citrato férrico-amónico al 20% esterilizado en autoclave (1).

REFERENCIAS

1. Downes FP, Ito K, eds. 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4^o ed, APHA, Washington, p 577, 583.
2. Mossel DAA *et al.* 2003. Microbiología de los Alimentos. 2^a ed, Acribia, Zaragoza, p 644.
3. Jay JM *et al.* 2005. Modern Food Microbiology. 7^a ed, Springer, New York, p 435.
4. Pitt JI, Hocking AD. 1997. Fungi and Food Spoilage. 2^o ed. Blackie Academic & Professional, London, p 206.
5. Sharma SK *et al.* 2006. Appl Environ Microbiol 72: 1231.
6. Sharma SK *et al.* 2005. Appl Environ Microbiol 71: 3935.
7. Código Alimentario Argentino. Cap 6, 11 y 17. <http://www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.htm>
8. ICMSF. 1981. Microorganismos de los Alimentos. Vol. 2. Acribia, Zaragoza, p 149.