ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

INSTITUTO DE TECNOLOGÍAS

PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN EN ALIMENTOS: PROTAL

DETERMINACIÓN DE LA VIDA DE ÚTIL DE UN PRODUCTO DE CUARTA GRAMA:

ENSALADA DE VERDURAS ENVASADA EN ATMÓSFERA MODIFICADA

PROYECTO FIN DE CARRERA

Previa obtención del título de:

TECNÓLOGO EN ALIMENTOS

PRESENTADO POR:

EDUARDO MOHABET SANTOS ARCOS

Guayaquil-Ecuador

2010

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi agradecimiento a toda mi familia; a aquellas personas: Mariela Reyes; Beatriz Oviedo; Carlos Poveda; Ana María Acosta; Gloria Bajaña, Henry Fierro y muchos más, que confiaron y me proporcionaron un soporte incondicional; empero un especial agradecimiento a mi querida madre que con tesón y esfuerzo nos sacó adelante a mi hermana, sobrina y a mi. Sé que desde la eternidad nos observa y alienta a continuar en este pequeño trayecto: la vida.

DEDICATORIA

A mis queridas:

Martha Herminia Arcos

Paola Santos Arcos

Iskra Paola Santillán y a toda mi familia

TRIBUNAL DE GRADO

Med. Ana María Costa Viver.
Docente Responsable

Msc. René Rodríguez Griñón
Docente Delegado de PROTAL

DECLARACION EXPRESA

La responsabilidad del contenido de este Proyecto fin de Carrera, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral.

Eduardo Mohabet Santos Arcos

RESUMEN

Con el presente trabajo lo que se pretende es encontrar el periodo de vida de útil de una ensalada de vegetales comercializada en el mercado Español .Para esto hemos seccionado el proyecto en dos partes. La primera parte se enfoca a la descripción sobre la elaboración que sufren los productos de cuarta gama centrándonos en los puntos más críticos del proceso como son la limpieza, el envasado en atmosfera modificada el almacenamiento del producto. La segunda parte está constituida por la metodología y discusión de los resultados obtenidos a partir de los ensayos microbiológico: recuento total de aerobios y mesófilos, *Escherichia coli*, *Lysteria monocytogenes*, mohos y levaduras como organoléptico; químicos: determinación de pH a distintos intervalos de tiempo; y análisis sensorial utilizando una prueba discriminatoria: prueba triangular para detectar cuándo se produce un cambio significativo en el olor a fermentado en el producto. A partir de estos datos y contrastándolos con la norma RD 3484/2000 para aerobios mesófilos y *Lysteria monocytogenes* ; norma UNE 87-006-92 para el análisis sensorial: prueba triangular y las recomendaciones de la FOOD STANDARDS AGENCY concluimos que durante el estudio realizado se observó una ligera variación en el recuento de mesófilos totales y percepción sensorial a partir del sexto día desde la expedición del producto.

INDICE

RESUMEN **6**

INTRODUCCIÓN **9**

DESCRIPCION DEL DIAGRAMA DE FLUJO DE UN PRODUCTO DE CUARTA GAMA: ENSALADA CUATRO ESTACIONES **11**

Recolección de la materia prima **12**

Selección y limpieza **12**

Secado **13**

Cortado **13**

Envasado **13**

Materiales de envasado **14**

Almacenamiento. **15**

Distribución **15**

PROCEDIMIENTOS

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS **16**

RECUENTO DE MICROORGANISMOS MESOFILOS TOTALES (NF EN ISO 4833) 17

RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS (NF ISO 7954:1988) 18

INVESTIGACIÓN DE Listeria monocytogenes (NF EN ISO 11290-I/Al:2005) 19

ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO

PRUEBA TRIANGULAR 21

ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO

DETERMINACIÓN DE pH 23

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Análisis microbiológico: determinación de mesófilos totales, *Eschericia coli y Lysteria monocytogenes* **24**

Análisis organoléptico: prueba triangular **29**

Análisis físico químico: determinación de potenciométrica de pH **30**

CONCLUSIONES **32**

RECOMENDACIONES **32**

BIBLIOGRAFIA **33**

TABLAS E ILUSTRACIONES

Fig1.1.- Diagrama de flujo de una ensalada cuatro estaciones 11

Fig. 1.2. Comportamiento de los vegetales envasados en atmósfera modificada 14

Fig.- 1.3 Velocidad de transmisión de O_2 de algunos films para uso alimentario 15

Fig.2.1.- Recuento de microorganismos mesófilos totales (NF EN ISO 4833) 18

Fig.2.2 Recuento de mohos y levaduras (NF ISO 7954:1988) 19

Fig. 2.3: Recuento total de aerobios mesófilos Vs Norma RD 3484/2000 24

Tabla 2.1.1 Recuento total de aerobios mesófilos.. 25

Tabla 2.1.2 (ufc)/g de *Eschericia coli* 26

Tabla 2.1.3 (ufc)/g de *Listeria monocytogenes* 27

Fig. 2.4 REAL DECRETO 3484/2000 de 29 de diciembre 28

Tabla 3.1.1 ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO: Prueba triangular 29

Fig.3.1 Niveles de significación de la prueba triangular (UNE 87-006-92) 30

Tabla 4.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICA: determinación potenciométrica de pH......................... 30

Fig.4.1.1 pH Vs Tiempo (número de días)... 31

Fig.4.1.2 [H^+] Vs Tiempo (número de días) 31

INTRODUCCIÓN

Según la tecnología aplicada a los alimentos definimos **alimentos de cuarta gama** aquellos productos vegetales, limpios cortados y envasados, formados por verduras y hortalizas mezcladas, ya para mantener sus cualidades organolépticas, sanitarias y multifunciones, requieren de estricto cuidado de la cadena de frió entre (1° C y 4° C) desde el momento de su recolección hasta su consumo.

Estos alimentos se envasan en una **atmósfera modificada** en la que se disminuye la concentración de oxigeno y se aumenta la de nitrógeno y dióxido de carbono. La conservación en atmósfera modificada además de evitar el marchitamiento de los vegetales debido a la oxidación reduce la perdida de vitaminas y minerales que causan el lavado y cortado de las verduras.

En esta tecnología se utilizan fundamentalmente tres gases (O_2, N_2 y CO_2) que producen un efecto individual o combinado para mantener la calidad de los alimentos.

El **N_2** se lo utiliza para sustituir el O_2 del interior del envase y evitar problemas oxidativos en productos con alto contenido de grasa o también como gas de relleno evitando el colapso del envase cuando se utilizan altas concentraciones de CO_2.

El **CO_2** se lo utiliza por su acción bacteriostática sobre todo en bacterias Gram (-) y el **O_2** se lo utiliza para evitar procesos de anaerobiosis y favorecer la respiración de los alimentos.

Estas condiciones son mantenidas gracias a la permeabilidad de los envases y al control de las temperaturas.

Un estudio de la **vida de anaquel** de un producto (shelf-life) se lleva a cabo de forma experimental modificando ciertas condiciones ambientales sobre el producto, como por ejemplo la temperatura, combinaciones de gases en el envase. Determinando así qué condiciones son la mas favorables para alargar al máximo sus propiedades

No existe un protocolo universal para determinar directamente la vida de anaquel de un producto, pero para productos de vida útil corta (Short shelf-life) las muestras deben ser evaluadas diariamente en el laboratorio por un periodo de 1-7 días (Man, 2002).

Conforme transcurre el tiempo de calidad microbiológica aumenta mientras que la calidad no microbiológica disminuye de forma vertiginosa llegando hasta un punto, en ambos mecanismos, que el producto no sea apto para el consumo. Diferentes tipos de test pueden usarse individualmente o de manera combinada para medir la evolución de los alimentos.

- Análisis microbiológico (recuento total de aerobios, mesófilos, determinación de bacterias patógenas, etc.)

- Análisis químicos (pH, porcentaje de humedad, determinaciones de vitaminas, etc.)

- Análisis organoléptico (textura, color, sabor, etc.).

El objetivo del presente trabajo es determinar la vida útil de una ensalada de vegetales constituida por: lechuga (*Latuca sativa L*), zanahoria (*Daucus carota L*), y col lombarda (*Brssica olereacea L.)* ampliamente comercializado en España.

La metodología que se utilizó para determinar la vida útil en este producto consistió en un estudio en paralelo en tres aspectos:

Microbiológico: mediante la cuantificación de mesófilos totales **(NF EN ISO 4833),** *listeria monocytogenes*; **(NF EN ISO 11290-I/Al: 2005)** mohos y levaduras**(NF ISO 7954:1988)** . Luego, estos resultados se compararon con los valores limites para cada microorganismo, los cuales están tipificados en la normativa RD 3484/200

Organoléptico:- mediante una prueba discriminatoria: triangular se efectuó un seguimiento diario en la evolución del olor fermentado con el objeto de determinar una diferencia significativa con respecto a un producto control. Luego estos resultados se computaron los números de aciertos que existieron para contrastarlos con la tabla 2.2 y determinar la diferencia significativa a un 5%.

Físico químico.- en este estudio se cuantificó el pH del producto en función del tiempo y se consideró como valor limite las recomendaciones de la FOOD STANDARDS AGENCY para productos tratados mínimamente envasados en atmosfera modificada y refrigerados a temperaturas inferiores a 8ºC.

LIMITACIONES

El tema que se expone se podría ampliar las investigaciones en el campo microbiológico, físico-químico y sensorial con el objetivo de cambiar condiciones externas e internas del producto: estudio acelerado y observar cuáles son las condiciones más idóneas para alargar la vida útil del producto. Esto no se pudo realizar de manera pormenorizada debido a la carencia de recursos económicos puesto que para el mismo no se contó del soporte de un organismo o entidad que financié el proyecto: los gastos corrieron a cuanta particular, por lo tanto, este informe es el inicio para posteriores investigaciones en este campo.

[1]DESCRIPCIÓN DEL DIAGRAMA DE FLUJO DE UN PRODUCTO DE CUARTA GAMA: ENSALADA CUATRO ESTACIONES

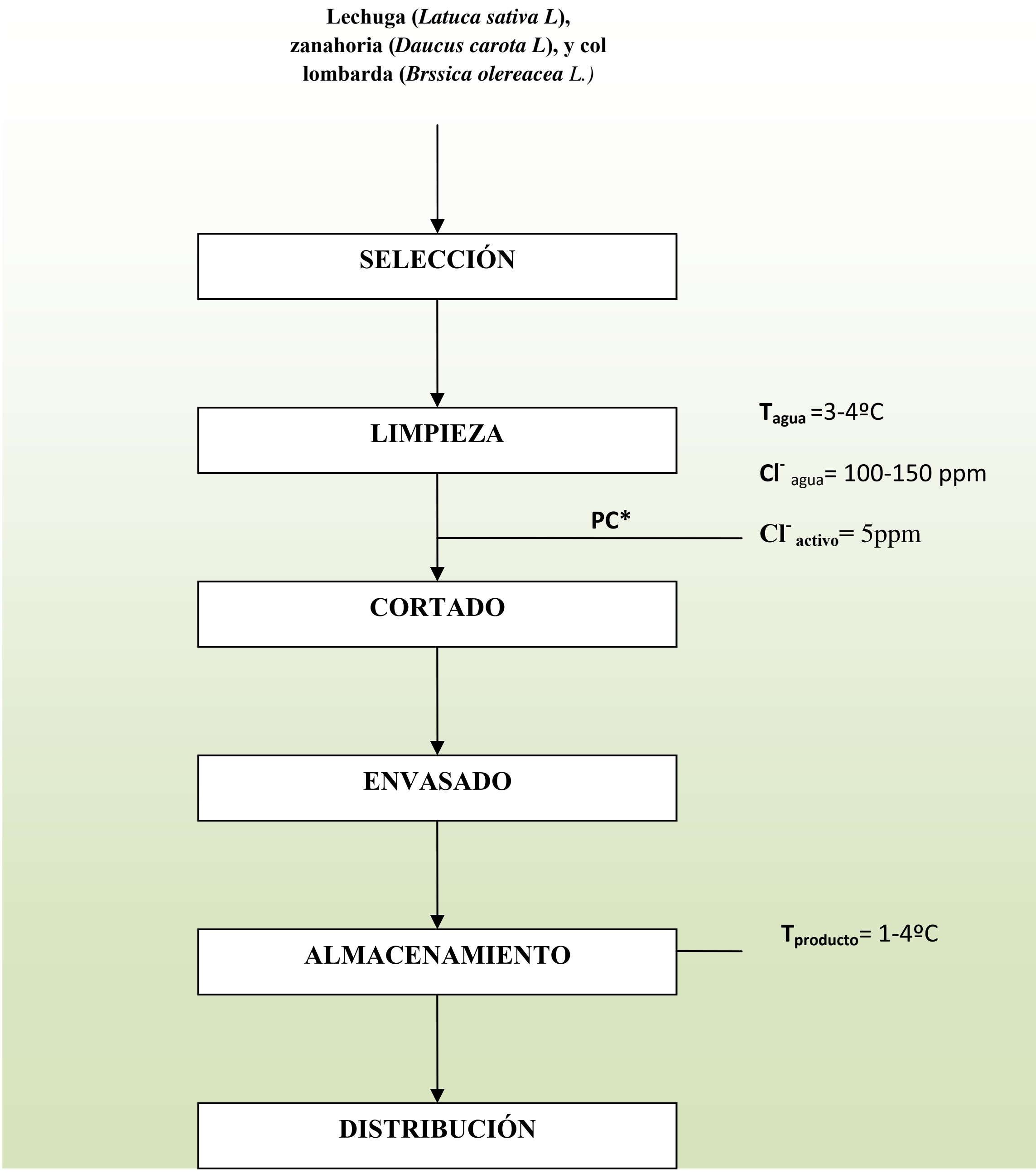

***Fig1.1.*- Diagrama de flujo de una ensalada cuatro estaciones**

---

[1] ***PC: Mesófilos totales: (NF EN ISO 4833).Mohos y levaduras: (NF EN ISO 7954).Recuento de Enterobacteriacea (NF ISO 7402)**

A continuación describiremos las transformaciones que sufren las ensaladas empezando desde la recolección de la materia prima hasta su consumo ***(véase. Fig1.1)***

1. Recolección de la materia prima.
2. Selección limpieza y secado
3. Envasado en atmosfera modificada.
4. Almacenamiento.
5. Venta y distribución

Los vegetales son recolectados una vez que alcanzan su estado óptimo de madurez o bien se recolectan con el grado de madurez que exija el fabricante. Una vez recolectadas las verduras se pre-enfrían para que no pierdan su calidad. La fase de limpieza se realiza con agua clorada para disminuir el ataque microbiano. Posteriormente se cortan con una maquinaria especializada, y se envasan en bolsas de plástico en atmósfera modificada. El objetivo de la atmósfera modificada consiste en disminuir la concentración de oxigeno de aire y aumentar la concentración de otro gas. Por último, el envase se mantiene a una temperatura de refrigeración para evitar la proliferación de microorganismos.

Recolección de la materia prima

La materia prima se recolecta cuando se alcanzan las condiciones óptimas de su madurez. La recolección y selección de la materia prima es un paso muy importante para obtener un producto atractivo y de alta calidad para su distribución en el mercado.

Se requiere para la obtención de productos de altas calidad cultivar variedades más específicas con unos controles y condiciones de cultivo determinadas.

La recolección puede ser mecánica o manual. En ambos casos se debe tener cuidado el no dañar los productos mediante el proceso.

La temperatura a la que se recoge los vegetales es de suma importancia para la conservación en una atmosfera modificada por lo que se estima que temperaturas en el rango de 0-5ºC son las preferidas para el almacenamiento y distribución de los productos envasados en atmosfera modificada (Day, 1992a). Con estas temperaturas conseguimos:

Reducir el crecimiento de microorganismos mediante la reducción en las intensidad de respiración de cada ingrediente vegetal incorporado en el producto y con lo cual aumentamos la vida útil del producto.

Selección y limpieza.

Durante el proceso de manipulación del producto debe realizarse de una forma cuidadosa evitando así posibles daños y una vez realizada la recolección, otro de los puntos a tener en cuenta es el transporte, que debe de realizarse de forma rápida para no llegar a contaminarse. Para el proceso de limpiado se requiere un perfecto estado e higiene de los utensilios así como el estado de conservación de las maquinarias de limpieza.

Los vegetales se depositan en unas cintas cilíndricas que van avanzando y girando, de este modo se van separando unos de otros dependiendo del tamaño de cada uno mediante unas ranuras de diferentes tamaños por los que van cayendo. También en algunas selecciones se emplean separadores magnéticos que eliminan metales que hayan podido incorporarse a los productos durante la recolección.

La suciedad del producto como tierra, mohos, bacterias, se eliminan mediante el proceso de lavado. El lavado de las zanahorias es mediante un túnel cilíndrico rotativo constituido por placas metálicas o mallas metálicas.

El lavado y desinfección de los productos de "cuarta gama" se realiza con agua fría a una temperatura de 3 a 4 ºC . El agua utilizada debe ser controlada periódicamente para saber si su uso es apto o no, por eso, se revisa las plantas de instalaciones de agua por posibles deterioros de ésta.. Para la desinfección se utiliza hipoclorito de sodio en una concentración de 100 a 150 ppm y 5ppm de Cl^- activo en el alimento.

Secado

Durante el proceso de secado se elimina el exceso de humedad producido por el lavado para así evitar la aparición de microorganismos que suelen aparecer cuando los productos no han estado sometidos a un secado correcto. Si sometemos el producto a un secado con excesiva rapidez también se podría dañar el material a secar.

Cortado

El corte debe realizarse de forma rápida y en un solo golpe evitando el golpeado del material ya que le causaría daños y el producto quedaría con una mala presentación.

En general, los vegetales con mayor superficie expuesta por unidad de peso tienen una mayor velocidad de pérdida de agua. El espesor y la naturaleza de la superficie de protección, como es el caso de la zanahoria presenta una cubierta cérea menor que el de las manzanas o las peras y por lo tanto pierde a una mayor velocidad el agua de sus tejidos. Por esta razón el producto cortado debe de envasarse tan pronto como fuera posible en una atmosfera modificada (Zomorodi, 1990)

Envasado ***(véase Fig.1.2)***

El envasado para este producto se efectúa en bolsas plásticas en atmósfera modificada proporciona la suficiente concentración de O_2 y CO_2 en el envase para así ir reduciendo de forma progresiva la velocidad de respiración de los productos sin llegar a inducir anaerobiosis que a un pH>4,5 (Holdsworth,1983) podría reproducirse el *Clostridium botulinum* . Posteriormente se disminuye la temperatura del envasado para aumentar la vida del producto fresco.

El envasado en atmósfera modificada (AM) de vegetales y hortalizas es un proceso en el que el envase cerrado interactúa con el producto de tal forma que se alcanza un equilibrio en la atmósfera interna que reduce la velocidad de respiración, la pérdida de humedad por transpiración, e incrementar la fase de latencia del desarrollo microbiano.

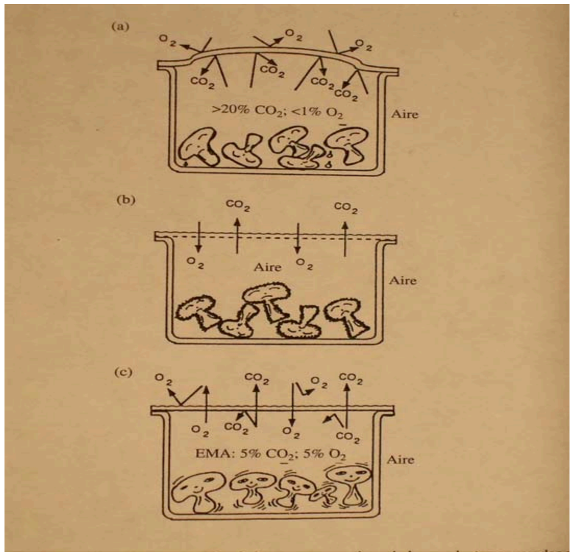

Fig. 1.2. **Comportamiento de los vegetales envasados en atmósfera modificada**

Materiales de envasado

Para el envasado de hortalizas en atmosfera modificada se seleccionan films con una permeabilidad intermedia a los gases como se puede observar en la***(Fig1.3)*** la cual proporciona las velocidad de transmisión del oxígeno y del vapor de agua de dos tipos films de empaquetado utilizados para el envasado de productos frescos . Utilizando estos tipos de films, se pueden obtener las atmósferas modificadas en equilibrio deseadas. Sin embargo, debido a las diferencias en la intensidad de respiración de las hortalizas individuales y el efecto de la temperatura sobre la respiración y la permeabilidad a los gases se tendrían que definir para cada producto a cualquier temperatura de almacenamiento concreta (Day,1988).

Las operaciones de envasado en las factorías de alimentos deben de realizarse en un ambiente de temperatura controlada.

Intensidad de transmisión de O_2 y vapor de agua de materiales de empaquetado seleccionado para frutas y hortalizas				
Film de empaquetado (25µ)	Intensidad de transmisión de O_2 (cm^2/m^3) 23ºC O%HR	Permeabilidad relativa a 25ºC 0%HR	Intensidad de transmisión de vapor de agua (g/m^2 día) 38ºC 90%HR	Intensidad relativa de transmisión de vapor de agua a 38ºC 90%HR
Cloruro de Polivinilo (PVC)	2000-5000[a]	Media 200-5000	200	Muy alta 200-300
Cloruro de polivinilo altamente plastificado(PVC)	5000-10000	Alta 5000-10000	16-24	Semibarrera10-30
[a] La mayoría de los films plastificados para productos frescos no son un film simple, sino laminados o coextrusionados.				

Fig.- 1.3 **Velocidad de transmisión de O_2 de algunos films para uso alimentario**

Almacenamiento

La refrigeración del producto está basada en el empleo de atmósfera controlada que regula las condiciones ambientales, adecuándose a la temperatura que exija cada producto. Normalmente se requiere una temperatura de refrigeración de 0 a 5ºC que para nuestro caso el rango está entre 1-4ºC.conforme se reseña en la etiqueta del producto

Distribución

El transporte de estos productos tiene un importante papel, ya que, permite de forma rápida la distribución de éstos por toda la geografía española y resto de países extranjeros como Reino Unido, Francia (mayores importadores).

La distribución exige la mayor frescura del producto por demanda de los consumidores que están dispuestos a pagar un precio a cambio de una buena calidad. Los clientes consumidores de productos de cuarta gama están concentrados por Cataluña, y su destino son las cadenas de supermercados, restaurantes y plazas de abastos.

PROCEDIMIENTOS

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Los resultados que se señalan en este apartado están referidos a una ensalada de verduras cuya composición es la siguiente: lechuga (*Latuca sativa L*), zanahoria (*Daucus carota L*), y col lombarda (*Brssica olereacea L.)*. El peso neto de la ensalada es de 250 g

Objeto

Estas pruebas tienen como objetivo detectar la presencia de indicadores de calidad del producto así como también determinar la presencia de microorganismos patógenos

Campo de aplicación

Los métodos descritos se pueden utilizar para la determinar la calidad microbiológica de una ensalada de verduras.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRAS

- Tomar la muestra en condiciones asépticas. Para ellos se pueden emplear cubiertos y botes previamente esterilizados. Si transcurre un tiempo entre la toma de muestra y el análisis, se mantendrá la muestra en refrigeración.
- Homogeneización de alimento. Se puede emplear un homogeneizador comercial de paletas para la distribución de los microorganismos en el medio. Se pesan 10g de alimento en una bolsa de plástico estéril y se añaden 90mL de caldo peptona estéril. El triturado de la muestra se realiza al menos durante dos minutos, aunque el tiempo depende de la consistencia del alimento.
- Realizar una serie de diluciones decimales en tubos con 9mL de caldo peptona. En función de la carga microbiana esperada en el alimento, se realizan las diluciones que se crean conveniente.

RECUENTO DE MICROORGANISMOS MESOFILOS TOTALES (NF EN ISO 4833) (véase *Fig.2.1*)

Este método se basa en la siembra en profundidad en un medio de cultivo definido, vertido en dos placas de Petri, con una cantidad determinada de muestra si el producto a examinar es líquido, o con una cantidad determinada de suspensión madre en el caso de otros productos.

En las mismas condiciones, siembra de las diluciones decimales obtenidas de la muestra o de la suspensión madre. Incubación a 30º C, en aerobiosis durante 72 horas. A partir del número de colonias obtenidas en las placas de Petri se calcula el número de microorganismos por mililitro o por gramo de muestra.

La determinación de este grupo nos da idea de la calidad de la matera prima y del proceso de elaboración del producto. Cifras altas en este recuento pueden indicar un proceso de alteración del alimento, aunque no necesariamente hay que relacionarlo con la presencia de gérmenes patógenos.

- Añadir con pipetas estériles, a partir de tres de las diluciones decimales, 1mL/placa a una serie de tres placas de Petri vacías estériles. Esta siembra se puede realizar por duplicado para obtener resultados más fiables.
- Verter en cada placa unos 20 mL de medio PCA fundido y atemperado a 45-50 ºC. Agitar convenientemente (en sentido de las agujas de reloj , sentido contrario y en forma de cruz), para homogeneizar perfectamente medio e inóculo .
- Una vez solidificado el medio, incubar las placas durante 72 horas a 30 ºC el número de colonias multiplicado por el factor de dilución de la polaca es el número UFC de microorganismos mesófilas por gramo o mL de muestra analizada.

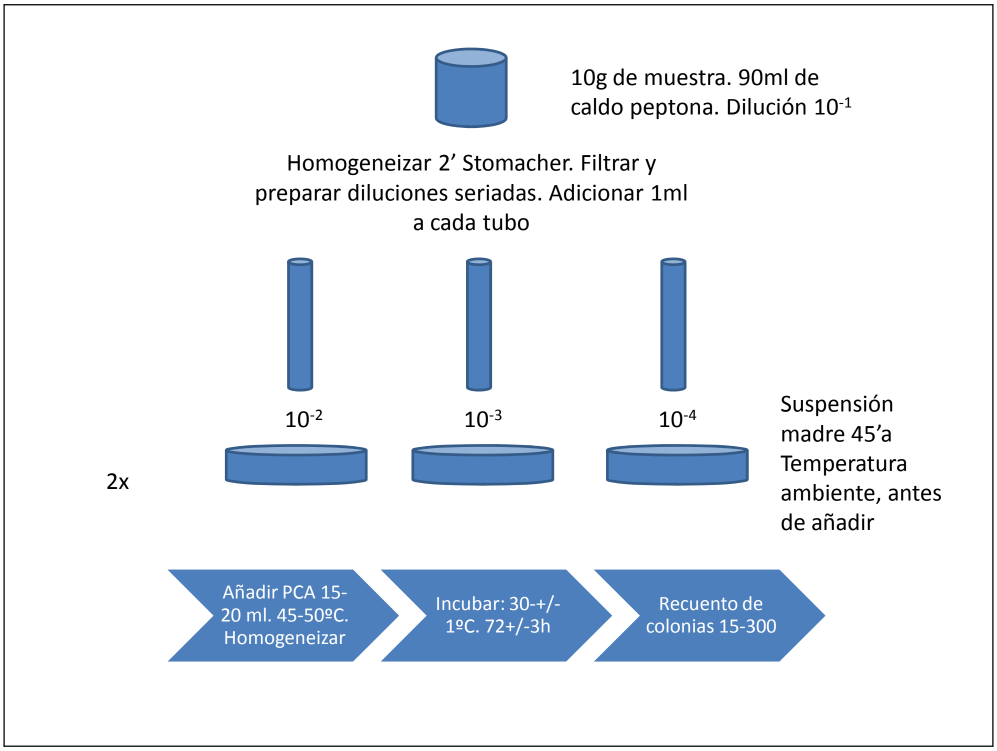

Fig.2.1.**- Recuento de microorganismos mesófilos totales (NF EN ISO 4833)**

RECUENTO DE MOHOS Y LEVADURAS (NF ISO 7954:1988) *(véase. Fig2.2)*

Se investiga la presencia de mohos y levaduras por ser potencialmente productores de micotoxinas y porque pueden llevar a cabo procesos de adulteración. Se utiliza un medio selectivo OGA que lleva incorporado el antibiótico Oxitetraciclina, el cual inhibe de forma eficaz el crecimiento microbiano.

- Sembrar por duplicado 1mL de las tres primeras diluciones en placas de OGA.
- Incubar a 25ºC durante 5 días: Si en este período se observa un crecimiento rápido de colonias, realizar el recuento antes de que la placa sea totalmente invadida. El número de colonias multiplicado por el factor de dilución es el número de UFC de mohos y levaduras/g mL de alimento.

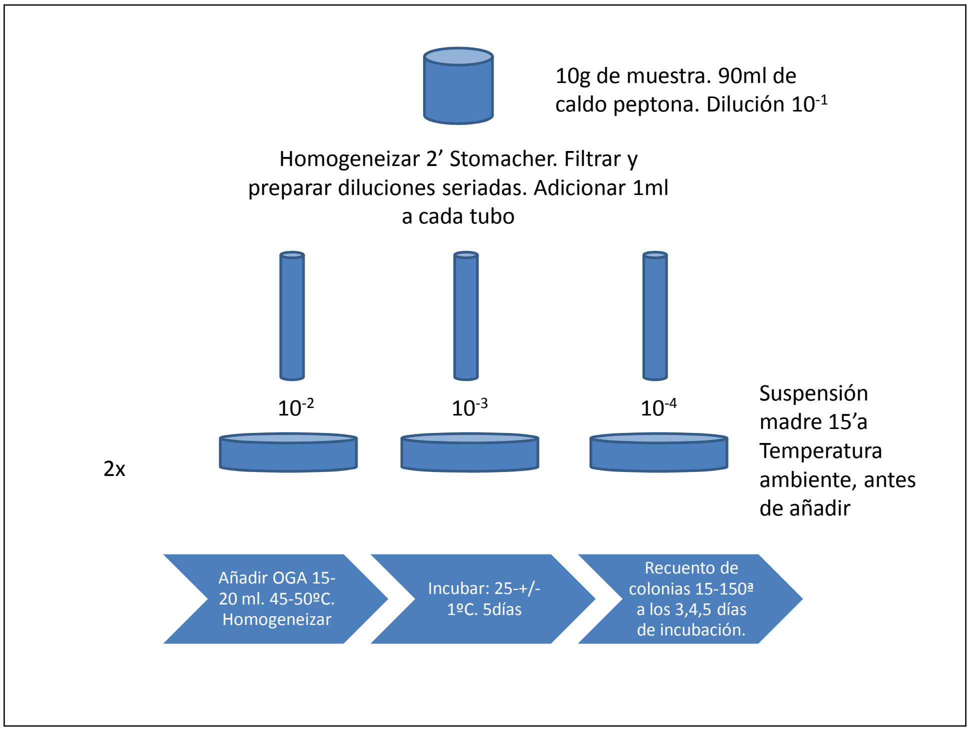

Fig.2.2 **Recuento de mohos y levaduras (NF ISO 7954:1988)**

INVESTIGACIÓN DE Listeria monocytogenes (NF EN ISO 11290-I/Al:2005)

Listeria es una bacteria ubicua que se encuentra principalmente en los pastos, desde donde contamina a vegetales y animales y, posteriormente, alimentos. Por ser una bacteria psicótropa y osmotolerante es capaz de multiplicarse en condiciones en las que otros microorganismos quedan inhibidos.

- Preenriquecimiento. Pesar 25g de alimento en una bolsa de plástico estéril y añadir 225mL de caldo Frasser Demi. Homogeneizar la muestra en el triturador. Incubar la bolsa 24 horas a 30ºC.
- Enriquecimiento: añadir 0,1mL de la muestra preenriquecida a 10mL de caldo Frasser e incubar a 37ºC durante 24+24 horas.
- Aislamiento en medios sólidos selectivos: agitar el tubo de Fraser y realizar un agotamiento por estrías en medios selectivos para listeria (AloA y Palcam). Incubar las placas a 37 ºC durante 24-48 horas.

Nota: Listeria crece en Palcam formando colonias pequeñas, negras-grisáceas, rodeadas de un halo negro y deprimido en el centro. En AloA, las colonias de l. monocytogenes son verde-azuladas con halo opaco. Las colonias de otro color no se tendrán en cuenta.

- Confirmación bioquímica. Para confirmar las colonias sospechosas como pertenecientes al género Listeria, se realizan las siguientes pruebas tinción de Gram. (Bacilo Grampositivo) y catalasa (positiva). Si las pruebas son positivas continuar con la identificación de la especie. Listeria monocytogenes es hemolítica fermenta ramosa y no xilosa.

Expresión e interpretación de resultados ***(véase Fig. 2.4; 2,3 y tablas: 2.1.1;2.12;2.13)***

Los resultados obtenidos se comparan con el Real Decreto RD 3484/2000 expuesto en el B.O.E. en el apartado correspondiente al grupo D: comidas preparadas a base de vegetales crudos.

ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO

PRUEBA TRIANGULAR

Con el fin de determinar durante cuánto tiempo podía almacenarse una ensalada de verduras sin que cambiaran sus características organolépticas, decidimos realizar una serie de pruebas triangulares durante el periodo de vida útil que determinamos en los análisis microbiológicos. Igualmente se decidió que sería beneficioso llevar a cabo algunas pruebas químicas: determinación de pH, para ver si existe indicio de fermentación en el producto; prueba microbiológica: recuentos de aerobios mesófilos, coliformes, mohos y levaduras

Objeto

Esta norma tiene por objeto indicar el procedimiento de análisis sensorial que permite determinar si existe diferencia entre las muestras de dos productos, por medio de una comparación triangular

Campo de aplicación.

El método se puede utilizar para la selección y entrenamiento de catadores y para controlar el grado de eficacia de las repuestas

Es una prueba especialmente indicada cuando se dispone de pocas personas y si no hay riesgo de fatiga sensorial.

Normas para consulta

UNE 87-001.- Análisis sensorial. Vocabulario

UNE87-004.- Análisis sensorial. Guía para la instalación de una sala de cata

UNE87-008.- Análisis sensorial. Metodología. Guía general.

Principio

Se trata de una prueba de diferenciación en la que se presentan simultáneamente muestras, dos de las cuales son iguales, con el fin de que la persona consultada identifique cual es la muestra desparejada.

Procedimiento operatorio

Preparación de las muestras

A cada juez se le presentó tres muestras codificadas por tres dígitos cada una y se le advirtió que una es diferente de las otras dos, pidiéndosele que identifique cual es la muestra diferente o desparejada.

El orden de la presentación fue aleatorio y no se utilizó vehículo alguno para ingerir el producto. La cantidad de la muestra fue aproximadamente de 28g (ASTM 1968) aunque en el cuestionario proporcionado se sugirió que podía repetir la degustación en caso de existir duda alguna.

Selección de Jueces

El catador que se utilizó en la prueba es un catador entrenado o panelista. Es una persona que posee bastante habilidad para la detección de alguna propiedad sensorial; que ha recibido cierta enseñanza teórica y práctica acerca de la evaluación sensorial, y que sabe qué es lo que se quiere medir en la prueba. Además suele realizar pruebas sensoriales con cierta periodicidad.

Detalles del panel de degustación y disponibilidad horaria de los jueces

El local estaba a una temperatura de 20-22 ºC. El local estaba provisto de un sistema de ventilación y la prueba se efectúo a las 17.00 debido a la disponibilidad horaria jueces

Expresión e interpretación de resultados ***(véase Fig. 3.1 y tabla 3.1)***

Hemos seleccionado para un nivel de significación del 1%, es decir, aceptamos un riesgo del 1% de admitir que existen diferencias, aunque no las haya.

ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO

DETERMINACIÓN DE pH

Principio

El principio básico de la determinación electrométrica del pH es la medida de la actividad de los iones hidrógeno por mediciones potenciométricas utilizando un método patrón de hidrógeno y otro de referencia. El electrodo de hidrogeno consiste en un electrodo de platino por el que se pasan burbujas de hidrogeno gaseoso a una presión de 101kPa. Debido a la dificultad de utilizarlo y al potencial de intoxicación del electrodo de hidrogeno se utiliza el electrodo de vidrio.

La fuerza electromotriz (fem) producida en el sistema de electrodo de vidrio varía linealmente con el pH y esta relación lineal se describe comparando la fem medida con el pH de diferentes tampones. El pH de la muestra se determina por extrapolación.

Dado que no se pueden medir las actividades iónicas aisladas, como aH+, el pH se define operacionalmente o en una escala potenciométrica. El instrumento para medir el pH se calibra potenciometricámente con un electrodo indicador (vidrio) y uno de referencia que tienen valores asignados de forma que:

$$pHB = -\log aH+$$

Donde: pHB= pH asignado al tampón NIST

La escala operativa del pH se utiliza para medir el pH de la muestra y se define como:

$pHX = pHB +/- F(ExEs)/2,303RT$

donde:

pHX= pH de la muestra medido potenciométricamente.

F= Faraday: $9,649 \times 10^4$ culombios/mol,

EX= muestra fem,V

ES= tampón fem,V

R= constante del gas 8,314 julio/(molºK) y

T= temperatura absoluta ºK

Expresión e interpretación de resultados ***(véase tabla 4.1 y Fig. 4.11;4.1.2)***

Los resultados obtenidos de pH en función del tiempo fueron comparados con las recomendaciones de la FOOD STANDARDS AGENCY para productos tratados mínimamente envasados en atmosfera modificada y refrigerados a temperaturas inferiores a 8ºC.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Análisis microbiológico: determinación de mesófilos totales, *Eschericia coli y Lysteria monocytogenes (véase Fig. 2.4; 2,3 y tablas: 2.1.1;2.12;2.13)*

Según la norma RD: 3484/2000 la cantidad de microorganismos indicadores: Mesófilos totales para un n= 5 unidades de los cuales c= 2 unidades superan los valores entre m=10^6 a los 6 días transcurridos desde el envasado. Aunque los microorganismo testigos falta de higiene y patógenos: *Eschericia coli y Lysteria monocytogenes* es inferior a 10 ufc/g y el límite máximo para estos microorganismos según la norma RD: 3484/2000 es superior a 10 ufc/g.

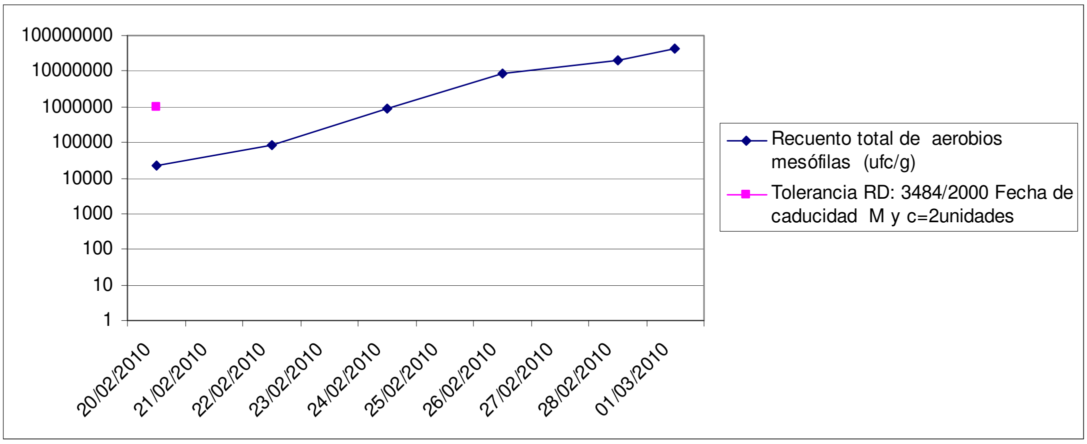

***Fig. 2.4*: Recuento total de aerobios mesófilos Vs Norma RD 3484/2000**

Indicadores			
Mesófilos *(véase fig. 2.4)*			
Muestras	**Fecha de comienzo**	**Recuento total de**	**Tolerancia RD: 3484/2000**
	De los análisis	**aerobios mesófilos**	**$m=10^6$;$M=10^7$yc=2**
	(día/mes/año)	**(ufc/g)**	
A	20/02/2010	23000	
B	22/02/2010	85000	1000000
C	24/02/2010	900000	
D	26/02/2010	8600000	
E	28/02/2010	20000000	
F	01/03/2010	42000000	

Tabla 2.1.1 **Recuento total de aerobios mesófilos**

Eschericia coli

Muestras	Fecha de comienzo De los análisis (día/mes/año)	(ufc)/g	Tolerancia RD: 3484/2000 Fecha de caducidad
A	20/02/2010	<10	N=5; C=2; m=10; M=10^2
B	22/02/2010	<10	
C	24/02/2010	<10	
D	26/02/2010	<10	
E	28/02/2010	<10	
F	01/03/2010	<10	

Tabla 2.1.2 **(ufc)/g de *Eschericia coli***

Listeria monocytogenes

Muestras	Fecha de comienzo De los análisis (día/mes/año)	(ufc)/g	Tolerancia RD: 3484/2000 Fecha de caducidad
A	20/02/2010	<10	N=5; C=2; m=10; $M=10^2$
B	22/02/2010	<10	
C	24/02/2010	<10	
D	26/02/2010	<10	
E	28/02/2010	<10	
F	01/03/2010	<10	

Tabla 2.1.3 **(ufc)/g de** ***Listeria monocytogenes***

<table>
<tr><th colspan="3">Normas microbiológicas de comidas preparadas a base de vegetales crudos (grupo D)</th></tr>
<tr><td>Indicadores:</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td></td><td>Día de elaboración</td><td>Día de caducidad</td></tr>
<tr><td>Recuento total de aerobios mesófilos</td><td>n= 5,c=2
m= 10^5, M=10^6</td><td>n= 5,c=2
m= 10^6, M=10^7</td></tr>
<tr><td>Testigos de falta de higiene:</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Escherichia coli</td><td colspan="2">n= 5,c=2
m= 10, M=10^2</td></tr>
<tr><td>Patógenos</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Listeria monocytogenes.</td><td colspan="2">n= 5,c=2
m= 10, M=10^2</td></tr>
<tr><td colspan="3">n= número de unidades de la muestra

m= valor umbral del número de bacteria. El resultado se considerará satisfactorio si todas las unidades que componen la muestra tienen un número de bacterias igual o menor a m.

M= valor límite del número de bacterias. El resultado se considerará no satisfactorio si una o varias unidades que componen la muestra tienen un número de bacterias igual o mayor a M.

c= número de unidades de la muestra, cuyo número de bacterias podrá situarse entre m y M. La muestra seguirá considerándose aceptable si las demás unidades tienen un número de bacterias menor o igual a m</td></tr>
</table>

Fig. 2.3 **REAL DECRETO 3484/2000 de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas**

Análisis organoléptico: prueba triangular ***(véase Fig. 3.1 y tabla 3.1)***

En función de la sumatoria de respuestas correctas obtenidas en la prueba (*tabla 3.1.1)* se realizó la comparación correspondiente de acuerdo con la *fig.3.1*expuesta de la norma UNE 87-006-92 y a un nivel de significancia del 1% concluimos de que existe diferencia significativa en el olor a fermentado a partir del 27/02/2010.

Fecha de realización	**Nº Jueces**	**Correctas**	**Incorrectas**
20/02/2010	8		8
21/02/2010	8		8
22/02/2010	8		8
23/02/2010	8		8
24/02/2010	8		8
25/02/2010	8		8
26/02/2010	8	2	6
27/02/2010	8	5	4
	Σ Correctas	**7**	

Tabla 3.1.1.-**ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO: Prueba triangular**

Niveles de significación de la prueba triangular			
Número de repuestas	**Número mínimo de repuestas necesarias para alcanzar un nivel de significancia de**		
	5%	**1%**	**0,1%**
8		**7**	

***Fig.3.1*Niveles de significación de la prueba triangular (UNE 87-006-92)**

Análisis físico químico: determinación de potenciométrica de pH *(véase tabla 4.1 y Fig. 4.11;4.1.2)*

De acuerdo con la *fig. 4.1.1* y *la tabla 4.1* determinamos que existió una variación de pH de 1,3 desde el 20/02/2010 hasta el 28/02/2010. En la *fig.4.1.2* se muestra las concentraciones de H^+ conforme aumenta el número de días para obtener la concentración de H^+ despejamos de la fórmula pH= -log $[H^+]$.
Aunque en la normativa española no exista una reglamentación referente al control de pH en esta clase productos consideramos las recomendaciones de la FOOD STANDARDS AGENCY que toma como limite un pH= 5 o inferior para inhibir el crecimiento del *C. botulinum* .

DETERMINACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE pH (a 20 ºC)		
Fecha de realización	pH	$[H^+]$
		$6{,}309E^{-07}$
20/02/2010	6,2	$1{,}995E^{-06}$
22/02/2010	5,7	$3{,}162E^{-06}$
24/02/2010	5,5	$6{,}309E^{-06}$
26/02/2010	5,2	$1{,}258E^{-05}$

***Tabla 4.1* ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICA: determinación potenciométrica de pH**

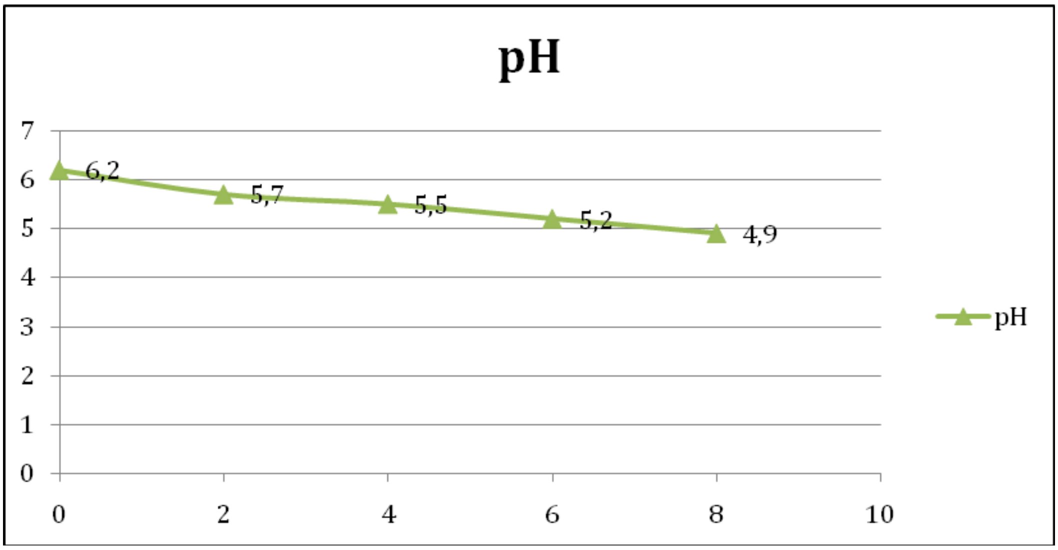

Fig.4.1.1 **pH Vs Tiempo (número de días)**

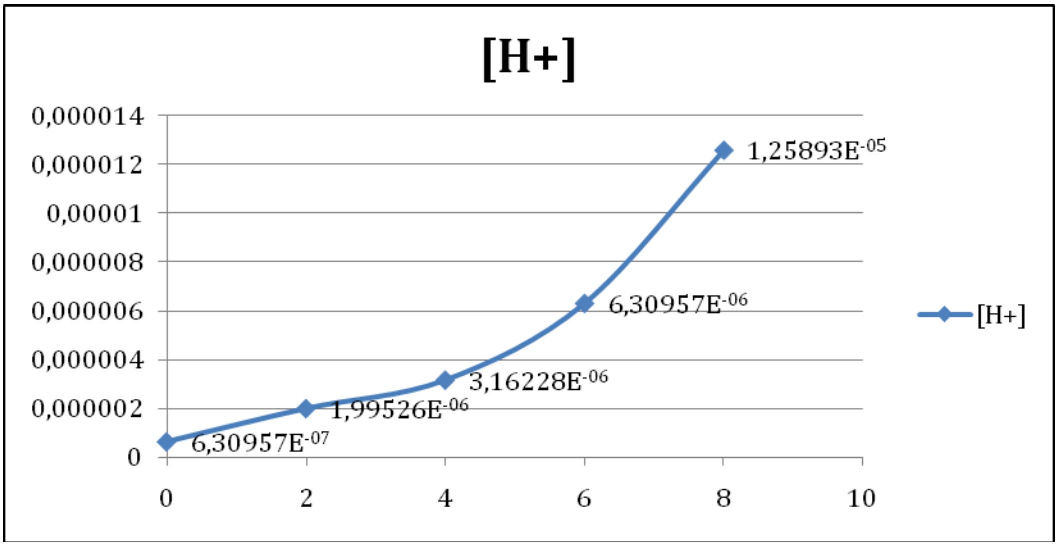

Fig.4.1.2 **[H $^{+}$] Vs Tiempo (número de días)**

CONCLUSIONES

- A partir del 26/02/2010 se notó un 13,16% por encima del umbral de ufc/g: m=10^6ufc/g y contrastándolo con la RD 3484/200 nos indica que para un c (número de unidades de la muestra) igual a dos unidades se considerará inaceptable el producto si m (valor umbral del número de bacteria) es mayor o igual a 10^6 ufc/g .
- Posiblemente la concentración de CO_2 generado por la actividad respiratoria de los vegetales; al descenso de oxígeno dentro del envase ya la disminución del pH generado por la actividad microbiana ejercieron un efecto inhibitorio sobre *Eschericia Coli* y *Listeria monocytogenes*.
- En el envase inicial se notó condensación lo que nos da una idea de que posiblemente se ha roto la cadena de frío dentro del producto traduciéndose en un detrimento organoléptico del mismo.
- El efecto negativo en la calidad organoléptica en el producto fue producido por las actividades enzimáticas y microbiana presente en los tejidos.

RECOMENDACIONES

- Se podría realizar un estudio más extendido modificando distintos tipos de envases frente a distintas temperaturas y actividades respiratorias de los vegetales con el objeto de conocer cuál es el envase mas apropiado para reducir las condensaciones y como consecuencia evitar la proliferación de mohos y levaduras y mejorar la calidad organoléptica del producto.

BIBLIOGRAFIA

- Roland P. Carpenter, David H. Lyon, Terry A. Hasdell. Análisis Sensorial en el desarrollo y control de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. pp.131-133.
- Herbert Stone, Joel l. Sidel. Sensory evaluation practices Second edition. Academic Press, Inc.California. USA. pp 143-200
- Day,B.P.F Guidelines for the Manufacture and Handling of Modified Atmosphere Packed Food Products, Technical ManualNo34, Campdem Food and Drink Research Association Chipping Campden, Glos, New Jersey, UK.
- Holdswoth, S.D. (1983) The preservation of Fruit and Vegetable Food Products, Science in Horticulture Series, Mac Millan Press, London UK, pp 61-98
- Zomorodi,B. (1990) The technology of Processed/Prepackage Produce. Preparing the Product for Modified Atmosphere Packing (MAP). CAP'90, Schotland Business Research Inc.,New Jersey, USA, pp 301-317.
- http://calidad.fundacionidea.com/iiicongreso/comunicaciones/x1100.pdf
- http://www.iata.csic.es/sicura/Sevilla/Congreso/documentos/resumenes-cibsa2006.doc
- http://www.saludcantabria.org/saludPublica/pdf/Trazabilidad.pdf
- http://www.madrimasd.org/informacionIDI/biblioteca/publicacion/doc/VT/VT3_Tecnologias_de_Envasado_en_Atmosfera_Protectora.pdf
- http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/publication/vacpacguide.pdf