

**USO DEL MICROONDAS PARA ESTERILIZACION DE ALIMENTOS Y
MEDIOS DE CULTIVO NUTRITIVOS NO SELECTIVOS**



Pontificia Universidad
JAVERIANA
Bogotá

CARLOS ANDRES REPIZZO RADA

TRABAJO DE GRADO

Presentado como requisito parcial

Para optar el título de

Microbiólogo Industrial

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA

FACULTAD DE CIENCIAS

MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL

BOGOTA

2010

**USO DEL MICROONDAS PARA ESTERILIZACION DE ALIMENTOS Y
MEDIOS DE CULTIVO NUTRITIVOS NO SELECTIVOS**

CARLOS ANDRES REPIZZO RADA

APROBADO

**Gerardo Moreno M.Sc
Jurado**

**Dra. Janeth Arias Palacios M.Sc.
Bacterióloga
Directora**

TABLA DE CONTENIDO

1. JUSTIFICACION.....	5
2. INTRODUCCION	7
3. OBJETIVOS.....	10
4. DEFINICION Y CLASIFICACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.....	11
4.1 MEDIO DE CULTIVO CLASIFICADO POR COMPOSICION.....	11
4.1.1 MEDIO DE CULTIVO DEFINIDO QUÍMICAMENTE.	11
4.1.2 MEDIO DE CULTIVO QUÍMICAMENTE INCOMPLETO.	11
4.2 CLASIFICACION DEL MEDIO DE CULTIVO SEGÚN LA CONSISTENCIA 11	
4.2.1 MEDIO DE CULTIVO LIQUIDO.	11
4.2.2 MEDIO DE CULTIVO SOLIDO Y SEMISÓLIDO.....	11
4.3 CLASIFICACION SEGÚN SU USO.....	12
4.3.1 MEDIO DE TRANSPORTE.....	12
4.3.2 MEDIO DE PRESERVACIÓN	12
4.3.3 MEDIO DE RESUCITACIÓN.....	12
4.3.4 MEDIO DE ENRIQUECIMIENTO.....	12
4.3.5 MEDIO DE ENRIQUECIMIENTO SELECTIVO.....	12
4.3.6 MEDIO DE ENRIQUECIMIENTO NO SELECTIVO.	12
4.3.7 MEDIO DE AISLAMIENTO.	12
4.3.8 MEDIO DE AISLAMIENTO SELECTIVO.	12
4.3.9 MEDIO DE AISLAMIENTO NO SELECTIVO.	13
4.3.10 MEDIO DIFERENCIAL.	13
4.3.11 MEDIO DE IDENTIFICACIÓN.....	13
4.3.12 MEDIO DE MÚLTIPLES USOS.....	13
4.4 CLASIFICACION DEL MEDIO DE CULTIVO SEGÚN EL METODO DE PREPARACION.....	13
4.4.1 MEDIO LISTO PARA USAR.....	13
4.4.2 MEDIO DE CULTIVO PREPARADO CON FORMULAS COMERCIALES DESHIDRATADAS....	13
5. CONTENIDO BASICO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO NUTRITIVOS NO SELECTIVOS DESHIDRATADOS.....	14
5.1 EXTRACTOS Y OTROS PREPARADOS	14
5.1.1 EXTRACTO DE LEVADURA.....	14
5.1.2 EXTRACTO DE MALTA.....	14
5.1.3 EXTRACTO DE CARNE	15
5.2 AGAR-AGAR	15
5.2.1 AGAR TECNICO.....	16
5.2.2 AGAR BACTERIOLOGICO TIPO EUROPEO	16
5.2.3 AGAR BACTERIOLOGICO TIPO AMERICANO.	17
5.3 PEPTONAS-TRIPTONA	17

5.3.1 TRIPTONA.....	18
5.3.2 PEPTONA DE CARNE.....	18
5.3.3 PEPTONA DE SOJA.....	18
5.3.4 PEPTONA DE GELATINA.....	19
5.3.5 PEPTONA DE CASEÍNA HIDROLIZADA	19
6. RECOMENDACIONES GENERALES DE EMPLEO PARA LOS MEDIOS DE CULTIVO DESHIDRATADOS Y PREPARADOS	20
6.1 PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO DESHIDRATADOS.....	20
6.2 ESTERILIZACIÓN	21
6.2.1 AUTOCLAVADO.....	21
6.2.2 FILTRACIÓN.....	21
6.2.3 TINDALIZACIÓN.....	21
6.3 CONSERVACIÓN DE LOS MEDIOS PREPARADOS	22
6.4 CONSERVACIÓN DE LOS MEDIOS PREPARADOS, LISTOS PARA SU USO.....	22
6.5 REFUNDIDO DE MEDIOS SÓLIDOS	23
7. RADIACION ELECTROMAGNETICA NO IONIZANTE (MICROONDAS) EN ALIMENTOS Y MEDIOS DE CULTIVO	24
8. APLICACIONES DE LAS MICROONDAS EN LOS MEDIOS DE CULTIVO.....	28
9. FACTORES MÁS IMPORTANTES QUE INCIDEN EN EL CALENTAMIENTO Y ESTERILIZACION DE ALIMENTOS Y MEDIOS DE CULTIVO.....	30
9.1 DISEÑO DEL EQUIPO.....	30
9.1.1 TIPO DE HORNO	30
9.1.2 FRECUENCIA UTILIZADA.....	31
9.1.3 POTENCIA.....	31
9.2 COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES FÍSICAS	31
9.3 TAMAÑO Y FORMA.....	32
10. ESTERILIZACION DE ALIMENTOS CON MICROONDAS Y SU INCIDENCIA PARA EL USO EN MEDIOS DE CULTIVO.....	34
11. INCIDENCIA DEL USO DEL MICROONDAS EN LOS ALIMENTOS CON COMPONENTES SIMILARES A LOS MEDIOS DE CULTIVO NUTRITIVOS NO SELECTIVOS.....	38
11.1 PROTEÍNAS.....	39
11.2 HIDRATOS DE CARBONO.....	42
11.3 MINERALES.....	43
11.4 VITAMINAS.....	45
12. CONCLUSIONES	48
13. RECOMENDACIONES	49

RESUMEN

Se referenció el uso de las microondas en medios de cultivo y alimentos y exponer los factores más importantes que se deben de tener en cuenta al manipular este tipo de productos y los efectos secundarios que se pueden presentar en los diferentes componentes. Se llevo a cabo una revisión bibliográfica de los diferentes estudios que avalan el uso de las microondas como método alternativo diferente al método tradicional para esterilizar y calentar tanto alimentos como medios de cultivo. El calentamiento con microondas es más rápido y eficiente que los métodos convencionales y reducen la carga microbiana no alterando el contenido y los nutrientes de los productos.

Palabras claves: esterilización, microondas, medio de cultivo.

ABSTRACT

It references the use of microwaves in culture medium and food and expose the most important factors that must be taken into account when handling these products and side effects that may occur in different components. It conducted a literature review of various studies supporting the use of microwaves as an alternative method than the traditional method for sterilizing and heating food and culture media. The microwave heating is faster and more efficient than conventional methods and reduce the microbial load without altering the nutrient content and products.

Keywords: sterilization, microwave, culture medium.

1. JUSTIFICACION

En los últimos años, el uso del horno de microondas dentro de la industria alimentaria ha ganado popularidad. Entre sus usos se incluye el descongelar, secar y cocinar alimentos, mas la inactivación de microorganismos que pueda o no ejercer este tipo de tratamiento es tema de discusión mundial. La ubicuidad de los microorganismos en el medio ambiente, la resistencia de algunos de estos a temperaturas elevadas y a sustancias antisépticas hace necesaria la búsqueda de algún método de esterilización rápido y eficiente. El presente trabajo propone estudiar el uso que en alimentos se le da a las ondas electromagnéticas de alta frecuencia comprendidas entre 2450 MHz y 915 MHz (microondas) cuya propiedad es la de hacer vibrar moléculas bipolares haciendo que éstas se friccionen alcanzando temperaturas elevadas en un tiempo corto, alternativa a emplear en el calentamiento y esterilización de medios de cultivo enriquecidos por su capacidad de permitir el crecimiento de cualquier tipo de microorganismo sea patógeno o no y ya que las ondas electromagnéticas, aparte de tener un efecto híper térmico, también presenta un efecto adverso en las funciones vitales de las bacterias.

En Colombia el uso de tecnologías no convencionales tales como la irradiación por microondas y su efecto en los medios de cultivo no ha sido considerado hasta el momento como objeto de investigación.

Sin embargo, a nivel internacional han sido reportados varios estudios en su efecto letal sobre los microorganismos y sus efectos colaterales en los alimentos y seres humanos.

¿AFECTA EL USO DE ONDAS ELECTROMAGNETICAS EN LA COMPOSICIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y SU USO EN LA PROLIFERACIÓN, MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA DE LAS CÉLULAS QUE SE PROPAGAN EN ELLOS?

¿QUE CONDICIONES SE DEBEN TENER EN CUENTA PARA QUE LOS TRATAMIENTOS RESULTEN EFECTIVOS A LA HORA DE UTILIZAR LA RADIACION ELECTROMAGNETICA EN MEDIOS DE CULTIVO?

¿DEMUESTRA SER LA RADIACION UN MEDIO EFECTIVO EN LA INACTIVACION DE MICROORGANISMOS?

2. INTRODUCCION

En el laboratorio de microbiología, muchos ensayos y procedimientos dependen de que los medios de cultivo sean homogéneos y produzcan resultados reproducibles. Los medios de cultivo se usan con todas las técnicas de cultivo tradicionales y también en muchas técnicas alternas. En el comercio se pueden obtener muchas formulas de medios de cultivo y en la literatura se describen muchas más, diseñadas para fines de crecimiento específico. Además, en los laboratorios donde se hacen exámenes microbiológicos, el objetivo principal es mantener, resucitar, hacer crecer, detectar y/o enumerar una gran variedad de microorganismos (ICONTEC GTC 78, 2002). Para la eliminación y/o control de microorganismos contaminantes existen dos procedimientos generales de control: 1) la esterilización, método por el cual se logra la destrucción total de gérmenes en los objetos inanimados que se usan en las operaciones quirúrgicas, como son: ropa de campos, gorro, cubre boca, bata, guantes, instrumental, suturas y soluciones isotónicas o de otro tipo. La esterilización no admite grados, tiene que ser absoluta y se puede llevar a cabo mediante varias técnicas: a) por vapor (autoclave) con una presión de 18 a 20 libras y una temperatura de 121° C por 30 minutos (Alexander, 1989), esterilizándose por este método materiales de fibra de algodón, vidrio, goma, acero quirúrgico, madera, teniendo cuidado con materiales de plásticos sensibles al calor (Álvarez y Mendoza, 1990); b) por calor seco (horno) usando 180° C por 30 minutos para la esterilización de pipetas y cristalería que se utiliza en laboratorios así como instrumental de cirugía; c) por ebullición de agua para esterilizar instrumentos, suturas resistentes al calor, no utilizándose para indumentaria de fibra de algodón y d) por sustancias químicas (formaldehído) para esterilizar objetos termosensibles (Álvarez y Mendoza, 1990) 2) la desinfección, método por el cual se realiza un control de la carga bacteriana sobre una superficie, piel, muebles, pisos, paredes, techos, aparatos de manejo y diferentes zonas del laboratorio. Una alternativa para la esterilización y calentamiento de medios de cultivo es la utilización de microondas. Microondas es un término descriptivo que se utiliza para identificar ondas electromagnéticas en el espectro de frecuencias comprendido entre 1GHZ y 30GHZ, que corresponden a las longitudes de ondas de 1 a 30 cm. Las microondas son ondas parecidas a la radio y televisión, situadas entre la

radiofrecuencia y la luz infrarroja, compartiendo las propiedades de ambas radiaciones. La microonda es una forma de energía electromagnética y no calorífica, la cual se caracteriza por ser una onda corta que viaja a la velocidad de la luz y tiene la propiedad de hacer vibrar las moléculas de los cuerpos que atraviesa, calentándolos. Es posible, por tanto obtener una elevación de temperatura más rápida que en calentamiento convencional. Este movimiento entre las moléculas causa una fricción interna, la cual a su vez da lugar a unas condiciones hipertérmicas que afectan a las moléculas ionizables y polares (sales minerales y agua, principalmente) e interfieren en las membranas celulares disminuyendo su actividad fisiológica y supervivencia. El proceso con microondas genera calor del interior del producto al exterior a través de las vibraciones moleculares, en cambio con el calentamiento convencional, el calor se aplica desde el exterior hacia el interior, generando un aumento de temperatura. Este incremento está determinado por la potencia del equipo, así como por las propiedades físicas y térmicas de la muestra. Un medio de cultivo que posea un bajo valor de conductividad térmica puede calentarse rápidamente utilizando microondas, lo cual no ocurre en los métodos tradicionales. Las moléculas actúan como barras magnéticas tratando de orientarse o polarizarse ellas mismas bajo la acción del campo electromagnético. Hay que tener en cuenta que los medios refundidos tienen una cierta tendencia al oscurecimiento y precipitación, que aumenta cuando se mantienen fundidos durante periodos de tiempo prolongados y a temperaturas entre 45-65°C y que ello puede suponer una pérdida de las características nutritivas o selectivas del medio, por lo que es aconsejable, no fundirlos más de una vez y no mantenerlos en el calor largos periodos de tiempo. En este sentido son recomendables los métodos rápidos como el que se obtiene con el fundido de medios en el microondas, donde se debe dosificar la intensidad de la radiación y durante tiempos lo más cortos posibles. Las fuertes intensidades de radiación, pueden provocar refundidos parciales, ebulliciones súbitas con eventuales derrames del medio pudiendo alterar las cualidades del mismo. El principal inconveniente de los hornos microondas es que en la cámara existen puntos fríos y las propiedades dieléctricas no uniformes de diferentes medios de cultivo pueden provocar un sobrecalentamiento o un calentamiento insuficiente de forma localizada, por lo que los medios con agar pueden sobrecalentarse y los frascos cerrados herméticamente pueden explotar. Es aconsejable que los medios de cultivo fundidos en el horno microondas tengan un tiempo de atemperación

después del calentamiento para permitir que la temperatura se equilibre (Adams, 1997) y al mismo tiempo sean comparados, mediante un control de la calidad, con aquellos obtenidos por técnicas convencionales (Lightfoot, 2002).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

REFERENCIAR LA VIABILIDAD DEL USO DE MICROONDAS EN PROCESOS DE CALENTAMIENTO Y ESTERILIZACION DE MEDIOS DE CULTIVO NUTRITIVOS NO SELECTIVOS PREPARADOS A PARTIR DE MEDIOS DESHIDRATADOS PARA INACTIVAR LA CARGA MICROBIANA PRESENTE

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- **SEÑALAR LAS CONDICIONES BASICAS EN CADA UNA DE LAS ETAPAS DEL MANEJO DE MEDIOS DE CULTIVO CON MICROONDAS**
- **SEÑALAR LOS EFECTOS EN LOS ALIMENTOS Y LOS MEDIOS DE CULTIVO TRATADOS CON MICROONDAS**

4. DEFINICION Y CLASIFICACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Se define como medio de cultivo a la formula de sustancias, en forma líquida, semisólida o sólida, formada por constituyentes naturales y/o sintéticos, diseñados para resistir la multiplicación o preservar la viabilidad de los microorganismos (ICONTEC GTC 78, 2002).

4.1 MEDIO DE CULTIVO CLASIFICADO POR COMPOSICION

4.1.1 Medio de cultivo definido químicamente: medio de cultivo formado únicamente por constituyentes definidos químicamente (por ejemplo, estructura molecular y grado de pureza conocidos).

4.1.2 Medio de cultivo químicamente incompleto: medio de cultivo formado total o parcialmente por materiales naturales, procesados, o de otra forma, cuya composición química no está totalmente definida.

4.2 CLASIFICACION DEL MEDIO DE CULTIVO SEGÚN LA CONSISTENCIA

4.2.1 Medio de cultivo liquido: medio de cultivo formado por una solución acuosa con uno o varios constituyentes (por ejemplo, agua peptonada, caldo nutritivo).

4.2.2 Medio de cultivo solido y semisólido: medio de cultivo líquido, el cual contiene materiales solidificantes (por ejemplo, agar-agar, gelatina, etc.) en diferentes concentraciones.

4.3 CLASIFICACION SEGÚN SU USO

4.3.1 Medio de transporte: medio de cultivo diseñado para preservar y mantener la viabilidad de microorganismos durante el periodo entre la toma de la muestra y su procesamiento en el laboratorio.

4.3.2 Medio de preservación: medio de cultivo desarrollado para la preservación y el mantenimiento de microorganismos durante largos periodos de tiempo, que permite la recuperación después de este periodo (por ejemplo, medio de huevo *Dorset*).

4.3.3 Medio de resucitación: medio de cultivo que permite a microorganismos estresados y lesionados repararse y recuperar su capacidad de crecimiento normal sin promover necesariamente su multiplicación.

4.3.4 Medio de enriquecimiento: medio de cultivo predominantemente líquido, el cual debido a su composición, proporciona condiciones particularmente favorables para la multiplicación de los microorganismos.

4.3.5 Medio de enriquecimiento selectivo: medio que promueve el crecimiento de microorganismos específicos, al tiempo que inhibe, total o parcialmente, el crecimiento de otros microorganismos (por ejemplo, medio Rappaport-Vassiliadis).

4.3.6 Medio de enriquecimiento no selectivo: medio enriquecido, el cual promueve el crecimiento de la mayoría de los microorganismos (por ejemplo, caldo nutritivo).

4.3.7 Medio de aislamiento: medio de cultivo sólido o semisólido, el cual promueve el crecimiento de microorganismos.

4.3.8 Medio de aislamiento selectivo: medio que promueve el crecimiento de microorganismos específicos, al tiempo que inhibe otros microorganismos (por ejemplo, agar PALCAM, agar *MacConkey*).

4.3.9 Medio de aislamiento no selectivo: medio que no está diseñado para inhibir selectivamente microorganismos (por ejemplo, agar nutritivo).

4.3.10 Medio diferencial: medio de cultivo que permite el ensayo de una o varias características fisiológicas o bioquímicas de los microorganismos para su identificación (por ejemplo, medio de úrea, agar *Kligler*).

4.3.11 Medio de identificación: medio de cultivo diseñado para producir una reacción específica de identificación, que no requiere ningún ensayo adicional para confirmación.

4.3.12 Medio de múltiples usos: medio de cultivo a los cuales se les puede asignar diferentes categorías; Ej.: el agar sangre es un medio de resucitación, un medio de aislamiento y un medio diferencial el cual se usa para detectar hemolisis.

4.4 CLASIFICACION DEL MEDIO DE CULTIVO SEGÚN EL METODO DE PREPARACION

4.4.1 Medio listo para usar: medio de cultivo suministrado en recipientes listos para usar (por ejemplo, cajas Petri o tubos u otros recipientes): un medio completo listo para usar; un medio incompleto al cual se agregan componentes hábiles al momento de usarlo.

4.4.2 Medio de cultivo preparado con formulas comerciales deshidratadas: medio de cultivo seco que no está listo para usar inmediatamente (por ejemplo, en polvo, granulado, productos liofilizados). La rehidratación dará una de dos clases de medio: medio completo listo para usar; medio incompleto al cual se agregan componentes hábiles al momento de usarlo (ICONTEC GTC 78, 2002).

5. CONTENIDO BASICO DE LOS MEDIOS DE CULTIVO NUTRITIVOS NO SELECTIVOS DESHIDRATADOS

5.1 EXTRACTOS Y OTROS PREPARADOS

Los extractos son infusiones de carnes, de plantas o de levaduras que producen preparados acuosos comúnmente utilizados como base nutritiva en los medios de cultivo para el crecimiento de diversos microorganismos. Estos productos contienen aminoácidos, péptidos de bajo peso molecular, carbohidratos, vitaminas y minerales. El extracto es obtenido al hervir una cantidad de tejido (organismo) y utilizar el líquido producido o, más habitualmente, el sólido obtenido al desecar la infusión.

5.1.1 EXTRACTO DE LEVADURA: Ingrediente para trabajos generales en bacteriología y como base nutritiva en los medios de cultivo para el crecimiento de diversos microorganismos. El extracto de levadura se obtiene a partir de células de levadura autolisadas y es rico en vitaminas del grupo B aminoácidos y otros factores de crecimiento.

Especificaciones

pH sol. 2%.....	6,0-8
Pérdida por desec. a 105°C.....	10 %
Residuo de calcinación (en SO ₄).....	16 %
Nitrógeno Total.....	≥10 %

5.1.2 EXTRACTO DE MALTA: Ingrediente nutricional en la preparación de medios usado para el cultivo de hongos y levaduras. Polvo fino de color beige tostado, soluble en agua, procedente de la malta germinada y secada por evaporación a baja temperatura. Tiene un alto contenido en carbohidratos y no debe ser sobrecalentado para no generar oscurecimiento de los medios de cultivo.

Especificaciones

pH sol. 5%.....	4,5-6,0
Pérdida por desec. a 105°C.....	6 %
Residuo de calcinación (en SO ₄).....	4 %

5.1.3 **EXTRACTO DE CARNE:** Es utilizado para trabajos generales en bacteriología y como base nutritiva en los medios de cultivo para el crecimiento de diversos microorganismos. El extracto de carne está preparado a partir de carne de vacuno fresca. Se encuentra en diversas formulaciones como base nutritiva. Polvo de color beige, soluble en agua.

Especificaciones

pH sol. 2%.....	6,5-7
Pérdida por desec. a 105°C.....	6 %
Residuo de calcinación (en SO ₄).....	16 %
Nitrógeno total.....	≥10 %

5.2 AGAR-AGAR

Agente solidificante utilizado en medios de cultivo bacteriológicos y en otras aplicaciones (cultivo de tejido, difusión inmunológica, estudios nutricionales, etc.). El Agar es un poligalactósido que se obtiene a partir de algas rojas marinas. La mayoría de microorganismos son incapaces de degradarlo. Las concentraciones más habitualmente utilizadas en los medios de cultivo bacteriológicos son de 13-20 g/l para medios sólidos y 5-7 g/l para medios semi-sólidos. En las distintas aplicaciones, se precisan distintos grados de pureza. El tratamiento de un Agar y los métodos utilizados en su purificación dan, básicamente, 4 tipos de Agar: Agar Técnico, Agar Bacteriológico Tipo Americano, Agar Bacteriológico Tipo Europeo y Agar Purificado.

5.2.1 AGAR TECNICO: el agar técnico es el de menor pureza y puede ser utilizado para la preparación de medios de cultivo para microorganismos no exigentes y en el que el medio de cultivo no requiera una transparencia total.

Sinónimos

Agar-Agar

Especificaciones

Fuerza del gel al 1,5% (Método Nikan).....700-1100 g/cm²

pH en gel al 1,5%..... 6,0-7,5

LIMITE MAXIMO DE IMPUREZAS

Pérdida por desec. a 105°C..... 20 %

Residuo de calcinación (en SO₄)..... 5 %

Merck Index 12, 182 13, 184 •Sax AEX 250 • Römpf 8, 86 • RFE I, 375 (1997)
•USP-NF 30 • BP 2007 • Ph. Eur. IV, 590 (2002) 5.0, 928 (2005) • F.C.C. IV, 17 V,
17 • Directiva 78/663/CEE, 246 98/86/CE, 8 • BOE 193, 25159 (12-8-88) 286,
41341 (30/11/99) •

5.2.2 AGAR BACTERIOLOGICO TIPO EUROPEO: agar soluble en agua purificada, proporciona soluciones transparentes. Es el más indicado en la preparación de medios de cultivo en general. Es el más utilizado en Europa para los cultivos bacteriológicos. Está ausente de inhibidores que pueden interferir el crecimiento microbiano y es altamente transparente.

Especificaciones

Intervalo de gelificación al 1,5%.....32-39,5°C

Intervalo de fusión al 1,5%.....80-90°C

Fuerza del gel al 1,5% (Método Nikan).....800-1100 g/cm²

pH en gel al 1,5%..... 6,0-7,5

LIMITE MAXIMO DE IMPUREZAS

Pérdida por desec. a 105°C..... 10 %

Residuo de calcinación (en SO₄)..... 5 %

5.2.3 AGAR BACTERIOLOGICO TIPO AMERICANO: este agar es similar al Agar Bacteriológico Tipo Europeo pero con una menor fuerza de gel. A una concentración del 1,5% la fuerza de gel del tipo A es de 600-850 g/cm, mientras que el tipo E es de 800-1100g/cm. Con éste agar se debe trabajar a mayores concentraciones. Es usado en la preparación de medios de cultivo y otras aplicaciones bacteriológicas. Está ausente de inhibidores que pueden interferir el crecimiento microbiano y es altamente transparente.

Especificaciones

Intervalo de gelificación al 1,5%.....	32-38°C
Intervalo de fusión del gel al 1,5%.....	80-95°C
Fuerza del gel al 1,5% (Método Nikan).....	600-850 g/cm ²
pH en gel al 1,5%.....	6-7

LIMITE MAXIMO DE IMPUREZAS

Pérdida por desec. a 105°C.....	20 %
Residuo de calcinación (en SO ₄).....	6 %

5.3 PEPTONAS-TRIPTONA

Las peptonas y las triptonas son los productos que se obtienen por la degradación proteolítica de proteínas de diversos orígenes (carne, soja, malta, caseína), obtenidas por digestión péptica, trípica, pancreática, etc. El producto obtenido es rico en aminoácidos libres y péptidos de pequeño peso molecular. Es utilizado como fuente de Nitrógeno por gran diversidad de organismos. Los diferentes orígenes dan peptonas con diferentes aportes nutricionales. Las más utilizadas son la Peptona de Caseína y la Bacteriológica, sin

embargo, a veces es necesaria la mezcla de peptonas de diferentes orígenes para el cultivo de determinados microorganismos.

5.3.1 TRIPTONA: es el producto resultante de una digestión pancreática de caseína. Se usa como fuente de nitrógeno en algunos medios de cultivo destinados a la determinación de hongos y ciertas bacterias.

Especificaciones

pH sol. 2%.....	6,5-7,5
Pérdida por desec. a 105°C.....	10 %
Residuo de calcinación (en SO4).....	15 %
Nitrógeno total.....	≥5 %

5.3.2 PEPTONA DE CARNE: La Peptona de Carne se obtiene a partir de una digestión enzimática de tejido animal. Es utilizada para trabajos generales en bacteriología y como fuente de nitrógeno para una gran diversidad de organismos.

Especificaciones

pH sol. 2%.....	6,5-7,5
Pérdida por desec. a 105°C.....	6 %
Residuo de calcinación (en SO4).....	15 %
Nitrógeno Total.....	≥10 %

5.3.3 PEPTONA DE SOJA: La Peptona de Soja es un digerido papaínico de soja. Por su elevado contenido de hidratos de carbono, es una excelente base nutritiva incluso para microorganismos exigentes.

Especificaciones

pH sol. 2%.....	6,5-7,5
Pérdida por desec. a 105°C.....	8 %

Residuo de calcinación (en SO ₄).....	15 %
Nitrógeno Total.....	≥7 %

5.3.4 PEPTONA DE GELATINA: Es una digestión pancreática de la gelatina de origen porcino, pobre en Cistina y en Triptófano y con bajo contenido de carbohidratos.

Especificaciones

pH sol. 2%.....	6-7,5
Pérdida por desec. a 105°C.....	10 %
Residuo de calcinación (en SO ₄).....	15 %
Nitrógeno Total.....	≥10 %

5.3.5 PEPTONA DE CASEÍNA HIDROLIZADA: Hidrolizado de caseína, preparado por digestión con ácido clorhídrico bajo presión y neutralizado con Sodio Hidróxido. Presenta contenidos muy bajos de cistina y triptófano y está libre de vitaminas.

Especificaciones

pH sol. 2%.....	6,5-7,5
Pérdida por desec. a 105°C.....	5 %
Residuo de calcinación (en SO ₄).....	45 %
Nitrógeno total.....	≥5 %

6. RECOMENDACIONES GENERALES DE EMPLEO PARA LOS MEDIOS DE CULTIVO DESHIDRATADOS Y PREPARADOS

6.1 PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO DESHIDRATADOS

Por regla general los ingredientes de los medios de cultivo se disuelven por agitación y calentando ligeramente en agua destilada. Los medios que contienen agente gelificante se suelen hervir durante 1 minuto para conseguir su disolución. Aunque en la mayor parte de los medios hay que calentar, hay que evitar sobrecalentamientos innecesarios. Al distribuir el medio debe hacerse de forma uniforme, para que el precipitado quede bien repartido. Posteriormente a la disolución se procede a la esterilización del medio. En algunos casos existen componentes lábiles que no pueden añadirse en el medio de cultivo deshidratado y que será necesario su esterilización por separado y una posterior incorporación de forma aséptica para obtener el medio completo.

El pH de los medios de cultivo se ajusta durante su fabricación a los valores descritos en cada uno de ellos. Sin embargo, la calidad del agua que se utiliza en su hidratación, la utilización de medios no recientes etc., pueden modificar este parámetro por lo que es aconsejable verificarlo y reajustarlo si fuera necesario. En algunos casos se puede ajustar el pH después de la esterilización de forma aséptica y utilizando soluciones ácidas (Acido Clorhídrico) o básicas (Sodio Hidróxido) estériles. En los medios sólidos la medida se hace a 45-50°C (el agar todavía no ha gelificado) mientras que en los líquidos se hace a temperatura ambiente. Los medios ácidos (pH<5) pueden presentar malas gelificaciones debido a la posible hidrólisis del Agar con la temperatura. Son medios que no es aconsejable refundirlos, y si es imprescindible, es aconsejable añadirles agar. El método más comúnmente utilizado para la esterilización es el Autoclavado. Sin embargo, hay ingredientes en algunos medios que no mantienen sus propiedades si se someten a altas temperaturas. Para ellos existen diferentes procesos de esterilización que están descritos en el apartado de preparación de cada uno de ellos.

6.2 ESTERILIZACIÓN

En la etiqueta del producto se indican las condiciones de esterilización. De todas formas se describen unas pautas de carácter general.

6.2.1 Autoclavado: Exposición durante 15 minutos a 121°C. Con este tratamiento mueren las células vegetativas y las endosporas bacterianas. Sin embargo, los medios que contienen hidratos de carbono, deben esterilizarse a temperaturas no superiores a los 116-118°C, para prevenir su descomposición y la posible formación de compuestos tóxicos que inhiban el crecimiento bacteriano.

6.2.2 Filtración: Es el medio más habitual cuando existen productos lábiles. Habitualmente el producto a esterilizar se filtra a través de una membrana de acetato de celulosa o nitrocelulosa de un poro de 0,22 µm. Las soluciones de antibióticos, las de carbohidratos, las vitaminas, etc., se suelen esterilizar por este método y añadir al medio de cultivo ya esterilizado, cuando éste está a temperatura no superior a los 45-50°C.

6.2.3 Tindalización: Exposición a 100°C durante 30 minutos. Con este tratamiento mueren las células vegetativas, pero no las endosporas. Cuando el medio está frío, se incuba bajo condiciones de germinación de las endosporas, y si ello ocurre, se repite el tratamiento térmico. El aparato utilizado en este tipo de esterilización es el Arnold. Existen otros procesos de esterilización pero los que hemos descrito son los más habitualmente utilizados.

6.3 CONSERVACIÓN DE LOS MEDIOS PREPARADOS

Lo más recomendable es preparar el medio cuando se va a emplear, aunque en muchos casos por razones obvias una parte del medio preparado se consume y el resto se guarda como medio preparado. El tiempo de vida del medio preparado dependerá de la propia naturaleza del medio, de la hermeticidad de los recipientes que lo contienen, de la temperatura de conservación y de las condiciones medioambientales. Si la hermeticidad es buena y la temperatura baja, 2-8°C, la vida del medio puede llegar a ser de 4 a 6 semanas. De todas formas la refrigeración favorece la deshidratación y en algunos casos, como por ejemplo, los medios para anaerobios, la conservación es mejor a temperatura ambiente que en frigorífico. Se deben evitar las condensaciones ya que el depósito de gotas de agua podrá ser causa de una alteración casi inmediata del medio. Tampoco deben emplearse medios preparados en los que se observe un efecto de deshidratación.

6.4 CONSERVACIÓN DE LOS MEDIOS PREPARADOS, LISTOS PARA SU USO

Los medios preparados listos para usar tienen un tiempo limitado de conservación, que es de varios meses si las condiciones de almacenamiento y transporte son las adecuadas. Se recomienda su almacenamiento por regla general por debajo de los 20°C y protegidos de la luz. Algunos medios deben conservarse entre 2-8°C, siendo este requisito especificado en la etiqueta del producto. Los medios de cultivo con Agar no deben guardarse por debajo de 0°C, ya que se alteraría la estructura del gel. La pérdida de agua puede provocar precipitados o hacer que cristalicen ciertas sustancias del medio de cultivo, así como originar grietas en las placas preparadas. En los medios de cultivo que deben refundirse y que deben contener aditivos lábiles, se suministra el medio basal preparado y según la necesidad se deben añadir los aditivos de forma estéril.

6.5 REFUNDIDO DE MEDIOS SÓLIDOS

Cuando se precisa refundir los medios sólidos, preparados y estériles en frascos y tubos, para verterlos en placa, es aconsejable hacerlo en baño maría, en microondas o en autoclave a vapor fluente. En ningún caso debe aplicarse calor directo. Una vez fundidos, deberán dejarse enfriar hasta unos 50°C para añadir los aditivos, si fuera necesario y para distribuirlos o sembrarlos. Hay que tener en cuenta que los medios refundidos tienen una cierta tendencia al oscurecimiento y precipitación, que aumenta cuando se mantienen fundidos durante periodos de tiempo prolongados y a temperaturas entre 45-65°C y que ello puede suponer una pérdida de las características nutritivas o selectivas del medio, por lo que es aconsejable, no fundirlos más de una vez y no mantenerlos en el calor largos periodos de tiempo. En este sentido son recomendables los métodos rápidos como el que se obtiene con el fundido de medios en el microondas, donde se debe dosificar la intensidad de la radiación y durante tiempos lo más cortos posibles. Las fuertes intensidades de radiación, pueden provocar refundidos parciales, ebulliciones súbitas con eventuales derrames del medio pudiendo alterar las cualidades del mismo. El principal inconveniente de los hornos microondas es que en la cámara existen puntos fríos y las propiedades dieléctricas no uniformes de diferentes medios de cultivo pueden provocar un sobrecalentamiento o un calentamiento insuficiente de forma localizada, por lo que los medios con agar pueden sobrecalentarse y los frascos cerrados herméticamente pueden explotar. Es aconsejable que los medios de cultivo fundidos en el horno microondas tengan un tiempo de atemperación después del calentamiento para permitir que la temperatura se equilibre (Adams, 1997) y al mismo tiempo sean comparados, mediante un control de la calidad, con aquellos obtenidos por técnicas convencionales (Lightfoot, 2002).

7. RADIACION ELECTROMAGNETICA NO IONIZANTE (MICROONDAS) EN ALIMENTOS Y MEDIOS DE CULTIVO

El tratamiento térmico de alimentos mediante microondas es un proceso alternativo a los procedimientos tradicionales que se conoce desde finales de 1940 siendo en los últimos 20 años cuando mayor auge ha alcanzado. Esto es debido fundamentalmente, a las ventajas que presenta frente a los tratamientos convencionales en cuanto a velocidad, limpieza, calentamiento selectivo del producto, reducción de costes, mejora de la calidad y ahorro de energía (Decareau, 1985; Ohlsson, 1991).

Las microondas son emitidas por un dispositivo electrónico, denominado magnetrón que convierte la energía eléctrica de baja frecuencia en un campo electromagnético que emite energía radiante de alta frecuencia. La zona de las microondas del espectro electromagnético comprende frecuencias entre los 10^9 Hz y los 10^{12} Hz. Las microondas son parte del espectro electromagnético en el rango de frecuencia, entre las zonas del infrarrojo y las ondas de radio y corresponden a longitudes de onda comprendidas entre 1 m y 1 mm (300 MHz-300 0Hz de frecuencia, respectivamente) (Decareau, 1985). Debido a la proximidad existente entre las bandas de las microondas y de las ondas de radio, pueden solaparse las primeras en la zona de las ondas del radar. Con objeto de no interferir con estos usos, los microondas domésticos e industriales operan a unas frecuencias de 2450 y 915 MHz, siendo la primera más utilizada en Europa y Estados Unidos y la segunda en el Reino Unido (Mingos y Baghurst, 1991; Schlegel, 1992). A 2450 MHz las microondas penetran hasta 10 centímetros en el alimento y a 915 MHz penetran hasta 30 centímetros (IFT, 1989) y por lo tanto el calor se genera al mismo tiempo en la superficie y en el interior del alimento, hasta dicha profundidad. La capacidad que tiene un alimento para absorber las microondas viene determinada por sus propiedades dieléctricas, y su capacidad de disipar el calor es función del calor específico y de los coeficientes de conductividad (Mingos y Baghurst, 1991; Schlegel, 1992)

En los métodos de calentamiento convencionales el calor se aplica al exterior del alimento y se transfiere al interior por conducción, principalmente. Sin embargo, las microondas calientan a través de dos mecanismos: rotación dipolar y polarización iónica (Decareau, 1985). La rotación dipolar se produce cuando las moléculas polares (agua, proteínas,

carbohidratos) intentan alinearse con el campo electromagnético, la fricción intermolecular que resulta debido a la rotación produce calor y rompe los puentes de hidrógeno débiles. Por su parte, la polarización iónica tiene lugar en muestras que contienen iones tales como electrólitos, los iones positivos experimentan una migración electroforética hacia el polo negativo y los iones negativos hacia el polo positivo, durante este desplazamiento colisionan con otras moléculas e iones y esto genera calor (Bueno, 1994). Como consecuencia, resulta una característica importante de las propiedades físicas de las microondas y de sus interacciones: la rapidez con que se produce el calentamiento y su heterogeneidad comparado con el calentamiento convencional. Una vez que se genera el calor se transmite por mecanismos de conducción y convección térmica (Mudgett, 1989).

Pese al gran número de ventajas que ofrece el tratamiento con microondas, existen una serie de inconvenientes tales como la limitada aplicación en alimentos de gran volumen y el elevado coste de las instalaciones. Si no existe un adecuado control de la uniformidad del calentamiento, pueden aparecer los llamados “puntos fríos”, con el riesgo de dar lugar a una inactivación microbiana incompleta y los “puntos calientes” donde pueden tener lugar degradaciones térmicas excesivas con el consiguiente detrimento en las propiedades sensoriales, el valor nutritivo del alimento y la calidad de los medios de cultivo puede ser muy variable (Ohlsson, 1990). Por todo esto es preciso conocer los factores que afectan al calentamiento, tanto los relacionados con las propias radiaciones como con las características inherentes al alimento.

Los hornos microondas se utilizan para fundir medios de cultivo sólidos. Hay que señalar que el punto óptimo de intensidad de radiación, tiempo y cantidad de medio, únicamente se puede establecer de forma empírica.

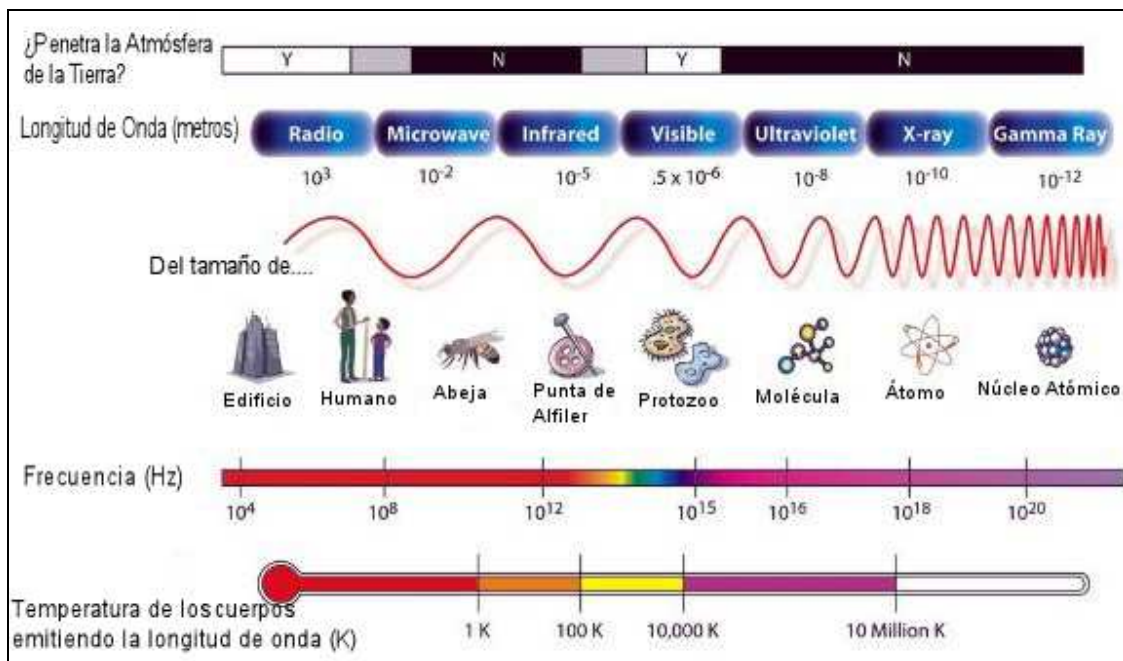


Figura 1. Espectro electromagnético www.seti.cl

A diferencia de las otras formas de radiación, las microondas actúan directamente sobre los microorganismos por medio de la generación de calor. Cuando un alimento o un medio de cultivo que contiene agua se sitúa en un campo de microondas, las moléculas dipolares de agua se alinean con el campo. Como quiera que el campo invierta su polaridad 2 ó 5×10^9 veces cada segundo, según la frecuencia que se utilice, las moléculas de agua están oscilando continuamente. Esta energía cinética es transmitida a las moléculas próximas causando una rápida elevación de la temperatura en toda la masa del medio de cultivo. En medios de cultivo con una elevada concentración de sal, el calentamiento de la superficie debido a iones que adquieren la energía cinética procedente del campo de las microondas también puede cooperar en este aumento de temperatura, pero esta fuente de calor generalmente tiene una importancia secundaria (Adams, 1997).

Durante el calentamiento convencional, empleando la llama directa, el aire caliente, elementos infrarrojos, contacto directo con una placa caliente y otros similares; la fuente de

calor hace que las moléculas reaccionen desde la superficie hacia el interior, de tal forma que se van calentando por capas sucesivas. Esto da lugar a un gradiente de temperatura que puede quemar el exterior de una pieza mucho antes de que su temperatura interna aumente de forma apreciable. En cambio las microondas penetran uniformemente en las piezas del medio de cultivo hasta una profundidad de varios centímetros de espesor, haciendo que todas las moléculas de agua y otras moléculas polares se pongan en movimiento al mismo tiempo. El calor no se transmite por conducción, desde la superficie hacia el interior, sino que se genera rápida y uniformemente en toda la masa. El resultado es que el agua hierve en el interior del recipiente. El vapor, además, calienta los sólidos adyacentes por conducción. Al mismo tiempo, mientras haya agua libre que pueda convertirse en vapor, la temperatura del medio de cultivo no sobrepasará mucho el punto de ebullición del agua, salvo que el vapor del interior del recipiente este bajo presión mientras intenta escapar (Potter, 1995).

Las microondas han tardado en encontrar aplicaciones industriales en el tratamiento de alimentos y a nivel de laboratorio para el tratamiento de medios de cultivo, si bien se han utilizado en algunas áreas. Las microondas han sido utilizadas para descongelar bloques de carne congelada antes de su manipulación para elaborar productos tales como hamburguesas y empanadas reduciendo de este modo los desperfectos en las máquinas. Las microondas también han tenido una aplicación limitada en el blanqueo de frutas y hortalizas y en la pasteurización de mercancías blandas de panadería y de pasta blanda para destruir levaduras y mohos. En Japón las microondas han sido utilizadas para pasteurizar alimentos con acidez elevada, como por ejemplo frutas en jarabe, destinados a ser distribuidos a temperatura ambiental (Adams, 1997).

8. APLICACIONES DE LAS MICROONDAS EN LOS MEDIOS DE CULTIVO

Las aplicaciones actuales y potenciales del calentamiento con microondas en los laboratorios son muchas y de importancia creciente. La siguiente lista de aplicaciones elaborada por Cryodry Corporation, empresa fabricante de sistemas de calentamiento con microondas, es muy ilustrativa:

- **Concentración.** Permite concentrar soluciones a temperaturas relativamente bajas en un tiempo bastante corto.
- **Deshidratación.** Las microondas calientan selectivamente el agua sin calentar directamente la mayoría de los sólidos del medio de cultivo. La deshidratación es uniforme en todo el producto y desaparecen los gradientes de humedad que existieran previamente. La deshidratación se lleva a cabo a bajas temperaturas y no es necesario que ninguna parte del producto este a una temperatura superior a la de la evaporación del agua.
- **Calentamiento.** Prácticamente cualquier problema debido a la transferencia de calor puede mejorarse mediante el empleo de microondas por su capacidad para calentar el producto en profundidad sin producir grandes gradientes de temperatura.
- **Eliminación de disolventes.** Muchos disolventes distintos al agua se evaporan muy bien con las microondas, lo que permite su eliminación a temperaturas relativamente bajas.
- **Esterilización.** El calentamiento rápido y uniforme puede emplearse para la esterilización, a temperatura alta y tiempo corto, de los productos en los que puedan alcanzarse temperaturas adecuadas. El calentamiento selectivo de los microorganismos, al contener agua, hace posible la esterilización de materiales como vidrios y películas plásticas, que apenas se calientan con las microondas. Esta aplicación hay que admitirla con cierta cautela dado que la temperatura del vapor que escapa generalmente no es suficientemente alta para destruir las esporas bacterianas.
- **Atemperado.** Puesto que el efecto del calentamiento con microondas es prácticamente proporcional al contenido de humedad, las microondas uniformizan

el contenido de humedad de los productos obtenidos con otros procesos en los que la distribución del agua no es uniforme.

- Descongelación. La gran penetración de las microondas en los materiales congelados hace que se puedan emplear para la descongelación rápida y controlada (Potter *et al.*, 1995)

9. FACTORES MÁS IMPORTANTES QUE INCIDEN EN EL CALENTAMIENTO Y ESTERILIZACION DE ALIMENTOS Y MEDIOS DE CULTIVO

9.1 DISEÑO DEL EQUIPO

Hay que considerar:

9.1.1 Tipo de horno: Debido a los problemas que plantea la falta de uniformidad en el calentamiento con microondas, las empresas encargadas de la fabricación de los equipos han estudiado diferentes posibilidades en cuanto al diseño del horno se refiere, para mejorar la uniformidad en los tratamientos. Una de las posibilidades existentes es la utilización de hornos en los cuales el alimento reciba la radiación directamente desde el magnetrón. En este caso, los “puntos calientes y fríos” tienen una posición más o menos fija (Ohlsson, 1983). El otro modelo existente en el mercado posee una cavidad de paredes metálicas en la que se coloca el alimento. Este no se encuentra sometido directamente a la acción de las microondas, sino que, el magnetrón se encarga de originarlas y luego pasan por un conducto de paredes impermeables hasta llegar a la cavidad metálica donde se producen una serie de reflexiones creándose un sistema multirresonante, En este caso, la distribución de los “puntos calientes y fríos” es irregular y no previsible (Ohlsson, 1983). Por otra parte, es importante tener en cuenta la disposición del alimento en el horno, Debido a que el campo electromagnético que se origina en el horno no es uniforme, pueden existir zonas con una mayor o menor concentración de radiaciones dando lugar a distintas velocidades de calentamiento del alimento en función de su emplazamiento en el horno. Con objeto de minimizar los problemas derivados de la falta de uniformidad dentro de los hornos microondas, se han propuesto algunos sistemas tales como distribuidores de microondas y soportes giratorios dentro de la cavidad (Harrison, 1980; Mudgett, 1986).

9.1.2 Frecuencia utilizada: Tal y como se ha comentado anteriormente, la mayor parte de los equipos operan a unas frecuencias de 915 y 2450 MHz dependiendo de la legislación existente en cada país. La diferencia entre una frecuencia y otra se manifiesta en la capacidad de penetración de las microondas. Así, cuando se utiliza la de 915 MHz dicha capacidad aumenta con respecto a la de 2450 MHz, consiguiéndose en el primero de los casos una mayor uniformidad en el tratamiento. Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta diferencia es pequeña a temperaturas elevadas, que son las que se emplean para la destrucción de microorganismos en la mayoría de los alimentos (Ohlsson, 1983; Mudgett, 1986).

9.1.3 Potencia: Se encuentra relacionada con la velocidad de calentamiento, de tal forma que cuanto mayor es la potencia menos tiempo se tarda en alcanzar la temperatura deseada. La potencia necesaria para producir un calentamiento uniforme depende de las características propias del producto así como de su temperatura inicial (Schiffmann, 1986) y de la frecuencia de radiación (Mudgett, 1989)

9.2 COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES FÍSICAS

Las propiedades físicas de un alimento y de un medio de cultivo están relacionadas con la composición química del mismo. Entre las propiedades físicas caben destacarse las dieléctricas: constante dieléctrica o capacidad de un alimento para almacenar energía eléctrica y factor de pérdida dieléctrica o capacidad de un alimento de disipar la energía eléctrica en forma de calor. Dichas propiedades son especialmente importantes en el caso de los tratamientos térmicos de alimentos con microondas. La capacidad de penetración de las microondas depende de la composición del alimento y como consecuencia de las propiedades dieléctricas del mismo. Así, valores grandes de profundidad de penetración indican que la energía es absorbida pobremente, mientras que valores pequeños ponen de manifiesto que el calentamiento se produce principalmente en la superficie que es donde se manifiesta una mayor absorción de las radiaciones (Harrison, 1980). Cuando la concentración de agua libre y sales disueltas es muy elevada, las microondas tienen menor capacidad de penetración produciéndose mayor absorción de la energía en la superficie que

en el interior y como consecuencia una menor uniformidad de calentamiento en la muestra. Las propiedades dieléctricas pueden variar con la temperatura. Así, conforme ésta aumenta, disminuye la constante dieléctrica, Sin embargo, el factor de pérdida dieléctrica aumenta o disminuye con la temperatura dependiendo del tipo de alimento (Giese, 1992).

El calor específico de un alimento es otra propiedad física que también influye en el tratamiento térmico con microondas, El calor específico se puede definir como la cantidad de calor ganada o perdida por unidad de peso en un producto, para alcanzar una variación deseada en la temperatura sin producir alteración en el estado físico del mismo. Un alimento con calor específico bajo y escasa capacidad intrínseca para aumentar su temperatura en un campo electromagnético, puede llegar a calentarse en dicho campo. Tal es el caso del aceite, el cual tiene un bajo valor de factor de pérdida dieléctrica pero se calienta mediante microondas en un tiempo razonable dado su bajo calor específico (Heddleson y Doores, 1994).

9.3 TAMAÑO Y FORMA

Existe una correlación directa entre el tamaño del alimento, de la cantidad de medio de cultivo y la potencia del microondas que debe ser aplicada para realizar un calentamiento (Schiffmann, 1986), pero, hay que tener en cuenta que existe un límite a partir del cual si se incrementa el nivel de potencia se puede producir un deterioro excesivo del producto (George y Burnett, 1991). Para evitar sobrecalentamientos no deben utilizarse volúmenes demasiado grandes, porque cuando un alimento es de gran tamaño puede dificultarse la penetración de las microondas y originarse sobrecalentamientos en la superficie. En estos casos es importante que el alimento posea un elevado valor de conductividad térmica para así mejorar la uniformidad en el calentamiento (Schiffmann, 1986).

Se ha comprobado que cuanto más lisa sea la superficie más uniforme es el calentamiento. Por lo que se refiere a la forma, la esférica es la geometría ideal seguida de la cilíndrica (Decareau, 1992). Los alimentos con bordes pronunciados sufren calentamientos localizados en dichos bordes a diferencia de los alimentos con superficies redondeadas en los cuales se eliminan los sobrecalentamientos en las esquinas, sin embargo son más

susceptibles a sufrir efectos de focalización de la energía en el interior. Los efectos de focalización se han observado en esferas y en cilindros (Ohlsson y Risman, 1978; Prosetya y Datta, 1991) y dependen del diámetro y de la conductividad térmica del producto, así como de la frecuencia empleada (Heddleson y Doores, 1994).

10. ESTERILIZACION DE ALIMENTOS CON MICROONDAS Y SU INCIDENCIA PARA EL USO EN MEDIOS DE CULTIVO

Cuando se precisa refundir los medios sólidos, preparados y estériles en frascos y tubos, para verterlos en placa, es aconsejable hacerlo en baño maría, en microondas o en autoclave a vapor fluente. Diversos trabajos citan la reducción en el número de microorganismos al ser tratados con microondas, sirviendo como punto de referencia para comparar los efectos que pueden tener el uso de microondas en medios de cultivo. Investigaciones realizadas por Garófalo *et al.*, (2005) donde se estudio la incidencia de las microondas en mohos y levaduras de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) con el fin de esterilizar (exterminar los microorganismos) y prolongar su conservación sin necesidad de frio, arrojo un resultado favorable en la utilización de las microondas ya que las moras expuestas retardaron su maduración y la carga microbiana inicial se redujo considerablemente al pasar de 1.3×10^4 UFC/g a una carga luego del tratamiento de 40×10^1 UFC/g en solo 15 segundos de exposición. Velasquez y Sanchez, (2008) determinaron la eficacia del sistema del procesado del microondas para inactivar la carga microbiana presente en el jugo de mango preparado a partir de fruta fresca. En este estudio la población microbiana debida principalmente al *Aspergillus sp* disminuyó notablemente durante el tiempo que duro el tratamiento. Risco *et al*, (2007) realizaron un estudio para demostrar la efectividad del horno microondas en la esterilización de material de fibra de algodón previamente inoculado con *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas spp*, *Aspergillus flavus* y *Clostridium spp* en donde la concentración determinada para cada microorganismo en el inculo inicial fue de 2-5 UFC/ml. En este trabajo, la eliminación de la mayoría de microorganismos en el material de gasa se logró a partir de los 30 segundos, excepto para *Clostridium spp*, el cual necesitó un tiempo de 60 segundos. El efecto de la exposición de las ondas electromagnéticas sobre los microorganismos no necesitó ser corroborado con ningún modelo estadístico puesto que los resultados fueron positivos y al no haber recuperación de microorganismos después de efectuada la prueba se dio una efectividad del 100%. Sin embargo en los trabajos de Garófalo *et al.*, (2005); Velasquez y Sanchez, (2008) se aprecia que parte de la población aun sobrevive permitiendo evidenciar que el aumento

de la temperatura no es del todo uniforme, reflejando con ello que la distribución de calor que presentan los hornos microondas no es homogénea o que el tiempo de exposición (15 segundos) no fue el adecuado para poder eliminar totalmente los microorganismos. Cuando no existe un adecuado control de la uniformidad del calentamiento pueden aparecer “puntos fríos” en los que la inactivación microbiana es incompleta y los “puntos calientes”, donde pueden tener lugar degradaciones térmicas excesivas con el consiguiente detrimento en las propiedades sensoriales y en el valor nutritivo del alimento o del medio de cultivo. Por otro lado, Quesada *et al*, (2003), determinaron el efecto de diferentes tiempos e intensidades de cocimiento del horno de microondas sobre la sobrevivencia de *Escherichia coli* O157:H7 en tortas de carne de res, el cual representa ser un patógeno emergente, de distribución mundial y asociado a alimentos. Las tortas de carne fueron inoculadas con una población alta (10^7 - 10^9 UFC/mL) o baja (10^5 - 10^7 UFC/mL) de *E. coli* O157:H7, mantenidas en congelación por 3 días a -4°C y posteriormente descongeladas en un horno Whirlpool según su peso. Fueron sometidas a niveles de potencia de 70%, 80%, 90% y 100% por períodos de 30, 60, 90 y 120 segundos. Según los resultados obtenidos, la tasa de destrucción de las bacterias analizadas fue significativa ($p < 0,005$). El número de bacterias presentes en las tortas de carne disminuyó dramáticamente a medida que aumentaba el tiempo y la temperatura de exposición, tanto para población alta como para la baja. Morales *et al*, (1996) en su investigación evaluaron la efectividad de tres procedimientos físicos como alternativa de solución que permita tratar de manera eficaz la carne de cerdo infectada con larvas de *Taenia solium*. Evaluaron con el frío a 0°C y 4°C por 1 y 5 días, calor a 60°C y 100°C por 5 y 10 minutos y microondas (800Wts) por 15 y 30 segundos en donde las piezas de carne infectada con cisticercos expuestas al frío a 0°C por 5 días demostró ser un método 100% efectivo para bloquear la viabilidad de los cisticercos. Las piezas de carne infectada con cisticercos expuestas al procedimiento de calor a 60°C y 100°C durante 5 y 10 minutos, demostró ser un método 100% efectivo para bloquear la viabilidad de los cisticercos. El procedimiento de exposición de las piezas de carne infectada con cisticercos a microondas (800Wts) por 30 segundos demostró ser un método 100% efectivo para bloquear la viabilidad de los cisticercos, sin alterar la apariencia física de la carne. En las piezas procesadas al microondas encontraron que la exposición a 15 segundos no era adecuado para inhabilitar al cisticerco ya que existía un 46.03% de viabilidad. Los resultados

obtenidos con el microondas son innovadores ya que demuestran ser un método que no altera significativamente la apariencia de la carne y altera la viabilidad al 100% de los cisticercos.

La esterilización que conduce a la esterilidad absoluta, comprende la destrucción completa y total de todos los microorganismos cualquiera sea su forma o su especie (Rodríguez, 2000). La capacidad de la radiación para inactivar microorganismos ha sido la principal razón del uso de la radiación en alimentos y productos varios. La radiación ha demostrado ser un medio efectivo de destrucción tanto de bacterias patógenas como no patógenas; así como también de parásitos y, en un menor grado, de virus. En este contexto, se puede ver como análogo a otros diversos procesos utilizados para inactivar microorganismos, tales como las diversas formas de calentamiento. La radiación, tanto ionizante como no ionizante (es decir, un fotón de energía o un electrón) inactiva los microorganismos mediante el daño que realiza sobre un elemento crítico, la mayoría de las veces el material genético. Este daño evita la multiplicación y también pone fin al azar de la mayoría de las funciones celulares. El daño al material genético tiene lugar como resultado de una colisión directa entre la energía directa radiante y el material genético, o como resultado de la ionización radiante de una molécula adyacente que reacciona con el material genético. En la mayoría de las células, la molécula adyacente es agua. (Grecz *et al.*, 1983). Además de los efectos sobre el material genético, la radiación produce una variedad de efectos sobre los otros componentes de la célula. La aplicación de la radiación a la célula da como resultado la interacción directa e indirecta con los componentes celulares tales como las membranas, enzimas y componentes del plasma. Estas interacciones pueden tener el potencial de ser letales a la célula por ellas mismas, pero en la mayoría de los casos no lo sería a menos que también existiera daño sobre el material genético. Estas interacciones pueden jugar su papel en la supervivencia de las bacterias lesionadas subletalmente, en que una célula que no ha recibido daño genético letal puede ser dañada mediante otras formas que complican o impiden la supervivencia de la célula lesionada.

Si tenemos en cuenta los procedimientos de esterilización, el tiempo mínimo requerido de exposición usando vapor a presión o autoclave es de 15 minutos para eliminar a las bacterias (Kohn's, 1998) y hongos (Giralt y Javierre, 1989), pero en el caso de las esporas

del *Clostridium*, se requiere de un período de 20 minutos (Carter y Chengappa, 1990). En cuanto al calor seco, éste requiere al menos 45 minutos para actuar en forma efectiva. Otro aspecto a considerar al usar calor seco es el deterioro que presenta el material en su estructura. En el caso de la ebullición, su empleo no es práctico para esterilizar material de fibra de algodón por la elevada humedad que se requiere, afectando la utilidad y funcionalidad de la gasa y en cuanto al formaldehído, el tiempo recomendado de duración del proceso es de 36 horas a temperatura ambiente (OPS, 1983). Según Kohn's (1998), el periodo de esterilización por microondas es solo de 30 segundos, lo cual es significativamente menor comparado al tiempo usado en otros métodos.

Otro de los beneficios del uso del horno microondas se refiere al bajo consumo de energía, el mismo que representa un 7.8% de ahorro de costo por tiempo de exposición en relación con el autoclave, que es el procedimiento de esterilización más usado.

En un entorno social en continua evolución como el actual, el microondas para la industria es un modo eficaz y seguro de garantizar la conservación de los alimentos y de evitar la transmisión de enfermedades por vía alimentaria, eludiendo así los problemas sanitarios que alimentos en mal estado podrían causar a los que lo ingieren. Una nueva opción es la utilización de las microondas por medio de la irradiación que es un tratamiento físico, por el que se aplica una elevada cantidad de energía en forma de radiación no ionizante. Esto significa que se aplica solo energía y no partículas.

11. INCIDENCIA DEL USO DEL MICROONDAS EN LOS ALIMENTOS CON COMPONENTES SIMILARES A LOS MEDIOS DE CULTIVO NUTRITIVOS NO SELECTIVOS

En los últimos años, el desarrollo y la proliferación de los hornos de microondas han tenido un impacto significativo en la preparación de los alimentos, especialmente por el ahorro de tiempo y energía. En medios de cultivo, carnes, vegetales, leche y productos lácteos son escasos los trabajos realizados hasta el momento sobre este tema. Si bien la mayor parte de los trabajos existentes sobre pasterización y esterilización de leche con microondas se refieren a leche de vaca, es importante mencionar que también se han estudiado leches de otras especies. El-Shibiny *et al.* (1982) observaron una gran reducción en el contenido en microorganismos en leche de búfala tratada con microondas respecto a la leche cruda. Trataron 50 mL de muestra tiempos de 120, 130, 140 y 150 segundos, siendo las temperaturas alcanzadas de 86, 94, 96 y 98 °C, respectivamente. La desnaturalización de las proteínas de suero producida por efecto del calentamiento con microondas fue menos pronunciada (30%) que en una pasterización convencional en discontinuo (40%), pero superior a la de tratamientos UHT (5%). Brooks, (1981) indicó que no parecía que existiera ningún efecto especial en los alimentos debidos a las microondas, sino que las pérdidas en el valor nutritivo se debían a los efectos de la elevación de temperatura, tiempo de cocción y al empleo de agua durante el calentamiento, tal como sucede con los tratamientos convencionales. Este último punto ya había sido destacado por diversos autores, así Decareau, (1985) y Bueno, (1994), señalaron que cuando los vegetales se preparan en agua, el tiempo de cocción y la cantidad de agua empleada son factores determinantes de la retención de nutrientes. Ciertamente, con el microondas los alimentos se exponen menos tiempo a temperaturas elevadas, por lo que cabe pensar incluso que exista un menor riesgo de pérdidas de nutrientes esenciales sensibles al calor, y por lo tanto un aumento del valor nutritivo del producto cocinado. No obstante, este es un punto muy discutido y en la bibliografía se encuentran datos contradictorios como indican Pineda *et al.* (1994) en su revisión.

Harrison, (1980), resumió los factores que afectan al tiempo de calentamiento por microondas de un alimento en los siguientes puntos: a) su temperatura inicial, cuanto más

alta sea más rápido será el calentamiento; b) su densidad y homogeneidad, cuanto más denso sea el alimento se necesita más tiempo y cuanto más homogéneo sea, mayor y más igualada será la absorción de las microondas por el mismo y como consecuencia el proceso tardará menos; c) su forma, si es regular se calentará más deprisa que si es irregular; d) su cantidad, normalmente existe una relación lineal entre la cantidad de alimento y el tiempo de calentamiento.

Las ventajas que el calentamiento en hornos microondas presenta respecto a otros más tradicionales son: limpieza, ahorro de energía, control preciso del proceso y los tiempos de iniciación y terminación son más cortos (Decareau, 1985). Por estos motivos el uso de microondas en la industria alimentaria, en los servicios de catering y en el ámbito doméstico se han ido incrementado rápidamente. Hoy en día se emplean para: descongelar, calentar, recalentar, blanquear y cocinar.

11.1 PROTEÍNAS

Merin *et al.*, (1984) hicieron un estudio de las transformaciones que sufren las proteínas lácteas durante el calentamiento con microondas y convencional. Comprobaron que el tratamiento con microondas produce una mayor desnaturalización de las proteínas de suero que el tratamiento convencional. Kudra *et al.*, (1991), diseñaron un equipo de flujo continuo para calentar agua, leche, nata y soluciones de algunos componentes lácteos por separado tales como grasa, proteínas y lactosa. Realizaron un estudio de la temperatura en los diferentes sistemas calentados para comprobar la influencia de la composición en el calentamiento. Demostraron que la leche se calienta más rápidamente que el agua y que son las proteínas, en las concentraciones normalmente encontradas en la leche, las que contribuyen en mayor medida al calentamiento. Una de las transformaciones producidas por el tratamiento con microondas que ha levantado más polémica es la de los aminoácidos. Lubec *et al.*, (1989) indicaron que, en fórmulas infantiles calentadas por microondas, los aminoácidos podrían alterarse transformándose las formas trans- en cis- y las formas L- en D-. Esto suponía que pudieran producirse cambios importantes en los péptidos y en las proteínas a nivel estructural, funcional e incluso inmunológico, así como alteraciones neurológicas, ya que la D-prolina, originada por isomerización, puede llegar a ser

neurotóxica. Por todo ello, las autoridades sanitarias recomendaron no utilizar las microondas como medio de calentamiento de fórmulas infantiles. Sin embargo, los resultados obtenidos posteriormente por Segal, (1990) y Bógí, (1990) diferían de los de Lubec *et al.*, (1989) ya que los primeros consideraban que no existían motivos de alarma con respecto a la isomerización de aminoácidos mediante microondas. Segal, (1990) indicó que la D-prolina es neurotóxica inyectándose directamente en el cerebro de animales de experimentación y que los D-aminoácidos entran en el tracto gastrointestinal, expuesto constantemente a los D aminoácidos procedentes de las paredes celulares bacterianas y son modificados por la acción de la D-aminoácido oxidasa. Por otra parte, la concentración de cishidroxiprolina (formada también por isomerización) encontrada en fórmulas infantiles de leche calentadas con microondas, podría representar un porcentaje muy bajo (0,1%) del total de la concentración de hidroxiprolina. Fue a partir de 1991, cuando empezaron a esclarecerse las dudas con respecto a este tema. Así, los trabajos de Fay *et al.* (1991) y Marchelli *et al.* (1992), pusieron de manifiesto que, condiciones normales de tratamiento de leche o de fórmulas infantiles con microondas, no producen una racemización significativa de las proteínas y los aminoácidos libres. Jonker y Plenninks (1992) realizaron un estudio comparativo del valor nutritivo de soluciones de caseína calentadas con microondas y convencionalmente, en animales de experimentación. Las condiciones de tratamiento fueron similares en ambos casos, $80\pm 50^{\circ}\text{C}$ durante dos minutos. Los resultados no mostraron diferencias en el valor nutritivo de dicha proteína entre los dos tipos de tratamiento.

De la revisión bibliográfica realizada por Fay *et al.* (1991) se deduce que el calentamiento por microondas puede ayudar a conservar la proteína total en los alimentos. Así, el contenido en aminoácidos libres es mayor en la carne cocinada mediante sistemas clásicos que la cocinada por microondas. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por Lubec *et al.* (1989), que indicó que el porcentaje de proteína era mayor en la pechuga y muslo de pollo cocinados en microondas que de forma convencional, lo que explicó por las mayores pérdidas de proteína soluble y formación de aminoácidos libres que se producen en el horno convencional. Allara *et al.*, (2001) determinaron el efecto de tres métodos de cocción (frito en aceite, hervido y al microondas) de la carne de atún, arrojando resultados

importantes a favor del uso del microondas al no haber disminución en el porcentaje de proteínas y en el contenido de aminoácidos esenciales. Tsen (1980) pudo comprobar una mayor retención de lisina debida a una reducción de las interacciones aminoácido-azúcares (reacción de Maillard) durante la elaboración del pan en microondas respecto al horno convencional. El PER (protein efficiency ratio) fue más alto. En trabajos posteriores, Sieber *et al.* (1993) describieron que el pan horneado convencionalmente, cuya corteza estaba tostada, frente al pan horneado al microondas o al vapor, con corteza más clara, al ser administrados a ratas presentaban un PER de 0.32 y 0.90, respectivamente. La reacción de Maillard que desencadenaba solo en el primero de los casos era responsable de la disminución del valor nutritivo de este alimento. Fay *et al.* (1991) obtuvo resultados semejantes y los atribuyó a que en la cocción con microondas no se produce la reacción de pardeamiento y como consecuencia la disponibilidad de los aminoácidos permanece alta, especialmente la de la lisina. Con sistemas modelo se ha comprobado la racemización de aminoácidos por calentamiento en microondas en condiciones drásticas. Así bajo las condiciones experimentales aplicadas por Lube *et al.* (1989) se detectó la presencia de D-prolina y cis-3 y cis-4 hidroxiprolina en formulas infantiles tras ser calentadas mediante microondas. Se sabe que la D-prolina es neurotóxica y que las formas cis de los aminoácidos pueden inducir cambios estructurales, funcionales e inmunológicos si se incorporan a las proteínas. La isomerización de los aminoácidos afecta negativamente al valor nutritivo de las proteínas, por ejemplo creando enlaces peptídicos resistentes a las enzimas proteolíticas. Por estas razones las autoridades sanitarias recomendaron no emplear los hornos microondas para calentar las formulas infantiles.

Fue a partir de 1991, cuando empezaron a esclarecerse las ideas con respecto a este tema. Fay *et al.* (1991) llevaron a cabo un ensayo en que sometían a distintas fórmulas infantiles a tratamientos más o menos intensos y largos, dentro del margen de las condiciones domésticas y posteriormente determinaron la proporción de D-amino ácidos en cada caso. No observaron ninguna diferencia entre las fórmulas tratadas y sin tratar. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Marchelli *et al.* (1992) quienes estudiaron la presencia de enantiómeros D, tanto en aminoácidos libres o formando parte de una proteína, en distintas muestras de formulas infantiles sometidas a ambos tipos de calentamientos en condiciones

domésticas. Detectaron un porcentaje muy pequeño de formas D/D+L sin que existieran diferencias significativas entre las formulas tratadas y sin tratar.

Jonker *et al* (1992) realizaron un estudio comparativo del valor nutritivo de soluciones de caseína calentadas con microondas y convencionalmente, en animales de experimentación. Las condiciones, que simulaban condiciones domésticas, fueron similares en ambos casos: $80\pm 50^{\circ}\text{C}$ durante 2 minutos. Los resultados no mostraron diferencias en el valor nutritivo de dichas proteínas entre los dos tipos de tratamientos. Por lo tanto, la alarma que surgió en relación con la posible racemización de aminoácidos carece de sentido cuando se reproducían condiciones domésticas.

11.2 HIDRATOS DE CARBONO

En la desecación por microondas de zumos de frutas con objeto de obtener concentrados, el contenido en azúcares permanece invariable (Rosenberg *et al*, 1987). Algunos autores emplean la presencia de aldehídos como un parámetro indicador de la degradación de los alimentos por procesamiento térmico. D'worschak (1976) propone al hidroximetilfurfural como índice de calidad y valor nutricional en los alimentos infantiles. Burton (1984) también consideró este aldehído, junto con otros parámetros, como un buen indicador de la calidad de la leche tratada térmicamente. Así, estudios realizados por Fernández *et al*. (1992) comparando la desecación de leche en polvo en un horno microondas frente a una estufa convencional muestran que se obtiene un mayor contenido en hidroximetilfurfural con el primer método.

Como ya se ha dicho, los alimentos cocinados, en un horno microondas a menudo carecen del sabor y textura tan apetecible que presentan cocinados convencionalmente. Segal (1990) atribuye este hecho a que el tiempo de cocción sea corto y la temperatura que se alcanza sea baja, y por lo tanto, a que no se induzca la reacción de Maillard, que origina muchos compuestos responsables de las características organolépticas del producto. Vidal-Valverde (1993) hizo una comparación cualitativa entre panes horneados por métodos convencionales frente a hornos no convencionales, entre ellos el microondas, y observó que debido al calor específico, al coeficiente de conductividad y al tiempo de horneado mucho

más corto con el horno microondas, resulta un producto sin corteza con una textura más dura, más gruesa pero menos firme. El autor atribuyó estas características del producto final a que la gelatinización del almidón es insuficiente, a los cambios que se generan en el gluten, y a la rápida formación de gases y vapores en el interior del pan.

Los compuestos que se forman durante la cocción con microondas son: tiazol, 2,5-dimetiltiazol, 4,5-dimetiloxazol, 2-metilpiridina y 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona. La presencia de cantidades más grandes de pirina en las muestras sometidas a microondas indica que se produce muy poca fragmentación de azúcares durante la irradiación, probablemente debido a que poca energía está implicada. Sin embargo en el calentamiento convencional se forman: 2-metilpirazina, 2,6-dimetilpirazina, 2-furanometanol, y 4-hidroxi-2, 5-dimetil-3(2H)-furanona, pirazinas y furanos, que contribuyen a mejorar la palatabilidad de un alimento. Las cantidades más bajas de estos compuestos en la cocción con microondas se pueden deber a que su bajo índice de formación o a pérdidas por volatilización o destilación en el agua.

Los estudios llevados a cabo por Villamiel (2006) tenían como objetivo ver qué papel juega el calentamiento por microondas, frente al convencional, en la formación de pirazinas. Para ello empleó un modelo constituido por glucosa, glicina y una base. Los resultados obtenidos mostraban claramente que el sistema de calentamiento, el tiempo y la temperatura de cocción influían determinadamente en la formación de pirazinas y su distribución.

11.3 MINERALES

A diferencia de lo que ocurre con las vitaminas, los minerales son estables a las temperaturas que se aplican en todo tipo de calentamientos domésticos. Por tanto, la pérdida de minerales en el caso que nos ocupa de calentamiento por microondas se puede dar únicamente por su difusión en el agua desde el interior del alimento hacia el exterior (Finot, 1993).

La cantidad de agua y el tiempo de cocción son factores determinantes en la retención de estos micronutrientes. A menor tiempo de cocción y menor cantidad de agua cabe esperar que el procesamiento con microondas permita una mayor retención de minerales.

En este sentido, Baldwin *et al.* (1974) hallaron que en el interior de carnes que se cocinan se producía una difusión de agua desde el centro hacia la corteza, con la consiguiente migración de los nutrientes hidrosolubles, tal como minerales, vitaminas y aminoácidos libres y en consecuencia las gotas de exudado presentaban una mayor concentración de estos nutrientes. Por ello y debido a que ese exudado no suele consumirse con el alimento se consideró que en general los métodos tradicionales de cocinado favorecían una mayor retención de minerales, mientras que el empleo de microondas podría producir ciertas pérdidas (Baldwin, 1976). Así, la carne de ternera, cerdo y cordero cocinada en microondas parecía retener menos sodio, cloro, fósforo y hierro frente a las mismas carnes preparadas de forma convencional (Baldwin y col, 1976). No obstante, Harrison (1980) observó una menor retención de potasio en carnes cocinadas por métodos convencionales frente al microondas e indicó que algunos minerales, tal como el potasio, daban retenidos en el alimento porque la cocción en microondas se lleva a cabo con una mínima cantidad de agua. Kudra *et al.* (1981) estudiaron los efectos del asado convencional y en microondas, sin agua, sobre los componentes nitrogenados y minerales de la patata cocinada entera. Observaron que con el horno convencional disminuía significativamente el contenido de potasio, el mineral mayoritario, y de hierro, el elemento traza más abundante, de la parte externa incluyendo la piel y que aumentan en el centro de la patata lo que atribuyeron al daño que sufren las membranas de las células de la piel con la consecuente liberación de algunos minerales intracelulares. Ello, unido a la deshidratación que se va produciendo en la parte externa, tendería a incrementar la concentración de K y de Fe en la zona, y se originaría un gradiente de difusión de ambos minerales hacia el interior. Por otro lado, al asar patatas en el horno microondas en estos trabajos se produjo un aumento del contenido de potasio y calcio en el centro y sin embargo no se observaron efectos sobre el fósforo, magnesio ni de los minerales minoritarios. Estos cambios en los minerales aun no han sido explicados. En resumen en lo que respecta a asar patatas, parece que el calentamiento convencional es superior al microondas en cuanto a los minerales, especialmente cuando el tejido de la corteza no se consume.

11.4 VITAMINAS

Las vitaminas son otros de los componentes en los que se ha iniciado el estudio de su modificación por el calentamiento con microondas. Vidal-Valverde y Redondo (1993) comprobaron el efecto de este calentamiento sobre el contenido de tiamina de leches con distinto contenido en grasa. El calentamiento con microondas aplicado destruye parcialmente el contenido en tiamina, siendo este efecto directamente proporcional a la temperatura y al tiempo e inversamente proporcional a los niveles de grasa. En 1994, Medrano y col. estudiaron el efecto de las microondas en condiciones domésticas sobre el contenido en riboflavina, a-tocoferol y retinol en leche entera, semidesnatada y desnatada. Los resultados muestran que estas condiciones de calentamiento (2 y 4 minutos al 100% potencia) afectan ligeramente al contenido en los componentes estudiados. La cantidad de riboflavina apenas se modifica después del calentamiento durante 2 minutos en cualquier tipo de leche estudiada. En el caso de leche semidesnatada se observa un descenso de a-tocoferol (15%), siendo el efecto menos pronunciado en el caso del retinol (10%). Para la leche entera no se vieron variaciones apreciables en el contenido de tocoferol y retinol en ninguna de las condiciones estudiadas. Los tratamientos de 4 minutos no modificaron en ningún caso el contenido de las vitaminas estudiadas con respecto a los de 2 minutos. Sieber y col. (1993) estudiaron la influencia del calentamiento por microondas en distintos componentes lácteos tales como nitrógeno no caseínico, proteínas de suero, lisina disponible y vitaminas B1 y C, realizando la toma de muestra en diferentes zonas del sustrato calentado. Comprobaron que en la superficie de la muestra disminuía el contenido de nitrógeno no caseínico, sin embargo no ocurría lo mismo con el resto de componentes lácteos estudiados. Estos datos pusieron de manifiesto la existencia de gradientes de temperatura en la leche calentada con microondas, siendo el fondo la zona más fría y la superficie la más caliente. Resultado que está de acuerdo con los obtenidos por Eberhard y col. (1990, 1991).

La pérdida de vitaminas, ha sido estudiada por muchos autores, en alimentos distintos y en diversas condiciones. La estabilidad de las vitaminas hidrosolubles se ha estudiado en carnes, pescados, y vegetales. Las variaciones observadas entre el calentamiento por microondas y el convencional son debidas, como ya se ha indicado para los nutrientes, a las

diferencias de temperatura final, la rapidez de calentamiento, las modificaciones en la transferencia de calor debido a la formación de corteza y al volumen de agua empleado en el proceso (Finot *et al.*, 1993).

Los resultados de trabajos de investigación coinciden, en general, en atribuir un efecto beneficioso al procesamiento con microondas, debido a que el tiempo de cocción es reducido, no se emplea agua o se emplea poca y a que no se alcanzan temperaturas finales tan altas, como en otros calentamientos más tradicionales, disminuyendo en consecuencia la pérdida de vitaminas. En esta línea, Mudgett (1989) indicó que la retención de vitaminas es mayor en los alimentos tratados por microondas respecto a otros métodos convencionales debido a que el tiempo de cocinado es menor; Finot *et al.*, (1979) llegaron a la conclusión de que la retención de ácido ascórbico es mayor con el microondas ya que la cocción de muchos vegetales se puede llevar a cabo sin agua; Mudgett (1989) coincidía en que la vitamina B1 y C permanecen más en el alimento porque la cocción se lleva a cabo en una cantidad mínima de agua. No obstante, algunos resultados no son coincidentes. Así, se ha descrito que las vitaminas B1 (Medrano *et al.*, 1994) y cuatro formas de folato a excepción del 5-metil-tetrahidrofolato, presentan una estabilidad similar tras el calentamiento por microondas o un calentamiento equivalente de tipo convencional efectuado en las mismas condiciones de pH, temperatura y tiempo. Asimismo, en fórmulas infantiles, Sigman-Grant *et al.* (1992) no observaron diferencias significativas en las pérdidas de vitamina B2 y C.

Sin embargo, Uherová *et al.* (1993) observaron menores pérdidas de vitamina B1 y B6 al cocinar carne de cerdo y pollo en un horno microondas comparado con los hornos eléctricos convencionales y en un estudio más antiguo (Goldbith *et al.*, 1968) se encontró que el calentamiento por microondas podía disminuir la proporción de tiamina en una solución tampón en relación a calentamientos tradicionales.

Se ha indicado, que el contenido en tiamina de la leche disminuye como consecuencia del calentamiento con microondas y vieron que este efecto era directamente proporcional a la temperatura final del producto e inversamente proporcional al contenido en grasa de la leche (Vidal-Valverde *et al.*, 1992). Es decir, la grasa actuaba como un factor protector, lo que también había sido descrito por Coulter *et al.* (1968) y por Leu *et al.* (1986) con respecto a otras vitaminas.

En lo que respecta a vitaminas liposolubles se han llevado a cabo menos estudios. Según Medrano *et al* (1994) el calentamiento mediante microondas, en condiciones domésticas, no afecta, o muy ligeramente, el contenido de α -tocoferol y retinol de la leche de vaca, especialmente en el caso de leche entera. Esta consideración es importante puesto que la leche es una fuente importante de vitamina A y E en la población infantil.

Yoshida *et al.* (1970) estudiaron la posible pérdida de vitamina A producida en el calentamiento de diferentes aceites vegetales (colza, soja, maíz oliva y palma) por microondas e intentaron relacionarla con las propiedades químicas de dichos aceites. Obtuvieron que el contenido de esta vitamina disminuía sustancialmente en los aceites de colza, oliva y palma pero en los de maíz y soja se retenía un 90% y, por tanto, concluyeron que la reducción de tocoferoles no estaba necesariamente relacionada con las características de los aceites. Posteriormente, estos mismos autores encontraron que las pérdidas de tocoferoles se producían en el orden $\alpha > \gamma > \beta > \delta$ independientemente del tipo de aceite calentado (Yoshida *et al.* 1991) e incluso al tratar grasas animales con microondas.

12. CONCLUSIONES

La cocción por microondas es un poco más eficiente que los métodos convencionales a la hora de destruir varias especies bacterianas.

El calentamiento con microondas es más rápido, penetrante y eficiente que los métodos convencionales de cocción sin tener efectos secundarios en los componentes de los alimentos y en los medios de cultivo.

El calentamiento en hornos microondas respecto a otros métodos tradicionales es mejor por su limpieza, ahorro de energía, control preciso del proceso y los tiempos de iniciación y terminación son más cortos

Al utilizar las microondas como medio de destrucción de microorganismos, reducen la carga microbiana, existiendo una relación directa entre el tiempo de exposición y la letalidad de los microorganismos.

La concentración de carbohidratos así como el pH pueden afectar la sensibilidad del microorganismo al calor, ya que los carbohidratos generalmente conllevan a un incremento de la resistencia térmica.

La exposición directa a ondas electromagnéticas de alta frecuencia (microondas) por 30 segundos a 1000 watts de potencia muestra una efectividad del 100% en la esterilización de material y alimentos

13. RECOMENDACIONES

El tratamiento por microondas como proceso de conservación de medios de cultivo, debe investigarse con mayor profundidad, ya que aún hace falta conocer más sobre su mecanismo de acción y sobre los efectos fisicoquímicos y sensoriales de los productos sobre los que se aplica.

BIBLIOGRAFIA

Adams, M.R.; Moss, M.O. (1997). Microbiología de los alimentos. Zaragoza España. Ed. Acribia.. Pág. 88.

Aleixo, A.G.; Swaminathan, B.; Jamesen, K.S. & Pratt, D.E. (1985). Destruction of pathogenic bacteria in turkeys roasted in microwave ovens. *J. Food Sci.*, 50:873-875.

Alexander, A.H. (1989). Técnica quirúrgica en animales y temas de terapéutica quirúrgica. México, Interamericana. pp. 77-81.

Allara, M.; Añez, J.; Delgado, P.; Izquierdo, P.; Torres, G. (2001). Contenido de proteínas y perfil de aminoácidos del atún (*thunnusthynnus*): efecto de tres métodos de cocción. *Multiciencias*, año/vol. 1, numero 002. Universidad del Zulia. Punto fijo, Venezuela. pp. 141-147.

Alvarez, C.I.; Mendoza, E.E. (1990). Manual básico de bacteriología México, UNAM. pp.20-30.

Baldwin, R.E. (1983). Microwave cooking: an overview. *J. Food Prot.*, **46**, 266.

Barbosa, G. (1999). Conservación no térmica de alimentos. Zaragoza: Acribia., p.1-8.

Bogl, K. W. (1990). Possible health milk. View of the Federal Public Health Office, *Bundesgesundheitsblatt*, **33**, 342.

Brennan, J.; Butters, J.R.; Cowell, N.D. & Lilly, A.E.V. (1980). Las operaciones de la ingeniería de los alimentos. Zaragoza: Acribia.,

Brooks, B. W.; Murray, R. G. E. (1981). Nomenclature for “*Micrococcus radiodurans*” and other radiation-radiation cocci: Deinococcaceae fam. Nov. and *Deinococcus* gen. nov., including five species, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 31: 353-360

Bueno, J.L.; García, A. & Iglesias, O. (1994). Secado radiactivo (secado dieléctrico (II)) En: *Ingeniería Química*. Vol. 26, No. 306; p. 150-166.

Burton, H. (1984). Reviews of the progress of Dairy Science: The bacteriological, chemical, biochemical and physical changes that occur in milk at temperatures of 100-150°C. *J. Dairy Sci.*, **51**, 341.

Caballero E. & Arias, A. C.S.S Manual de bioseguridad en microbiología. Laboratorio Clínico Complejo Hospitalario Metropolitano. ecaballe@cwpanama.net

Carter, G.R. & Chengappa, M.M. (1990). Bacteriology and mycology veterinary. Second Edition. pp. 201-271.

Decareau, R.V. (1985). *Microwaves in the Food Processing Industry*. Ed. 8. Schweigert. Academic Press. New York

Decareau R. (1985). *Microwaves in the food processing industry*. New York: Academic Press, Inc.

Dessel, M.; Bowersox, E.M. & Jeter, W.S. (1960). Bacteria in electronically cooked foods. *J. Am Diet Assn.* 37:230.

Eberhard P.; Strahm, W. & Sieber, R. (1990). Pasteurisation von milch und rahm in mikrowellen-haushaltsgeräten. *Milchwiss*, **45**, 768.

Eberhard P.; Strahm, W. & Sieber, R. (1991). Kann milch im mikrowellengerät pasteurisiert werden. *Schweiz. Milchztg.*, **117**, 5

EI-Shibiny, S.; Sabour, M.M.; EI-Alamy, H.A. & Alam, S. (1982). Effect of microwaves on buffalos milk. *Egyptian J. Dairy Sci*, 10, 29.

Fay, L.; Richli, U. & Liardon, R. (1991). Evidence of the absence of aminoacid isomerization in microwave-heated milk and infant formulas. *J. Agr. Food Chem.*, 39, 1857.

Fernández-Márquez, M.; Ruiz López, M.D. & Garcia-Villanova, B. (1992). Determination of total solids in milk by microwave drying and its effects on hidroxymethylfurfural formation. *Australian J. Dairy Technol.*, 47, **56**.

Frazier, W.C & Westhoff, D.C. (1993). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.

Finot, P.A.; Bricout, J.; Viani, R. & Mauron, J. (1968). Identification of a new lysine derivate obtained upon acid hydrolysis of heated milk. *Experientia*, **24**, 1097.

Gallmann, P.U. & Eberhard, P. (1992). Alternative methods for heating milk and milk products. F-Doc 215. Brussels: International Dairy Federation.

Garófalo, N., Perez, X., Paredes, M. (2005). Incidencia de microondas y temperaturas de almacenamiento en la vida útil de la mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) irradiada. *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*. No. 14 (2).

George, R.M. & Burnett, S.A. (1991). General guidelines for microwaveable products. *Food Control*, 2, 35.

Giese, J. (1992). Advances in microwave food processing. *Food Technol.* 46, 118.

Giralt, P.J.; Javierre, J.J. (1989). El problema de la Contaminación fungíca en la industria de piensos. España. 2 Edición Editorial Lucta, pp.13-36.

Grecz, N.; Rowley, D. B. & Matsuyama, A. (1983). The action of radiation on bacteria and viruses, in *Preservation of Foods by Ionizing Radiation*. Vol. 2. CRC Press, Boca Raton, FL.

Harrison, D.L. (1980). Microwave versus conventional cooking methods: effects on food quality attributes. *J. Food Prot.*, **43**, 633.

Heddleson, R.A. & Doores, S. (1994). Factors affecting microwave heating of foods and microwave induced destruction of food borne pathogens-A review, *J Food Prot*, **57**, 1025.

ICONTEC GTC 78. 2002

Jonker, D. & Plenninks, A.H. (1992). Comparative study of the nutritive value of casein heated by microwave and conventionally. *J. Sci. Food Agr.*, **59**, 123.

Kohn's, B.J. (1998). Técnicas de quirófano. Octava edición. Madrid. pp. 207-224.

Kudra, T.; Van de Voort, F.R.; Raghavan, G.S.V. & Ramaswamy, R.S. (1991). Heating characteristics of milk constituents in a microwave pasteurization system. *J. Food Sci.*, **56**, 931.

Lavin, M. F.; Jenkins, A.; Kidson, C. (1976). Repair of Ultraviolet light induced damage in *Micrococcus radiophilus*, an extremely resistant microorganism. *J. Bacteriol.* **126**: 587-592

Lightfoot, N.F.; Maier, E.A. (2002). Análisis microbiológico de alimentos y aguas. Zaragoza España. Ed. Acribia.. Pág. 66

Lubec, O.; Wolf, C. & Bartosch, B. (1989). Aminoacids isomerization and microwave exposure. *Lancet*, **334**, 1392.

Marchellí, R.; Dossena, A.; Palía, G.; Audhuy-Peaudcerf, M.; Lefeuvre, S.; Carnevalí P. & Freddi, M. (1992). D-Aminoacids in reconstituted infant formula: a comparison between conventional and microwave heating. *J Sci. FoodAgr.*, **59**, 217.

MEDINA, Z. (2001). Resistencia térmica de levaduras en jugo de naranja a diferentes concentraciones de sólidos solubles. En: Archivos Latinoamericanos de Nutrición - ALAN, Vol. 51, No. 2: p. 167-172.

Medrano, A.; Hernández, A.; Prodanov, M. & Vidal-Valverde, C. (1994). Riboflavin, a tocopherol and retinol in milk after microwave heating. *Lait*, **74**, 153,

Mingos, D.M.P. & Baghurst, D.R (1991). Applications of microwave dielectric heating effects the synthetic problems in chemistry. *Client. Soc, Rev.*, **26**, 1.

Morales, L.; Samayoa, M.A. & Oquendo, H. (1996). Viabilidad de larvas de *Taenia solium* (Estudio prospectivo, experimental a realizarse en muestras de carne de cerdo infectada con larvas de *Taenia solium* tratada con tres distintos procedimientos de control

sanitario ") Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Facultad de ciencias medicas Universidad de San Carlos de Guatemala. Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en salud –PUIIS GUATEMALA

Mudgett, R.E. (1989). Microwave food processing. *Food Technol*, 43, 1.

Mudgett, R. (1986). Microwave properties and heating characteristics of foods: *Food Tech.*; 40:84-93.

Ohlsson, T. (1983). Microwave processing in the food industry. *European Food and Drink Review. Summer*, No.7, 7.

Ohlsson, T. & Rísman, P.O. (1978). Temperature distribution of microwave heating-Spheres and cylinders. *J. Microwave Power*, 13, 303.

OPS (1983). Manual de técnicas básicas para un laboratorio de salud pública. Científica N° 439 Washington DC. pp. 33-38.

Potter, N.; Hotchkiss, N. & Joseph, H. (1995). Ciencia de los alimentos. Zaragoza España. Ed. Acribia. Págs. 281 – 287

Prosetya, H. & Datta, A. (1991). Batch microwave heating of liquids: an experimental study. *J. Microwave Power Electromagnetic Energy*, 26, 215.

Quesada, O.; Arias, M. & Chaves, C. (2003). Efecto del horno de microondas sobre el crecimiento y sobrevivencia de *Escherichia coli* O157:H7 inoculada en tortas de carne de res. En: Archivos Latinoamericanos de Nutrición - ALAN, Vol. 53, No. 1; p. 65- 69.

Risco, G.; Koga, Y.; Fernández, D.; Tinoco, R.; Alvarado A. & Villacorta, K. (2004). El horno microondas en la esterilización de material de fibra de algodón. Departamento de Microbiología, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, Universidad Alas Peruanas, Lima 33, Perú. Bioservice SRL, Lima 35, Perú

Rodríguez de Stouvenel, A. (2000). Tratamientos térmicos. Facultad de ingeniería. Universidad del valle. Pág. 26

Rosenberg, U. & Bogl, W. (1982). Der einfluss der mikrowellenerhitzung auf den keimgehalt von lebensmitteln. *Fleischwirtsch.*; 62:1182-1187.

Sánchez, E.; Ortiz, A. & Mora, R. (2005). Análisis de Superficie de Respuesta de Tres Variables por Efecto del Tratamiento Térmico con Microondas en un Producto de Panificación. [on line]. México: Universidad Autónoma de Nuevo León. [Citado diciembre de 2007]. URL disponible en: <http://w3.dsi.uanl.mx/publicaciones/respyn/especiales/2005/ee-132005/documentos/CNA31.pdf>

Schiffmann, R.F. (1986). Food product development for microwave processing. *Food Technol.*, 40, 94.

Schlegel, W. (1992). Commercial pasteurization and sterilization of food products using microwave technology. *Food Technol.* 46, 62.

Segal, W. (1990). Microwave heating of milk. *Lancet*, 335, 470.

Sieber, R.; Eberhard, W. & Strahm, P. (1993). Mikrowellenerhitzung von milch: zonale unterschiede und einfluß des ruhrens. *Emahrung/Nutrition*, 17, 83.

Velásquez, Á. & Sanchez, R. (2008). Utilización de microondas en el tratamiento de jugo de mango. *Revista Lasallista de Investigación [en línea]* vol. 5 [citado 2010-09-29]. Disponible en Internet: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=69550203>. ISSN 1794-4449.

Vidal-Valverde, C., & Redondo, P. (1993). Effect of microwave heating on the tiamin content of cows milk. *J. Dairy Res.*, 60, 259,

Villamiel, M. (2006). Tratamiento de alimentos con microondas. [on line]. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). [Citado junio de 2007]. URL disponible en: <http://www.consumaseguridad.com/cienciaytecnologia/2006/04/05/23073.php>

Yoshida, F.; Kawaka, K. & Takaka, K. (1970). Functions of calcium and magnesium on ion absorption by cultured free cells of tobacco and sweet potato. *Bull. Fac. Agric. Tamagawa Univ.* 10: 13-27

Yoshida, T.; Wada, T.; Koyama, H.; Mizobuchifukuoka, R.; Naito, S. (1991). Temporal and spatial patterns of accumulation of the transcript of myo-inositol.-1-phosphate synthase and phytin-containing particles during seed development in rice. *Plant Physiol.* 119:65-72.