

Observación de microorganismos presentes en los alimentos

Para encontrar la teoría y temas relacionados con este trabajo práctico, leer el Cuaderno N° 75

http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_75_act.asp?cuaderno=75

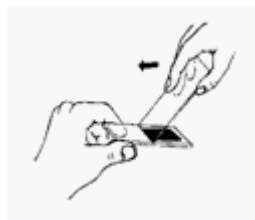
Para reforzar la idea de la descomposición de alimentos por acción de microorganismos y de la presencia de microorganismos en la elaboración de productos lácteos se propone extraer microorganismos de diferentes alimentos y observarlos al microscopio. Lo ideal sería observar los microorganismos que se pudieron desarrollar en la experiencia anterior en la leche y en el pan.

Materiales

- Mechero Bunsen o de alcohol.
- Asa de siembra o aguja.
- Pinzas.
- Portaobjetos.
- Muestras bacterianas de origen natural: yogur, vinagre, o de los alimentos de la experiencia anterior.
- Colorantes para tinción.
- Solución de cristal violeta al 1%.
- Solución de safranina al 0,5%.
- Azul de metileno al 1%.
- Microscopio y aceite de inmersión.

a) Bacterias del yogurt

El yogurt es un producto lácteo producido por la fermentación natural de la leche. A escala industrial se realiza la fermentación añadiendo a la leche dosis del 3-4% de una asociación de dos cepas bacterianas: el *Streptococcus termophilus*, poco productor de ácido, pero muy aromático, y el *Lactobacillus bulgaricus*, muy acidificante. Por lo tanto, en esta preparación se podrán observar dos morfologías bacterianas distintas (cocos y bacilos). El tamaño del lactobacilo (unos 30 μm de longitud) facilita la observación.



1. Realizar el frotis: disolver una mínima porción de yogurt en una pequeña gota de agua, y desplazarlo a lo largo de la superficie hasta formar una capa delgada.
2. Teñir con un colorante de los arriba indicados durante 1-2 minutos.
3. Observar al microscopio y dibujar lo observado.



Otra alternativa es realizar un cultivo de bacterias en placas de Petri con medio nutritivo constituido por gelatina o agar, y una vez formadas las colonias extraer una muestra y realizar el frotis en el portaobjetos como se indica arriba.

b) Bacterias del vinagre

El vinagre es una solución acuosa rica en ácido acético resultante de la fermentación del vino producida por bacterias aeróbicas, principalmente *Acetobacter aceti*.

1. Tomar con una aguja una pequeña porción de vinagre natural o de la capa que se forma sobre la superficie del vino agriado (dejar vino abierto al aire libre durante unos días previos a la experiencia).
2. Extender la muestra en el portaobjetos con una gota de agua y hacer el frotis.
3. Dejar secar y fijar con calor.
4. Teñir 2-3 minutos, lavar el exceso de colorante y secar.

c) Moho del pan

Una alternativa es preparar la muestra sobre un portaobjetos de forma similar a la preparación de las bacterias. Otra opción interesante es la que se presenta a continuación: *la preparación en cinta adhesiva* que consiste en:

1. Colocar sobre un portaobjetos una gota de solución de lactofenol (*) no demasiado grande para evitar que el cubreobjetos flote y la preparación quede demasiado gruesa.
2. Cortar un trozo de cinta adhesiva transparente de aproximadamente 2cm.
3. Tocar con el lado adhesivo de la cinta la superficie del pan enmohecido o el borde de una colonia de hongo de un cultivo.
4. Pegar la cinta adhesiva sobre la gota del portaobjetos.
5. Eliminar el colorante sobrante con un papel de filtro.

(*) **preparación lactofenol:** Ácido láctico 100 ml; Fenol 100 g; Glicerol 200 ml; Agua 100 ml.

Atención: manipular el fenol con cuidado, usando guantes y barbijo, ya que sus vapores son irritantes de las vías respiratorias.

Guía para el análisis de la experiencia:

Comparar los resultados de la observación y analizar:

- qué es lo que vieron, cómo identifican qué es lo que vieron
- si hay diferencias entre los diferentes cultivos analizados, y qué significado tienen esas diferencias (**distintos tipos o cepas de microorganismos**).
- de dónde provienen los microorganismos observados (**si son las mismas bacterias las que se extraen de un yogur o leche fresca, de los que se extraen de la leche abierta al aire libre durante una semana**).
- ¿De qué forma se puede evitar la aparición de estos microorganismos en los alimentos?