

# OFERTA DE PROYECTO PARA ExploraIES (2022/2023)

A rellenar por el/la investigador/a que quiera ofrecer un proyecto de investigación a estudiantes de 4º de ESO o 1º de Bachillerato de Centros Educativos de la Provincia de Jaén.

(NOTA: Los datos aquí incluidos serán publicados en la web de la Universidad con el fin de facilitar el contacto con los Centros Educativos)

Correo \*

nben@ujaen.es

Centro (Facultad o Centro de Investigación) \*

Facultad de Ciencias de la Salud

Título del proyecto \*

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LAS ACEITUNAS DE MESA CONSIDERADAS COMO FUENTE POTENCIAL DE PROBIÓTICOS

Nombre y Apellidos de estudiantes de Grado o Máster que ejercerán como ayudantes  
(máximo 2 estudiantes)

Nombre y Apellidos de los/las Investigadores/as participantes (máximo 5 personas, incluidos, en su caso, estudiantes/becarios de doctorado) \*

Nabil Benomar El Bakali, Hikmate Abriouel Hayani, Natacha Caballero Gómez, María Leyre Lavilla Lerma, Julia Manetsberger

Correo electrónico de la persona responsable del proyecto (solamente una dirección) \*

nben@ujaen.es

Número máximo de estudiantes del Centro Educativo \*

10

Preferentemente se solicitan estudiantes de ... \*

4º ESO

1º Bachillerato

Se sugiere que los/las estudiantes tengan conocimientos mínimos sobre...

Ciencias de la Salud

### Resumen de la primera sesión presencial \*

Tomar las muestras de diferentes aceitunas de mesa procedentes de diferentes empresas y preparar las suspensiones (o soluciones madre). A continuación, realizar los recuentos de los distintos microorganismos mediante diluciones seriadas, y posteriormente, sembrar en placas en diferentes medios de cultivo.

---

### Resumen de la segunda sesión presencial \*

- Lectura e interpretación de los resultados

La técnica de recuento permite conocer el número de microorganismos viables en las diferentes muestras de aceitunas de mesa. Para ello, se elige aquella dilución en la que el número de colonias por placa se encuentre entre 30 y 300.

Con estos datos se calculan las UFC/ml utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{UFC/ml} = \text{Número de colonias contadas en placa} \times \text{factor de dilución/volumen de la muestra sembrada.}$$

A continuación, se enseña al alumnado el manejo y uso del microscopio, así como la preparación de un frotis bacteriano y tinción simple, con el objetivo de observar las bacterias lácticas y levaduras aisladas de las aceitunas de mesa.

---

### Resumen de la tercera sesión presencial \*

Estudiar la seguridad y el potencial probiótico de las bacterias lácticas aisladas de aceitunas de mesa. Para ellos se investiga la Supervivencia en condiciones ácidas, supervivencia en presencia de sales biliares y Antibiograma.

---

### Otras sesiones que puedan organizarse

-

---

## Hipótesis que se plantea en la investigación \*

En los últimos años, alimentos fermentados no lácteos tales como frutas y vegetales crudos o fermentados (por ej. aceitunas de mesa) han despertado un gran interés ya que representan una fuente excelente de bacterias para buscar nuevos candidatos con un destacado potencial probiótico. Por ello, en este proyecto se plantea realizar un análisis microbiológico comparativo de aceitunas de mesa procedentes de diferentes empresas con el fin de buscar bacterias lácticas con potencial probiótico.

## Breve descripción del proyecto \*

España es el primer exportador mundial de aceituna de mesa, seguido de Egipto, Turquía, Argelia, Grecia, Siria y Marruecos. La producción media mundial asciende a 2.847.700 toneladas, de las cuales 545.950 se produjeron en España, es decir casi el 20%.

Según los datos de la Agencia de Información y Control Alimentaria (AICA), en la campaña 20-21, la producción nacional de aceitunas de mesa ha sido de alrededor de 545.950 toneladas. Las producciones en Andalucía alcanzaron un total de 458.878 toneladas, lo que supone 84,1% de la producción nacional.

En España la mayoría de las aceitunas de mesa pertenecen a los tipos denominados verdes al estilo Español o Sevillano, negras naturales en salmuera (estilo Griego), y las aceitunas verdes al estilo tradicional o casero (IOOC, 2005). En la actualidad numerosas industrias elaboran las aceitunas de mesa según el mismo protocolo (conocido como "estilo español o Sevillano") transformando la aceituna verde amarga en un producto fermentado estabilizado. Este método incluye una primera etapa de tratamiento con sosa para hidrolizar el glucósido denominado oleuropeína responsable del sabor amargo del fruto. Seguidamente, las aceitunas se sumergen en una salmuera y se dejan fermentar durante un periodo variable de varios (1 a 7) meses (Garrido Fernández et al., 1997), tras el cual las aceitunas se empaquetan en una nueva salmuera acidificada y se ponen en venta. La producción de aceituna de mesa al estilo tradicional o casero está muy extendida en las zonas rurales de la cuenca Mediterránea. En este caso, las aceitunas (generalmente partidas, o bien enteras, y verdes) se lavan en agua durante varios días para rebajar el amargor. A diferencia del tratamiento con sosa, este proceso es más respetuoso con la microbiota autóctona del fruto. Tras el lavado, las aceitunas se colocan en salmuera y se dejan fermentar de forma natural durante varios meses. Con frecuencia se adicionan otras materias primas como ajo o tomillo, que contribuyen al sabor final único. La presencia de sal y la bajada progresiva de pH seleccionan una población láctica predominante al final del proceso de fermentación (Robinson, 1998), en la que también intervienen diversos tipos de levaduras (Garrido Fernández et al., 1997).

En general, la fermentación de la aceituna verde de mesa es un proceso natural y espontáneo que resulta de la actividad competitiva de su microbiota endógena (bacterias lácticas -BAL- y levaduras) junto con una variedad de otros microorganismos procedentes de diversas fuentes. Esta fermentación espontánea comienza tan pronto como las aceitunas se colocan en salmuera.

Los objetivos principales planteados en este proyecto son los siguientes:

1. Conocer la microbiota de bacterias lácticas y levaduras presentes en los procesos de elaboración de aceitunas de mesa procedentes de diferentes empresas.
2. Determinar el potencial probiótico de las bacterias lácticas aisladas de aceitunas de mesa.

## Metodología e instrumentación básica \*

1.- Toma de muestras: La toma de muestra se hará en condiciones asépticas, empleando envases estériles adecuados. Para ello se mezcla una parte de alimento/salmuera (5 g) y nueve partes de diluyente (45 ml). La disgregación mecánica de la aceituna de mesa en el diluyente debe ser lo más eficaz posible. Para ello se emplearán diferentes dispositivos de agitación, siendo los más recomendados los trituradores de paletas (o stomachers). Como diluyente se empleará la solución salina estéril (NaCl, 8.5 g en 1l de agua destilada).

### 2.- Recuento en placa

Se utiliza para determinar el número de microorganismos por gramo o ml de alimento, partiendo de diluciones decimales. Para ello se prepara una serie de diluciones decimales (10-1, 10-2 y 10-3) de la muestra problema. Se toman 0.5 ml de dicha muestra y se añaden a un tubo con 4.5 ml de solución salina (esta será la dilución 10-1). Este (al igual que los siguientes tubos de dilución) se agita fuertemente. De este tubo se toman 0.5 ml, que se añaden a un nuevo tubo de solución salina, obteniéndose así la dilución 10-2. Repetir la operación hasta obtener todas las diluciones necesarias.

Recuento por siembra en superficie. A partir de la serie de diluciones decimales, y por duplicado, depositar 0.1 ml en la superficie del medio general Triptona Soya Agar (TSA) y luego extender con la espátula de Drigalsky flameada y fría. Incubar a 30°C durante varios días. Contar las colonias que aparecen de cada tipo, y estimar la cantidad total de microorganismos de la muestra de alimento, expresándola en UFC/g.

### 3.- El microscopio

Explicar las diferentes partes del microscopio óptico, manejo y uso del microscopio, empleo del objetivo de inmersión y el enfoque con el micrométrico.

### 4. Tinción sencilla

- Realizar un frotis bacteriano para su posterior tinción
- Fijar la preparación
- Adicionar azul de metileno y dejar actuar durante dos minutos
- Lavar, secar y observar al microscopio

### 5. Supervivencia en condiciones ácidas

Inocular 1 ml de la bacteria láctica aislada de aceitunas de mesa durante toda la noche en 19 ml en medio de cultivo gástrico simulado (3,2 g / l de pepsina y 2 g / l de NaCl) ajustado a diferentes valores de pH (con HCl 5 M) y luego incubar durante 30 min a 37°C. A continuación, se determinan los recuentos (UFC/ml) en medio Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRSA).

---

## Procedimientos experimentales a trabajar \*

En este Proyecto se pretende introducir al alumnado al trabajo de laboratorio en microbiología, preparar los medios de cultivo, manejo y uso del microscopio, observación de los microorganismos mediante tinción sencilla, conocer las técnicas de recuento de bacterias.

---

## Links de interés y posibles referencias iniciales \*

### Bibliografía

Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R., Gálvez, A. 2011. Culture-independent study of the diversity of microbial populations in brines during fermentation of naturally-fermented Aloreña green table olives. *International Journal of Food Microbiology* 144, 487-496.

Abriouel, H., Benomar, N., Cobo, A., Caballero, N., Fernández Fuentes, M.A., Pérez-Pulido, R., Gálvez, A. A search for Lactic Acid Bacteria with high technological properties isolated from brines during fermentation of naturally-fermented Manzanilla Aloreña green table olives. Enviado.

Chang, J.-H., Shim, Y.Y., Cha, S.-K., Chee, K.M., 2010. Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Journal of Applied Microbiology* 109, 220-230.

De Bellis, P., Valerio, F., Sisto, A., Lonigro, S.L., Lavermicocca, P., 2010. Probiotic table olives: Microbial populations adhering on olive surface in fermentation sets inoculated with the probiotic strain *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 in an industrial plant. *Intern. J.Food Microbiol.* 140: 6-13.

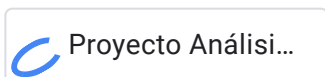
Garrido-Fernández, A., Fernández Díez, M.J., Adams, M.R., 1997. *Table Olives: Production and Processing*. Chapman and Hall, London.

---

El trabajo realizado por los/las estudiantes del Centro Educativo en el centro de investigación podrían complementarse con acciones en el propio Centro Educativo. Indique actividades a realizar en el Centro Educativo, si es el caso.

---

Imagen que ilustre el proyecto de investigación (número máximo de archivos 1; tamaño máximo 10MB)



Este formulario se creó en Universidad de Jaén.

Google Formularios