

MICROORGANISMOS PATOGENOS Y GRASAS OXIDADAS EN EMPAREDADOS

Andrea Paula Cravero, Adriana Noemí Ramón y Bruno Bocanera.

Consejo de Investigación. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta, República Argentina.

E-mails: andicravero@hotmail.com o ramon@unsa.edu.ar



Introducción

Garantizar la alimentación de la población es una tarea difícil pero necesaria para la humanidad, por lo que es imprescindible asegurar la calidad bromatológica y nutricional de los alimentos que se elaboran y ofertan al consumidor, principalmente aquellos susceptibles de contaminación por su contenido en nutrientes, pH, actividad de agua, como por ejemplo, los emparedados. Estos pueden ser medios de cultivo ideales para el desarrollo de microorganismos causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), de diferente gravedad, desde vómitos y diarrea hasta la muerte. Los factores que contribuyen a los brotes de ETA son la refrigeración inadecuada, preparación temprana de los alimentos (con mucho tiempo de anticipación a la venta o servicio), falta de higiene en la manipulación e incorrecto recalentamiento de comidas preparadas (1, 2, 3).

El consumo masivo de estos productos en eventos sociales, fiestas o adquiridos al paso como comida rápida en puestos, ferias y carros ambulantes (vía pública) constituyen un peligro potencial para la salud del hombre (4).

Los emparedados, tortas o sandwiches están compuestos por ingredientes muy variados como panes, fiambres, embutidos, carnes, quesos, vegetales y aderezos (salsas mayonesa, mantequilla e inclusive mezcla de ambas). Se preparan formando capas sucesivas de pan untado con aderezos, seguido por fetas (lonjas finas) de carne cocida o fiambre, rodajas de tomate, ají o pimiento, huevo duro picado, lechuga, entre otros vegetales, para terminar con otra capa de pan. Su forma geométrica triangular, cuadrada o rectangular varía según el destino final de los mismos (copetín, lunch, venta al paso, etc), con un peso promedio de 80 gramos por unidad. Su elaboración demanda manipulación permanente que de realizarse en condiciones poco higiénicas induce a aumentar la carga de gérmenes contaminantes en los mismos y pérdida de calidad. En ésta última se incluyen propiedades sensoriales, nutricionales, de seguridad biológica (desarrollo de patógenos) y vida útil (alteradores). Los productos terminados se consumen sin ningún tratamiento térmico posterior y con frecuencia permanecen a temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo, lo que los convierte en potenciales vehículos de patógenos (5). Los límites microbiológicos permitidos o aceptables para el consumo seguro de los emparedados son: Recuento Total de Aerobios Mesófilos hasta 10^5 UFC/g; Coliformes, Enterobacterias y *S.aureus* hasta 10^2 UFC/g, respectivamente según normas españolas (6). La Legislación Argentina aún no ha incluido normas sanitarias ni estándares microbiológicos sobre este tipo de preparaciones (7).

Cabe destacar que estos microorganismos son indicadores de calidad higiénica, es decir de deficiencias durante la elaboración, posibles contaminaciones de origen fecal o por heridas en la piel, fosas nasales o infecciones de los operarios (8, 9).

Otros factores a tener en cuenta son el almacenamiento y envasado hasta su venta, ya que si son inapropiados, permiten además de lo mencionado anteriormente, el deterioro oxidativo de grasas (autooxidación) por exposición a temperaturas, aire y luz originando compuestos químicos como peróxidos y malonaldehído (MDA) que producen cambios perjudiciales en el alimento (pérdida del valor nutritivo, desarrollo de sabores u olores extraños) y en el organismo (deterioro de lípidos tisulares, inactivación de enzimas, destrucción de membranas e inhibición de síntesis de prostaglandinas que aumentan la coagulación de la sangre en el proceso de aterogénesis, aún en bajas concentraciones) (10, 11, 12).

Los peróxidos son producidos por el ataque del oxígeno sobre algunos componentes de los alimentos generando radicales libres que destruyen vitaminas liposolubles y reaccionan con uniones sulfhidrilo de las proteínas, reduciendo así el contenido de aminoácidos azufrados. Por otra parte, también se acelera la velocidad de "turnover" (recambio) de vitamina "E" en el organismo, lo que aumenta sus requerimientos (13). El límite máximo permitido para el consumo de peróxidos en los alimentos es de 10 mEq de O₂/Kg de grasa según lo establecido por el Código Alimentario Argentino en su Artículo N° 526 bis (Res 2012, 19.10.80) (14).

El MDA es un dialdehído volátil generado por descomposición de hidroperóxidos, aldehídos y otros derivados carbonílicos (15, 16).

La susceptibilidad de las diferentes grasas a la rancidez oxidativa varía dependiendo del grado de instauración de los ácidos grasos, presencia de metales (hierro o cobre) y disponibilidad de antioxidantes (17). Los factores que aceleran la oxidación son la temperatura, luz, absorción de oxígeno y cierto tipo de envases ya que ejercen influencia sobre la estabilidad de las grasas (18,19). Los efectos del consumo de grasas rancias van desde flatulencia, diarreas intensas, hasta arteriosclerosis, hipertrofia del hígado y cáncer (20).

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de microorganismos patógenos y productos derivados de oxidación de grasas, a fin de evaluar su interrelación con prácticas inadecuadas de elaboración, almacenamiento y venta de emparedados de carne y vegetales (tomate y pimiento) como fuente potencial de peligro para la salud del consumidor.

Material y Métodos

Primeramente se obtuvo una lista de los establecimientos comerciales habilitados por el Ente Regulador Oficial de Alimentos de la Ciudad de Salta, Departamento Capital, República Argentina durante el mes de Abril del 2003, para luego seleccionar por muestro aleatorio, 20 locales de elaboración y venta de emparedados en los que se observó emplazamiento, estructura edilicia e higiene de la planta física, del personal y en las diferentes etapas de procesamiento; hábitos indeseables y conductas de trabajo de los operarios, según lo establecido por la Norma GMC N° 80/96 del Grupo MERCOSUR (21) y SENASA 119/00 del Código Alimentario Argentino (C.A.A) (22). Para ello, se realizaron dos visitas: en la primera, se entrevistaron a los encargados y operarios a través de un formulario (encuesta estructurada) y planilla de observación en el mes de Mayo del 2003. En la segunda, se tomaron las muestras de emparedados (al azar) para la realización de los análisis, durante el mes de Junio del 2003. Cabe mencionar que la encuesta fue diseñada con instructivo correspondiente (Norma GMC N° 80/96 del Grupo MERCOSUR) (23).

Se trabajó con 40 muestras compuestas por dos variedades de emparedados: a) pan de miga (pan inglés), ternera, tomate, huevo duro picado y aderezos llamado *Imperial* y b) pan de miga, ternera, morrones (pimientos, ajíes o chiles en conserva), huevo duro picado y aderezos conocido como *Mixto de Morrón*. Las mismas fueron tomadas directamente del lugar de expendio en bolsas de polietileno estériles de las manos del vendedor bajo las mismas condiciones de venta al público, rotuladas y refrigeradas ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) hasta su procesamiento (dentro de las 24 Hs. de elaboración). Se homogeneizaron y pesaron 30 g de cada una de ellas por separado en multiprocesador Moulinex

Coliformes **	N	4x10 ₆	N	N	N	2,1x10 ₄	5x10 ₃	N	4x10 ₅	10 ⁷	10 ₇	10 ₇	10 ⁷
Enterobacterias **	N	10 ⁶	N	N	N	N	N	N	N	6x10 ₆	10 ₇	10 ₅	4x10 ₆
S. aureus**	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	No

*Recuento Total de Aerobios Mesófilos hasta 10⁵ UFC/g; **Coliformes, Enterobacterias y *S.aureus* hasta 10² UFC/g (6); N=negativo

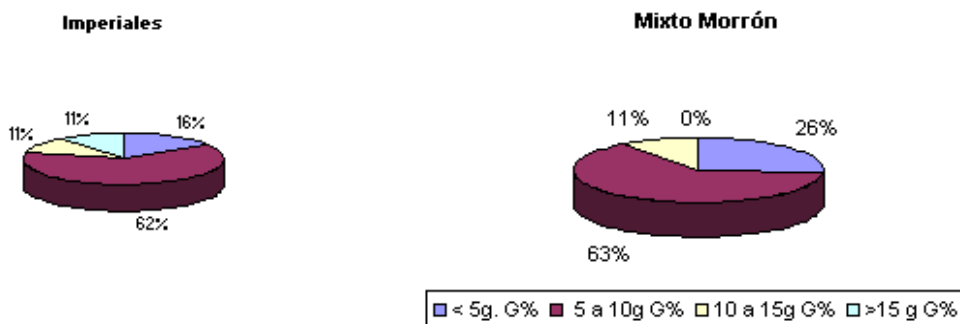
Tabla 2: Recuento total, Coliformes, Enterobacterias y *Stafilococcus aureus* (UFC/g) en emparedados de morrón y huevo (pan de miga, ternera, morrón en conserva, huevo y aderezos) de locales comerciales de Salta Capital, República Argentina 2003

Muestras	21,22,23,24,25,26,	28	31	32	34	36	37	38	39	40
ANALISIS	27,29,30,33,35									
Recuento Total*	N	10 ⁶	N	10 ⁶	10 ⁶	4x10 ⁴	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸	10 ⁸
Coliformes**	N	10 ⁵	N	2,5x10 ⁴	6x10 ⁴	N	10 ⁷	10 ⁷	6,5x10 ⁶	10 ⁷
Enterobacterias**	N	3x10 ⁵	N	6x10 ³	N	N	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷	No
S. aureus**	Ns	N	1,6x10 ⁴	N	N	N	N	10 ⁶	N	N

*Recuento Total de Aerobios Mesófilos hasta 10⁵ UFC/g; **Coliformes, Enterobacterias y *S.aureus* hasta 10² UFC/g (6)

El peso promedio de los emparedados fue de 75 g para los imperiales y de 82,5 g para los de morrón. Del 63 a 74% presentaron contenidos de grasa de 5 a 15 g/100g, mientras que el 11% superior a 15 g/100g (ver Figura 1). Sólo el 16 al 21 % de las muestras de morrón e imperiales respectivamente, presentaron un Índice de Peróxidos entre 5,00 a 10,00 mEq O₂/Kg. de grasa, aptos para consumo; del 26,3 al 31,6 % tuvieron valores entre 10,00 a 15,00 mEq O₂/Kg. de grasa y del 26,3 al 58% restante más de 15 mEq O₂/ Kg de grasa. De éstos últimos el 21 % superó los 20 mEq O₂/ Kg. de grasa (ver Figura 2). El MDA por su parte, osciló entre 0,222 a 0,798 mg/ Kg de alimento correspondiendo del 26,3 al 32,6% entre 0,200 a 0,500 mg MDA / Kg. y el 42,1 % mayores a 0,500 mg MDA / Kg (ver Figura 3).

Figura 1. Cantidad de grasa en 100 gramos de emparedados (g)



Se halló correlación Rho de Spearman altamente significativa ($p \leq 0,01$) entre porcentaje de grasa con Coliformes ($r^2 = 0,645$, imperiales) y ($r^2 = 0,587$, mixto de morrón); significativa ($p \leq 0,05$) con índice de peróxidos ($r^2 = 0,460$) como así también con presencia de Enterobacterias ($r^2 = 0,478$ imperiales) y ($r^2 = 0,498$ morrón) y recuento total ($r^2 = 0,517$, imperiales). La correlación también fue altamente significativa ($p \leq 0,01$) entre análisis microbiológicos y conductas de trabajo ($r^2 = 0,759$) y contaminación cruzada ($r^2 = 0,685$).

Figura 2. Índice de Peróxidos en Emparedados Imperial y Mixto de Morrón, Salta República Argentina, 2003.

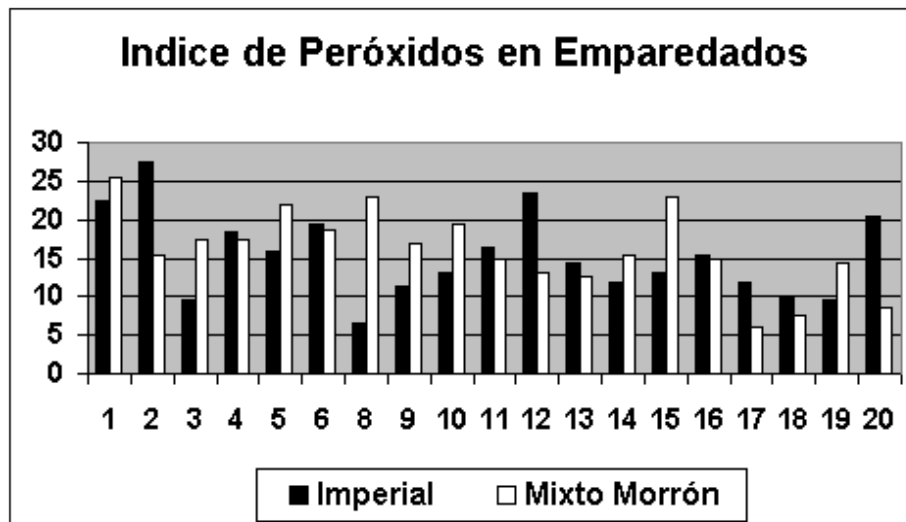
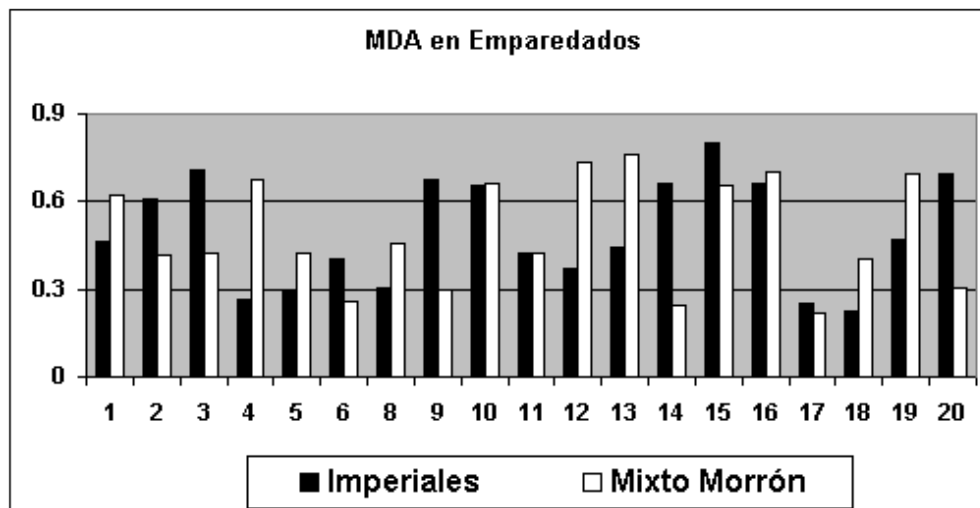


Figura 3 Malonilaldehído en Emparedados de Imperial y Mixto de Morrón, Salta República Argentina, 2003.



Discusión y Conclusiones

La multiplicación, supervivencia, desarrollo o inactivación microbianos están influenciados por factores relacionados con el mal manejo de alimentos (higiene y temperatura inapropiadas) y falta

de capacitación al personal lo que interfiere en la calidad e inocuidad de los productos terminados, poniendo en grave peligro a la población consumidora.

Los microorganismos encontrados están vinculados a contaminación de origen fecal (enterobacterias) y a un incorrecto procesamiento durante las etapas de preparación, elaboración y almacenamiento. El recuento total de bacterias aerobias mesófilas es indicador de tratamiento deficiente y vida útil. Un estudio realizado por Revelant y cols. (1998) demostró la presencia de *E. coli* (*enterobacteriaceae*) (7,9%) y *S. aureus* (38,1%) sobre un total de 189 emparedados envasados de venta directa al público provenientes de 5 fábricas de renombre comercial en la ciudad de Rosario, Provincia de Santa Fe (Argentina), lo que permitió concluir una alta ocurrencia de estos microorganismos vinculados a la falta de manipulación higiénica durante y después de su tratamiento (30).

En el mismo año, Bailo y cols. de la ciudad de Santa Fe (Argentina), analizaron 25 muestras de emparedados triples (pan, jamón, queso y tomates) a los que se determinó a las 0 y 48 Hs. de elaboración su carga microbiana, encontrándose valores de 5×10^4 a 7×10^7 UFC/g (Recuento total de aerobios mesófilos); 10^2 a 5×10^6 UFC/g (Coliformes) respectivamente y Negativo en todas las muestras para *S. aureus*. Estos datos son semejantes a los del presente estudio (31).

Así mismo, un trabajo realizado en la Ciudad de Salta (1989) por Ola y cols. en 10 locales de elaboración y venta de emparedados de chorizo (embutido fresco, elaborado sobre la base de carne de cerdo, de vacuno, de ovino o mezcla de ellas, con la adición de tocino y el agregado o no de otras sustancias permitidas) (32), revelaron que los expendedores no cumplimentaban con las normas de comercialización ni contaban con infraestructura adecuada y se encontró alto porcentaje de contaminación de dichos productos (30 % contaminados con enterococos, 70% con coliformes fecales y 90 % con recuento total positivo, superiores a los límites internacionales establecidos), lo cual indica graves problemas durante el tratamiento de los mismos (33).

Cabe destacar que el almacenamiento prolongado a temperaturas inadecuadas (exposición directa a rayos solares) podría contribuir no sólo al desarrollo de flora contaminante sino también a la formación de compuestos de oxidación (Peróxidos y MDA) tal como lo demuestran los resultados de los análisis expuestos anteriormente, los que también pueden relacionarse con la composición química de los emparedados como la grasa de origen animal (carne, huevo, mayonesa, mantequilla) y de origen vegetal (vegetales, pan); la mezcla de las mismas utilizadas como aderezos: la mantequilla derretida (sometida a tratamiento térmico) y la reutilización de la mayonesa por varios días con sucesivos calentamientos-enfriamientos.

Diversos estudios demostraron que el MDA aumenta en forma exponencial con la conservación de los alimentos por el incremento de la oxidación lipídica (34). Ramón y cols. Realizaron experiencias en 21 muestras de medallones de carne para emparedados y hallaron que el 48 % de las mismas superaban los Índices de Peróxidos permitidos por el C. A. A (35, 36).

Todo esto contribuye en gran medida a poner en riesgo a la población consumidora frente a productos que en apariencia resultan frescos, sanos y apetitosos pero que en realidad esconden verdaderos peligros para contraer enfermedades de diversa etiología infecciosa, tóxica o con residuos de alto poder acumulativo en el organismo.

Es palpable la deficiencia que presenta el expendio de este tipo de comidas en lo que refiere a infraestructura sanitaria, hábitos higiénicos de los manipuladores y actitudes de los consumidores frente a estos aspectos, lo cual sugiere la necesidad de profundizar en el conocimiento y dirigir mayores esfuerzos frente al significado de inocuidad alimentaria poniendo énfasis en el estudio y divulgación de las ETA, especialmente las causadas por patógenos emergentes de alimentos de venta pública (37).

Agradecimientos

Se agradece al Consejo de Investigación y personal de Laboratorios de Microbiología y Parasitología como al Laboratorio de Alimentos (Bioterio) de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Salta. Así también a la profesora Laura Moreno por la traducción de este manuscrito.

Resumen

El objetivo fue determinar microorganismos patógenos y oxidación lipídica en emparedados elaborados y expendidos en la Ciudad de Salta, Departamento Capital, República Argentina. Se observó planta física, condiciones higiénicas de instalaciones, equipos y personal en 20 establecimientos habilitados (al azar). Se tomaron 40 muestras de pan de miga, carne, tomate, aderezos (variedad, imperial) y pan de miga, carne, huevo, morrones y aderezos (mixto de morrón). Se realizó: Recuento Total de Aerobios Mesófilos, Coliformes, Enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, Extracción de grasa, Índice de peróxidos (IP) y Malonilaldehído (MDA). Del 60 al 80% de los locales cumplimentaban con mínimos requisitos de higiene según normas. El 95 % del personal no vestía uniforme completo ni limpio, observándose hábitos indeseables en el 80 %. El 75 % de los comercios almacenaban los emparedados en vitrinas a temperaturas inadecuadas. El Recuento Total fue positivo en el 40 % de las muestras aproximadamente; 40 % con Coliformes, 30 % con Enterobacterias y 10 % con *Staphylococcus aureus* fuera de los límites permitidos. Se halló correlación altamente significativa entre análisis microbiológicos, conductas de trabajo ($r^2 = 0,759$) y contaminación cruzada ($r^2 = 0,685$). El peso promedio de los emparedados osciló entre 75 a 82,5 g. Del 63 al 74 % presentaron de 5 a 15 g de grasa %. El 21 % tuvo un IP mayor a 20 mEq O₂/Kg. de grasa; el MDA osciló entre 0,222 a 0,798 mg/Kg de alimento. La calidad de los emparedados fue insuficiente, potencial peligro para la salud. Son necesarios controles eficaces en la producción, almacenamiento, higiene y capacitación a los operarios.

Palabras clave: emparedados, microorganismos patógenos, Índice de peróxidos, malonilaldehído.

Abstract

The objective of the study was to determine pathogenic microorganisms and lipidic oxidation in sandwiches made and sold in Salta Capital city, Argentine Republic. Place of elaboration, hygiene conditions, equipment and personnel in 20 qualified establishments were observed (at random). 40 samples of bread, meat, tomato, egg, peppers and dressings were taken. Total Recount, *Coliforms*, *Enterobacterias* and *Staphylococcus aureus*, and fat extraction, Index of peroxides (PI) and Malonilaldehyd or Malonic acid (MDA) were carried out. Between 60 and 80% of the places fulfilled the lower standard of hygiene. 95 % of the workers did not wear complete nor clean uniforms, undesirable habits in 80 % were observed. 75 % of the shops stored sandwiches in display cabinets at inadequate temperatures. The Total Recount was positive approximately in 40 % of the samples; 40 % with *Coliforms*, 30 % with *Enterobacterias* and 10 % with *Staphylococcus aureus* beyond the allowed limits. Highly significant correlation between microbiological analyses, work habits ($r^2 = 0.759$) and crossed contamination ($r^2 = 0.685$) was found. The average weight of sandwiches ranged between 75 to 82.5 g. Between 63 and 74 % had 5 to 15 g of fat. 21 % had an PI greater higher than 20 mEq O₂/ kg of fat; MDA ranged between 0.222 and 0.798 mg / Kg of food. The quality of sandwiches was poor, hazardous for health. Effective controls in the production, storage, hygiene and training of workers are necessary.

Key words: sandwich, pathogenic microorganims, Index of peroxides, Malonilaldehyd (MDA).

Referencias

1. Delfino, R., S. Fanto y S. Delfino. 2000. Calidad Bromatológica y Nutricional en Alimentos. Editorial Delfino Consultores. 192 pp,
2. Windrantz, P y M. L. Arias. 2000. Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San Jose, Costa Rica. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. Vol. 50 N° 3:301-303.
3. Rey, A. M. y A. A. Silvestre. 1999. Comer sin riesgos. Editorial Hemisferio Sur S.A. 199 pp.
4. Delfino, R. *et. al. Op cit.*
5. Revelant, G. C., M.D. Posadas, M. Vingale. y M. C. Olgún. 1998. Calidad Higiénico Sanitaria de Sándwiches Envasados. La Alimentación Latinoamericana N° 232: 43-46.
6. Grupo de Alimentos de la Sociedad Española de Microbiología editores. 2004. Normas Microbiológicas Españolas. <http://veterinaria.unex.es/sem/normictb.htm>
7. De la Canal, J.J. 1992. Código Alimentario Argentino. Editorial De la Canal y Asociados S. R. L. 465 pp.
8. Revelant, G. C. *et al. Op cit.*
9. Frade, H. y M. C. Fernández. 2004. Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Editorial Universidad Nacional del Litoral. 60 pp.
10. Cheftel, J.C. y H. Cheftel. 1978. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Editorial Acribia. Vol. 2: 404 pp .
11. Halliwell, B. 1997. Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutr. Rev Vol. 55: 544-552.
12. Kajimoto, G. 1976. Rancidity of fats and oils and their nutritive values. Kagaku To Kogyo (Osaka) Vol. 50: 165-171.
13. Vicario Romero, M. I. 1993. El ensayo del ácido 2-tiobarbitúrico (ATB) para medir la degradación autooxidativa de aceites vegetales comestibles. Editorial Universidad de Sevilla. 150 pp.
14. De la Canal, J.J *Op cit.*
15. Nawar, W. W. 1993. Lípidos: Química de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Cap. III: 230-239.
16. Desarrollo de Industrias de Grasas y Aceites. 2001. Programa Doctorado del NOA. Universidad Nacional de Salta. Argentina. 100 pp.
17. Del Cerro, S. 1989. Determinación de los niveles de colesterol sérico y alteraciones histológicas según la naturaleza y modificación de la grasa. Editorial Universidad Nacional de Salta (Argentina). 80 pp.
18. Desarrollo de Industrias de Grasas y Aceites, *Op cit.*
19. Del Cerro, S. *Op cit*

20. Alexander, J. C. 1986. Heated and oxidized fats. Editorial Alan R. Liss. New York (EE.UU). 209 pp.
21. Machinea, V. E. y M. I. Jatib. 1997. Guía para las Buenas Prácticas de Manufactura y Manual de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control. Editorial El Obrador. 110 pp.
22. De la Canal, J.J *Op cit*.
23. Machinea, V. E. y M. I. Jatib *Op cit*
24. International Commission On Microbiological Specifications For Food (I.C.M.S.F.) 1982. Microorganismos de los Alimentos. Ed. Acibia, 231 pp.
25. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 1990. 15 th ed AOAC, Artinton, V.A.
26. *Idem*.
27. Vicario Romero, M. I. *Op cit*
28. Programa Estadístico para las Ciencias Sociales. 1998. SPSS. Windows, SPSS Inc., Chicago, Illinois.
29. De la Canal, J. J. *Op cit*.
30. Revelant, G. C. *et. al. Op cit*.
31. Bailo, N. B. 1998. Calidad Microbiológica de Sándwiches de Miga Elaborados en la Ciudad de Santa Fe y su Aptitud para ser Conservados en Refrigeración. Memorias del Encuentro Bromatológico Latinoamericano. Córdoba-Arg Vol. 3: 11.
32. De la Canal, J. J. *Op cit*.
- Ola, E. 1989. Estado Higiénico Sanitario de los Emparedados de Chorizo Expendido por Vendedores Ambulantes. Editorial Universidad Nacional de Salta. 97 pp.
33. Avilés, J. 2001. Contenido de Malonilaldehído en Aceites y Grasas Tratados Térmicamente y su Efecto sobre Lipoproteínas Plasmáticas en Ratas. Editorial Universidad Nacional de Salta. 73 pp.
34. De la Canal, J. J. *Op cit*.
35. Ramón, A. N y E. Vargas Ferra. 2003. Deterioro Oxidativo-Proteico, Nitritos y Modificaciones de Peso y Volumen de Hamburguesas. Memorias del XIII Congreso Latinoamericano de Nutrición - SLAN 2003, Acapulco, México. 264 pp.
36. Almeida, C.R., D.M.T. Schuch, D.S. Guelli, J.A. Cuellar, A.V. DIEZ y J.A. Escamilla. 1996. Contaminación Microbiana de los Alimentos Vendidos en la Vía Pública en Ciudades de América Latina y Características Socioeconómicas de sus Vendedores y Consumidores. Organización Panamericana de la Salud. División de Prevención y Control de Enfermedades. 176 pp.