

Inocuidad en ensaladas de hortalizas mínimamente procesadas listas para su consumo

Macarena Castro¹; María Claudia Basualdo¹; Cintia Gomez¹; Evelina Díaz¹; Laura Ugnia*¹

1- Departamento Salud Pública. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

Palabras Clave

ensaladas listas consumo,
coliformes totales,
coliformes fecales.

Resumen. La demanda de productos vegetales mínimamente procesados ha aumentado considerablemente. No se cuenta con suficiente información sobre la incidencia de enfermedades asociadas a estos alimentos, ni sobre la frecuencia de bacterias patógenas en ensaladas de verduras listas para su consumo. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia y cuantificar microorganismos indicadores de contaminación patógena en hortalizas mínimamente procesadas, de diferentes lugares de expendio y estaciones del año, en la ciudad de Río Cuarto. Se procesaron 60 muestras de ensaladas provenientes de diferentes comercios y seleccionadas según la presentación del producto listo para la venta: bandejas envasadas con Atmósfera Modificada (ATM), bandejas cubiertas con *film* (resinite) y otras sin cobertura alguna (isletas). Se realizó recuento de coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli*, usando como método de referencia BAM-FDA, 2002, Método I y el recuento directo en placa de *Staphylococcus aureus*, según las normas ISO 6888-3-1999. El 71,7% de las muestras presentó recuento de coliformes totales > 3 NMP/g siendo las bandejas en ATM quienes presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a las bandejas sin coberturas y el 48,8% mostró niveles > 3 NMP/g de coliformes fecales. Los valores hallados fueron superiores a los autorizados por el Código Alimentario Argentino (CAA). El 9,5% de las muestras presentaron recuento > 3 NMP/g de *Escherichia coli* genérico y no se observó crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de implementar estrategias de educación dirigidas a productores, manipuladores y consumidores.

Cita sugerida: Castro, M., *et al.* 2018. Inocuidad en ensaladas de hortalizas mínimamente procesadas listas para su consumo. Revista Científica FAV-UNRC *Ab Intus* 1 (1): 44-49

Recibido: 2 de marzo 2018; aceptado: 2 de mayo 2018

*Autor para correspondencia: Laura Ugnia. E-mail: lugnia@ayv.unrc.edu.ar. Ruta Nac. 36, Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

Financiamiento: PPI A/389. Secretaría de Ciencia y Técnica. UNRC



Safety in salads of minimally processed vegetables ready for consumption

Keywords

salads ready to consume,
total coliforms,
fecal coliforms

Abstract. Demand for minimally processed vegetable products has increased considerably. There is not enough information about the incidence of diseases associated with their consumption, nor about the frequency of pathogenic bacteria in ready to eat vegetable salads. The objective of this study was to detect the presence and quantify microorganisms as pathogenic contamination indicators in minimally processed vegetables, in different places of sale and seasons of the year, in Rio Cuarto city. Sixty samples of salads from different shops and selected according to the product ready for sale presentation were processed: trays packaged with Modified Atmosphere (MAP), trays covered with film and others without any coverage (islets). Total coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli* were counted using method BAM-FDA, 2002, method I as reference and the *Staphylococcus aureus* direct plaque count, according to ISO 6888-3-1999 norm. Total coliforms values >3 MPN/g were found in 71.7% of the samples, being the trays packaged in MAP who presented significant differences ($p<0.05$) with respect to the trays without coverage and 48.8% showed levels >3 MPN/g of fecal coliforms.

The values found were higher than those authorized by the Argentine Food Code. Generic *Escherichia coli* values were greater than 3MPN/g in 9,5% of the samples and no growth of *Staphylococcus aureus* was observed. These results show the need to implement education strategies directed to producers, manipulators and consumers.

INTRODUCCIÓN

El consumo de hortalizas es vital para la salud humana puesto que poseen innumerables propiedades alimenticias, son fuente de vitaminas, minerales, fibra y energía. Sin embargo, algunos de estos productos están expuestos a contaminación de tipo biológica y química, situación que genera un riesgo para la salud humana (García Gómez *et al.*, 2002). Tal es el caso de las nuevas ensaladas listas para consumo, que con frecuencia se asegura en su etiqueta que han sido tratadas con “triple/cuádruple lavado”, y son comercializadas en supermercados, verdulerías y rotiserías.

La demanda de productos mínimamente procesados es creciente tanto en los mercados nacionales como internacionales (Rodríguez *et al.*, 2006). La inocuidad de estos productos es un tema que preocupa tanto a procesadores, como a agencias de regulación y a consumidores (Piagentini *et al.*, 2003; Aguayo *et al.*, 2007). La contaminación inicial, el manejo poscosecha y la composición de los vegetales son determinantes para la proporción y tipos de microorganismos que puedan desarrollarse sobre el producto final (Parzanese, 2012). En los productos mínimamente procesados, este riesgo se relaciona

con *Listeria*, coliformes totales, fecales y otras enterobacterias, las cuales se consideran indicadores de una higiene deficiente en la cadena de producción (Acevedo *et al.*, 2001).

En vista de que la microflora de los vegetales frescos varía ampliamente y refleja las condiciones de cultivo, es necesaria la evaluación de la calidad microbiológica, a fin de garantizar la inocuidad de los mismos. Para esto se hace uso de microorganismos indicadores, cuya presencia en los alimentos indica exposición a condiciones que pueden introducir agentes patógenos (García Gómez *et al.*, 2002; Busta *et al.*, 2003).

Para producir alimentos inocuos, es esencial poseer conocimientos que permitan desarrollar programas destinados a eliminar los peligros microbianos asociados al consumo de vegetales mínimamente procesados (Castro Rojas *et al.*, 2006). No se cuenta con suficiente información sobre la incidencia de enfermedades asociadas al consumo de ensaladas crudas, ni del comportamiento de microorganismos patógenos de importancia en los vegetales, la cual es indispensable para desarrollar

medidas objetivas tendientes a disminuir o controlar las enfermedades transmitidas por este tipo de alimentos.

En Argentina existe escasa información sobre la incidencia de enfermedades asociadas al consumo de este tipo de alimentos, como de la frecuencia de bacterias patógenas en las ensaladas de hortalizas mínimamente procesadas. Esta situación determinó plantear como objetivo detectar la presencia y cuantificar microorganismos indicadores de contaminación patógena en hortalizas mínimamente procesadas, en diferentes condiciones de envasado y estaciones del año, provenientes de diferentes establecimientos expendedores de la ciudad de Río Cuarto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el segundo semestre de 2016 y el año 2017, se tomaron 60 muestras de ensaladas de hortalizas listas para consumo (n muestral con 95% de confianza y 3% de error absoluto), simulando la compra que hace el consumidor. Las muestras fueron adquiridas durante otoño/invierno-primavera/verano de manera proporcional, en comercios de diferentes rubros, en la ciudad de Río Cuarto y seleccionadas según la presentación del producto listo para la venta: bandejas envasadas con atmósfera modificada (ATM), bandejas cubiertas con *film* y otras sin cobertura alguna (isletas).

Las bandejas, contenían diferentes tipos de hortalizas crudas, como lechuga, rúcula, achicoria, escarola, repollo, tomate, zanahoria, remolacha y brotes de soja y alfalfa, y provenían de verdulerías, carnicerías complementadas, isletas, rotiserías y supermercados. Las muestras fueron transportadas desde los lugares de expendio en condiciones asépticas y posteriormente refrigeradas para ser procesadas en las 2 primeras horas después de su compra. En todas las muestras se realizó recuento de coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *Escherichia coli* (*E. coli*), usando como método de referencia BAM-FDA, 2002, Método I y el recuento directo en placa de *Staphylococcus aureus*, según las normas ISO 6888-3-1999.

Recuento de Coliformes totales

Se pesaron 50 gr de muestra y se agregaron a 450 ml de caldo lactosado, se homogeneizó en stomaker durante 2 min a 260 rpm. Se realizaron

hasta 5 diluciones seriadas en muestras de verdulerías, rotiserías, y carnicerías controladas y hasta 7 diluciones en las muestras de isletas. Se incubaron a 37°C durante 24/48 h. Se examinaron y se consideraron positivos los tubos que mostraban turbidez y gas en las campanas de Durham. De los tubos positivos, se tomó una ansada y se transfirió a tubos con caldo verde brillante bilis (BGLB), se incubaron a 37°C por 24/48 h, y se consideraron positivos aquellos tubos los que tenían gas en la campana de Durham. El valor obtenido se expresó como NMP/g de coliformes totales.

Recuento de Coliformes fecales

De los tubos BGLB positivos, se transfirió una ansada a tubos con medio EC y se incubó 24/48 h a 45,5°C, examinándose la producción de gas. El valor obtenido se expresó como NMP/g de coliformes fecales.

Recuento de *Escherichia coli*. Los tubos EC con producción de gas, fueron agitados y sembrados en estrías por agotamiento en EMB, incubados durante 24 h a 37°C. Se examinaron las placas sospechosas, se eligieron 5 colonias y se les realizó IMVIC. Se calculó el NMP, según la proporción de tubos EC de las tres diluciones sucesivas que contenían *E. coli*.

Recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva

Se pesaron 10 gr de la muestra, se agregaron a 90 ml de agua peptonada y se homogeneizó en stomaker durante 2 min. Se realizaron diluciones seriadas, las cuales fueron sembradas en superficie en placas de Petri con Agar Baird Parker por duplicado. Se incubaron a 37°C durante 24/48 h. Se contaron todas las colonias de color negro, con halos blancos y de transparencia, eligiendo las placas con un número entre 20 y 200 colonias con estas características. A estas colonias se les realizó la prueba de la coagulasa, estipulada en el método de referencia.

Para el análisis estadístico del presente estudio, los datos obtenidos fueron analizados con el programa estadístico SPSS v.20. Se realizaron los cálculos de frecuencias absolutas y relativas, y mediante el análisis de la varianza se evaluó la diferencia de medias del recuento de CT y CF con respecto al tipo de envasado, considerando como significativo un $p < 0,05$. Se utilizó la prueba de chi-cuadrado para relacionar épocas del año y presencia de coliformes totales y fecales según rubro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se procesaron 60 muestras (30 otoño/invierno, 30 primavera/verano) con diferente tipo de envasado adquiridas en supermercados, verdulerías, rotiserías, isletas y carnicería complementada, de acuerdo al esquema representado en la Tabla 1.

Bandejas	Rubros	Nº de muestras
ATM	Carnicerías complementadas	11
Con Film	Verdulerías	11
	Supermercados	13
	Rotisería	12
Sin Film	Isletas	13

Tabla 1: Número de muestras según lugar y tipo de envasado de las ensaladas

El 71,7% de las muestras presentó recuento de coliformes totales > 3 NMP/g. Al profundizar lo que sucedía en cada tipo de envasado (Tabla 2), se observó que la frecuencia en muestras con ATM fue la más baja en relación al resto de envasados y lugares de expendio ($p < 0,05$). En las muestras con NMP/g > 3 de CT, los valores oscilaron entre un mínimo de 7,4 y un máximo de $1,5 \times 10^6$. El análisis de la varianza no mostró diferencias significativas entre las medias ($p > 0,05$) respecto al tipo de envasado.

Rincón *et al.* (2010) encontró en un estudio realizado en Maracaibo, que el 81,3% de las muestras de vegetales tipo hoja tenían recuentos de coliformes totales > 3NMP/g, así mismo en México, Castro-Rojas Javier (2006) encontró niveles de CT altos en la totalidad de las ensaladas estudiadas.

Con respecto a la determinación de coliformes fecales, el 48,83% mostró niveles > 3 NMP/g, no encontrándose asociación estadística ($p > 0,05$) con respecto al envasado ni al rubro del que provenían. El recuento más alto fue de $1,1 \times 10^5$, valores más elevados a los autorizados por el CAA. No hubo diferencias significativas entre las medias de los recuentos ($p > 0,05$) respecto al tipo de envasado.

RUBRO/ ENVASADO NMP/g >3		Coliformes Totales (%)		Coliformes fecales (%)		E. coli (%)	
		NMP/g > 3	NMP/g < 3	NMP/g > 3	NMP/g < 3	NMP/g > 3	NMP/g < 3
Carnicería Complementada	ATM	36,4 (4/11)	63,6 (7/11)	25,0 (1/4)	75,0 (3/4)	-	100 (1/1)
Verdulerías	CON FILM	81,8 (9/11)	18,2 (2/11)	45,5 (6/9)	54,5 (3/9)	33,3 (2/6)	66,6 (4/6)
Supermercados		69,2 (9/13)	30,7 (4/13)	33,3 (3/9)	66,6 (6/9)	-	100 (3/3)
Rotisería		75,0 (9/12)	25,0 (3/12)	55,5 (5/9)	44,5 (4/9)	-	100 (5/5)
Isletas	SIN FILM	92,3 (12/13)	7,7 (1/13)	53,8 (7/12)	46,2 (5/12)	-	100 (7/7)

Tabla 2. Frecuencia de coliformes totales, fecales y E. coli, según rubro/envasado

Del total de muestras con valores de coliformes fecales >3 NMP/g, el 95% presentó recuentos de *E. Coli* genérico >3NMP/g. En un estudio realizado en Perú (Rivera Jacinto *et al.*, 2009), el 40% de muestras presentaron CF, con elevado número más probable por gramo (NMP/g) e importante frecuencia de *E. coli* en perejil y lechuga.

Sin embargo, debe quedar claro que la falta de *E. coli* no garantiza la ausencia de patógenos, ya que otros microorganismos, como *L. monocytogenes* y *Salmonella* pueden estar presentes en estas hortalizas, aún en recuentos de cero para coliformes fecales.

La determinación de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, reveló que el 100% de las muestras resultaron <10 NMP/g, cumpliendo con lo establecido por el Artículo 156 Tris del CAA.

En relación a las diferentes estaciones del año, la prueba de chi-cuadrado, no mostró asociación estadística ($p>0,05$) entre los recuentos bacteriológicos y las estaciones otoño/invierno-primavera/verano.

CONCLUSIONES

El desarrollo tecnológico de los últimos años con respecto a los alimentos, es un esfuerzo que debe ser acompañado por una adecuada capacitación, tanto para los productores como manipuladores con el fin de preservar la calidad del producto una vez cosechado, y hasta su llegada al consumidor final. Los resultados obtenidos en la ciudad de Río Cuarto, muestran una notable contaminación, inquietante, ya que pueden representar una fuente potencial de peligro, si tenemos en cuenta que estos productos pueden consumirse sin un proceso de lavado previo. Por lo tanto, es necesario implementar estrategias de educación para la salud en los consumidores con el fin de lograr cambios de hábitos que minimicen los riesgos para su salud.

BIBLIOGRAFÍA

Acevedo, L.; Mendoza, C.; Oyón, R. 2001. Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, *Staphylococcus* sp. y hongos en ensaladas para perro calientes expendidas en la ciudad de Maracay, Venezuela. Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 51 (4): 366-370.

Aguayo, E.; Escalona, V.; Gómez, P.; Artés Hernández, F.; Artés Calero, F. 2007. Técnicas emergentes y sostenibles para la desinfección de frutas y hortalizas mínimamente procesadas. 17^o Symposium Internacional. Tecnologías y Sanidad de las Frutas y Hortalizas en Postcosecha. Phytoma. 189: 138-142.

Busta, F.; Suslow, M.; Parish, L.; Farber, J.; Garrett, E.; Harris, L. 2003. The use of indicators and surrogate microorganisms for the evaluation of pathogens in fresh and fresh-cut produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2: (Supplements) 179-185.

Castro Rojas, J.; Rojas Olvera, M.; Noguera Ugalde, Y.; Santos López, E.; Zúñiga Estrada, A.; Gómez Aldapa, C. 2006. Calidad sanitaria de ensaladas de verduras crudas, listas para su consumo. Revista Alfa Edición Técnica. Julio-Agosto: 9-21.

Código Alimentario Argentino. Actualización 2017. Capítulo XI. Artículos 925 Tris, 925 quater, 156 tris. Alimentos vegetales [en línea]. [Citado 20 Feb 2018]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp

García Gómez, R.; Chávez Espinosa, J.; Mejía Chávez, A.; Durán de Bazúa, C. 2002. Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City. México. Revista Latinoamericana de Microbiología. 44 (1): 24-30.

Parzanese, M. 2012. Vegetales mínimamente procesados [en línea]. [Citado 18 Feb 2016]. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/ediciones/55/productos/R55_vegetales.pdf

Piagentini, A.; Güemes, D.; Pirovani, M. 2003. Mesophilic aerobic population of fresh-cut spinach as affected by chemical treatment and type of packaging film. Journal of Food Science. 68 (2): 602-606.

Rincón, V.; Ginestre, P.; Romero, A.; Castellano, G.; Ávila, R. 2010. Calidad microbiológica y bacterias enteropatógenas en vegetales tipo hoja. *Yeiny Kasmera*. 38 (2): 97–105.

Rivera Jacinto, M.; Rodríguez Ulloa, C.; López Orbegoso, J. 2009. Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 26 (1): 45-48.

Rodríguez, S. del C.; Qüesta, A. G.; Guzmán, C; Casóliba, R. M; Coronel, B. 2006. Calidad microbiológica de vegetales mínimamente procesados. Experiencias en el Noroeste Argentino. *Proceeding del 1º Simposio Ibero-Americano de Vegetales frescos cortados*. ISBN 968-5862-08-7. Sao Pedro - Brasil.