

EFFECTO DEL TIEMPO Y TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE CARNE DE HAMBURGUESA

Effect of Time and Storage Temperature on Microbiological Quality of Hamburger Meat

Andreína Fernández Ramírez¹, Pedro Izquierdo Córser², Kutchynskaya Valero Leaf³, María Allara Cagnasso²,
María Piñero González² y Aiza García Urdaneta²

¹Postgrado de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ingeniería. ²Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de Alimentos (UDICTA), Facultad de Ciencias Veterinarias. ³Cátedra de Bacteriología Clínica, Facultad de Medicina. Universidad del Zulia, Maracaibo. Venezuela. Apartado 15252. E-mail: izquier@cantv.net, allara2004@hotmail.com

RESUMEN

Las carnes de hamburguesa son susceptibles al ataque microbiano debido a diversos factores (potencial redox, pH, a_w , disponibilidad de nutrientes, procesamiento), siendo necesario considerar las condiciones de almacenamiento. Esta investigación tuvo por objetivo evaluar el efecto de tres tiempos y tres temperaturas de almacenamiento sobre la calidad microbiológica de carne de hamburguesa preparada en tres establecimientos comerciales. Se analizaron 81 muestras (27 de cada establecimiento comercial) almacenadas a temperaturas de -15°C (temperatura de los establecimientos de venta), 5°C (temperatura del producto recién elaborado) y 15°C (temperatura de los expendios de comida ambulante) a 0, 48 y 96 horas considerando el tiempo que transcurre desde la elaboración de estas carnes hasta su consumo. Se realizaron recuentos de aerobios mesófilos según ICMSF, *Staphylococcus aureus*, coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* por COVENIN, además se investigó la presencia de *Salmonella* por COVENIN y RAMBACH. Se observó diferencias significativas ($P < 0,05$) en los parámetros microbiológicos por efecto del establecimiento comercial. Los microorganismos estudiados mostraron una tendencia a la disminución por efecto del tiempo. Las temperaturas de almacenamiento no afectaron significativamente los parámetros microbiológicos investigados, sin embargo se encontró que la temperatura de los expendios de comida ambulante (15°C) puede favorecer el crecimiento de *Salmonella*. La carne preparada en dos establecimientos comerciales excedió los límites máximos establecidos por orga-

nismos internacionales para aerobios mesófilos. Se detectó variabilidad por efecto del muestreo, lo que evidencia una falta de control en el procesamiento de este alimento.

Palabras clave: Calidad microbiológica, carne de hamburguesa, *Salmonella*, coliformes.

ABSTRACT

Hamburger meats are susceptible to the microbial attack due to diverse factors (potential oxidation-reduction, pH, a_w , readiness of nutrients, processing), being necessary considering storage conditions. This research had for objective to evaluate the effect of three times and storage temperatures on the microbiological quality of three commercial brands of hamburger meat. 81 samples were analyzed (27 of each mark) stored to temperatures of -15.5 and 15°C during 0, 48 and 96 hours. Mesophilic aerobic count was determined according to ICMSF, *Staphylococcus aureus*, total coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli* by COVENIN, presence of *Salmonella* by COVENIN and RAMBACH. Significant differences were observed ($P < 0.05$) in the microbiological parameters by effect of the commercial brand. Storage temperatures didn't affect the microbiological parameters significantly, however was found that fast food restaurants temperature (15°C) may increase *Salmonella's* growth. All commercial brands were inside COVENIN limits, but compared with International Organisms, the brands B and C exceeded this limits. In conclusion it was detected variability due to sampling, evidencing a lack of control in the product processing.

Key words: Microbiological quality, hamburger meat, *Salmonella*, coliforms.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela el consumo de carne y de productos cárnicos elaborados se ha incrementado en los últimos años. En el año 2000 se registró un consumo de 428.754.727 Kg de carne, cifra superior a la reportada en años anteriores, siendo el estado Zulia la entidad federal que ocupó el segundo lugar en consumo de carnes con 51.343.181 Kg [10, 17].

En las últimas décadas, los hábitos de alimentación han cambiado como consecuencia del acelerado ritmo de vida, donde los alimentos procesados de todo tipo han tomado un rol importante; siendo la carne de hamburguesa uno de los alimentos que ocupa un lugar de preferencia en muchos hogares [10].

La carne de hamburguesa, es clasificada como un producto picado (no embutido) y según los métodos de procesado como producto cárnico fresco [12]. Este alimento es, desde el punto de vista microbiológico, más susceptible que los productos cárnicos enteros y embutidos, debido a que el área superficial expuesta al entorno es mayor, facilitando la penetración y disponibilidad de oxígeno a los microorganismos, por lo que se deben implementar buenas prácticas de manufactura durante las operaciones de procesado, molido y adición de condimentos, ya que la alteración del producto final dependerá de la calidad microbiológica de la materia prima, de la flora microbiana intrínseca del animal vivo y de las condiciones sanitarias de la planta de procesamiento [21, 23].

Durante el almacenamiento de la carne de hamburguesa, se debe controlar el tiempo y la temperatura, ya que diversos factores (potencial redox, pH, a_w , disponibilidad de nutrientes, procesamiento) hacen de ésta un sustrato para el crecimiento de microorganismos patógenos. Las afecciones causadas por la ingesta de alimentos contaminados con microorganismos o con sustancias tóxicas preformadas, pueden ocasionar cuadros clínicos gastrointestinales, fiebre y cefaleas. La gravedad de estos síntomas dependerá de la susceptibilidad del individuo, dosis ingerida del microorganismo contenido en el alimento y del agente causal [21, 27, 29].

En Venezuela es frecuente observar el expendio de estos productos cárnicos en establecimientos de comida ambulante que no reúnen las condiciones para un adecuado almacenamiento antes de su consumo.

En el estado Zulia, se han realizado estudios en los últimos años con la finalidad de evaluar la calidad microbiológica de la carne de hamburguesa, así como también, de las materias primas utilizadas para la elaboración de las mismas. Los resultados obtenidos en dichas investigaciones han reportado deficiencias en la calidad microbiológica, fallas en la aplicación de programas sanitarios, ausencia de buenas prácticas de manufactura y la presencia de microorganismos patógenos tales como *Salmonella* [27, 28, 29].

La creciente demanda de carne de hamburguesa y la relación entre su consumo y el padecimiento de toxiinfecciones, hacen necesario estudiar el efecto del tiempo y temperatura de almacenamiento sobre la calidad microbiológica de carne de hamburguesa preparada en tres establecimientos comerciales de la ciudad de Maracaibo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del material experimental

Se estudiaron 81 muestras de carnes de hamburguesa procedentes de 3 establecimientos comerciales (A, B, C) ubicados al norte y este de la ciudad de Maracaibo. Las carnes de hamburguesas fueron preparadas en las carnicerías de dichos establecimientos comerciales y tenían el Registro Sanitario que permite su venta al público en una presentación de bandejas de 9 unidades con un peso de 180 g cada una.

En cada establecimiento comercial se adquirieron 27 muestras que tenían menos de 3 horas de preparadas, las cuales fueron recolectadas de 3 lotes de elaboración diferentes (9 en cada muestreo) y posteriormente transportadas hasta el laboratorio en una cava con hielo, en un lapso inferior a 2 horas.

De las 9 muestras de carne de hamburguesa de cada establecimiento comercial recolectadas por muestreo, 3 muestras se almacenaron a -15°C (temperatura promedio de expendio en los 3 establecimientos de venta), 3 muestras se almacenaron a 5°C (temperatura del producto recién elaborado medida con una termocupla en el centro de las carnes) y 3 muestras se almacenaron a 15°C (temperatura promedio de algunos expendios de comida ambulante de la ciudad de Maracaibo, que colocan la carne de hamburguesas en un compartimiento no refrigerado con hielo). Las muestras fueron almacenadas durante 96 horas en bolsas plásticas con cierre hermético en cavas refrigeradoras a las cuales se les controló la temperatura. Se consideró como tiempo inicial el período necesario para el transporte de las muestras (menos de tres horas de elaboración) y se retiraron del almacenamiento 3 muestras de cada establecimiento comercial al tiempo inicial, a las 48 y 96 horas para los análisis microbiológicos respectivos.

Análisis microbiológico

Las muestras fueron identificadas y preparadas asépticamente para su análisis microbiológico. Durante el tratamiento inicial de las muestras se aplicó el método del homogeneizado según lo establecido en la Norma Venezolana COVENIN [8], para tal fin se pesaron 10 g de carne utilizando como diluyente 90 mL de agua peptonada al 0,1%. Posteriormente, se prepararon las diluciones correspondientes (10^{-2} - 10^{-4}) para realizar los recuentos de aerobios mesófilos [9, 18], coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli* [6], y *Staphylococcus aureus* [5]. Adicionalmente, se realizó la detección de

Salmonella, siguiendo dos metodologías diferentes: 1) según la Norma COVENIN 1291-88 [4], (pre-enriquecimiento: agua peptonada tamponada; enriquecimiento selectivo: caldo Selenito Cistina; aislamiento selectivo: Agar Xilosa Lisina Desoxicolato). 2) Método de aislamiento de Rambach [30], (pre-enriquecimiento: Caldo Salmosyst; enriquecimiento: suplemento selectivo Salmosyst; aislamiento: Agar diferencial Rambach).

Identificación bioquímica y serológica de *Salmonella*

Para la identificación bioquímica de *Salmonella* se siguió la metodología descrita por Boop y col [1]. Posteriormente, se realizó la identificación serológica, utilizando sueros somáticos polivalentes e individuales (Difco) para determinar el grupo serológico. Finalmente, se realizó el serotipaje con antisueros flagelares (Difco) para identificar el serotipo correspondiente.

Metodología estadística

Se empleó un modelo de arreglo factorial 3³ totalmente al azar con tres repeticiones, aplicado con la finalidad de evaluar el efecto de los factores (establecimiento comercial, temperatura y tiempo) y los niveles sobre las variables objeto de estudio, así como también las distintas interacciones que ocurren entre ellos.

Modelo aditivo lineal:

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + T_j + E_k + (MT)_{ij} + (ME)_{ik} + (TE)_{jk} + (MTE)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

donde:

- Y_{ijkl} : observaciones de las variables de respuesta.
- μ : media general de la población.
- M_i : efecto del establecimiento comercial.
- T_j : efecto de la temperatura.
- E_k : efecto del tiempo.

- $(MT)_{ij}$: efecto de la interacción entre establecimiento comercial y temperatura.
- $(ME)_{ik}$: efecto de la interacción entre establecimiento comercial y tiempo.
- $(TE)_{jk}$: efecto de la interacción entre temperatura y tiempo.
- $(MTE)_{ijk}$: efecto de la interacción, establecimiento comercial, temperatura y tiempo.
- ε_{ijkl} : efecto del error experimental.

La información experimental fue procesada utilizando el paquete estadístico S.A.S (Statistical Analysis System) versión 8,1. Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el procedimiento general para modelos lineales (proc. GLM) y para la separación de medias, el método de medias por mínimos cuadrados (LS Means) [31].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del establecimiento comercial sobre los parámetros microbiológicos de la carne de hamburguesas

El recuento de aerobios mesófilos expresado en log UFC/g varió entre 5,78 y 6,12 (TABLA I). El análisis de la varianza demostró que existe diferencia significativa ($P < 0,05$) con respecto a esta variable entre la carne de hamburguesa, del establecimiento comercial A y la proveniente de los establecimientos B y C. Al comparar el recuento de aerobios mesófilos de la carne de hamburguesa de los tres establecimientos comerciales con los límites fijados por la Norma Venezolana COVENIN ($< 7 \log \text{ UFC/g}$) [7] para carne de hamburguesa se observa que las muestras cumplieron con lo especificado por la norma venezolana para este parámetro, pero al confrontarlos con las especificaciones microbiológicas de la Norma Internacional [22], la carne procedente de los establecimientos B y C presentaron recuentos por encima de lo permisible ($< 6 \log \text{ UFC/g}$). En un estudio previo [29] realizado en el estado Zulia

TABLA I

MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA LAS VARIABLES MICROBIOLÓGICAS DE LAS CARNES DE HAMBURGUESA POR EFECTO DEL ESTABLECIMIENTO COMERCIAL / MINIMUM SQUARE MEANS FOR MICROBIAL VARIABLES IN HAMBURGER MEAT DUE TO EXPENDING STORE

Variables	Establecimiento comercial			Norma Nacional*	Norma Internacional**
	A	B	C		
Aerobios mesófilos *	5,78 ^a	6,15 ^b	6,12 ^b	< 7	< 6
<i>Staphylococcus aureus</i> *	0,00 ^a	0,44 ^b	0,18 ^b	-	-
Coliformes totales **	1,98 ^a	2,29 ^b	2,57 ^b	-	-
Coliformes fecales **	0,96 ^a	1,90 ^b	1,99 ^b	-	-
<i>Escherichia coli</i> **	0,96 ^a	1,90 ^b	1,99 ^b	< 1,96	-
<i>Salmonella</i>	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Medias con superíndices diferentes, en una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$). * Log UFC/g. ** Log NMP/g. *COVENIN [7]. **KENNETH [22]. -: indica que la norma no contempla este parámetro.

en carnes de hamburguesa, los autores observaron en las tres diferentes marcas analizadas un recuento de aerobios mesófilos que excedía los límites de la Norma Venezolana COVENIN. En Obregón (Sonora, México), Félix-Fuente y col. [11], reportaron un promedio para el recuento de aerobios mesófilos de 1,43 log UFC/g en 40 muestras de carne de hamburguesa, del total de muestras analizadas el 95% de las muestras se encontraron dentro de las especificaciones microbiológicas para ese producto en México. En el área de Xativa, España, Torner y col. [35] observaron que más del 50% de las muestras de hamburguesas analizadas excedieron el límite legal máximo permitido para el recuento de aerobios mesófilos. Un elevado recuento de aerobios mesófilos en los alimentos pueden ser atribuidos a materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario, también pueden indicar condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante el almacenamiento [14, 18].

El recuento de *S. aureus* varió entre 0 y 0,44 log UFC/g (TABLA I). El análisis estadístico mostró que existe diferencia significativa ($P < 0,05$) para esta variable entre la carne procedente del establecimiento comercial A con la proveniente de los establecimientos B y C (TABLA I). La norma nacional venezolana [7] no contempla a este patógeno dentro de sus especificaciones microbiológicas para carne de hamburguesa. Félix-Fuente y col. [11], en ciudad Obregón, Sonora (México) determinaron la carga microbiana de *Staphylococcus aureus* en 30 carnes preparadas para hamburguesas, de las cuales solo el 10% de las muestras presentó un promedio de 3,54 log UFC/g, mientras que el 90% restante presentó recuentos bajos en un rango de 0 a 2,23 log UFC/g. Por su parte, Medrano y col. en Bogotá [25] aislaron *S. aureus* en el 11,11% de las muestras analizadas de carne cruda para hamburguesas. *Staphylococcus aureus* ocasiona intoxicaciones alimentarias cuando la cepa es productora de una enterotoxina termoestable. Soriano y col. [32] al estudiar 504 muestras de alimentos de cafeterías, observaron que 19 (3,8%) cepas de *S. aureus* eran productoras de enterotoxina, de las 19 cepas 3 habían sido aisladas de carne de hamburguesas. La presencia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos puede deberse a contaminación del mismo durante la manipulación por trabajadores que son portadores del microorganismo a nivel de fosas nasales, faringe y/o piel, esta bacteria también puede ser introducida en los alimentos por contaminación de los utensilios utilizados durante su procesamiento, además un recuento elevado de este patógeno puede estar asociado a prácticas de limpieza y desinfección inadecuadas, así como también a fallas en el control de la temperatura del proceso [19,20, 27].

En relación con el recuento de coliformes totales y coliformes fecales (expresados como log NMP/g), los valores se situaron en las muestras de los tres establecimientos comerciales entre 1,98-2,57 (coliformes totales) y 0,96-1,99 (coliformes fecales), respectivamente, mostrando la carne preparada en el establecimiento comercial A, valores significativamente menores ($P < 0,05$) para ambas variables (TABLA I). En la re-

gión, Narváez y col. [27], al estudiar el producto terminado de una pequeña planta procesadora de hamburguesas en Maracaibo, obtuvieron un promedio de coliformes totales y fecales (log NMP/g) de 3,84 y 3,85, respectivamente. En México, en ciudad Obregón, Félix-Fuentes y col. [11], en su estudio obtuvieron el 92% de las muestras de carne para hamburguesas con recuentos menores de 1 log NMP/g para coliformes totales, el 8% restante de las muestras presentaron recuentos con un rango de 0,47 a 2,30 log NMP/g, en el caso de coliformes fecales el 95% de las muestras fueron negativas, sólo dos muestras fueron positivas (0,60 log NMP/g). En Cuba [3], un estudio realizado en alimentos que se venden en las calles en las cuales se incluían los productos cárnicos, el 34,8% de las muestras sobrepasaba las especificaciones microbiológicas para coliformes totales. La presencia de coliformes en los alimentos puede ser ocasionada por contaminación directa o indirecta de origen fecal y su presencia en gran número puede indicar manipulación no higiénica y/o almacenamiento inadecuado [18].

El recuento de *Escherichia coli* expresado como log NMP/g, varió entre 0,96 y 1,99 en las muestras provenientes de los tres establecimientos comerciales. El valor para la carne de hamburguesa preparada en el establecimiento comercial A fue significativamente menor ($P < 0,05$) en comparación con la de los establecimientos B y C (TABLA I). La carne de hamburguesa del establecimiento comercial C se encontró fuera de lo establecido por la Norma Venezolana [7] para este parámetro microbiológico (TABLA I). Previamente en la región [27] se ha reportado valores promedios de recuento de *E. coli* de 2,45 log NMP/g en carne de hamburguesa, los cuales exceden los parámetros microbiológicos de la norma nacional. Medrano y col. [25] en Bogotá, reportaron una incidencia del 22,2% de *E. coli* en carnes de hamburguesas. De las muestras de hamburguesas analizadas por Torner y col. [35], el 19,2% se encontraron excediendo el límite máximo legal para el recuento de *E. coli*.

En las 81 muestras analizadas de carne de hamburguesa solo se aisló una *Salmonella* lo que representa el 1,23%. Aunque la carne preparada en el establecimiento comercial A fue la que presentó un menor recuento en las variables microbiológicas estudiadas, fue en ésta donde se obtuvo el aislamiento de *Salmonella* (TABLA I). Tanto la Norma Nacional [7], como la norma internacional [22] establecen una tolerancia cero para *Salmonella*. Cuando este patógeno está presente en los alimentos se encuentra generalmente en baja concentración, en relación con el resto de la microflora, que habitualmente es variada y abundante o si está presente se encuentra con daños sufridos por la temperatura de congelación durante el almacenamiento lo que dificulta su recuperación y aislamiento [28, 34]. Para solventar esta situación, en este estudio se emplearon dos metodologías paralelas para la recuperación de *Salmonella*, el método de Rambach [30] y el método propuesto por COVENIN [4]. El porcentaje de aislamiento de *Salmonella* en carne de hamburguesa reportada por otros investi-

gadores oscila entre cero y 10% [11, 25, 28, 29, 35]. En países industrializados como los Estados Unidos de Norteamérica, anualmente se estiman 2 millones de casos de infección por consumo de carne contaminada con *Salmonella* spp. [24].

Al realizar la serotipificación de la cepa aislada de *Salmonella* esta resultó ser *S. pomona* la cual es considerada como un patógeno zoonótico [33, 36]. Es importante resaltar que no hay reportes del aislamiento de *S. pomona* a partir de carne de hamburguesa a nivel regional e internacional. Este serotipo no común de *Salmonella* ha sido aislado en humanos con salmonelosis en Puerto Rico y Canadá, en estos países su aislamiento ha sido asociado con el contacto previo de la persona infectada con tortugas terrestres y/o marinas, donde *S. pomona* forma parte de la flora intestinal, razón por la cual estos animales representan un importante reservorio de este patógeno humano [33, 36]. Tal vez el aislamiento de este patógeno en una de las muestras analizadas sea debido a la existencia de un portador asintomático en el establecimiento comercial donde fue elaborada la carne de hamburguesa quien pudo contaminar el alimento por falta de buenas prácticas de higiene.

Efecto de las temperaturas de almacenamiento de las carnes de hamburguesas sobre los parámetros microbiológicos

La TABLA II, presenta las medias cuadráticas para el efecto temperatura de almacenamiento (-15, 5 y 15°C) para cada una de las variables analizadas (aerobios mesófilos, *S. aureus*, coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y *Salmonella*).

El análisis de la varianza mostró que no existe diferencia significativa ($P > 0,05$) en relación al efecto de la temperatura de almacenamiento para las variables aerobios mesófilos, *S. aureus*, coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli*. Esto pudiera deberse a que dichos microorganismos pueden crecer en rangos de temperaturas diferentes a su temperatura óptima de crecimiento.

El recuento de aerobios mesófilos (log UFC/g) osciló entre 5,94 a 5°C y 6,06 a 15°C. Los microorganismos aerobios mesófilos pueden multiplicarse en un rango de temperatura que va de 10 a 37°C. Sin embargo, estos pueden sobrevivir a temperaturas inferiores a su óptima de crecimiento, por lo que los efectos letales de la refrigeración y la congelación dependen del germen considerado, del microambiente y de las condiciones de tiempo y temperatura de almacenamiento [18].

El recuento de *S. aureus* (log UFC/g) varió entre 0,26 a -15°C y 0,18 a 15°C. El rango de crecimiento de este microorganismo se encuentra entre 10 y 45°C, algunas cepas pueden crecer a temperaturas por debajo o por encima de las mencionadas, asimismo, se ha descrito que los estafilococos son bastante resistentes a la congelación, sobre todo si se compara con algunas bacterias Gram negativas como *E. coli* y *Salmonella* [16].

El recuento de coliformes totales (log NMP/g) varió entre 2,22 a -15°C y 2,37 a 5°C, mientras que el recuento de coliformes fecales (log NMP/g) fue entre 1,53 a 5°C y 1,77 a 15°C. La temperatura óptima de crecimiento de los coliformes totales se encuentra alrededor de 35-37°C, así mismo los coliformes fecales están caracterizados por un crecimiento rápido a temperaturas de 41°C [2].

Con respecto al recuento de *E. coli* (log NMP/g), el valor inferior se presentó a -15°C (1,55) y el superior a 15°C (1,77). Esta bacteria es considerada como un marcador sanitario que asegura la inocuidad de los alimentos crudos o que no han sido sometidos a ningún tratamiento térmico [2, 26].

Salmonella pomona fue recuperada a la temperatura de 15°C; aunque, su temperatura óptima de crecimiento está alrededor de 35 y 37°C [15, 16], este resultado podría ser un indicativo de que a estas temperaturas no se asegura el retraso en el crecimiento de este patógeno. La temperatura de 15°C fue seleccionada debido a que a esta temperatura se conservan los alimentos en los expendios de comida ambulante, lo que estaría constatando el riesgo para la Salud Pública que representa el consumo de alimentos bajo estas condiciones.

TABLA II
MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA LAS VARIABLES MICROBIOLÓGICAS DE LAS CARNES DE HAMBURGUESA POR EFECTO DE LAS TEMPERATURAS DE ALMACENAMIENTO / MINIMUM SQUARE MEANS FOR MICROBIAL VARIABLES IN HAMBURGER MEAT DUE TO STORAGE TEMPERATURE

Variables	Temperaturas (°C)		
	-15	5	15
Aerobios mesófilos *	6,05	5,94	6,06
<i>Staphylococcus aureus</i> *	0,26	0,18	0,18
Coliformes totales **	2,22	2,37	2,34
Coliformes fecales **	1,55	1,53	1,77
<i>Escherichia coli</i> **	1,55	1,53	1,77
<i>Salmonella</i>	Ausente	Ausente	Presente

* Log UFC/g. ** Log NMP/g.

Efecto del tiempo de almacenamiento de las carnes de hamburguesas sobre los parámetros microbiológicos

En la TABLA III, se muestran las medias cuadráticas para las variables aerobios mesófilos, *S. aureus*, coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y *Salmonella* por efecto del tiempo (0, 48, 96 horas). En general, se observa que todos los microorganismos estudiados mostraron una tendencia a la disminución de los valores por efecto del tiempo. Este comportamiento podría deberse a la depleción de nutrientes y la acumulación de metabolitos tóxicos, lo cual inhibe la velocidad de crecimiento hasta que la muerte y las divisiones celulares se igualan, permaneciendo así la población constante [18, 21].

Otra razón que podría explicar este comportamiento, es que una vez preparada la hamburguesa, recibe microorganismos procedentes de la manipulación, aumentando su carga inicial lo cual crea un mecanismo de competencia o de adaptación entre los diferentes géneros bacterianos necesarios que sintetizan las enzimas que degradan los sustratos presentes en el alimento [2].

Se ha señalado que la flora bacteriana presente en la carne de res está influenciada por la microflora de la materia

prima, las condiciones sanitarias durante el procesamiento, así como también por la temperatura y tiempo de almacenamiento antes de la venta [10, 13].

De los parámetros microbiológicos, solo el recuento de aerobios mesófilos, mostró diferencias significativas ($P < 0,05$) a las 96 horas. Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos para esta variable con la Norma COVENIN [7] para hamburguesa, estos recuentos se encontraron dentro de lo establecido por dicha norma ($< 7 \log \text{UFC/g}$).

Salmonella pomona, fue recuperada luego de 96 horas de almacenamiento, este resultado probablemente se deba a que durante este tiempo el microorganismo pudo multiplicarse, aunado a la disminución de la flora inicial lo que permitió el aislamiento del patógeno a este tiempo de almacenamiento.

Efecto del muestreo de las carnes de hamburguesas sobre los parámetros microbiológicos

En la TABLA IV, se observa la comparación de medias para las variables aerobios mesófilos, *S. aureus*, coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y *Salmonella* por efecto de muestreo. El análisis de varianza indicó que existen diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los diferentes muestreos y

TABLA III

MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA LAS VARIABLES MICROBIOLÓGICAS DE LAS CARNES DE HAMBURGUESA POR EFECTO DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO / MINIMUM SQUARE MEANS FOR MICROBIAL VARIABLES IN HAMBURGER MEAT DUE TO STORAGE TIME

Variables	Tiempo (horas)		
	0	48	96
Aerobios mesófilos *	6,33 ^a	6,04 ^a	5,68 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i> *	0,27 ^a	0,18 ^a	0,18 ^a
Coliformes totales **	2,42 ^a	2,32 ^a	2,20 ^a
Coliformes fecales **	1,67 ^a	1,67 ^a	1,51 ^a
<i>Escherichia coli</i> **	1,67 ^a	1,67 ^a	1,51 ^a
<i>Salmonella</i>	Ausente	Ausente	Presente

Medias con superíndices diferentes, en una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$). * Log UFC/g. ** Log NMP/g.

TABLA IV

MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA LAS VARIABLES MICROBIOLÓGICAS DE LAS CARNES DE HAMBURGUESA POR EFECTO DEL MUESTREO / MINIMUM SQUARE MEANS FOR MICROBIAL VARIABLES IN HAMBURGER MEAT DUE TO SAMPLING

Variables	Muestreos		
	1	2	3
Aerobios mesófilos *	6,76 ^a	5,61 ^b	5,69 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i> *	0,00 ^a	0,09 ^a	0,53 ^b
Coliformes totales **	2,23 ^a	2,42 ^a	2,28 ^a
Coliformes fecales **	2,02 ^a	1,84 ^a	0,10 ^b
<i>Escherichia coli</i> **	2,02 ^a	1,84 ^a	0,10 ^b
<i>Salmonella</i>	Presente	Ausente	Ausente

Medias con superíndices diferentes, en una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$). * Log UFC/g. ** Log NMP/g.

las variables aerobios mesófilos, *S. aureus*, coliformes fecales y *E. coli*. El aislamiento de *Salmonella* y los recuentos más elevados de aerobios mesófilos, coliformes fecales y *E. coli* se obtuvieron en el primer muestreo, mientras que el recuento de *S. aureus* fue más alto en el tercer muestreo. Al comparar los resultados de cada muestreo con la Norma Nacional [7] y la internacional [22] se observó que en el primer muestreo no se cumplió con la normativa al obtenerse un recuento de *E. coli* por encima del límite máximo permitido (para la norma nacional) y haberse aislado *Salmonella*. Aunque en el segundo muestreo el recuento de *E. coli* permanecía aún por encima de lo establecido por la norma nacional no se aisló *Salmonella*. Estos resultados probablemente sean debido a una deficiente calidad microbiológica de la materia prima o que durante el proceso de elaboración de la carne de hamburguesas hubo un mal manejo en las prácticas de manufactura e higiénico sanitarias por parte de los operadores [16, 27].

Efecto de la interacción marca, temperatura y tiempo en las carnes de hamburguesas sobre los parámetros microbiológicos

En la TABLA V, se presentan las medias cuadráticas para cada una de las variables analizadas por efecto del establecimiento comercial por temperatura. En relación al recuento de aerobios mesófilos, los recuentos más elevados se presentaron a la temperatura de -15°C en las muestras del establecimiento comercial A, a 5°C en las muestras del establecimiento comercial B, y a 15°C para las muestras del establecimiento comercial C.

En referencia al recuento de *S. aureus*, la carne de hamburguesa preparada en el establecimiento comercial B evidenció el recuento más elevado en las distintas temperaturas con respecto a los establecimientos A y C.

Para el recuento de coliformes totales los valores más altos se observaron en el establecimiento comercial C a las diferentes temperaturas de almacenamiento, mientras que los recuentos de coliformes fecales y *E. coli* presentaron variabilidad en los tres establecimientos comerciales a las diferentes temperaturas de almacenamiento. El análisis de medias mostró que existe diferencia significativa ($P < 0,05$) para coliformes fecales y *E. coli* en la interacción establecimiento comercial, temperatura, lo que podría atribuirse a las temperaturas de almacenamiento.

La presencia de *Salmonella pomona* fue detectada en la carne preparada en el establecimiento comercial A que fue almacenada a 15°C .

La TABLA VI, muestra las medias cuadráticas para cada una de las variables analizadas por efecto de establecimiento comercial y tiempo. En referencia a aerobios mesófilos, en el tiempo 0, la carne de hamburguesa preparada en los tres establecimientos comerciales presentó los recuentos más elevados, al transcurrir el tiempo de almacenamiento esta variable mostró una tendencia al descenso presentando su valor más bajo a las 96 horas.

En el recuento de *S. aureus* se observó variabilidad por efecto del establecimiento comercial y el tiempo de almacenamiento. La carne preparada en el establecimiento comercial B presentó los mayores recuentos en el tiempo cero y a las 96 horas.

La media más alta para los recuentos de coliformes fecales y *E. coli* la presentó la carne preparada en el establecimiento comercial B durante el almacenamiento de 0 y 96 horas, mientras que la preparada en C presentó el valor medio más alto a las 48 horas.

Salmonella pomona fue aislada en la carne procedente de A transcurridas 96 horas de almacenamiento.

TABLA V

MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA LAS VARIABLES MICROBIOLÓGICAS DE LAS CARNES DE HAMBURGUESA POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ESTABLECIMIENTO COMERCIAL-TEMPERATURA / MINIMUM SQUARE MEANS FOR MICROBIAL VARIABLES IN HAMBURGER MEAT DUE TO EXPENDING STORE-TEMPERATURE INTERACTION

Establecimiento comercial	Temperatura	AM Log UFC/g	STA Log UFC/g	CT Log NMP/g	CF Log NMP/g	EC Log NMP/g	<i>Salmonella</i>
A	5	5,56	0,00	2,08	0,86	0,86	-
	15	5,84	0,00	1,89	1,11	1,11	+
	-15	5,94	0,00	1,98	0,89	0,89	-
B	5	6,19	0,27	2,50	1,70	1,70	-
	15	6,17	0,27	2,51	2,15	2,15	-
	-15	6,08	0,78	2,15	1,85	1,85	-
C	5	6,06	0,27	2,53	2,04	2,04	-
	15	6,16	0,26	2,62	2,04	2,04	-
	-15	6,14	0,00	2,53	1,89	1,89	-

AM: aerobios mesófilos. STA: *S. aureus*. CT: coliformes totales. CF: coliformes fecales. EC: *E. coli*.

TABLA VI
MEDIAS POR MÍNIMOS CUADRADOS PARA LAS VARIABLES MICROBIOLÓGICAS DE LAS CARNES DE HAMBURGUESA POR EFECTO DE LA INTERACCIÓN ESTABLECIMIENTO COMERCIAL-TIEMPO / MINIMUM SQUARE MEANS FOR MICROBIAL VARIABLES IN HAMBURGER MEAT DUE TO EXPENDING STORE-TIME INTERACTION

Establecimiento comercial	Tiempo (horas)	AM Log UFC/g	STA Log UFC/g	CT Log NMP/g	CF Log NMP/g	EC Log NMP/g	<i>Salmonella</i>
A	0	5,90	0,00	2,22	0,90	0,90	-
	48	5,77	0,00	2,14	1,11	1,11	-
	96	5,66	0,00	1,59	0,85	0,85	+
B	0	6,53	0,54	2,50	2,08	2,08	-
	48	6,29	0,25	2,38	1,74	1,74	-
	96	5,63	0,53	2,28	1,88	1,88	-
C	0	6,57	0,26	2,52	2,03	2,03	-
	48	6,06	0,27	2,43	2,15	2,15	-
	96	5,74	0,00	2,74	1,80	1,80	-

AM: aerobios mesófilos. STA: *S. aureus*. CT: coliformes totales. CF: coliformes fecales. EC: *E. coli*.

CONCLUSIONES

Se detectó variabilidad en el recuento de aerobios mesófilos, *S. aureus*, coliformes totales, coliformes fecales, *E. coli* y *Salmonella*, por efecto del establecimiento comercial y del muestreo, lo que evidencia una falta de control en el procesamiento de este alimento.

La carne de hamburguesa preparada en dos de los tres establecimientos comerciales analizados, excedió los límites máximos establecidos por organismos internacionales para aerobios mesófilos.

A pesar que las temperaturas de almacenamiento de -15, 5 y 15°C no afectaron en forma significativa los parámetros microbiológicos durante 96 horas, la temperatura de los expendios de comida ambulante (15°C) puede favorecer el crecimiento de *Salmonella*.

RECOMENDACIONES

- Establecer medidas que permitan controlar el proceso de elaboración de carnes de hamburguesas desde la materia prima para así asegurar la calidad final de este alimento.
- Propiciar la implementación de estrategias de control sanitario en los expendios de comida ambulante por parte de las autoridades gubernamentales.
- Tomar medidas de control que permitan prolongar y asegurar la inocuidad de las carnes que son expendidas para resguardar la salud de los consumidores.
- Realizar estudios para la determinación de enterotoxina estafilococcica y aplicar la metodología diagnóstica utili-

zada para el aislamiento de *Escherichia coli* enterohemorrágica en carne de hamburguesas.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BOOP, C.; BRENNER, F.; FIELDS, P.; WELLS, J.; STROCKBINE, N. *Escherichia, Shigella and Salmonella*. In: **Manual of Clinical Microbiology**. 8th Ed. ASM Press. Washington DC. 1212 pp. 2003.
- [2] BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F.; ZUCCA, J. Aspectos microbiológicos de la Seguridad alimentaria y calidad alimentaria. En: **Microbiología Alimentaria**. Vol. I. 1^{ra} Ed. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 437pp. 1994.
- [3] CABALLERO, A.; CARRERA, J.; LENGOMIN, M. Evaluación de la vigilancia microbiológica de los alimentos que se venden en las calles. **Rev. Cub. de Alim. y Nutri.** 12 (1): 7-10. 1998.
- [4] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Aislamiento e Identificación de *Salmonella***. (1^{ra} Rev.). 1291-88. Caracas, Venezuela. 1988.
- [5] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Aislamiento y Recuento de *Staphylococcus aureus*** (1^{ra} Rev.). 1292-89. Caracas, Venezuela. 1989.

- [6] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Determinación del número más probable de coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* (2^{da} Rev.)**. 1104-96. Caracas, Venezuela. 1996.
- [7] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Hamburguesas**. 2127-98. Caracas, Venezuela. 1998.
- [8] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico**. 1126-89. Caracas, Venezuela. 1989.
- [9] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES (COVENIN). **Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri (2^{da} Rev.)**. 902-87. Caracas, Venezuela. 1987.
- [10] DIVISIÓN DE CUARENTENA ANIMAL DEL SERVICIO AUTÓNOMO DE SANIDAD AGROPECUARIA (SASA). En: El mercado de carnes en Venezuela. **Rev. Carne Ted.** 8 (2): 7. 2001.
- [11] FÉLIX-FUENTES, A.; CAMPAS-BAYPOLI, O.; MEZA-MONTENEGRO, M. Calidad sanitaria de alimentos disponibles al público de ciudad Obregón, Sonora, México. **Rev. Salud Pública y Nutrición.** 6(3). 2005. (En línea). http://www.respyn.unal.mx/vi/3/articulos/calidad_sanitaria.htm.
- [12] FORREST, J.; ABERLE, E.; HEDRICK, H.; JUDGE, M.; MERKEL, R. **Fundamentos de Ciencias de la Carne**. 1^{ra} Ed. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 364pp. 1979.
- [13] FOSTER, J.; FOWLER, J.; LADIGES, W. A Bacteriological survey of raw ground beef. **J Food Protect.** 40 (11): 790-794. 1977.
- [14] GARCIA, T.; MARTIN, R.; SANZ, B.; HERNANDEZ, P. E. Extensión de la vida útil de la carne fresca. **Rev. Españ. de Cien. y Tecnol. de Aliment.** 35(1): 1-18. 1995.
- [15] HOBBS, B.; GILBERT, R. **Higiene y toxicología de los alimentos**. 2^{da} Ed. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 441pp. 1986.
- [16] HOWARD, R. **Sanidad Alimentaria**. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 261pp. 1986.
- [17] INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA. **Anuario Estadístico de Venezuela**. División de publicación y artes gráficas. Dirección de divulgación estadística del Instituto Nacional de Estadística. 2000.
- [18] INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOOD (ICMFS). **Microbiología de alimentos**. Técnicas y análisis microbiológico. Vol I. 2^{da} Ed. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 431 pp. 1975.
- [19] INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOOD (ICMFS). **Ecología microbiana de los alimentos**. Vol I. 2^{da} Ed. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 322 pp. 1980.
- [20] JABLONSKI, L.; BOHACH, G. *Staphylococcus aureus*. In: **Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers**. 1th Ed. ASM Press. Washington DC. 768 pp. 1997.
- [21] JAY, J. **Microbiología Moderna de los Alimentos**. 2^{da} Ed. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 491 pp. 1978.
- [22] KENNETH, C. Oregon's Experience with Microbiological Standard for Meat. **J. Milk Food. Technol.** 38 (8): 483-486. 1975.
- [23] LAWRIE, R.A. **Ciencia de la carne**. Alteración microbiana de la carne. 2^{da} Ed. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 456 pp. 1977.
- [24] MARTINEZ, E.D.; SIMENTAL, S.; HERNANDEZ, J.F. Incidencia de patógenos en productos cármicos y métodos para prevenirlos. **Rev. Carne Ted.** 7 (4): 44-47. 2000.
- [25] MEDRANO, M.V.; CORAL, A.; VANEGAS, M.C.; CARRILLO, C. Determinación de patógenos en productos listos para el consumo y cármicos crudos. **Memorias del VIII Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de Alimentos**. Bogotá 18-21 mayo, Colombia. 49 pp. 2005.
- [26] MOSSEL, D.A.A; MORENO, G.B. **Microbiología de los alimentos**. Fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y la calidad de los alimentos. 1^{ra} Ed. Editorial ACRIBIA. Zaragoza, España. 375 pp. 1985.
- [27] NARVAEZ, C.; PARRA, K.; HUERTA, N.; RODAS, A. Evaluación del desempeño higiénico al procesar hamburguesas en una pequeña planta de Maracaibo. **Rev Científ FCV-LUZ.** XI (6): 524-532. 2001.
- [28] NARVAEZ, C.; PARRA, K.; HUERTA-LEINDENZ, N.; RODAS-GONZALEZ, A.; ARENAS, L. Aislamiento de *Salmonella* y *Escherichia coli* patógenas durante el procesamiento de hamburguesas en una pequeña planta de Maracaibo, Venezuela. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XV (6): 551-559. 2005.
- [29] PARRA, K.; PIÑERO, M.; NARVAÉZ, C.; UZCATEGUI, S.; ARENAS, L.; HUERTA, N. Evaluación microbiológica y físico química de hamburguesas congeladas, expandidas en Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XII (6): 715-720. 2002.
- [30] RAMBACH, A. New plate medium for facilitated differentiation of *Salmonella* spp. from *Proteus* spp and other enteric bacteria. **Appl. and Environ. Microbiol.** 56 (1): 301-303. 1990.
- [31] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. Paquete Estadístico S.A.S para Windows. Version 8,1. Cary, North Caroline. USA. 1999.

- [32] SORIANO, J.; FONT, G.; RICO, H.; MOLTO, J.; MANES, J. Incidence of enterotoxigenic staphylococci and their toxins in foods. **J. Food Protect.** 65 (5): 857-860. 2002.
- [33] TAUXE, R.V.; RIGAU-PEREZ, J.G.; WELLS, J.G.; BLAKE, P.A. Turtle-associated salmonellosis in Puerto Rico. Hazards of the global turtle trade. **JAMA.** 254 (2):237-239. 1985.
- [34] TIETJEN, M.; FUNG, D *Salmonella* and food Safety. **Crit. Rev. in Microbiol.** 21 (1): 53-83. 1995.
- [35] TORNER, M.; CASTILLO, M.; PLA, S.; HERNANDORENA, M. A study of the sanitary quality of fresh meat products manufactured in meat processing plants in the health area of Xativa. **Alimentaria.** 262: 27-31. 1995.
- [36] WOODWARD, D.; KHAKHRIA, R.; JHONSON, W. Human Salmonellosis associated with exotic pets. **J. Clinical Microbiol.** 35 (11): 2786-2790. 1997.