

## Efecto de microondas sobre *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp. inoculados en carne molida congelada

María Laura Arias.<sup>1</sup>, Manuel Jiménez<sup>2</sup> y Florencia Antillón<sup>1</sup>

Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica

**RESUMEN.** Se estudió la eficiencia del horno de microondas en la destrucción de algunos microorganismos patógenos inoculados en tortas de carne de res. Las tortas de carne fueron inoculadas con *Salmonella* spp. o *Staphylococcus aureus*, mantenidas en congelación por 2-3 días a -4 °C y posteriormente descongeladas en un horno de microondas Amana de 2450 Hz, según su peso. Fueron sometidas a niveles de potencia de 60%, 70%, 80% y 90% por períodos de 15, 45, 60, 90 y 105 segundos. Se determinó en cada muestra la tasa de sobrevivencia de las bacterias inoculadas según la metodología descrita por Vanderzant y Splittstoesser; así como la actividad de la enzima fosfatasa ácida como parámetro de cocimiento.

Los recuentos de los microorganismos inoculados demuestran que, independientemente del nivel de cocción utilizado, se requiere de un tiempo mayor a aquel en que la carne se considera cocida desde el punto de vista enzimático u organoléptico para obtener la eliminación de ambas bacterias.

### INTRODUCCION

En la última década, el desarrollo y uso masivo de los hornos de microondas se ha incrementado significativamente, en especial porque ello implica ahorros de tiempo y energía (1,2). En los establecimientos de comida rápidas, instituciones públicas y hogares, los hornos de microondas se utilizan no sólo para calentar alimentos precocidos, sino también para descongelar o cocinar los mismos en poco tiempo (3).

La cocción de los alimentos es un proceso fundamental para disminuir la carga microbiana de estos (2) y es en este punto donde el horno de microondas ha sido cuestionado, ya que éste no permite el calentamiento uniforme del alimento, sino que se presentan puntos fríos y calientes según la textura o consistencia del mismo; aparte de que el tiempo de calentamiento es corto existe gran variedad de opiniones respecto a la sobrevivencia de bacterias presentes en los alimentos al prepararlos en horno de microondas; entre ellos Rosenberg y Bogl. (4), señalan que únicamente el horno de microondas de tipo industrial es capaz de esterilizar alimentos, Mudget (5), encuentra que la cocción en este tipo de horno es más rápida, penetrante y eficaz que la convencional, y Aleixo et al. (6), citan que la cocción en microondas es menos efectiva que la cocción en un horno convencional para la destrucción de las células vegetativas y más bien resulta estimulante para la germinación de esporas bacterianas.

En este estudio se pretendió determinar el efecto de las microondas sobre una población conocida de *Salmonella* spp., una bacteria Gram

**SUMMARY.** Effect of microwaves over *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. inoculated into frozen minced meat. The efficacy of the microwave oven in the destruction of some pathogenic microorganisms inoculated into minced meat was studied. These were inoculated with *Salmonella* spp. or *Staphylococcus aureus*, frozen for 2-3 days at -4 °C and thawed, according to their weight, in an Amana microwave (24450 Hz). They were radiated at levels of 60%, 70%, 80% and 90% for periods of 15, 45, 60, 90 and 105 seconds. The rate of survival of each bacteria was determined according to the methodology described by Vanderzant and Splittstoesser, as well as the activity of the acid phosphate enzyme as cooking parameter.

The microbiological analysis shows that, despite the cooking level used, the time required for the elimination of both bacteria is greater than the one in which the meat is considered enzymatically and organoleptically cooked.

negativa de importancia epidemiológica en carnes y de *Staphylococcus aureus*, una bacteria Gram positiva indicadora de mala manipulación, ambas inoculadas en carne molida. Se escogieron estas bacterias en base a la alta frecuencia con que producen intoxicaciones e infecciones de origen alimentario. Con el fin de evitar la subjetividad en la determinación del punto final adecuado de cocción, se analizó la desaparición de la actividad de la enzima fosfatasa ácida en carne (8), metodología usada en otros estudios como indicador de cocimiento adecuado de productos cárnicos.

### MATERIALES Y METODOS

- 1. Cepas bacterianas. Preparación del inóculo:** Se utilizó una cepa de *S. aureus* coagulasa positiva, termonucleasa positiva, aislada a partir de queso fresco (UCR 31) y una de *Salmonella* spp. aislada a partir de huevo (UCR 73). Ambas cepas fueron cultivadas en matraces con 100 ml de caldo tripticosa soya (pH 7.3) a 35 °C durante 24 horas, hasta obtener una concentración de  $10^5$ - $10^6$  UFC/ml, la cual fue verificada por recuento en plato.
- 2. Preparación de las muestras:** Se adquirió carne de res molida (1 kg) en diferentes supermercados del Area Metropolitana del país, la cual fue mezclada con 50 ml del cultivo de *Salmonella* spp. La carne fue homogenizada usando un Stomacher IUL Instruments y luego preparada en tortas de 50 g cada una, todas con igual diámetro y espesor. Las tortas fueron congeladas por 2-3 días a -4 °C y después fueron procesadas en horno de microondas. Igual procedimiento se siguió inoculando la carne de res molida (1 kg) con *S. aureus*.
- 3. Protocolo de cocimiento:** Se utilizó un horno de microondas Amana Radavange de 2450 Hz para descongelarlas individual-

1 Microbióloga, Sección Microbiología de Alimentos

2 Microbiólogo, Dpto. de Análisis Clínicos

mente según su peso, después de lo cual fueron sometidas a 60%, 70%, 80% y 90% de poder durante 15, 45, 60, 90 y 105 segundos cada una. Se utilizó una muestra control sin inocular (blanco de carne) y otra inoculada pero no tratada con microondas, con el fin de obtener el 100% de actividad de fosfatasa ácida.

Luego del proceso de cocción, cada muestra fue resuspendida en 225 ml de agua peptonada estéril (APE) 0.1% y de nuevo homogenizadas. A partir de esta suspensión, se hizo la determinación de fosfatasa ácida y las diluciones necesarias para el recuento de microorganismos sobrevivientes.

4. **Determinación de la actividad de la fosfatasa ácida:** Se determinó la actividad de fosfatasa ácida en cada una de las muestras de torta de carne, para lo cual se emplearon reactivos de la casa Wiener (Fosfatest 405), lote 407510 y un espectrofotómetro Shimadzu UV-160. Se calculó la actividad residual en cada muestra empleando como 100% la actividad enzimática presente en la muestra sin tratamiento térmico.
5. **Análisis microbiológico:** a partir de cada muestra y de los controles, se preparon diluciones decimales en APE 0.1%. El número de bacterias sobrevivientes fue determinado con la técnica de Número Más Probable (NMP) en series de tres tubos siguiendo la metodología descrita por Vanderzant y Splittstoesser (9). Para la determinación de *Salmonella* spp., se procedió a hacer un preenriquecimiento en caldo lactosado simple, (24 h, 37 °C) seguido de un enriquecimiento selectivo en caldo selenito-cisteína y caldo tetrationato (24 h, 37 °C) y luego se hizo el aislamiento en placas de agar XLD (xilosa-lisina-desoxicolato) y agar Hektoen (24 h, 37 °C).  
Para identificar y cuantificar la presencia de *S. aureus*, se realizó un enriquecimiento en caldo tripticase soya + 10% NaCl (24 h, 37 °C) y el aislamiento se hizo en placas de agar Baird Parker (24 h, 37 °C).

## RESULTADOS

El porcentaje de actividad de la fosfatasa ácido según la temperatura y el nivel de cocción utilizados para el tratamiento de las muestras se presenta en la Figura 1. Las muestras tratadas a 60% de potencia necesitaron cerca de 80 segundos para la inactivación de la enzima, para los poderes de 70%, 80% y 90% requirieron de 60 segundos. El tiempo necesario para inhibir la enzima, según cada porcentaje de poder, concuerda con el tiempo necesario para que la carne se considere cocida, desde el punto de vista organoléptico.

Los datos de sobrevivencia de *Salmonella* spp. (Figura 2), indican que independientemente del porcentaje de potencia utilizado, se necesitó más de 85 segundos para la destrucción de la población inoculada de *Salmonella*, tiempo mayor a aquel en que se considera la carne cocida desde el punto de vista enzimático y organoléptico. Un comportamiento similar mostró *S. aureus* (Figura 3), el cual para su eliminación necesitó más de 105 segundos a 60 y 70% de poder, 75 segundos a los niveles de 80% y 90%.

FIGURA 1  
Porcentaje de actividad de fosfatasa ácida según temperatura y nivel de coccimiento

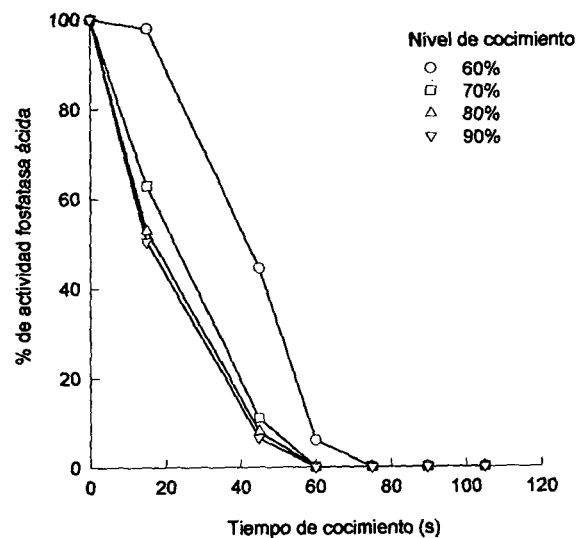


FIGURA 2  
Sobrevivencia de *Salmonella* spp. a diferentes tiempos y niveles de coccimiento

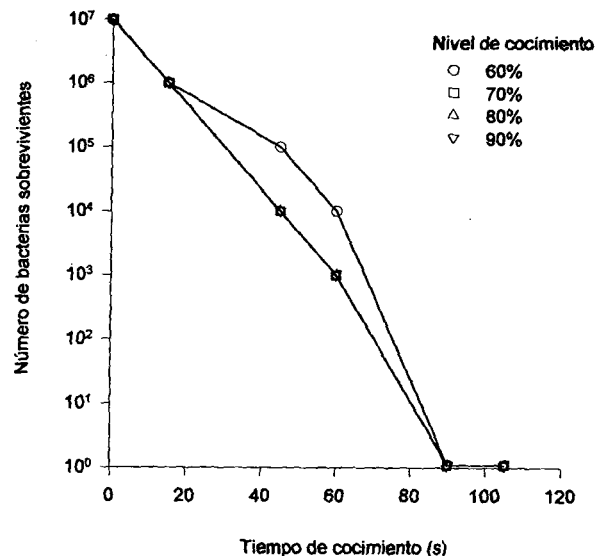
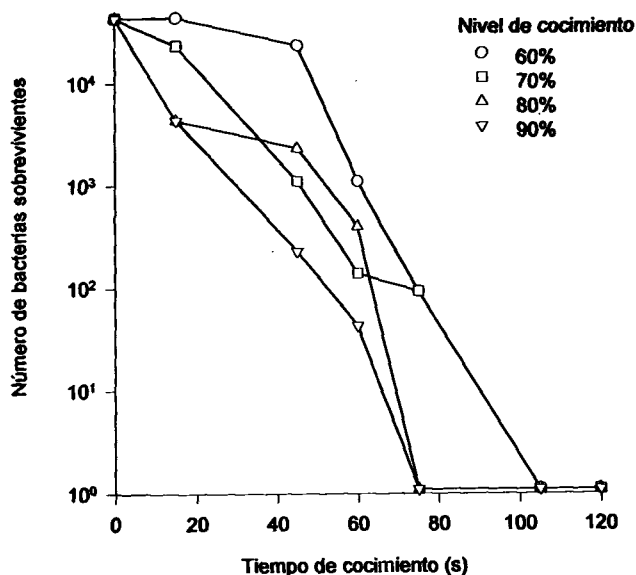


FIGURA 3  
Sobrevivencia de *Staphylococcus aureus* a diferentes tiempos y niveles de cocimiento



## DISCUSION

El análisis del porcentaje de inhibición de la fosfatasa ácida en un homogenizado de muestra de alimentos resulta adecuado para el control del tratamiento térmico de productos cárnicos, ya que la inactivación de la enzima coincide con el punto en que la muestra se considera organolépticamente cocida. Estos resultados de la enzima fosfatasa ácida concuerdan con la recomendación de USDA-FIS, 1986 (10) para la evaluación del grado de cocción de productos cárnicos.

La tasa de destrucción de las bacterias analizadas fue significativa (hasta de 7 logaritmos) ( $\leq 0.005$ ), pero el hecho de que ambas bacterias se puedan recuperar en el momento en que la carne se considera cocida es preocupante. La carne tratada a 70%, 80% y 90% de poder se consideró cocida, desde el punto de vista enzimático y organoléptico a los 60 segundos, y a más de 75 segundos al usar el 60% de poder, tiempo en que no se ha logrado la eliminación de la población inoculada. El hecho de que la *Salmonella* sobreviva después de la cocción implica un riesgo importante, pues según la FDA la presencia de hasta una célula de esta bacteria en el alimento es potencialmente patógena para el hombre si se almacena a temperatura ambiente por un período de tiempo suficiente y se alcanzan poblaciones altas (11). Esto puede constituir un grave peligro especialmente si el producto va dirigido a un consumidor susceptible como un niño, un anciano o un enfermo.

En cuanto a *S. aureus*, Pascual afirma que los alimentos preparados cocinados deben tener menos de 100 UFC/g de esta bacteria (12). Es importante destacar que aún cuando el inóculo inicial de *S. aureus* fue relativamente bajo, no se logró la eliminación de la bacteria en el tiempo en que se considera la carne cocida, lo cual conlleva un riesgo potencial si el producto se almacena a temperatura ambiente por largo tiempo y se alcanzan poblaciones altas.

Este estudio confirma observaciones previas, las cuales indican que el cocimiento con microondas es menos efectivo que el cocimiento en horno convencional en la destrucción de microorganismos (6,7). Rosenberg y Bogl (4) citan en su trabajo diferentes grados de eficiencia entre estos dos tipos de horno de hasta dos logaritmos en la tasa de muerte de bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Diversos aspectos explican este hallazgo, entre los cuales se citan el corto tiempo de calentamiento a que es sometido el alimento en el horno de microondas (5), la absorción de energía en diferentes intensidades por los constituyentes del alimento (13), la variación en los patrones de calentamiento de acuerdo a la posición en que se coloca el alimento en el horno de microondas (14) o la presencia de puntos fríos en el mismo (15).

Las bacterias Gram positivas presentan por lo general una mayor resistencia a las microondas que Gram negativas, con algunas excepciones como *Streptococcus faecium* (2). El recuento inicial de *Salmonella* spp. en muestras de carne fue mayor que el de *S. aureus* ya que, aún cuando se agregó una misma carga inicial para ambas bacterias, el comportamiento de adhesión a la carne fue diferente. Dado que en este tipo de tratamiento la efectividad es inversamente proporcional al número inicial de microorganismos, se observó que el tiempo necesario para obtener la eliminación de *Salmonella* spp. fue mayor que para *S. aureus*. No obstante, al comparar los factores de reducción de las bacterias estudiadas (número de células destruidas con el tratamiento térmico), *Salmonella* resultó más sensible al tratamiento térmico, lo que coincide con Rosenberg y Bogl (4).

Considerando que la carne molida de res puede estar contaminada con diversos microorganismos patógenos y que el cocimiento en horno de microondas puede ser ineficaz para eliminarlas, especialmente si el número de microorganismos es alto, es importante concientizar a la población sobre el uso adecuado de este electrodoméstico y recomendar la utilización del mayor poder.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece el financiamiento otorgado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, proyecto 430-96-206, así como al Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET) y la cooperación de la Sra. Laura Villalobos.

## REFERENCIAS

- Decareau R. Microwaves in food processing. *Food Tech Aust* 36:81, 1984.
- Frazier W., Westhoff D. *Microbiología de los Alimentos*. 3a ed, Acsribia S.A. Zaragoza, 1983.
- Brennan J., Butters J., Cowell N., Lilly A. *Las operaciones de la ingeniería de los alimentos*. Acsribia S.A. Zaragoza, 1980.
- Rosenberg U., Bogl W. Der einfluss der microwellerhitzung auf den keimgehalt von lebensmitteln. *Fleischwirtschaft*. 69:1182-1187, 1982.
- Mudgett R. Microwave properties and heating characteristics of foods. *Food Tech* 40:84-93, 1986.
- Aleixo J., Jamesen K., Pratt D., Swaminathan B. Destruction of pathogenic bacteria in turkeys roasted in microwave ovens. *J Food Sci* 50:873-875, 1985.
- Dealler R., Lacey R. Microwave reheating of convenience meals. *British Food J* 92:19-22, 1990.
- Townsend W., Blankenship L. Assessment of previous heat treatment given to semicommercially and commercially prepared meat and poultry

- products using the APIZYM system. *J Food Sci.* 53:649-651, 1988.
9. Vanderzaant C. & Splittstoessen D. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, Ed. APHAM 140-155, 1992.
  10. USDA-FSIS. Determination of internal cooking temperature (acid phosphatase activity). Food Safety and Inspection Service, Chemistry Laboratory Guidebook. N3. 018:3-49, 1986.
  11. FDA. Bacteriological analytical manual. 8th edition, USA, 1995.
  12. Pascual M. Microbiología alimentaria. Editorial Acribia, Zaragoza, 1993.
  13. Curnutte B. Principles of microwave radiation. *J Food Prot* 43:618, 1980.
  14. León Crespo F; Ockerman H., Irvin K. Effect of conventional and microwave heating on *Pseudomonas putrefaciens*, *Streptococcus faecalis* and *Lactobacillus plantarum* in meat tissue. *J Food Prot* 40:588, 1987.
  15. Craven S. & Lillard S. Effect of microwave heating on precooked chicken. *J. Food Sci* 39:211-212, 1984.

Recibido: 17-05-1996

Aceptado: 24-02-1997