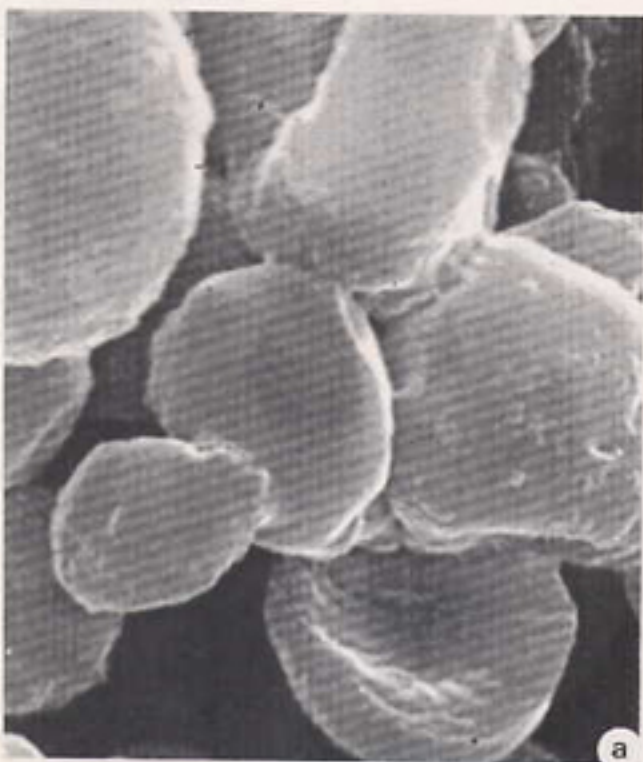


REVITECA

Revista en
Tecnología
y Ciencia
Alimentaria

Publicación Semestral del Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos * Vol. 3 No. 1-2, 1994 *

Análisis Cinético Ultraestructural de la Lipólisis de los Glóbulos Grasos Lácteos



Micrografía electrónica de barrido de glóbulos grasos lácteos

Se analizó cinética y estructuralmente la acción de la lipasa pancreática sobre la grasa de leches naturales (de vaca y humana) y homogeneizadas, mediante el estudio de los glóbulos grasos lácteos y sus membranas. Se encontró que la reacción *in vitro* de la enzima con las leches homogeneizadas fue más rápida que con las leches naturales.

Además, se observó una proporción mayor de glóbulos grasos lácteos... (ver pág. 28)

Cinéticas de deshidratación con aire caliente de zanahoria (*Daucus caroto*) en rodajas

Se realizó el estudio de las cinéticas de secado con aire caliente de rodajas de zanahoria escaldadas. Se evaluaron diferentes temperaturas (60, 70, y 80 °C), humedades absolutas del aire (12 y 55 g agua/kg aire seco) y velocidades del aire (0,5, 1,5 y 2,1 m/s). Se encontró un... (ver pág. 1)

La preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados

Se estudió la tecnología de factores combinados en la preservación de pulpa de guayaba. Se emplearon cuatro factores de conservación en tres niveles de aplicación cada uno, mediante un diseño factorial fraccionario 3^4 : adición de... (ver pág. 11)

El análisis de superficies de respuesta en la preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados en el nivel industrial

Se estudió el uso de factores combinados para preservar la pulpa de guayaba a temperatura ambiente en el nivel industrial. Con los datos de un estudio anterior en el nivel piloto, y... (ver pág. 19)

Supervivencia del *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el ceviche

Se estudió la supervivencia de *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus*, en ceviche preparado con una formulación estandarizada en Costa Rica. Se inoculó el pescado troceado para... (ver pág. 38)

Revista Semestral publicada por el
Centro de Investigación en
Tecnología de Alimentos

Director del CITA
Luis Fernando Arias Molina

Editor
Ricardo Quirós Castro

Consejo Editorial
Ing. Luis Fernando Arias Molina
Ing. Fernando Aguilar Villarreal
Ana Ruth Bonilla Leiva, Ph. D.
Lic. Vera García Cortes
Víctor Lobo Di Palma, M. Sc.
Juan Manuel Esquivel Kruse, M. Sc.

Diagramación
Jeanina García Ureña

La responsabilidad de los trabajos firmados es de sus autores y no del CITA, excepto cuando se indique expresamente lo contrario.

La mención de cualquier empresa o procedimiento patentado no supone su aprobación por parte del CITA.

Los artículos incluidos en REVITECA pueden reproducirse libremente siempre y cuando se haga mención expresa de su procedencia y se envíe copia al Consejo Editorial.

Correspondencia por canje y suscripciones
Universidad de Costa Rica - Centro de
Investigaciones en Tecnología de Alimentos
REVITECA
San José - Costa Rica
Telex UNICORI 2544
Tels. 225-9885 / 224-8027 / 207-4212 / 207-4701

La presente edición de REVITECA es patrocinada por la Fundación para la Investigación Agroindustrial Alimentaria (FIAA).

Cinéticas de deshidratación con aire caliente de zanahoria (*Daucus caroto*) en rodajas

Ana M. Rodríguez-Sibaja 1
Pedro Fito-Maupoe 1

La preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados

Floribeth Víquez-Rodríguez 11

El análisis de superficies de respuesta en la preservación de pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) por métodos combinados en el nivel industrial

Floribeth Víquez-Rodríguez 19
Catalina García-Santamaria 19

Análisis cinético ultraestructural de la lipólisis de los glóbulos grasos lácteos

Teresita Rodríguez-Salas 28
Francisco Hernández-Chavarría 28
Julio Francisco Mata-Segreda 28

Supervivencia del *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el ceviche

Priscilla Alvarado-Marengo 38
Vera García-Cortes 38

Supervivencia del *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus* en el ceviche*

Priscilla Alvarado-Marengo**; Vera García-Cortes***

ABSTRACT

Survival of *Vibrio cholerae* and *V. parahaemolyticus* in ceviche

The survival of *Vibrio cholerae* and *V. parahaemolyticus* was studied in ceviche (raw marinated fish), prepared with a standard formulation. Fish pieces were previously inoculated to obtain 10^3 or 10^6 CFU/g for each bacteria.

Ceviche was prepared with the inoculated fish and incubated at 4°C. Samples for analyses were taken before incubation and at different intervals up to 24 hrs.

In all experiments the *Vibrio* populations decreased rapidly. In all cases the pathogens could not be isolated after 24 hrs incubation by the presence/absence test in 10g. However, both species were able to survive in ceviche at least for 6 h in numbers that depended on the amount inoculated. *V. parahaemolyticus* showed a more accelerated death rate than *V. cholerae*.

Based on these results it is concluded that ceviche can be a potential health hazard if contaminated with these vibrios, when eaten during the first 6-10 hrs of preparation. After 24 h ceviche does not represent a health hazard by *V. cholerae* or *V. parahaemolyticus*.

RESUMEN

Se estudió la supervivencia de *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus*, en ceviche preparado con una formulación estandarizada en Costa Rica. Se inoculó el pescado troceado para obtener cargas aproximadas, de cada microorganismo por separado, de 10^3 y 10^6 UFC/g en el ceviche preparado. Las pruebas se realizaron en ceviche elaborado a partir del pescado contaminado e incubado a 4°C hasta su análisis. Las muestras se tomaron al tiempo cero y a diferentes intervalos, hasta por 24 h.

En general, en todos los experimentos se observó una clara y acelerada tendencia de las poblaciones a decrecer con el tiempo, independientemente de la carga inicial inoculada. En ningún caso fue posible aislar los *Vibrio* después de 24 h, utilizando la técnica de presencia/ausencia en 10g. Sin embargo, los resultados indican que ambas especies son capaces de sobrevivir en el ceviche al menos por 6 h en cantidades que dependen de la carga inoculada; siendo, el *V. parahaemolyticus* el que presenta la tasa de muerte más acelerada.

Por lo anterior, se concluye que el ceviche puede ser un riesgo potencial para la salud en relación con estos dos patógenos, y en especial con el *V. cholerae*, dependiendo, entre otros factores, del tiempo que tiene de preparado y la cantidad del producto que se ingiera. De acuerdo con los datos obtenidos no existe riesgo si el ceviche se consume luego de 24 h de preparado.

INTRODUCCION

El ceviche es un platillo muy popular en Costa Rica, así como en varios países latinoamericanos. Su preparación a base de pescado y condimentos crudos, sumergidos en jugo de limón y sin ningún tratamiento térmico, ha suscitado especulaciones en cuanto a la capacidad de éste y otros

* Tesis de Grado de la primera autora para obtener el grado de Lic. en Tecnología de Alimentos, Universidad de Costa Rica, 1992.

** Actualmente en Industrias Buenos Aires, S.A.

*** Facultad de Microbiología, UCR Actualmente en CITA-UCR.

platillos similares, para servir como vehiculador de patógenos.

Un estudio realizado por Fernández y Ryan (1983) demuestra que de 66 muestras de «ceviche de chuchecas» (coctel de bivalvos), el 93% no eran aptas para consumo humano por su alto grado de coliformes fecales, de *Staphylococcus aureus* y por la presencia de *Salmonella* spp. Jiménez (1991) encontró que, en ceviche, la *Salmonella typhimurium* mantiene su población constante por 72 hrs y *S. aureus*, aunque disminuye su población con el tiempo, puede encontrarse en números considerables aún después de 48 hrs.

Dos patógenos, el *Vibrio parahaemolyticus* y el *V. cholerae*, representan un riesgo especial en relación con el ceviche debido a que ha sido demostrada su presencia en pescado. Es ampliamente conocido que, debido a su hábitat marino, el *V. parahaemolyticus* constituye frecuentemente parte de la flora normal del pescado y otros mariscos. En Costa Rica se ha informado sobre la presencia de esta bacteria en diversos tipos de pescado (Murillo, 1983; García, *et al.*, 1986).

Por otra parte, cabe destacar que, durante la reciente epidemia de cólera ocurrida en Perú, se logró aislar *V. cholerae* del 20% de peces recién capturados y de 100% de muestras de pescado obtenidas en el mercado; verificándose, además, la presencia de *Vibrio cholerae* en 57.2% de las muestras de ceviche obtenidas en El Callao y en 30% de las obtenidas en Lima (OMS, 1991).

En forma posterior, en un estudio retrospectivo de la epidemia antes mencionada, se logró establecer que al inicio, el contagio más frecuente fue por la ingestión de pescado y, posteriormente, por verduras y frutas mal lavadas (Romero *et al.*, 1991).

En Costa Rica, Mata *et al.* (1994) realizaron experimentos que demuestran que *V. cholerae* muere al ser inoculado directamente en el ceviche, y por otro lado, estudios realizados en 1991 en el Hospital Nacional de Niños señalan que el limón no es garantía para eliminar el *V. cholerae* del mismo (Herrera, Marco Luis; Comunicación personal). Debido a los datos, aparentemente contradictorios, y a que existen muchas variables (formulación del alimento, forma de inocular con los

patógenos, condiciones de almacenamiento y técnicas de recuperación) que pueden incidir en este tipo de estudio, se llevó a cabo la siguiente investigación con el fin de estudiar la supervivencia de *V. cholerae* y *V. parahaemolyticus* en ceviche preparado con una formulación estandarizada en Costa Rica y bajo condiciones controladas.

MATERIALES Y METODOS

Cepas y preparación del inóculo

Se utilizó la cepa ATCC No 17802 de *Vibrio parahaemolyticus* suministrada por la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica y una cepa de *Vibrio cholerae* No 1800-82 biotipo el Tor, serotipo Inaba, proveniente del "Center for Disease Control" (Georgia, USA), suministrada por el Instituto Nacional de Investigaciones en Salud (INISA, Universidad de Costa Rica). El *V. cholerae* fue mantenido en agua peptonada alcalina con pH 8.2 (APA) y el *V. parahaemolyticus* en agua peptonada con 3% de NaCl (AP - 3%).

Para preparar los inóculos se utilizó, en cada caso, el mismo medio de cultivo que se utilizó para el mantenimiento. La concentración de los cultivos se ajustó utilizando los estándares de Mc Farland (Mc Faddin, 1981), y en cada determinación se incluyó una cuantificación en agar tiosulfato-citrato-bilis-sacarosa (TCBS).

Inoculación del ceviche

Las pruebas se llevaron a cabo para cada microorganismo por separado, realizándose, para cada uno, repeticiones en tres oportunidades. En todos los casos, el ceviche fue preparado siguiendo la formulación promedio descrita por Jiménez y García (1993).

Los trocitos de pescado (de ± 1 cm de arista) se inocularon con la cantidad de cultivo necesaria (determinada previamente) para obtener, en el ceviche ya preparado, cargas aproximadas de 10^6 y 10^3 UFC/g. El

pescado inoculado se dejó en reposo durante 3 hrs a 4 °C y luego se añadió el resto de los ingredientes.

Toma y preparación de las muestras

En cada caso una vez preparado el ceviche, se procedió a tomar una muestra para el análisis correspondiente al tiempo cero y luego se almacenaron a 4°C. De los ceviches inoculados con *V. cholerae* se tomaron muestras a los 30 min y después de 2, 4, 6 y 10 h. En el caso de *V. parahaemolyticus* se incluyó, además, una muestra a las 8 h.

En todos los casos la muestra consistió en 10g de producto, en donde se mantuvo la relación sólido/líquido establecida por Jiménez y García (1993). La muestra se pesó directamente en frascos de licuadora estériles y se homogenizó, por 1-2 min con 90 ml de APA o AP-3% según el caso. Una vez licuada, se ajustó el pH de la mezcla a 7,0-7,5 con NaOH 3M estéril (Wallace *et al.*, 1984) y se procedió a realizar las diluciones decimales necesarias utilizando tubos con 9 ml de diluyente (APA o AP-3%).

Métodos de cuantificación

Se utilizó la técnica de esparcimiento sobre agar descrita por Vanderzant y Splittstoesser (1992) usando agar TCBS con incubación a 35°C por 18 a 24 h. Cuando se esperaban concentraciones muy bajas de las bacterias, la técnica se modificó de la siguiente manera: se sembró 0.2 ml de la dilución 10^{-1} en cada una de cinco placas de agar TCBS, tomándose, para estimar el resultado, el número de colonias típicas presentes en las 5 placas. En tales casos se utilizó, además, la técnica de número más probable (NMP, series de 3 tubos) simultáneamente con la prueba de esparcimiento en placa. Para *V. cholerae* se usó como medio para la prueba presuntiva APA y para *V. parahaemolyticus* AP-3%, con

incubación a 35°C por 6-8 h (De Paola, 1987). En ambos casos la prueba confirmada se realizó rayando una asada tomada de la superficie del caldo a placas de agar TCBS, incubándolas a 35°C por 18-24 h.

En todos los experimentos se realizó, a las 24 hrs, una prueba de presencia/ausencia para lo cual se tomó 10 g de ceviche, se adicionó 90 mL de diluyente, se homogenizó en licuadora y se ajustó el pH a 7.0-7.5. Se incubó por 6-8 h a 35 °C y luego se tomó una asada de la superficie del caldo y se rayó sobre placas de agar TCBS el cual se incubó a 35°C por 18-24 h.

Supervivencia en jugo de limón

Se realizaron pruebas de supervivencia de ambos vibrios en jugo de limón mandarina (*Citrus jambiri*) puro y diluido 1/10 y 1/100. A 25 ml de cada uno se agregó 2.5 ml del inóculo inicial (10^8 UFC/ml) y se procedió a rayar una asada sobre placas de agar TCBS al tiempo 0 y a los 30 min. Las placas se incubaron a 35 °C por 18 h.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos (Figuras 1, 2, 3 y 4) demuestran que el comportamiento del *V. cholerae* y del *V. parahaemolyticus* en el ceviche es similar, presentando una tendencia a disminuir en un tiempo relativamente corto. En la Figura 5 se aprecia que la reducción, en ciclos logarítmicos, es mayor en las primeras 2 h para el *V. parahaemolyticus* en ambas cargas de inoculación (0.86 ciclos para 10^6 y 1,14 para 10^3), que para el *V. cholerae* (0,84 y 0,52 ciclos respectivamente). Lo anterior es notorio al observarse que en todos los experimentos fue posible recuperar algunas células de *V. cholerae* a las 10 h de almacenamiento, no así del *V. parahaemolyticus*.

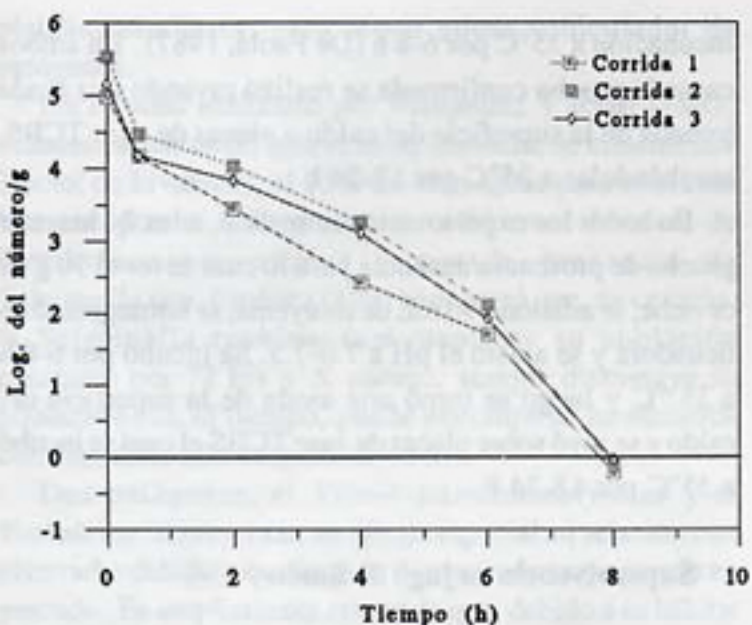


Figura 1. Supervivencia del *Vibrio parahaemolyticus* en ceviche inoculado con 10^6 UFC/g (T=4 °C; pH= 3,5-4,0)

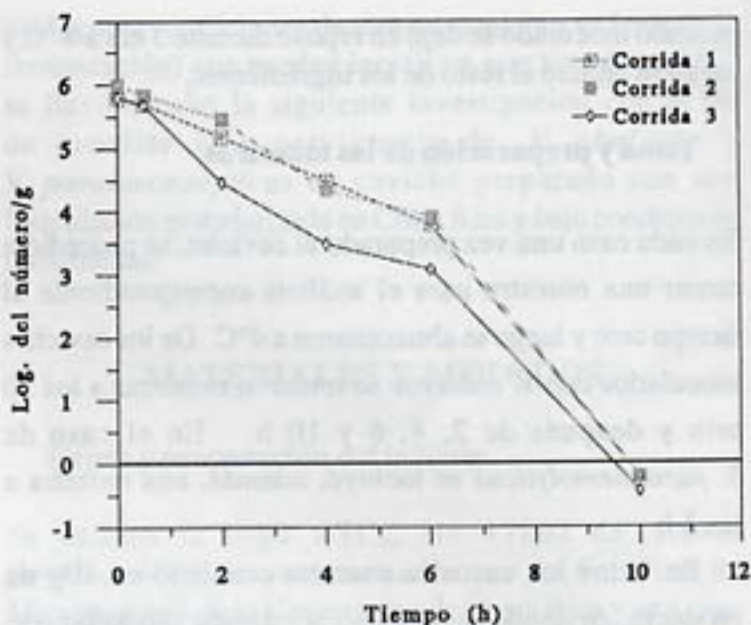


Figura 3. Supervivencia del *Vibrio cholerae* en ceviche inoculado con 10^6 UFC/g (T=4 °C; pH= 3,5-4,0)

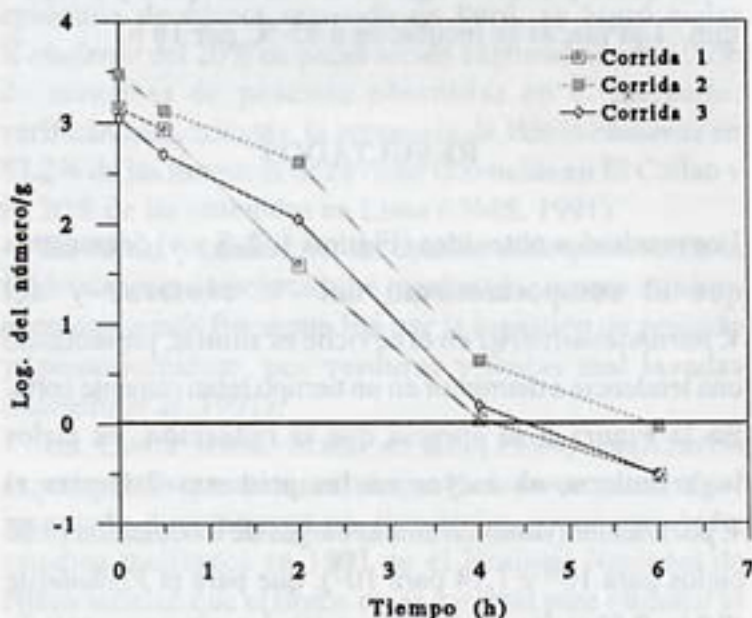


Figura 2. Supervivencia del *Vibrio parahaemolyticus* en ceviche inoculado con 10^3 UFC/g (T=4 °C; pH= 3,5-4,0)

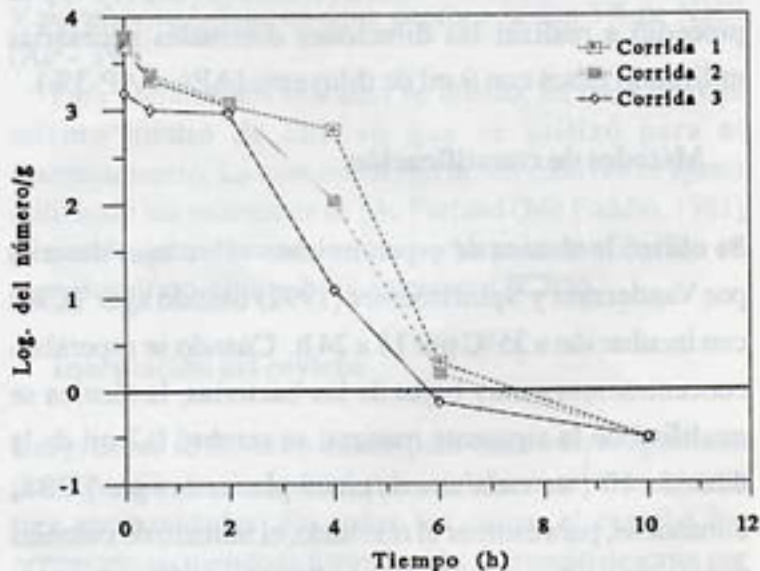


Figura 4. Supervivencia del *Vibrio cholerae* en ceviche inoculado con 10^3 UFC/g (T=4 °C; pH= 3,5-4,0)