



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

“PRÁCTICAS DE LABORATORIO: CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS CÁRNICOS”

AUTORÍA M^a PAZ GARCÍA RODRÍGUEZ
TEMÁTICA CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS CÁRNICOS
ETAPA FORMACIÓN PROFESIONAL

Resumen

En este artículo se muestran los análisis clínicos que se llevan a cabo en la industria alimentaria para determinar el buen estado de productos cárnicos. Dichos análisis pueden constituir prácticas de laboratorio del Ciclo Formativo de Grado Superior de Técnico Superior en Laboratorio de Análisis y Control de Calidad.

Palabras clave

Calidad de los alimentos, contaminación microbiológica, medio de cultivo, pH, actividad del agua cloruros.

1. INTRODUCCIÓN.

Se denomina industria cárnica a la industria alimentaria que usa como materia prima la procedente del sacrificio de ganado para el consumo humano. Parte principal de esta industria lo constituye el matadero.

Parte de la carne se destina directamente al consumo humano, y parte es tratada para elaborar embutidos.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

Para asegurar la calidad sanitaria de los productos que se venden al mercado, es necesario llevar a cabo un control de calidad en un laboratorio destinado a este fin. En él se realizan diferentes análisis que garantizan el buen estado del alimento.

Trabajar en un laboratorio de control de calidad de alimentos, es una de las principales salidas laborales de los estudiantes del Ciclo Formativo de Grado Superior de Técnico Superior en Laboratorio de Análisis y Control de Calidad. Por ello es de utilidad la realización de experiencias de laboratorio que inicien al alumnado en el manejo del laboratorio en relación con el análisis de alimentos.

Los análisis microbiológicos mediante cultivos constituyen uno de los análisis más comunes en la industria alimentaria. El procedimiento a llevar a cabo es sencillo y aplicable a gran variedad de productos alimentarios, por ello, aunque el alumnado del ciclo formativo lo realice solo en productos cárnicos, estará cualificado para realizarlo en otros tipos de alimentos.

2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

2.1. Por qué se realiza el análisis microbiológico.

El control microbiológico de la producción de alimentos tiene como finalidad suministrar productos seguros o inocuos, nutritivos y sabrosos, con una vida comercial adecuada y a un coste razonable para el consumidor.

Los microorganismos que influyen de manera decisiva sobre la conservabilidad de la carne y productos cárnicos, llegan a la superficie cuando el animal es abierto en canal a través del proceso de matanza. Se multiplican en mayor o menor medida, dependiendo de las condiciones de refrigeración, luego durante el despiece y picado de la carne se redistribuyen por las nuevas superficies generadas por el corte. A través de la superficie se introducen un gran número de especies de bacterias, levaduras y hongos en el establecimiento elaborador. El contenido de gérmenes superficiales puede ser muy variable, dependiendo de la higiene en la matanza y del transporte.

Entre los microorganismos que llegan al establecimiento elaborador se encuentran también gérmenes patógenos. Las enfermedades microbianas que se transmiten por medio de los alimentos se suelen dividir en dos clases principales:



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

- La primera comprende las enfermedades que son consecuencia de la presencia en los alimentos de microorganismos infectivos por ingestión. Estos microorganismos son capaces de causar enfermedades por la invasión del hospedador o por la liberación de sustancias tóxicas (toxinas), resultantes del crecimiento en el tracto intestinal o en algún otro órgano. Estas enfermedades generalmente son denominadas infecciones alimentarias.
- La segunda clase de enfermedades transmitidas por alimentos es consecuencia de la absorción intestinal de toxinas que ya estaban presentes en los alimentos antes de su ingestión, como consecuencia del crecimiento y metabolismo en dichos sustratos de ciertos microorganismos. Para estas enfermedades se adopta la denominación intoxicaciones transmitidas por alimentos, con el fin de diferenciarlas claramente de los síndromes clínicos ("intoxicaciones") resultantes de la ingestión de sustancias químicas tóxicas.

2.2. Prácticas: Análisis microbiológico de productos cárnicos.

Existen varios microorganismos que pueden estar presentes en las carnes y embutidos y que pueden generar enfermedades en la persona que los consume.:

- *Escherichia coli*.
- *Staphylococcus aureus*.
- *Listeria monocytogenes*.
- *Clostridium perfringens*.

2.2.1. Método horizontal para el recuento de *Escherichia coli*.

Escherichia coli es una de las bacterias más abundantes en el tubo digestivo de los mamíferos. En condiciones normales, constituye una parte esencial de la flora bacteriana humana, a la que se atribuyen efectos beneficiosos para la salud.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

Muchas cepas de *E.coli* producen enterotoxinas termolábiles (LT) y/o termoestables (ST), que actúan en el intestino delgado. A estas cepas se las denomina enterotoxigénicas (ETEC). Las toxinas LT, junto con un factor que permite que el microorganismo se adhiera al epitelio intestinal, que reside en las fimbrias, activan la adenilciclase, lo que es causa de un aumento de los niveles de AMP cíclico. Este compuesto altera la función celular de epitelio, causando la secreción activa de agua y electrolitos a la luz intestinal y provocando una diarrea profusa y acuosa. Las enterotoxinas ST probablemente actúan de mismo modo activando la guanilciclase y aumentando los niveles de GMP cíclico.

Otro grupo de cepas de *E.coli*, llamadas enteroinvasivas (EIEC) produce una enfermedad más grave, a menudo con diarrea sanguinolenta. Estas cepas son citopatógenas, invaden la mucosa intestinal del colon y producen la muerte de las células epiteliales.

Las cepas que integran el tipo o grupo enterohemorrágico (EHEC) han sido identificadas como la causa de colitis hemorrágica.

El grupo de cepas denominadas enteropatógenas (EPEC) provoca diarreas al adherirse o fijarse al epitelio intestinal y destruir las microvellosidades, efecto denominado de adherencia y esfacelación o desprendimiento.

- Medios de cultivo:
 - TBX.
 - Caldo de dilución: solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % tamponada con 0,1% de peptona.

- Siembra:
 - En una bolsa esterilizada se pesan 10-12g de muestra y se añaden 9 ml por gramo del caldo de dilución, se homogeneiza.
 - Se siembra por duplicado 1ml de muestra diluida en placa de Petri estéril, ésta se considera la dilución 10^{-1} .
 - Se repite la operación con las siguientes diluciones :
 - 1) dilución de 1ml de muestra en 9 ml de agua caldo de dilución y
 - 2) dilución de 1ml de esta dilución en 9 ml de caldo de dilución.
 - Se vierte en cada placa unos 10 ml de TBX a 45°C, se agita para mezclar la muestra con agar.
 - Se deja solidificar y se incuba durante 24 horas a 44°C.
 - Recuento: En las placas que contengan de 15 a 100 colonias de color púrpura.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 13 – DICIEMBRE 2008

- Expresión de resultados:
 - En las placas donde se encuentran colonias características de color púrpura de *Escherichia coli*, se multiplica el número de colonias por 10^d . Siendo *d* el *factor de dilución* de la placa donde se encuentran las colonias.

2.2.2. Método horizontal para el recuento de *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus, un microorganismo patógeno presente en piel de animales y personas, además de en sus fosas nasales y gargantas. Es un microorganismo muy resistente a las condiciones ambientales y extremadamente difícil de erradicar. Soporta bien condiciones extremas aunque se inactiva a temperatura de congelación y puede eliminarse con una cocción correcta. Se puede localizar en cualquier alimento y produce intoxicación. Ésta aparece entre las 2 y 12 horas después de la ingestión de la toxina que genera el patógeno y provoca vómitos intensos e incontrolados, aunque no fiebre. Es una intoxicación leve y desaparece en 24 horas. El responsable del problema es una toxina de carácter termoestable, lo que permite que en alimentos cocinados se mantenga la toxina, aún cuando no esté presente el microorganismo.

- Medios de cultivo:
 - Medio de Baird-Parker RPF gelosa (BP).
 - Caldo de dilución: solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % tamponada con 0,1% de peptona.

- Siembra:
 - En una bolsa esterilizada se pesan 10-12g de muestra y se añaden 9 ml por gramo del caldo de dilución, se homogeneiza.
 - Se siembra por duplicado 1ml de muestra diluida en placa de Petri estéril, ésta se considera la dilución 10^{-1} .
 - Se repite la operación con las siguientes diluciones :
 - 1) dilución de 1ml de muestra en 9 ml de agua caldo de dilución y
 - 2) dilución de 1ml de esta dilución en 9 ml de caldo de dilución.
 - Se vierte en cada placa unos 10-15 ml de medio BP a 45°C, se agita para mezclar la muestra con agar.
 - Se deja solidificar y se incuba durante 24 horas a 37°C.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N° 13 – DICIEMBRE 2008

- Recuento:
 - En las placas, se cuentan las colonias que aparecen de color gris-negro, rodeadas de un halo opaco y una zona clara.

- Expresión de resultados:
 - En las placas donde se encuentran colonias características, se multiplica el número de colonias por 10^d . Siendo d el factor de dilución de la placa donde se encuentran las colonias.

2.2.3. Método horizontal para el recuento de *Clostridium perfringens*.

La enfermedad generada por este microorganismo se caracteriza por diarrea y retortijones abdominales que generalmente aparecen unas 10 horas después del consumo de un alimento colonizado con 10^5 - 10^9 ufc de *Cl. perfringens* por gramo.

Los síntomas de esta infección intestinal son consecuencia de la liberación de una enterotoxina por las células en fase de esporulación en el tracto intestinal inferior. Luego, los alimentos no contienen la toxina preformada, sino que ésta se forma in vivo en el intestino humano.

- Medios de cultivo:
 - Agar SPS.
 - Aceite de parafina.
 - Caldo de dilución: solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % tamponada con 0,1% de peptona.

- Siembra:

En una bolsa esterilizada se pesan 10-12g de muestra y se añaden 9 ml por gramo del caldo de dilución, se homogeniza.

 - Se siembra por duplicado 1ml de muestra diluida en un tubo con 10ml de SPS a 45°C. La siembra se realiza de abajo hacia arriba en zigzag. Ésta se considera la dilución 10^{-1} .
 - Se repite la operación con las siguientes diluciones:
 - 1) dilución de 1ml de muestra en 9 ml de agua caldo de dilución y
 - 2) dilución de 1ml de esta dilución en 9 ml de caldo de dilución.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

- Repetir la operación con las siguientes diluciones decimales (en un tubo de 9ml de caldo de dilución añadir 1ml de la primera dilución muestra madre, y las siguientes de las anterior dilución).
 - Se deja solidificar y se añaden 2 ml de aceite de parafina para crear condiciones anaerobias.
 - Se incuba durante 48 horas a 45°C.
- Recuento:
- En los tubos que contengan menos de 100 colonias, contar aquellas colonias negras, si es posible al nivel de 2 diluciones sucesivas.
- Expresión de resultados:
- En el tubo donde se encuentran colonias características, se multiplica el número de colonias por 10^d. Siendo d el factor de dilución de la placa donde se encuentran las colonias.

2.2.4. Método horizontal para la determinación de Listeria monocytogenes

En la naturaleza se halla muy difundida en hábitat como las aguas superficiales, las hortalizas, las carnes en canales y cuartos, los despieces, la carne picada, las aves de corral y los alimentos marinos.

El microorganismo a veces se encuentra en las heces de individuos sanos. Esta situación no determina ninguna enfermedad por autoinfección, o es posible que el cuadro clínico sea muy benigno, mientras los sistemas de la defensa local no estén vencidos. Sin embargo, habrá invasión cuando el portador sea una mujer embarazada, una persona inmunocomprometida, bajo terapia de corticoesteroides o que, por otra circunstancia, sea muy sensible. La coinfección con bacterias enteropatógenas también predispone a contraer listeriosis clínica. Después la enfermedad provoca meningoencefalitis y, en la gestación, nacimiento prematuro y aborto.

Se trata de una bacteria muy común en el ambiente y que por tanto se encuentra en las instalaciones y equipos de las industrias lácteas y cárnicas. Este hecho junto a su capacidad de crecer con bastante rapidez a temperaturas de refrigeración y a valores de a_w por debajo de 0,93, y tomando en consideración la gravedad de la enfermedad que produce en el hombre, están obligando a la adopción en todas las industrias de alimentos de medidas preventivas muy severas.

- Medios de cultivo:

C/ Recogidas Nº 45 - 6ºA 18005 Granada csifrevistad@gmail.com



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

- Caldo Fraser completo(FC).
 - Agar PALCAM.
 - Agar Columbia Sangre (CSA)
- Siembra:
- En una bolsa esterilizada se pesan 25 g de muestra y se añaden 225 ml de FC, se homogeiniza.
 - Se mantiene la bolsa a 30°C durante una hora.
 - Se siembra 0,1ml del contenido de la bolsa en una placa de petri que contiene agar-PALCAM solidificado. Se extiende con un asa de siembra estéril.
 - Se incuba durante 48 horas a 37°C .
- Confirmación:
- Aquellas colonias sospechosas, se confirman mediante API para *Listeria spp.* Se aíslan las colonias sospechosas, color grisáceo rodeado de un halo negro.
 - Se siembran en placas de CSA y se incuban 18-24horas 37°C.
 - Se siembran en API, siguiendo las indicaciones del fabricante.
- Interpretación: Se comparan los resultados obtenidos con el patrón de colores, y se consulta API web para comparar resultados.

3. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO.

3.1. Prácticas: Análisis físico-químico de productos cárnicos.

3.1.1. Medida del pH

El pH es un factor importante para el crecimiento y metabolismo de los microorganismos. Distintos gémenes toleran distintos tipos de pH, por lo cual el pH el alimento produce una selección de microorganismos. La mayor parte de los microorganismos patógenos y también algunos que destruyen la proteína, poseen un pH óptimo en la zona de pH neutro. La masa de embutido escaldado sin calentar posee un pH de aproximadamente 5,8 a 6,2. Según la intensidad del tratamiento calorífico el pH se eleva en aproximadamente 0,2 a 0,5 unidades. Por la tanto para la mayor parte de los microorganismos el medio del embutido escaldado les resulta favorable desde el punto de vista del pH.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

Procedimiento:

- Pesar 100g de producto y verter sobre él 250 ml de agua destilada en un vaso de precipitados.
- Agitar durante 10 minutos con la ayuda de una mosca y agitador magnético.
- Filtrar la solución y medir el pH del extracto con un electrodo de pH.

3.1.2. Medida de la actividad de agua.

La conservabilidad de un alimento depende del contenido de agua del producto. No obstante, no todo el agua existente en el alimento se encuentra disponible para los microorganismos, dado que la misma puede encontrarse fijada (química o físicamente) en el alimento. Para medir el agua no fijada, la cual se encuentra disponible para los microorganismos, se introdujo el concepto de actividad de agua. La actividad de agua es el cociente entre la presión de vapor de agua en el alimento y la presión de vapor de agua pura a igual temperatura. La actividad de agua puede adoptar un valor de 0-0,1.

Los microorganismos requieren para sus procesos vitales, según especie y género, una mínima actividad de agua. Si esta agua libre no se encuentra a su disposición en el alimento, entonces los microorganismos no pueden, por ejemplo, producir ninguna alteración. Las diferentes especies microbianas poseen distinta capacidad para el crecimiento aún a determinados valores mínimos de a_w .

Tabla 1. Valores mínimos de actividad de agua de algunos microorganismos que resultan importantes en el deterioro o intoxicaciones alimenticias de embutidos escaldados

a_w	Microorganismo
0,97	<i>Clostridium botulinum</i> tipo B
0,95	<i>Enterobacter, salmonella</i>
0,90	<i>Staphylococcus</i>
0'86	<i>Staphylococcus aerobio</i>
<0,85	<i>Levaduras y hongos</i>

Procedimiento:

C/ Recogidas Nº 45 - 6ºA 18005 Granada csifrevistad@gmail.com



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

Se hace uso de un instrumento denominado AquaLab. Lleva incorporados dos sensores, uno que determina la temperatura superficial de las muestras mediante infrarrojo y otro que mide el punto de rocío por condensación sobre un espejo enfriado.

Los pasos ha llevar a cabo son:

- Calibrar el AquaLab con: agua destilada, K_2SO_4 , KCl y NaCl.
- Proceder a cortar una lámina del producto a analizar.
- Introducir mediante un portamuestras en el AquaLab y tomar la medida.

3.1.3. Determinación del contenido en cloruros.

- Definición: es una indicación del contenido en mg de cloruros en la muestra a analizar.
- Fundamento:

Consiste en la extracción de los cloruros del producto picado con agua caliente y alcohol y posterior determinación por el método de Carpentier-Vohlard.

En este método los cloruros de un volumen conocido de agua precipitan en presencia de ácido nítrico por un exceso de nitrato de plata valorado.

Este exceso de sal de plata se determina con una solución valorada de sulfocianuro amónico en presencia de alumbre de hierro que actúan como indicador.

- Método:
- Preparación del extracto:
 - Se toman 10g de muestra previamente triturada y se introducen en un erlenmeyer.
 - Se añaden 150ml de alcohol al 40% y se agita calentando suavemente durante 1hora.
 - Se añaden 5ml de ferrocianuro potásico al 15% y 5ml de acetato de cinc al 30%. Se trasvasa a un matraz aforado de 250ml y se enrasa.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

- Se agita y se deja 10 minutos en reposo, retirando a continuación la grasa sobrenadante.
 - Se filtra en un matraz aforado de 200 ml hasta el enrase.
 - Se vierte en un vaso de precipitados y se lava con agua. Se calienta para evaporar el alcohol, hasta que queda un volumen de 100ml.
 - Se deja enfriar y se vierte en un matraz aforado de 200ml, enrasando con agua.
- Se introducen en un erlenmeyer de 250ml:
 - 10ml de nitrato de plata 0,1 N.
 - 1ml de ácido nítrico concentrado.
 - 1ml de solución acuosa de sulfato férrico amónico al 4%.
 - 10ml del extracto problema
 - 50ml de agua destilada.
 - Se deja reposar durante 10 minutos en la oscuridad.
 - Se añade 1ml de nitrobenzeno para aglomerar el precipitado y obtener una valoración limpia.
 - Se valora el exceso de nitrato de plata con la solución de SCN al 0,1N, hasta que se produzca el viraje.

Se determina el porcentaje de cloruros presentes en la muestra, expresados en NaCl mediante la fórmula:

$$\% NaCl = \frac{14,625(10 - nf)}{P}$$

Siendo:

P = peso en gramos de la muestra

n = volumen en ml de SCN gastado en la valoración

f = 10/SCN del blanco



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 Nº 13 – DICIEMBRE 2008

4. BIBLIOGRAFÍA.

- Mossel D., Moreno B. y Struijk, C. B. (2003) *Microbiología de los alimentos*, Zaragoza: Acribia.
- Wirth, F.(1992) *Tecnología de los embutidos escaldados*, Zaragoza: Acribia.
- Prandl, O., Fischer, A., Shimidhofer, Hans-jurgen, S.(1994). *Tecnología e higiene de la carne*, Zaragoza: Acribia.

Autoría

- Nombre y Apellidos: M^a Paz García Rodríguez
- Centro, localidad, provincia: Córdoba
- E-mail: garciampaz@gmail.com