

PRACTICA

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS

- Determinación del pH
- Determinación de Triquina en carne. Método de digestión
- Determinación del grado de alteración de la carne: Prueba amino-sódica
- Detección de residuos antimicrobianos en carne
- Determinación cualitativa de almidón en productos cárnicos
- Determinación de nitritos en productos cárnicos
- Determinación de nitratos en productos cárnicos
- Determinación de fosfatos
- Determinación del cloruro sódico



DETERMINACIÓN DEL pH

Principio:

El pH es una medida de la concentración de protones o iones hidrógeno, es decir, de la acidez del medio. En numerosos alimentos el pH constituye un factor importante para su estabilidad ya que determina el crecimiento de grupos de microorganismos específicos.

En el caso de la carne, el pH del músculo vivo está próximo a la neutralidad; cuando se produce la muerte del animal, el aporte de oxígeno a los tejidos cesa, y predominan los procesos anaeróbicos (glucólisis anaeróbica) que generan la formación de ácido láctico a partir de glucógeno muscular. La formación de ácido láctico provoca el descenso del pH en el músculo de modo que dicho valor es índice del desarrollo de las modificaciones bioquímicas post-mortem. Cuando se ha completado el proceso de maduración de la carne la misma debe tener un pH comprendido entre 5.4 y 5.6 como pH idóneo de la carne, que permite una buena vida comercial, al inhibir el crecimiento de microorganismos, y le proporciona las características físico-química adecuadas.

Sin embargo, ante determinadas situación el pH de la carne se ve alterado debido a que los procesos de glucólisis anaerobia no se desarrollan adecuadamente. En este caso podemos encontrar dos situaciones:

Si el pH disminuye rápidamente tras la muerte del animal debido a una glucólisis acelerada el pH final queda por debajo de 5.4, y da lugar a **carnes PSE** (pálida, blanda y exudativa). Este tipo de carne tiene una menor capacidad de retención de agua y exuda agua al exterior que favorece la proliferación microbiana. Este tipo de carne se da principalmente en ganado porcino.

Si por el contrario el animal llega cansado al sacrificio tras realizar un ejercicio intenso en el que se ha agotado el glucógeno muscular, la glucólisis anaerobia finaliza antes de alcanzar el pH final debido a que no hay sustrato, quedando el pH muscular por encima de 5.6. En este caso se producen **carnes DFD** (oscura, firme y dura) que se caracterizan por tener una alta capacidad de retención de agua y un pH elevado que favorece la proliferación microbiana. Este tipo de carnes es típica de la carne de lidia y de caza.

Estas carnes tienen alterada sus propiedades tecnológicas por lo que hay que tener mucho cuidado a la hora de elaborar embutidos y determinar el destino final que se le da.

Sin embargo, durante el almacenamiento de la carne se produce un incremento del pH en las etapas finales cuando el crecimiento de microorganismos proteolíticos produce una degradación de las proteínas y la consecuente liberación de compuestos nitrogenados

En cuanto al pH de los productos cárnicos, en los embutidos crudos picados se añaden azúcares como sustrato para que determinados microorganismos acidófilos produzcan un deseable descenso del pH, adecuado para la estabilidad del producto frente a otros microorganismos de carácter patógeno o alterativo.

Material

Balanza
PH-metro
Varilla de vidrio
Soluciones de calibración
Vasos de precipitado de 50 mL

Procedimiento

La medida del pH se realiza sobre muestras homogeneizadas al 10% en agua destilada utilizando un pH-metro.

Se pesan 5 gramos de muestra (carne) previamente picada y se homogenizan con 45 ml de agua destilada utilizando la varilla de vidrio. Se deja reposar media hora antes de efectuar la medida en el pH-metro, previamente ajustado con las soluciones de calibración. También se puede medir el PH directamente sobre el extracto de la carne utilizando un papel indicador.

Interpretación

La interpretación de los resultados se realizará en función de los valores reflejados en la siguiente tabla del pH en carnes normales y alteradas.

Valores de pH	Tipo de carne
5.4- 5.6	Normal
<5.4	PSE (Pale, soft and exhudative)
>5.6	DFD (Dark, Firma and Dry)

DETERMINACIÓN DE TRIQUINA EN CARNE. MÉTODO DE DIGESTIÓN

- Instrumental y Reactivos
- Cuchillo o tijeras
- Agitadores magnéticos
- Triturador
- Embudo de decantación
- Embudos
- Vasos de precipitado, pipetas y probetas
- Placa de Petri
- Acido clorhídrico al 25%

Solución de pepsina con una concentración de 1:10000 NF (US National Formulary) correspondiente a 1:12500 BP (British Pharmacopoea) y a 2000 FIP (Federation Internationale de Pharmacie).

Recogida de muestras y cantidad que debe digerirse

Para canales enteras de porcino

- Se toma una muestra de un peso mínimo de 1 g procedente de los pilares del diafragma, en la zona de transición muscular y la parte tendinosa. En el caso de cerdas de cría y los verracos, deberá tomarse una muestra mayor de un peso mínimo de 2 g en uno de los pilares del diafragma.
- Cuando no se disponga de pilar de diafragma, deberá tomarse una muestra de doble tamaño (2 g) de la parte del diafragma situada cerca de las costillas o del esternón, de los maseteros, la legua o los músculos abdominales.

Para los trozos de carne de porcino

- Se toma una muestra con un peso mínimo de 5 g de músculo estriado, que contenga poca grasa y en la medida que sea posible, que esté situado cerca de los huesos o de los tendones.

Para muestra congeladas

- Se toma una muestra de un peso mínimo de 5 g de músculo estriado.

Procedimiento

- Añadir 8 ml de ácido clorhídrico a un vaso de precipitado con 1 litro de agua previamente calentada a 46-48°C y agitar y añadir 5 g de pepsina.
- Triturar hasta 50 g de las muestras de carne obtenidas para analizar y llevar la carne picada al vaso de precipitado con el ácido clorhídrico y la pepsina. Lavar el vaso en el que se ha triturado la carne para recoger todos los restos de carne adheridos al recipiente.
- Cubrir el vaso con una hoja de aluminio y mantener en agitación a 46-48°C, con una velocidad que favorezca la mezcla de la suspensión y la desaparición de las partículas más grandes de carne.
- Tras la agitación verter el líquido al embudo de decantación haciéndolo pasar a través de un tamiz, dejándolo reposar durante 30 min para favorecer la decantación.
- Traspasar 40 ml del líquido de digestión a la probeta graduada y dejar reposar durante 10 min.
- Aspirar con cuidado 30 ml de líquido sobrenadante para retirar las capas superiores y dejar un volumen que no supere 10 ml.
- La muestra de 10 ml se vierte en un Placa de Petri y se enjuaga la probeta con agua adicionando también el volumen a la placa.

- Proceder a la observación en el estereomicroscopio con aumento de 15 a 20 veces para evaluar la ausencia de larvas de triquina. Los líquidos de digestión se examinarán desde el momento que estén dispuestos. En ningún caso se podrá posponer el examen al día siguiente.

Información complementaria:

- REGLAMENTO (CE) no 2075/2005 DE LA COMISIÓN de 5 de diciembre de 2005, por el que se establecen normas específicas para los controles oficiales de la presencia de triquinas en la carne.

Consulta del Reglamento en el siguiente enlace:

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0060:0082:ES:PDF>

DETERMINACIÓN DEL GRADO DE ALTERACIÓN DE LA CARNE: PRUEBA AMINO-SÓDICA

Fundamento

Esta prueba se utiliza para determinar el grado de alteración de las carnes, basándose en las reacciones de los productos de degradación proteica (aminas y amoniaco) frente a determinados reactivos)

Material

Matraz de 100 ml
Pipeta de 10 ml
Varilla de vidrio
Hidróxido sódico 10%
Ácido clorhídrico puro
Papel indicador de pH

Procedimiento

Colocar en un matraz 20 ml de solución de hidróxido sódico y añadir 5 g de carne desmenuzada y calentar a ebullición.

Interpretación

En la carne no alterada los vapores desprendidos no deben alcalinizar el papel indicador, previamente humedecido, ni formar vapores blancos de cloruro amónico en contacto con una varilla de vidrio mojada en clorhídrico

DETECCIÓN DE RESÍDUOS ANTIMICROBIANOS EN CARNE

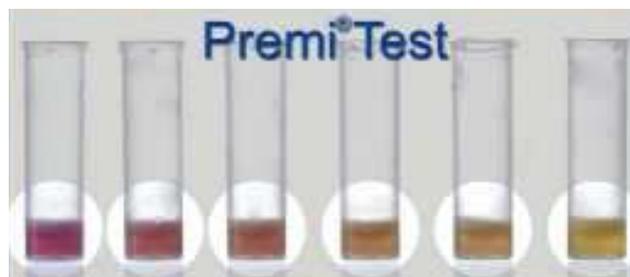
Fundamento

Los antibióticos se emplean en animales de granja como medicamentos o promotores del crecimiento. Tales tratamientos conllevan la acumulación de residuos en el músculo, riñón o hígado durante un cierto periodo de tiempo.

PremiTest es un test de screening sensible que detecta un gran número de antibióticos por debajo o al nivel máximo permitido. Se basa en la inhibición del crecimiento de *Bacillus stearothermophilus*, una bacteria muy sensible a muchos antibióticos y compuestos sulfurados. Un número standard de esporas se suspenden en un medio de agar con una selección específica de nutrientes. Al ser colocadas en el bloque incubador de premiTest o en un baño María a 64 °C, las esporas germinan. En ausencia de sustancias inhibitoras, las bacterias se multiplican y producen ácidos. La producción de ácidos se manifiesta visualmente por un cambio de color de púrpura a amarillo. En presencia de compuestos antimicrobianos por encima del límite de detección, no habrá crecimiento y ningún cambio de color ocurre, permaneciendo por tanto púrpura.

Procedimiento

- Tomar una muestra de 2 cm³ de carne magra y utilizar un prensador de ajos para extraer aproximadamente 250 μ l de exudado muscular.
- Pipetear 100 μ l lentamente dentro del tubo del kit con el agar y el bacilo.
- Dejar reposar a temperatura ambiente durante 20 min para permitir su difusión
- Eliminar el extracto adicionando lavando cuidadosamente el tubo del kit con agua destilada.
- Sellar el tubo con parafilm e incubar en el baño a 64°C (comprobar la temperatura del agua con un termómetro) durante 3 horas aproximadamente. El Control negativo ha de cambiar de color y virar a amarillo en este tiempo.
- Si la muestra se mantiene de color morada, con el mismo color que el inicial, la carne analizada tendrá antibióticos por encima de los valores admitidos por la legislación. Si por el contrario está exenta de antibióticos virará a color amarillo tras la incubación.



DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ALMIDÓN EN PRODUCTOS CÁRNICOS

Fundamento

La molécula de almidón es helicoidal y está formada por α -amilosa y amilopectina. La amilosa es lineal y está formada por glucosas unidas por enlaces α -1,4. La amilosa se dispersa en el agua y forma complejos con el yodo y es el responsable del color azul.

Material

- Erlenmeyer de 150 ml de capacidad.
- Pipeta de 10 ml de capacidad.
- Solución yodo iodurada: Mezclar 1g de yodo y 2 g de ioduro potásico en agua destilada hasta 200 ml. Mantener la solución en el frasco cuentagotas.

Procedimiento

- Preparación de la muestra mediante trituración.
- Introducir 2 g de la muestra triturada en un Erlenmeyer de 150 ml. Añadir 40 ml de agua destilada. Hervir durante 5 minutos.
- Transcurrido este tiempo enfriar exteriormente el matraz en corriente de agua fría. Con pipeta de 10 ml. Atravesar la capa grasa superior, tomando 10 ml del líquido inferior, transvasándolos a un tubo de ensayo. Añadir 5 gotas de la solución yodo-iodurada.

Interpretación

En presencia de almidón aparecerá una coloración azul-negra.

DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS

Principio

Al reaccionar el nitrito presente en el extracto del producto cárnico con el reactivo de ácido sulfanílico a-naftilamina se produce una reacción colorimétrica con la formación de un compuesto de color rosado, de tal modo que la intensidad de color es proporcional a la cantidad de nitrito presente en la muestra. La concentración se determina tras medir la absorbancia mediante colorimetría o espectrofotometría y compararla con una recta patrón.

Material y aparatos

- Matraces aforados de 100 y 1000 ml de capacidad.
- Probetas de 100 o 200 ml de capacidad.
- Baño María.
- Papel de filtro plegado de 15 dm de diámetro.
- Tubos de ensayo de 150x25 mm.
- Matraces Erlenmeyer de 300 ml de capacidad.
- Espectrofotómetro capaz de leer a 520 nm.
- Cubetas de 1 cm de paso específicas para luz visible.

Reactivos

Solución patrón de nitrito sódico: Pesar, con aproximación de 1 mg, 1 g de nitrito sódico, disolver en agua y completar hasta 1000 ml. Tomar con la pipeta 5 ml de esta solución e introducirla en otro matraz aforado de 1000 ml. Enrasar.

Reactivo colorimétrico:

- Solución I: Disolver calentando al baño María 6 g de ácido sulfanílico en 200 ml de ácido acético glacial y 400 ml de agua destilada. Añadir 200 ml de una solución de cloruro sódico que contiene 100 g/l de cloruro sódico. Diluir con agua hasta 1000 ml.
- Solución II: Disolver calentando al baño María 0.3 g de a-naftilamina en 100 ml de agua destilada. Filtrar si es necesario y añadir 200 ml de ácido acético glacial. Diluir hasta 1000 ml con agua destilada. Manipular con precaución esta disolución por su carácter cancerígeno.

Ambas soluciones deben conservarse en frascos opacos (opacos) bien cerrados. El reactivo colorimétrico se obtiene mezclando volúmenes iguales de ambas soluciones.

Procedimiento

Preparar el extracto de la manera siguiente:

Pesar con precisión de 1 mg un peso de 10 g de la muestra homogenizada previamente, introduciéndola en un Erlenmeyer de 250 ml. Añadir 200 ml de agua destilada y adicionar consecutivamente 5 ml de cada uno de los reactivos de Carrez. Agitar durante 2 horas y dejar 10 min en reposo y filtrar.

Valoración de la muestra: Del extracto obtenido, tomar 25 ml y añadir 1 g aproximadamente, de carbón activo si es necesario decolorar. Filtrar hasta que el filtrado sea transparente. Del filtrado tomar una alícuota de 10 ml y ponerla en un tubo de ensayo. Si se toman menos de 10 ml, completar hasta 10 ml con agua destilada. Añadir 10 ml del reactivo colorimétrico, mezclar y dejar reposar la solución 15 minutos a temperatura ambiente al abrigo de la luz (oscuridad).

A partir de 20 min. y antes de 4 horas, medir la densidad óptica de la solución en una cubeta de 1 cm de paso de luz a 520 nm de longitud de onda. Si la solución coloreada problema presenta una coloración superior a la de la solución patrón más concentrada, tomar una alícuota menor de 10 ml. Efectuar dos determinaciones de la misma muestra.

Preparación de la curva patrón: Tomar de la solución patrón, alícuotas de 5, 10 y 20 ml y llevar a 100 ml con agua. El contenido de estas soluciones es respectivamente, de 0.25, 0.50 y 1ppm de nitrito sódico.

Transferir 10 ml de cada una de estas soluciones a un tubo de ensayo y añadir 10 ml del reactivo colorimétrico y proceder a su valoración colorimétrica a 520 nm, llevando absorbancias frente a concentraciones expresadas en ppm de nitrito sódico.

Cálculos

Calcular el contenido en nitritos de la muestra expresado en ppm por medio de la fórmula:

$$\text{Ppm NO}_2\text{Na} = C \frac{2500}{M \times V}$$

Siendo

- m= peso de la muestra de la que se ha obtenido el extracto (g).
- V= volumen, en ml tomado del extracto decolorado
- C= concentración en nitrito sódico expresada en ppm determinada sobre la curva patrón.

Tomar como resultado la media de los valores obtenidos en dos determinaciones paralelas.

DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS

Principio

Al reaccionar en medio ácido y en presencia de ácido sulfúrico los nitratos presentes en la muestra con la brucina, se produce una coloración amarilla-marrón, cuya intensidad es proporcional al contenido en nitratos presente, lo que permite su valoración colorimétrica o espectrofotométrica y su posterior cuantificación al compararlo con una recta patrón.

Material y aparatos

- Matraz aforado de 50 ml de capacidad.
- Espectrofotómetro o colorímetro capaces para lecturas a 410 nm.
- Cubetas de 1 cm de paso específicas para luz visible.

Reactivos

Solución patrón de nitratos: Disolver 0.1629 g de nitrato potásico anhidro en agua y enrasar a 1 litro. 1 ml de esta solución contiene 0.1 mg de nitrato.

Reactivo de brucina-ácido sulfanílico: Disolver 1 g de brucina y 0.1 g de ácido sulfanílico en unos 70 ml de agua destilada caliente, añadir 3 ml de ácido clorhídrico concentrado, dejar enfriar y enrasar a 100 ml con agua. La solución debe guardarse en frasco color topacio.

Solución de ácido sulfúrico: Añadir con cuidado 500 ml de ácido sulfúrico concentrado a 75 ml de agua destilada. Debe conservarse herméticamente cerrado.

Procedimiento.

Preparar el extracto de la manera siguiente:

Pesar, con precisión de 1 mg, alrededor de 10 g de la muestra homogenizada previamente, introduciéndola en un Erlenmeyer de 250 ml. Añadir 200 ml de agua destilada y adicionar consecutivamente 5 ml de cada uno de los reactivos de Carrez. Agitar durante 2 horas y dejar 10 min en reposo y filtrar.

Valoración de la muestra: Introducir en un matraz aforado de 50 ml de capacidad 10 ml del extracto, 1 ml de la solución brucina-ácido sulfanílico y 10 ml de la solución de ácido sulfúrico muy lentamente, mezclar y dejar en reposo durante diez minutos al abrigo de la luz. Pasado este tiempo, añadir agua destilada, agitando hasta completar unos 40 ml. Y dejar reposar durante quince minutos en la oscuridad.

Enfriar el matraz en un baño de hielo hasta que alcance la temperatura ambiente, preferiblemente también en la oscuridad. A continuación, enrasar a 50 ml con agua, homogenizar el contenido del matraz y leer la absorbancia a 410 nm. El cero se ajusta con 20 ml de agua sometida al proceso anteriormente descrito.

Preparación de la curva patrón: Tomar distintas alícuotas de la solución patrón y tratar del mismo modo que la muestra.

Cálculos

Calcular el contenido en nitratos de la muestra expresado en ppm por medio de la fórmula:

$$\text{Ppm NO}_3 = C \frac{210}{m}$$

Siendo:

- m= peso de la muestra de la que se ha obtenido el extracto (g).
- 210 el volumen de extracción (200 ml de agua y 10 ml de las soluciones de Carrez).
- C= concentración en nitrato sódico expresada en ppm determinada con la curva patrón.

Tomar como resultado la media de los valores obtenidos en dos determinaciones paralelas.

DETERMINACIÓN DE FOSFATOS

Principio

Transformación en ácido pirofosfórico, posterior hidrólisis del mismo y medida del color producido al añadirle el reactivo molibdato vanadato.

Material y Reactivos

- Espectrofotómetro capaz de medir a 400 nm.
- Mufla 550 °C.
- Cápsulas de porcelana.
- Matraces aforados de 50 ml.

Solución de molibdato amónico: 20 g de molibdato amónico tetrahidrato en 200 mL de agua caliente.

Solución de metavanadato amónico: 1 g de metavanadato amónico en 300 ml de agua caliente, enfriar y añadir 140 ml de ácido nítrico.

Solución de metamolibdovanadato: verter lentamente y agitando la solución de molibdato amónico sobre la solución de metavanadato amónico. Enrasar a 1 L con agua.

Nítrico concentrado.

Sulfúrico concentrado.

KH₂PO₄ (desechado previamente unas 2h a 150°C), para preparar la curva patrón.

Procedimiento

Preparación de la curva patrón: Disolver 4.393 g de fosfato monopotásico, previamente secado. Añadir 2 ml de ácido sulfúrico y diluir a 1 L. Esta solución contiene 1 mg/ml (A). Diluir 10 ml de esta solución en 250 ml (B) y preparar las siguientes diluciones:

- 1) A partir de la solución (B) tomar: 5 ml, 7 ml, 10 ml, 15, 20...50 ml y llevarlos a 50 ml con agua.
- 2) A partir de la solución (A) tomar: 3ml, 3.5 ml, 4 ml, 4.5 ml... 9 ml y llevarlos a 50 ml con H₂O destilada.

De esta manera tendremos: 0.2, 0.28, 0.40, 0.60, 0.80, 1.20, 1.60, 2.00, 3.00, 3.5, 4, 4.5, 5, 7.5, 8, 9 mg de P en 50 ml.

A continuación tomamos 5 ml de cada patrón y añadimos 10 ml de reactivo colorimétrico y lo llevamos a 50 ml. Medir frente a un blanco a los 30 min., a una longitud de onda de 400 nm.

Preparación de la muestra: Recoger las cenizas añadiendo a cada cápsula 2 ml de nítrico concentrado y 5ml de clorhídrico concentrado. Calentar en el hornillo durante 10 min y verter con mucho cuidado con un embudo en un matraz aforado de 50 ml. Aforar con agua destilada.

Para medir el P, tomar 5 ml de la solución final y proceder como en la curva patrón, añadiendo 10 ml de reactivo colorimétrica y llevando a 50ml con agua. Leer a 400 nm tras 30 min. de reposo.

Cálculos

Los resultados se obtienen en mg de P en 50 ml.

$$\text{Concentración de P (mg/100 g)} = 2 \cdot \frac{V \cdot C}{P}$$

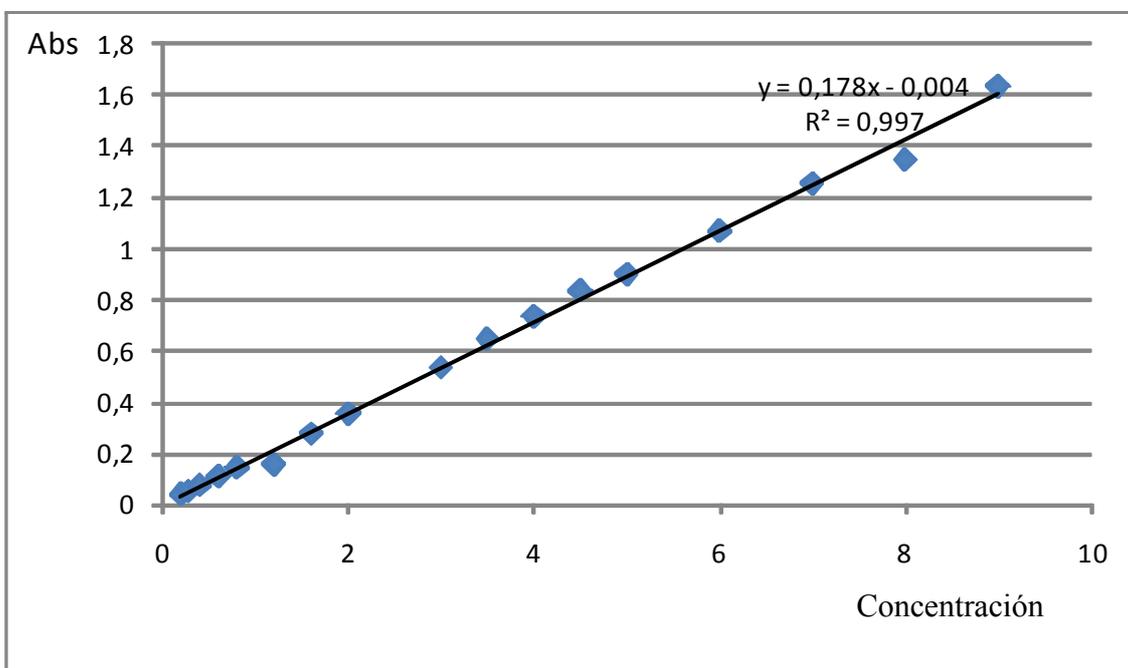
Siendo

V= volumen del matraz en que se recoge la muestra (ml)

C= concentración registrada en el espectrofotómetro (mg/50 ml)

P= peso de la muestra que pusimos en el crisol de porcelana (g)

Para calcular la concentración de fosfatos (P₂O₅) en mg/100g multiplicamos por 2.29 el resultado anterior.



DETERMINACION DEL CLORURO SODICO

Principio

Los cloruros reaccionan con los iones plata para formar cloruro de plata (precipitado blanco). El punto final se obtiene al formarse cromato de plata, de color, rojo, al reaccionar el nitrato de plata con el cromato de potasio una vez agotados todos los cloruros de la muestra.

Material

- Matraz aforado de 100 ml.
- Vasos de precipitado de 200 ml y 100 ml.
- Agitador.
- Disoluciones de Carrez (I y II).
- Pipetas 1 ml.
- Bureta de precisión.
- Dicromato potásico al 10% disuelto en agua (p/v).
- Solución de nitrato de plata 0.1 N.

Procedimiento

Pesar 10 g de muestra homogeneizada en un vaso de precipitado de 200 ml y añadir 100 ml de agua. Agitar para homogeneizarla mezcla. A continuación añadir 1 ml de cada una de las soluciones de Carrez (I y II) y agitar durante 15 minutos, tapando la boca del vaso. Dejar reposar 10 min y filtrar sobre papel resistente, considerando un volumen final de 102 ml.

Tomar 10 ml del filtrado en un vaso de precipitado y añadir 2 o 3 gotas de la solución de dicromato potásico. La muestra se pondrá de un color naranja fuerte. Valorar con nitrato de plata 0.1 N hasta el punto de viraje.

Cálculos e interpretación

El porcentaje de cloruro sódico se calcula sustituyendo los ml de nitrato de plata gastados en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Cloruros} = \frac{V \times 0.585 \times \text{ml AgNO}_3 \text{ gastados}}{M \times B}$$

Donde:

- V= volumen de extracción de la muestra (102 ml).
- M= peso de la muestra (g).
- B= volumen de filtrado que se somete a valoración (10 ml).

VALORES A CONSIDERAR COMO REFERENCIA EN EL PRODUCTO FINAL

Parámetro	Crudos curados	Productos esterilizados	Cocidos
Sal	3.5%	-	1.6-2.2%
Almidón	-	-	2.5-8%*
Nitrito sódico o potásico***	150 ppm* 50 a 175 ppm**	100 ppm*	150 ppm*
Nitrato sódico o potásico	150 ppm*		Se admiten niveles residuales según producto
Fosfatos	8000 ppm		7500 ppm

*En el momento de la fabricación.

** Contenido residual que varía en función del producto

***Solo puede utilizarse como aditivo dentro de una mezcla de sal