

Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos

INMUNOENSAYO PARA IDENTIFICAR ESPECIES ANIMALES EN PRODUCTOS CÁRNICOS SEMICOCIDOS

Armando Bécquer Lombard,¹ Mercedes García Gómez,² Manuela Ríos de Salgrad,³ Cristóbal Louzara Ruitiña,⁴ Gilberto Beltrán Llerandi¹ y César Lara Ortiz⁵

RESUMEN

Se realizó el ensayo de un método inmunológico aplicable a productos cárnicos tratados térmicamente, al cual se le hicieron algunos cambios en el proceso de extracción de las proteínas, en la concentración de las soluciones fisiológicas tamponadas y en el uso de un homogeneizador Ultra Turrax. En las muestras se hizo extracción de las proteínas solubles de los tejidos y se aplicó un método serológico que indica la especie animal integrante de los productos analizados. Se detectaron las especies animales en el 97,1 % de las 141 muestras analizadas.

Descriptor DeCS: PRODUCTOS DE LA CARNE/análisis; INMUNOENSAYO/métodos

Por motivos económicos y culturales el hombre se interesa por saber de qué especies animales proceden los productos cárnicos que consume. La ingestión de determinados productos puede ocasionar disgusto, daño a la salud o afectación económica, pues la carne que el consumidor compra debe ser la de la especie deseada y no otra que se oferte en el mercado. También pueden estar implicados ciertos teji-

dos animales como de gato, perro, ave de rapiña, roedores u otros, enmascarados en productos cárnicos procedentes de la llamada "venta callejera".

Algunas de estas especies son consumidas por determinadas etnias pero en general causan repulsión.

Los métodos inmunológicos para la identificación de las especies animales usadas en la elaboración de productos cárnicos

¹ Bioquímico. Investigador Auxiliar.

² Ingeniera. Investigadora Auxiliar.

³ Bioanalista. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Caracas, Venezuela.

⁴ Médico Veterinario. Especialista.

⁵ Técnico Medio en Procesos Biológicos.

tratados térmicamente difieren con ligeras modificaciones de los que se usan para productos crudos. Las proteínas solubles de los tejidos de los productos semicocidos son difíciles de disolver en tampones fisiológicos, por lo que los métodos de detección y el proceso de extracción son diferentes.¹⁻⁵

El objetivo de este estudio fue ensayar un método inmunológico aplicable a productos cárnicos tratados térmicamente, al cual se le hicieron algunos cambios en el proceso de extracción de las proteínas y en la concentración de las soluciones fisiológicas tamponadas, así como el uso de un homogeneizador Ultra Turrax.

MÉTODOS

- Productos cárnicos sometidos a tratamiento térmico.
- Antígenos y antisueros. Los reactivos se obtienen por procedimientos técnicos aplicados por *Bécquer y otros*.⁵
- Extracción de las proteínas solubles musculares en los productos cárnicos.
 - Seleccionar la parte más interna de la muestra separando la grasa y el pellejo.
 - Colocar 10 g de la muestra bien molido en un matraz con tapa de 200 mL de capacidad. Se agrega 60 mL de una mezcla cloroformo-éter v/v.
 - Extraer la grasa durante 1 h con agitación magnética y agitar después con un equipo Ultra Turrax para eliminar la grasa interna que pudiera quedar en la muestra.
 - Filtrar y colocar la muestra desgrasada en placa Petri a temperatura ambiente por 10 min para que se evaporen los restos de solvente.
 - Mezclar la muestra con 15 mL de solución salina 0,1 M y 0,5 % de fenol y agitar magnéticamente por 3,0 h.
- Dejar en refrigeración de 18 a 24 h agitando ocasionalmente. Agitar con equipo magnético 10 min antes de centrifugar.
- Centrifugar a 3 000 r.p.m. por 10 min. Filtrar en papel hasta obtener un extracto claro.
- Dializar contra sustancia inerte de alto peso molecular (Carbowatts 20000 al 40 %).
- Extraer y someter la muestra a centrifugación con centrífuga Eppendorf. Tomar el sobrenadante y efectuar análisis de inmunodifusión radial doble contra antígeno y antisuero Patrón.-
- Identificación de los alimentos en estudio.
 - Enfrentar las muestras a los antisueros patrones en placas Petri sobre lecho de gel madre tamponado (1 g de Agar Noble, 99 mL solución salina tamponada de fosfato de potasio 0,2 M; pH 7,2) en presencia de los antígenos específicos de las especies bovina, porcina, equina, pollo y pavo durante 18-24 h, en dependencia de la muestra objeto de análisis.
 - Leer las placas sobre fondo oscuro, con el objeto de observar las bandas de precipitación que avalan la positividad de la muestra de la especie o especies cárnicas que pudiesen estar presentes en el alimento.

RESULTADOS

Se evaluó un total de 180 muestras. Sin embargo, 21 de las primeras 39 muestras analizadas no presentaron bandas de precipitación cuando fueron enfrentadas a los diferentes antisueros patrones. Al obtener este resultado, el método analítico fue modificado por no poderse detectar la

procedencia animal en más del 50 % de las muestras analizadas. Posteriormente, ya con las modificaciones propuestas, se analizaron las restantes 141 muestras, de las que solamente 4 resultaron "negativas" por no poder detectarse la presencia de ninguna especie cárnica debido a interferencias de los productos cárnicos analizados, los cuales contenían diferentes aditivos según la tecnología aplicada. Estos alimentos fueron la mortadella Caribe, albóndiga, Debrecen y Bratwurst. Las restantes 137 muestras presentaron bandas de precipitación que avalaron la positividad de las diferentes especies cárnicas presentes en los alimentos estudiados.

DISCUSIÓN

La metodología analítica para la detección de carnes de diferentes especies animales en los productos cárnicos varía en dependencia de factores económicos entre otros, en los laboratorios que la ejecutan. Los métodos analíticos vigentes incluyen los análisis electroforéticos, los inmunoenzimáticos y la inmunodifusión radial doble, este último practicado en muchos laboratorios nacionales de salud de nuestro continente y algunos países europeos,⁶⁻¹⁰ los cuales extraen las proteínas específicas empleando soluciones salinas tamponadas con concentraciones que oscilan entre 0,1-0,15 M y refrigeración posterior con agitación ocasional entre 18 y 24 h. Esta etapa de la técnica es difícil de lograr ya que las muestras permanecen de un día para otro sin ser agitadas durante toda la noche, en este paso fundamental de la extracción de las proteínas. En nuestro estudio introducimos un cambio cuando aplicamos la agitación magnética por un tiempo de 3,0 h en un local refrigerado para garantizar una extracción uniforme y se introduce en un paso anterior el equipo Ultra Turrax que contribuye a homogeneizar y extraer la grasa.

Para la confección de las carnes semicocidas y en particular, para los embutidos, es imprescindible el suministro de temperatura, que tiene por objeto consolidar la coagulación de una estructura proteica adecuada que lleva implícita la formación de una malla que fija partículas de grasa y agua. Además, la aplicación de calor elimina los microorganismos, inactiva las enzimas y se obtienen las características sensoriales deseadas. Las proteínas sarcoplasmáticas hidrosolubles están en gran parte disueltas cuando son sometidas a temperaturas de alrededor de 50 °C e incluso cuando en los productos se registran entre 65 y 70 °C, no se encuentran totalmente desnaturalizadas, situación que favorece la identificación de las diferentes especies animales mediante los análisis inmunológicos, pero, no obstante estos criterios técnicos, se debe tomar la porción más interna de la muestra donde el calor haya sido menos efectivo.

Un trabajo anterior⁵ en el cual se elaboraron los reactivos básicos (antígenos y antisueros), posibilitó concebir este segundo trabajo, por lo complejo que resulta en ocasiones la detección de las especies animales en los productos cárnicos semicocidos.

Nuestros resultados permiten concluir que el método ensayado posibilita identificar las especies animales mediante la extracción de las proteínas solubles de los tejidos en los productos cárnicos semicocidos, con una metodología serológica factible de introducir en la red nacional de laboratorios de Higiene y Epidemiología.

AGRADECIMIENTOS

A la Empresa Tauro, Empresa Cárnica Habana, Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria, y Registro Sanitario de Alimentos, por habernos suministrado las muestras de alimentos para este trabajo.

SUMMARY

The testing of an immunological method applicable to heat-treated meat products was carried out. Some changes were implemented in the method in the extraction of proteins, concentration of tampon physiological solutions and the use of an Ultra Turrax homogenizer. Soluble tissue proteins were extracted from the samples and a serological method that indicates the animal species making up the analyzed products was applied. The animal species were detected in 97.1% of 141 analyzed samples.

Subject headings: MEAT PRODUCTS/analysis; IMMUNOASSAY/methods

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rasool TJ, Appa Rao KBC, Bhat PP, Rawat AK. A simple method for differentiation of raw meat from various meat animals. *J Indian Sci* 1996;58(5):555-9.
2. Smith DN. Immunoassays in process control speciation of meats. *Food Technol* 1995;49(2):116-9.
3. Radhakrishna K, Vijaya Rao D, Sharma TR. Studies on the electrophoretic and immunodiffusion methods in the differentiation of mutton and beef subjected to severe thermal processing. *J Food Sci Technol India* 1989;25(5):280.
4. Santín C, Centrich F. Identificación de especie animal por electroforesis. *Alimentaria* 1997;282:43-8.
5. Bécquer LA, García GM, Valladares C, Ríos SM, Beltrán LI G. Identificación serológica de especies animales. Carnes y productos cárnicos. *Rev Cubana Aliment Nutr* 1999. (En prensa).
6. Gunther HO, Menger A, Baudner S. Ergebnisse des Rinersuches Nachwees von Protein in Backwaren und Subwaren mit immunologischen methoden. *Lebensmittelchem Ger Chem* 1984;38:114-7.
7. Técnicas y procedimientos para la determinación de especie animal en productos cárnicos. México D.F.: Secretaría de Salud. Laboratorio Nacional de Salud Pública; 1993:4-11.
8. Método para la identificación serológica de especies animales. Caracas: Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Ministerio de Salubridad; 1994:1-19.
9. Informe del progreso actual de los métodos cuantitativos para la diferenciación de las proteínas vegetales y animales. Cuarta Reunión. Programa Conjunto FAO/OMS. Comisión del Codex Alimentarius 1-24:1987: La Habana.
10. Leister LH. Technologie fur lie Herstellung stabiler Fleisherzeugnisse. *Mitleinungsblatt der Baff* 1984;84:5882-9.

Recibido: 4 de noviembre de 1999. Aprobado: 6 de diciembre de 1999.

Armando Bécquer Lombard. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Infanta No. 1158, Municipio Centro Habana, Ciudad de La Habana, CP 10300, Cuba.