ANÁLISIS DE ALIMENTOS MEDIANTE MICROSCOPÍA

Ana María Suarez
Bolsa de Cereales - FANUS
asuarez@bc.org.ar

Introducción / Objetivo

La Microscopía cualitativa y cuantitativa constituye un medio efectivo para evaluar ingredientes proporcionando una información que complementa a la suministrada por los análisis químicos.

Da una idea general de la calidad del ingrediente o alimento terminado, con una rapidez superior a la conseguida con dicho análisis.

Este control asegura dar cumplimiento a la formulación nutricional exigida según la especie animal a la que se destina.

Cuando los cereales, oleaginosos, subproductos y concentrados proteicos de origen animal son utilizados como materias primas para la formulación de raciones, deben ser previamente chequeados, al igual que al momento de considerarse el producto terminado.

La falta de control de los procesos en cuanto a seguridad alimentaria (inocuidad) han ocasionado en el mundo distintas situaciones de peligro como la presencia de dioxinas, encefalopatía espongiforme bovina (EEB) y salmonellas.

Por lo señalado los productos de harina de carne y piensos en general, están siendo sometidos a estrictos controles con la finalidad de garantizar la higiene del proceso de elaboración. Las nuevas regulaciones aseguran la protección de las harinas y piensos garantizando la plena trazabilidad. La obligatoriedad de la aplicación de un sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) y de buenas prácticas en materia de higiene, son un paso importantísimo para asegurara la inocuidad y la calidad de las harinas en general y de esta manera lograr “un pienso seguro equivalente a un alimento seguro”.

Los propósitos de la Microscopía son: determinar en los alimentos balanceados, si los ingredientes se encuentran presentes o ausentes tal como se desea o garantiza; detectar adulteraciones a partir de sus características físicas; detectar ingredientes sobreprocesados; detectar contaminantes, hongos, insectos y suciedad de roedores; determinar si un alimento está uniformemente mezclado; detectar semillas perniciosas enteras y aclarar disputas.

Materiales y Métodos

Para ello es necesario usar la Lupa estereoscópica de bajo aumento (8 - 50x) acompañada a veces por el uso de spot tests (reacciones químicas) para la identificación de partículas, de minerales, vitaminas y antibióticos.

Esta observación microscópica se basa en la capacidad del microscopista para reconocer los elementos constitutivos normales de los diversos ingredientes, diferenciándolos de lo contaminantes o ingredientes indeseados. Se identifican estos constituyentes a través de su aspecto, color, tamaño de partículas, suavidad, dureza, textura, olor, etc. Por su parte cuando los ingredientes se encuentran muy molidos ó se requiere una confirmación, la identificación se realiza de acuerdo a la estructura celular o histológica, a través del microscopio compuesto (50 - 500x). Al visualizarse particularmente la distribución y estado físico de los almidones y de la grasa, se logra su identificación.

Se suele usar el material que queda en flotación. Se precisan portaobjetos y líquido de montaje como agua, ácido láctico, glicerina, etc., a los efectos de hacer una adecuada disgregación antes de observar. También puede colorearse con colorantes vitales como azul de anilina ó azul de algodón, o verde de malaquita ó rosa de Bengala.



Para realizar esta microscopía se deben utilizar juegos de tamices de diferentes mallas, balanza electrónica de precisión, mortero, colección de referencia de ingredientes, pinzas, papel de filtro, probetas y otros accesorios.

El paso preliminar es proceder al desengrasado del alimento o del ingrediente de elevado tenor graso, a los efectos de poder observar nítidamente los componentes de la muestra. Para ello se utilizan solventes tales como tetracloruro de carbono o cloroformo.

En los alimentos terminados o ingredientes con escaso tenor graso, se procede directamente a su tamizado. Se examinan primero las fracciones de mayor tamaño reconociendo ingredientes normales e indeseables. Se continúa con las fracciones más finas corroborando lo observado, como asimismo si hubiere presencia de contaminantes molido fino.

Prácticamente todas las materias primas contienen cáscara, tallos, huesos u otros componentes de aspecto característico que normalmente está contenidos en cantidades pequeñas pero apreciables, que ayudan en gran medida a identificar la muestra.



Algunos cereales conservan ciertas estructuras de la inflorescencia que ayudan a interpretar la observación.

La identificación del maíz se realiza por el salvado o pericarpio, endosperma córneo (o vítreo), endosperma harinoso y germen.

El salvado aparece como partículas irregulares, delgadas, semitransparentes, brillantes y quebradizas, en forma de láminas irregulares que presentan estrías verticales paralelas.

El endosperma vítreo compacto y duro, se localiza en los lados y en la parte posterior del grano es de color rojizo o amarillo. Contrariamente el endosperma harinoso es blando y de color blanco. Se sitúa en el centro del grano y también se observa unido a partículas de endosperma vítreo.

El germen se encuentra en el extremo del grano y es de consistencia blanda y aceitosa.

Puede observarse también la granza de color rojo, que es parte de la gluma, que en el grano entero se sitúa en la unión del grano con la mazorca.



El Gluten Meal que se obtiene de la molienda húmeda del maíz, se reconoce por su color naranja, con diferente intensidad de brillo, de aspecto uniformemente redondeado, además de apreciarse fracciones de almidón o fibras no removidas en el proceso de separación primaria.



Por su parte el Gluten Feed que se obtiene también de la molturación en húmedo del maíz, esta constituido fundamentalmente por el salvado en combinación con almidón y partículas de gluten (fracción proteica) que no se removió en le proceso de separación primaria. Se visualizan trozos irregulares de color pardo, cuya intensidad y tonalidad varían con el tratamiento. Se observan partículas de salvado de color pardo traslucido y restos de gluten como masas amorfas.



Respecto a la avena (grano vestido) al molerla se observa principalmente partículas de endosperma harinoso, cáscara, cascarilla de color amarillo dorado y una delicada cobertura pilosa del salvado, que da una apariencia plumosa, brillante, suave y aterciopelada. La cascarilla se quiebra en partículas rectangulares lustrosas, pulidas, gruesas y brillantes respecto a la cebada.

La porción almidonosa es de consistencia semiseca y se esparce en forma lisa, cuando es presionada con instrumento plano. Por su parte el almidón del resto de las harinas de cereales, es seco y al ser esparcido toma forma granulada.

Con relación a la identificación histológica, los cereales se diferencian según especie y variedad por el tipo de almidón que contienen y por la forma, tamaño, agregado y disposición del hilium de los gránulos. Además las estructuras de las células de las membranas y del endosperma ofrecen características diferenciales. Al microscopio, los gránulos de cebada, trigo, centeno, arroz, avena, maíz y sorgo pueden medirse y evaluarse.

La comparación de los elementos histológicos se basa fundamentalmente en el tamaño y disposición de las células de la epidermis, con sus pelos y estomas, las células de aleurona, parénquima esponjoso, fibras longitudinales, haces vasculares, etc. Puede realizarse la medición adicional, en micrones de estos elementos.

Respecto a la observación de los hongos al microscopio, se pueden diferenciar los tres géneros básicos que revisten importancia como productores de micotoxina:

Fusarium spp, con conidios uni o pluricelulares generalmente fusiformes.

Asperguillus spp, y *Penicillium* spp ambos géneros con sus estructuras reproductivas diferenciables como esterigmas, vesículas, conidióforos y conidios.

El uso de la lupa estereoscópica en el control de la calidad de las harinas de carne, permite en forma rápida reconocer la presencia de elementos no deseados, definir aproximadamente su valor proteico y su perfil de digestibilidad.



Se puede observar en lo retenido en el primer tamiz (fracción orgánica) fibras de origen animal, sangre (digestor), astas, pezuñas, gelatina y pelos y en la fracción decantada los minerales, huesos y materias extrañas como vidrios, metales y arena.

También en la fracción orgánica como posible material presente se puede apreciar fibras vegetales, cáscaras de semillas, sangre (spray), cuero torrado, plumas, etc.



Las astas y pezuñas presentes en cantidades elevadas se las consideran elementos indeseables por su baja digestibilidad.

Las partículas irregulares son duras y fibrosas. Pueden ser blancas, grises y hasta negras. Las partículas muestran una superficie corrugada que es el resultado de la forma que crecen las astas y las

pezuñas. Por lo general las astas tienden a romperse siguiendo el sentido longitudinal, por lo que las partículas son alargadas respecto a las pezuñas. A veces se los suele confundir con gelatina, pero si se separan las partículas y se les agrega unas gotas de ácido acético, no se ablandan, en cambio la gelatina se ablanda.

Cuando en la harina de carne se observan cáscaras de cereales, afrechos, pajas y partículas de cereales puede indicar la presencia de contenido ruminal o ingesta. Esto confiere un olor particular a la harina y la grasa extraída tiene coloración verdosa por presencia de clorofila.

Una harina de carne de alta proteína y con mucha fibra vegetal puede indicar presencia de vísceras sin lavar, con la consecuencia de mayor contenido de fibra y mayor de acidez oleica o de valores de peróxidos.

Otra función importante que brinda la lupa estereoscópica, es la complementariedad a la interpretación de los análisis químicos. Un tenor elevado de proteína en un alimento, puede deberse al agregado de ingredientes de alto valor en nitrógeno no proteico, como también a la presencia de malezas, cuero, etc. El perjuicio que esto trae es el desbalance aminoacídico y la posible variación en la digestibilidad del alimento.

La adulteración de un alimento puede definirse como la modificación intencional de una materia prima y su posterior comercialización.



Por su parte la contaminación accidental puede ser debida a un mal procesamiento por ejemplo cocción insuficiente de las harinas de pluma, lo cual provoca un efecto negativo y significativo sobre la digestibilidad proteica. Las plumas crudas tienen raquis, barbas y barbillas y las digeridas (hidrolizadas) el raquis toma consistencia plástica.

La harina de plumas es un concentrado proteico muy rico en queratina, una proteína de fuerte estructura secundaria y terciaria, con una elevada proporción de puentes disulfuro entre residuos de cistina. La queratina en estado natural es muy poco digestible (aproximadamente 5%) pero bien hidrolizada es un concentrado proteico palatable y altamente digestible (alrededor del 80%).

Para la histología es importante disponer de patrones adecuados, pero lo más importante es que, en este caso las plumas finamente molidas presentan nódulos sobre protuberancias individuales, detectando además estructuras escamosas.

Las técnicas señaladas le permiten al nutricionista diagnosticar y formular raciones acertadamente, aportándole valiosa información sobre las normas de pureza y procesamientos de las materias primas.

Bibliografía

1.Manual of Microscopic Analysis of Feedstuffs. The American Association of Feed Microscopists. Second Edition 1978.

2.Ing. Agr. Beatriz Rosso, Agrs. Silvia Re y Ana Font. Manual ilustrado de semillas de malezas Laboratorio de Análisis de Semillas INTA EEA Pergamino. AIANBA. Primera Edición 1992.

3.Olga Flint. Microscopia de los alimentos. Manual de métodos prácticos utilizando la microscopia óptica. Editorial Acribia S.A.1996

4.The microscopy of Vegetable foods(Detection of adulteration and diagnosis of mixtures) Andrew Winton et al. (John Wiley and Sons) 1980

5.El Problema de la Contaminación Fúngica en la industria de los Piensos.(Pont Giralt y Javierre Jordana. Lucta S.A. Barcelona 1998.

6.Roser Sala, Ana Cristina Barroeta (coords). Manual de microscopía de piensos. Materials 122. Universidad Autónoma de Barcelona. Editorial Universitat Autónoma de Barcelona. Servei de Publicacions, Bellaterra, 2003.

7.Información suministrada en los Cursos de la Asociación de Microscopistas: Ing. Agr. Mauricia Sala de Miguel Laboratorio Aletheias y Lic. Olga K. De Venier asesora independiente.