

Determinación en distintos tipos de salvado de trigo

Capacidad bactericida de formulaciones en base a ácido fórmico

Sígrfid López y Carmen Valverde. Novus International Inc.

Eva Garrido. Técnico de calidad de Harinera Riojana S.A.

En virtud del Reglamento de Higiene de piensos 183/2005 (en vigor desde el 1/1/2006), el control de la calidad microbiológica del pienso es crucial en la cadena alimentaria a fin de limitar la aparición de toxiinfecciones en los consumidores finales tras ingestión de productos de origen animal. Este control conlleva el seguimiento de las materias primas, las cuales presentan variabilidades según ingrediente y forma.

Los ingredientes con superior contaminación microbiológica (en frecuencia de presencia de *Salmonella*, *E. coli*, y en recuento total de Enterobacterias) son los subproductos del trigo derivados de la industria harinera, conocidos como Salvados. Los salvados incluyen distintos tipos de ingredientes, producto del proceso de molturación y cernido del trigo para la obtención de harina y suponen del orden de un 25% del peso del grano (FEDNA, 2003).

Las diferentes fracciones obtenidas se denominan cuartas, tercerillas, segundas o harinillas y harinas bajas, y

están constituidas por diferentes proporciones de tegumentos, germen, capa de aleurona y endospermo harinoso. El contenido en almidón y fibra varía según el ingrediente (almidón: de 20% en cuartas al 60% en harinas bajas; fibra bruta: del 10% en cuartas al 2% en harinas bajas), mientras que la proteína se mantiene estable (sobre el 14%). La proporción de nutrientes varía según el grano de base, que depende del grado de maduración, procesado, etc. Todo este procesado implica una manipulación que lo convierte en un sustrato susceptible de ser recontaminado y que, por lo tanto, precisa de un control en la planta de producción.

Objetivos

El principal objetivo del experimento llevado a cabo en una planta harinera española fue el poder profundizar en el conocimiento de la eficacia bactericida de dos formulaciones en base a ácido fórmico y formiato amónico (Fórmico Líquido-AFL, 80% de concentración y Fórmico Granulado-AFG, 60% de concentración) en distintos tipos de salvado, con diferente nivel de contaminación microbiana y con aplicación de dosis bactericidas crecientes.

Material y métodos

El presente experimento se llevó a cabo sobre salvado para consumo humano (Cuartas) o animal (Cuartas, Hoja, Terceras). En este último caso, se incrementó artificialmente la contaminación de los ingredientes a fin de observar la efectividad bactericida de AFL y AFG en casos extremos. Esta contaminación se realizó en base a un producto altamente solidificado y de difícil dispersión. El material experimental fue tratado con dos dosis crecientes de bactericida (AFL y AFG), y comparados frente a un blanco no tratado (**Cuadro I**).

Cada ingrediente de base no tratado fue vertido en la mezcladora, tras lo

Cuadro I. Ingredientes y tratamientos

Cuartas para Consumo Humano (CCH), AFL
Cuartas para Consumo Animal (CCA), AFL
Cuartas para Consumo Animal, altamente contaminadas (CCA-C1), AFL
Cuartas para Consumo Animal, altamente contaminadas (CCA-C), AFG
Hoja para Consumo Animal, altamente contaminada (HCA-C), AFL
Tercera para Consumo Animal, altamente contaminadas (TCA-C), AFL
AFL. Tratamiento líquido (a 0,3 y 0,6%) AFL. Tratamiento sólido (a 0,4 y 0,8%)

cual se añadió la primera dosis de bactericida y se procedió a un primer mezclado (3 min). Tras recogida de muestras, se añadió la segunda dosis de bactericida y se procedió a un segundo mezclado de tiempo similar, tras lo cual se recogió una segunda partida de muestras (dosis alta de bactericida). En cada recogida se tomaron dos muestras.

Las muestras fueron tomadas por duplicado y enviadas a dos laboratorios: B&A (Bactéries et Aliments, Francia) y Laboratorios Araba (Vitoria, España).

Las determinaciones incluyeron el recuento de Enterobacterias (ufc/g), hongos/levaduras (ufc/g), presencia/ausencia *Salmonella* (50 g) y *E. coli* (1 g) a días 0, 8 y 20 (B&A) ó 0, 3, 7 (Araba) tras la aplicación del bactericida.

Resultados analíticos

Los resultados obtenidos en Laboratorios Araba se presentan en los Cuadros II a IV, por grupos de ingredientes. El Cuadro II presenta los valores microbiológicos de materias primas no contaminadas, mientras que en los Cuadros III a V se presentan los resultados de materias primas sometidas a una contaminación microbiológica externa. Los resultados analíticos obtenidos en Laboratorios Araba permiten extraer algunas conclusiones interesantes.

El Cuadro II (CCH, CCA) presenta la carga microbiana de base, que fue baja y sin verse prácticamente afectada por los bactericidas. Un estudio en el tiempo confirmó el reducido valor microbiológico de dichas contaminaciones y permitió garantizar una relativa bioseguridad del producto.

El Cuadro III y la Figura 1 presentan los valores microbiológicos en CCA-C, tratadas con bactericida sólido. El mejor control de Enterobacterias (ufc/g) en el tiempo lo llevó a cabo el tratamiento bactericida a dosis superior (0,8% AFG), seguido por el tratamiento intermedio (0,4% AFG). El estudio constató cómo la presencia inicial de *E. coli* (presente inicialmente en todos los tratamientos) fue erradicada en las muestras tratadas, manteniéndose en el Control.

Esta eficacia bactericida se vio acompañada de una reducción en el recuento fúngico, frente al tratamiento control. Si bien la especificidad de los principios activos en AFG es antibacteriana, estos ácidos orgánicos también son efectivos frente a la mayoría de hongos contami-

Cuadro II. Recuento de Enterobacterias y Hongos en Cuartas para Consumo Humano y Animal			
	d 0	d 4	d 7
CCH			
Rcto. de Enterobacterias	4.675	5.975	1.005
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	4.400	4.575	3.200
CCH, AFL 0,3%			
Rcto. de Enterobacterias	3.175	9.250	5.375
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	3.525	4.425	3.800
CCH, AFL 0,6%			
Rcto. de Enterobacterias	3.025	3.500	5.850
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	3.900	9.775	6.925
CCA			
Rcto. de Enterobacterias	4.400	21.500	2.375
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	4.150	7.500	9.875
CCA, AFL 0,3%			
Rcto. de Enterobacterias	3.500	12.325	5.975
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	5.750	10.250	2.050
CCA, AFL 0,6%			
Rcto. de Enterobacterias	83.000	37.000	118.500
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	15.000	84.000	31.500

CCH. Cuartas para Consumo Humano.
CCA. Cuartas para Consumo Animal.
AFL. Producto en base a ácido fórmico y formiato armónico en forma líquida, al 0,3 y 0,6%.

Cuadro III. Recuento de Enterobacterias y Hongos en Cuartas para Consumo Animal altamente contaminadas			
	d 0	d 4	d 7
CCA-C			
Rcto. de Enterobacterias	150.000	150.000	1.500.000
Invest. <i>Salmonella</i> (/25 g)	0	0	0
Invest. <i>E. coli</i> (/25 g)	1	1	1
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	15.000	150.000	495.000
CCA-C, AFG 0,4%			
Rcto. de Enterobacterias	99.000	150.000	427.500
Invest. <i>Salmonella</i> (/25 g)	0	0	0
Invest. <i>E. coli</i> (/25 g)	1	0	0
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	15.000	150.000	64500
CCA-C, AFG 0,8%			
Rcto. de Enterobacterias	150.000	150.000	79.000
Invest. <i>Salmonella</i> (/25 g)	0	0	0
Invest. <i>E. coli</i> (/25 g)	1	0	0
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	15.000	150.000	19.500

CCA-C. Cuartas para Consumo Animal, altamente contaminadas.
AFG. Producto en base a ácido fórmico y formiato armónico en forma sólida, al 04 y 08%.
Invest. *Salmonella* y *E. Coli*, como presencia y ausencia.
Recuento de enterobacterias y hongos: 4 muestras por determinación.

nantes, obteniéndose reducciones de hasta 10 veces frente al Control.

El Cuadro IV y la Figura 2 presentan los valores microbiológicos de Cuartas para consumo animal, altamente contaminadas, tratadas con AFL, observándose resultados similares -en recuento

de Enterobacterias- al tratamiento sólido. De nuevo, el superior efecto bactericida se obtuvo con la dosis superior (0,6% AFL), mientras que la dosis intermedia, pese a demostrar eficacia, no pudo disminuir tan efectivamente la carga bacteriana: dosis crecientes de

bactericida conllevaron reducciones en el recuento de Enterobacterias. Estos resultados se acompañaron de valores paralelos en la presencia de *E. coli*: el tratamiento con 0,6% AFL aseguró la ausencia de *E. coli* en todo momento. Igualmente, una mayor reducción en el recuento fúngico se pudo observar en las muestras tratadas con más AFL: diferencias exponenciales de hasta 103 se pueden observar en el tratamiento

con 0,6% AFL frente al Control.

Por otro lado, si bien un estudio de los valores microbiológicos de HCA y TCA permitió constatar una reducción microbiana, la constancia en estos datos no fue tan elevada. Estos datos están a disposición de quien así los requiera.

Valoración de resultados

Las muestras poco contaminadas se ven menos afectadas por el bactericida

(hasta día 8 de análisis). El efecto bactericida de AFG y AFL se ha puesto de manifiesto principalmente en muestras altamente contaminadas, donde la reducción en recuentos de Enterobacterias es de hasta 10exp3. Esta reducción se ve acompañada de una inferior presencia de *E. coli*.

Resultados analíticos tras almacenamiento (B&A)

Los principales resultados obtenidos por lo que respecta a recuento de Enterobacterias (hasta 21 d) se presentan en el Cuadro V y en las Figuras 3 (Hoja) y 4 (Terceras).

Muestras sin contaminar

Existieron diferentes patrones microbiológicos (Cuadro V) según el material analizado: el material poco contaminado (CCH, CCA) presentó cargas microbianas reducidas y homogéneas, independientemente del tratamiento experimental. Un exponencial de 10² y 10³ fue habitual en ambos casos, lo que garantiza la bioseguridad en los productos finales: el tratamiento bacteriostático no permitió reducciones superiores en dichos valores, pese a ser en esos tratamientos donde se obtienen los valores más bajos de todo el experimento.

Es de destacar cómo los datos estuvieron marcados por una elevada variabilidad: la reducción observada en recuento de Enterobacterias en CCH (Consumo Humano) tras la aplicación de AFL 0,3 y 0,6% no puede justificarse por el tratamiento *per se*, pues el Control también experimentó una reducción debida al propio muestreo realizado en el momento del análisis.

Muestras contaminadas

Más interesantes se presentan los valores microbiológicos en muestras altamente contaminadas (Cuadro V, Figuras 3 y 4), pese a la alta variabilidad. Esta variabilidad no parece adjudicable a la eficacia bactericida del producto aplicado, sino que es necesario señalar cómo la aplicación del material contaminante no permitió una distribución homogénea (aglomerado y compactado) y, por tanto, un muestreo forzosamente no homogéneo en el momento del análisis puede haber generado algún dato extraño (p.ej, enterobacterias en CCA-C tratado con AFG 0,4%). Podemos señalar, sin embargo, cómo con una superior homogeneidad de este material contaminante se pudo obtener en ingredien-

Cuadro IV. Recuento de Enterobacterias y Hongos en Cuartas para Consumo Animal altamente contaminadas			
	d 0	d 4	d 7
CCA-C1			
Rcto. de Enterobacterias	75.750	48.500	73.000
Invest. <i>Salmonella</i> (/25 g)	0	0	0
Invest. <i>E. coli</i> (/25 g)	1	1	0
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	8.925	10.500	36.250
CCA-C1, AFL 0,3%			
Rcto. de Enterobacterias	16.000	10.000	494.250
Invest. <i>Salmonella</i> (/25 g)	0	0	0
Invest. <i>E. coli</i> (/25 g)	1	0	1
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	15.000	110.000	41.750
CCA-C1, AFL 0,6%			
Rcto. de Enterobacterias	7.700	4.675	1.375
Invest. <i>Salmonella</i> (/25 g)	0	0	0
Invest. <i>E. coli</i> (/25 g)	0	0	0
Rcto. de Mohos y Levaduras (ufc/g)	3.475	3.650	1.625

CCA-C1. Cuartas para Consumo Animal, altamente contaminadas.
 AFL. Producto en base a ácido fórmico y formiato armónico en forma sólida, al 0,3 y 0,6%.
 Invest. *Salmonella* y *E. Coli*, como presencia y ausencia.
 Recuento de enterobacterias y hongos: 4 muestras por determinación.

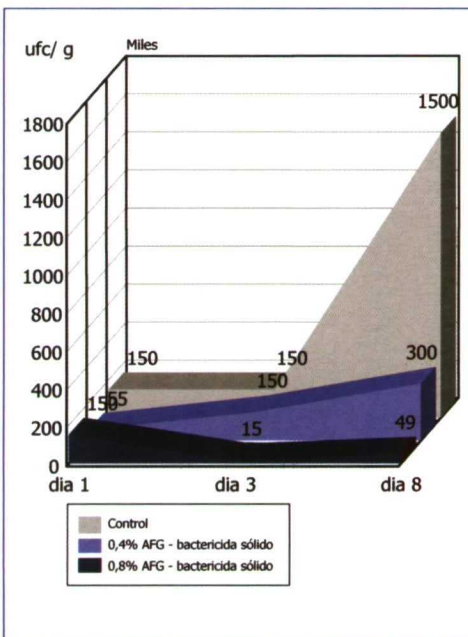


Figura 1. Recuento de Enterobacterias en Cuartas para Consumo Animal (CCA-C), altamente contaminadas - tratamiento sólido.

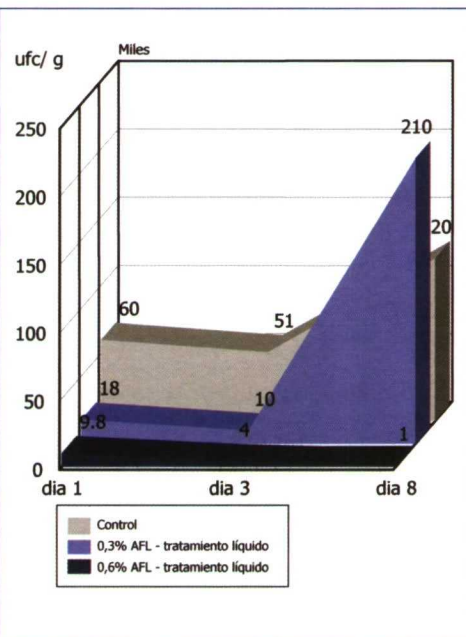


Figura 2. Recuento de Enterobacterias en Cuartas para Consumo Animal (CCA-C1), altamente contaminadas - tratamiento líquido.



THE TRIANGLE™ SERVICE

By NOVUS

Novus ha desarrollado un programa de Higiene de Piensos que garantiza las condiciones necesarias de higiene en base a este Reglamento comunitario 183/2005/EC.

1
Auditoría

**Una gama de
productos
eficaces**
(Acidomix® y
Pro-Stabil™)

3

**Análisis
microbiológicos**

2

Para más información, contacte con:

NOVUS SPAIN S.A. • APDO. DE CORREO 47184 • 28080 MADRID • ESPAÑA
Tel.: 902 15 83 67 • Fax: 902 15 83 68 • iberia@novusint.com • www.novusint.com

® Novus es marca registrada de Novus International Inc. y está registrada en los EEUU y otros países
™ Triangle y Pro-Stabil son marcas registradas de Novus International Inc.

NOVUS
INTERNATIONAL, INC.

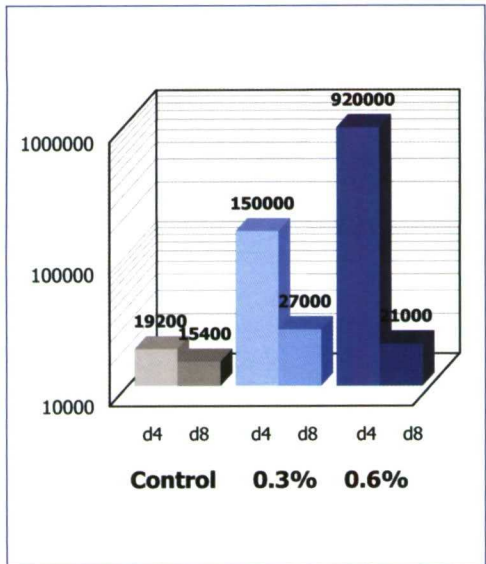


Figura 3. Valores de Enterobacterias (ufc/g) en Hoja para Consumo Animal, altamente contaminada.

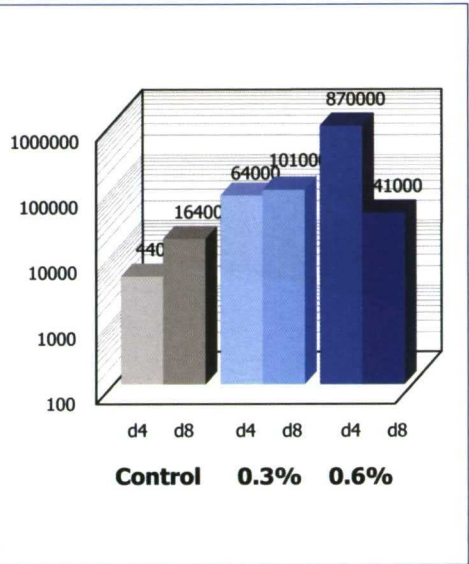


Figura 4. Valores de Enterobacterias (ufc/g) en Terceras para Consumo Animal, altamente contaminada.

tes tratados con dosis bactericidas crecientes, dado el superior tiempo de mezclado. Así, esta superior contaminación, más homogénea, redundó en superiores recuentos iniciales de Enterobacterias a día 4 (CCA-C, HCA-C, TCA-C).

El uso creciente de un bacteriostático revirtió esta superior contaminación, tras su análisis a 3 semanas. Si bien el efecto bacteriostático empieza desde la aplicación del producto, se observó cómo, a día 8, todos los tratamientos altamente contaminados y tratados redujeron los valores de contaminación hasta 100 veces, alcanzándose valores de bioseguridad elevados. Así, la superior reducción siempre se observó con el superior uso bactericida (0,6% AFL, Figuras 3, 4), mientras que el Control se mantenía en valores similares. Las muestras más contaminadas con Enterobacterias (CCA-C, 2.310.000 ufc/g) también presentaron *E. coli* a día 4. La reducción observada ya a día 8 permitió su erradicación.

Conclusiones comparativas entre análisis en distintos laboratorios

Los ingredientes de base presentaron una calidad microbiana relativamente elevada (consumo humano y animal), corroborada por ambos laboratorios.

La homogeneidad microbiana en muestras altamente contaminadas no fue mayor al carecer de un material de contaminación pulverulento no petrificado. La generación de una muestra por tratamiento no permitió soslayar el error de mezclado del material contaminante y se obtuvieron algunos artefactos durante el proceso de análisis. No obstante, se pudo observar cómo el mejor tratamiento bactericida fue el de mayor dosificación (principalmente AFL, aunque también AFG). Estas aplicaciones permitieron las mayores reducciones de contaminación entre los días 4 y 8, asegurando un mantenimiento microbiológico posterior. Garantizar un tiempo mínimo de aplicación del bactericida permite, pues, asegurar la calidad microbiológica del producto final. El análisis de *E. coli* y *Salmonella* tras 20 días (datos a disposición) constató que, si bien a día 4 dos muestras presentaron positividad a *E. coli*, tan sólo una muestra (no tratada) mostró positividad a las tres semanas. Es importante destacar la superior presencia habitual de *E. coli* frente a *Salmonella*, la cual no se obtuvo en ninguna muestra. ●

Cuadro V Recuento de Enterobacterias tras 4, 8 y 20 días de almacenaje

	Enterobacteriaceae		
	d4	d8	d20
CCH			
Control	17.000	200	600
AFL, 0,3%	3.500	1.200	700
AFL, 0,6%	1.680	200	1.700
CCA			
Control	2.700	1.400	8.400
AFL, 0,3%	1.270	1.100	1.300
AFL, 0,6%	4.000	4.500	2.500
CCA - C1			
Control	22.000	4.800	7.400
AFL, 0,3%	7.900	5.500	118.000
AFL, 0,6%	14.000	24.000	17.300
CCA - C			
Control	350.000	61.000	900.000
AFG, 0,4%	270.000	2.440.000	85.000
AFG, 0,8%	2.310.000	10.500	25.000
HCA - C			
Control	19.200	15.400	12.800
AFL, 0,3%	150.000	27.000	13.800
AFL, 0,6%	920.000	21.000	31.000
TCA - C			
Control	4.400	16.000	20.000
AFL, 0,3%	64.000	101.000	30.000
AFL, 0,6%	870.000	41.000	8.300

CCH. Cuartas para Consumo Humano.
 CCA. Cuartas para Consumo Animal.
 CCA-C(1) Cuartas para Consumo Animal, altamente contaminadas.
 HCA-C. Hoja para Consumo Animal, altamente contaminadas.
 TCA-C. Tercerilla para Consumo Animal, altamente contaminada.
 AFL. Producto en base a ácido fórmico y formiato armónico en forma líquida, al 0,3 y 0,6%.
 AFG. Producto en base a ácido fórmico y formiato armónico en forma sólida, al 0,4 y 0,8%.
 Invest. *Salmonella* y *E. Coli*, como presencia y ausencia.
 Recuento de enterobacterias y hongos: 4 muestras por determinación.