

8 300627  
24/9



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA  
Incorporada a la U.N.A.M.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

DETERMINACION DE DIOXIDO DE TITANIO EN  
PRODUCTOS CARNICOS EMBUTIDOS  
ADICIONADOS CON SOYA

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A :

HECTOR EDUARDO ESQUINCA VILA

DIRECTORA DE TESIS  
Q. IRENE MONTALVO VELARDE





## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA  
INCORPORADA A LA U.S.A.M.

Determinación de dióxido de titanio en  
productos cárnicos embutidos adicionados  
con soya

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el título de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

HECTOR EDUARDO ESQUINCA VILA

Directora de Tesis

Q. Irene Montalvo Valarde

MEXICO, D.F.

1990

1	INTRODUCCION	1
2	ANTECEDENTES	2
	2.1 Dióxido de titanio	2
	2.1.1 Obtención	3
	2.1.2 Propiedades físicas y químicas	3
	2.1.3 Usos	5
	2.1.4 Toxicología	6
	2.2 Soya	7
	2.2.1 Características del grano	7
	2.2.2 Derivados de la soya	8
	2.2.2.1 Harina de soya	8
	2.2.2.2 Concentrados	11
	2.2.2.3 Aislados	12
	2.2.2.4 Texturizados	13
	2.2.3 Propiedades nutricionales de las proteínas de soya	15
	2.2.4 Propiedades funcionales de las proteínas de soya	17
	2.3 Emulsiones	21
	2.3.1 Clasificación	21
	2.3.2 Composición	21
	2.3.2.1 Componentes cárnicos	22
	2.3.2.2 Humedad	22
	2.3.2.3 Condimentos	22
	2.3.2.4 Dispersantes, ligantes y rellenos	23
	2.3.2.5 Otros ingredientes	23
	2.3.3 Procesamiento	24
	2.3.3.1 Curado	24
	2.3.3.2 Picado	24
	2.3.3.3 Molido	24
	2.3.3.4 Fermentación	25
	2.3.3.5 Emulsificación	25
	2.3.3.6 Molido	25
	2.3.3.7 Tratamiento térmico y ahumado	26
	2.3.3.8 Maduración	26
	2.4 Retrospectiva de los análisis	28
	2.4.1 Microscopía e histoquímica	28

	2.4.2	Análisis químico de constituyentes no proteínicos del frijol soya . . . . .	28
	2.4.3	Análisis de aminoácidos y péptidos . . . . .	29
	2.4.4	Análisis inmunológicos . . . . .	29
	2.4.5	Métodos electroforéticos . . . . .	30
	2.4.6	Reastreadores . . . . .	30
3		<b>OBJETIVOS</b> . . . . .	32
4		<b>METODOLOGIA</b> . . . . .	32
	4.1	Descripción del método . . . . .	33
	4.1.1	Preparación de la muestra . . . . .	33
	4.1.2	Procedimiento . . . . .	34
	4.1.3	Preparación de la curva estándar de comparación . . . . .	34
	4.2	Pruebas para validación del método . . . . .	35
	4.2.1	Adición de $TiO_2$ a almidón . . . . .	35
	4.2.2	Adición de soya texturizada marcada con $TiO_2$ a muestras de oharizo . . . . .	36
	4.2.3	Efecto del tiempo en el desarrollo del color después de la adición de $H_2O_2$ . . . . .	35
	4.2.4	Determinación de la cantidad necesaria de $H_2O_2$ para desarrollar el color . . . . .	36
	4.2.5	Efecto de la concentración de $H_2SO_4$ en la intensidad del color . . . . .	36
	4.3	Experimentación en muestras de embutidos . . . . .	37
	4.3.1	Determinación cualitativa de soya en embutidos . . . . .	37
5		<b>RESULTADOS</b> . . . . .	38
	5.1	Curva característica de absorción de $TiO_2$ . . . . .	38
	5.1.1	Curva estándar de comparación . . . . .	39
	5.1.2	Curva estándar corregida . . . . .	39
	5.2	Resultados de las pruebas para validación del método . . . . .	41
	5.2.1	Adición de $TiO_2$ a almidón . . . . .	41
	5.2.2	Adición de soya texturizada marcada con $TiO_2$ a muestras de oharizo . . . . .	41
	5.2.3	Efecto del tiempo en el desarrollo de color después de la adición de $H_2O_2$ . . . . .	43
	5.2.4	Determinación de la cantidad necesaria de $H_2O_2$ para desarrollar el color . . . . .	44
	5.2.5	Efecto de la concentración de $H_2SO_4$ en la intensidad del color . . . . .	45
	5.3	Resultados de la experimentación en muestras de embutidos . . . . .	46
	5.3.1	Determinación de $TiO_2$ . . . . .	46

	5.1.3 Determinación cualitativa. . . . .	47
6	CONCLUSIONES . . . . .	48
7	BIBLIOGRAFIA . . . . .	49

## Introducción

### 1 INTRODUCCION

La soya, que durante siglos se ha consumido en países orientales, es de historia reciente en América, donde inicialmente se centró el interés en la producción de aceite utilizándose la pasta remanente para la alimentación de ganado. Investigaciones posteriores revelaron el potencial nutritivo de la soya, creciendo el interés en desarrollar tecnologías para la elaboración de productos con mejores características organolépticas y funcionales destinados al consumo humano.

En la actualidad se obtienen tres derivados principales : harinas de soya, concentrados y aislados.

Los derivados proteínicos tienen una serie de propiedades funcionales tales como : emulsificación, absorción de grasa y agua, adhesión y elasticidad, entre otras, que se utilizan para impartir cambios favorables en estructura, textura y composición de un alimento.

Por otra parte, el contenido de aminoácidos esenciales, a excepción de la metionina, dan a las proteínas de soya un valor nutritivo comparable al de proteínas de origen animal, siendo adecuadas para complementación o suplementación proteínica. Su elevado contenido en lisina la hacen ideal para la mezcla con cereales, en los cuales el aminoácido limitante es precisamente la lisina.

Sin embargo, la adición de proteínas de soya no busca siempre el mejorar las características de un producto sino el aprovechar que, en materia de precios, el costo de la proteína de soya es menor que el de la proteína animal y el que, por su apariencia, algunos embutidos como chorizos y longanizas se prestan para la adición de productos como la proteína de soya texturizada. Finalmente se comercializan productos supuestamente elaborados en su totalidad con carne pero que realmente contienen elevados porcentajes de proteína de soya. En otras palabras, se vende como carne lo que no lo es.

Con el fin de controlar lo anterior, se han desarrollado numerosos métodos para la detección y cuantificación de proteína de soya en productos cárnicos, la mayoría basados en las características, propiedades y composición específicas de los derivados proteínicos, los cuales han presentado diferentes limitantes por los que no han sido completamente satisfactorios.

Adicionando  $TiO_2$  a derivados de soya como rastreador en un porcentaje determinado (hasta 1% en peso del alimento) y mediante un análisis adecuado, se puede cuantificar la soya presente en un embutido con base a la cantidad de  $TiO_2$  detectada.

## Antecedentes

### 3 ANTECEDENTES

#### 3.1 Dióxido de titanio

El Titanio es uno de los 10 elementos más comunes que constituyen el 99% de la corteza terrestre habiéndose detectado su presencia incluso en rocas lunares y meteoritos <sup>12</sup>.

El descubrimiento se acredita a William Gregor quien en 1791, analizando una muestra de arena negra encontrada en Cornwall, Inglaterra, detectó la presencia de un óxido metálico blanco que constituyó aproximadamente el 39% de la muestra y al cual le dio el nombre de Menaccanita. Más tarde, en 1795, M.H. Klaproth separó el óxido de un mineral llamado Rutilo y lo denominó "tierra titánica", de donde nació el nombre de Titanio.

El dióxido de titanio se obtiene principalmente de dos minerales, que son la Ilmenita y el Rutilo. La Ilmenita, cuya composición es  $\text{FeTiO}_3$  o  $\text{FeO} \cdot \text{TiO}_2$ , se asocia comúnmente con magnetita o hematita en afloras de playas y formaciones rocosas. Los principales depósitos de Ilmenita se encuentran en las playas de Kerala (India), Florida y Nueva York (Estados Unidos), Quebec (Canadá) y las montañas Ural (Rusia).

La composición usual del mineral se encuentra dentro de los siguientes rangos :

Dióxido de titanio	35 - 60
Oxido ferroso	35 - 40
Oxido férrico	35 - 32

Mediante oxidación y eliminación del hierro se obtiene un mineral con mayor concentración de  $\text{TiO}_2$ .

En el Rutilo, el  $\text{TiO}_2$  ocurre naturalmente, encontrándose en rocas acuosas metamórficas y sedimentarias. La concentración puede variar del 85 al 98% de  $\text{TiO}_2$ . Los principales yacimientos se localizan en Estados Unidos, Australia y África. El Rutilo es un mineral cuya coloración va desde rojo hasta amarillo, pudiendo ser también transparente u opaco.

#### 3.1.1 Obtención

Hay varios métodos para la obtención de  $\text{TiO}_2$  que pueden agruparse en 3 categorías :

- 1 - Hidrólisis de soluciones acuosas.
- 2 - Oxidación de tetracloruro de titanio en fase de vapor.



### 3 - Precipitación de soluciones acuosas de tetracloruro por adición de una base.

Comercialmente son importantes los dos primeros métodos, que se conocen como proceso del sulfato y proceso del cloruro respectivamente.

Para la elección del método es necesario considerar el mineral con que se habrá de trabajar. En el proceso del sulfato se emplea Ilmenita como materia prima y Rutilo para el proceso del cloruro.

Por otra parte, la Ilmenita es considerablemente más abundante que el Rutilo, siendo también su costo menor. Los diagramas de flujo para la elaboración de  $TiO_2$  por estos dos métodos, así como las reacciones químicas que ocurren se muestran en los diagramas respectivos.

#### 2.1.2 Propiedades físicas y químicas

Fórmula Química	$TiO_2$	
Peso Molecular	79.86	
Composición Química	59.94 % Ti	
(1 peso)	40.04 % O	
	ANATASA	RUTILO
Sistema cristalino	Tetragonal	Tetragonal
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	3.8 - 4.1	3.8 - 4.2
Apariencia	Polvos blancos brillantes	
Índice de refracción	2.55	2.76
P. fusión (°C)	1825	

El dióxido de titanio es sóloamente estable en temperaturas elevadas. Es insoluble en todos los líquidos. Sólo los ácidos sulfúrico y fluorhídrico en caliente logran disolverlo <sup>18,48</sup>.

El dióxido de titanio existe en tres formas cristalinas: Anatasa, Brookita y Rutilo. La Anatasa y la Brookita son formas inestables. Al aplicar calor, la Anatasa se transforma en Rutilo (700-930°C). El dióxido de titanio tiene el índice de refracción mayor para substancias incoloras que varía de acuerdo con la longitud de onda, siendo mayor cuando se acerca al azul y menor en la región roja del espectro.

Aunque el  $TiO_2$  es transparente en ocasiones, al estar finamente molido es intensamente blanco pues refleja en el mismo grado todas las longitudes de onda del espectro de luz visible. Es decir, si se aplica luz roja, aparece roja, si se aplica luz azul, se verá azul. Solo bajo iluminación con todas las longitudes de onda del espectro visible se observa blanco. Sin embargo el  $TiO_2$  absorbe longitudes de onda en la región azul, por lo que no es completamente blanco. La anatasa tiene un color azulesco, mientras que el rutilo aparece amarillento.

## Diagrama proceso del sulfato

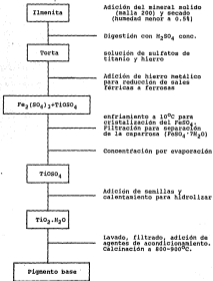
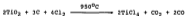
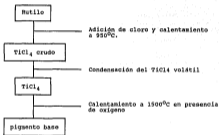




Diagrama proceso del cloruro



### 2.1.3 Usos

La función más importante del  $\text{TiO}_2$  es la opacidad que confiere al medio en el cual es dispersado o superficial en que es aplicado, lo cual se puede considerar como la principal propiedad óptica. El dióxido de Titanio tiene otras propiedades ópticas. Sin embargo, para cualquier aplicación siempre se requerirá de la opacidad.

Esta característica depende principalmente de dos variables, el índice de refracción y el tamaño de partícula. El alto índice de refracción del  $TiO_2$  es suficiente para garantizar opacidad. La refracción y reflexión de la luz se realiza en las interfaces pigmento-vehículo por lo que, a mayor número de interfaces, mayor será el efecto de opacidad. Con base a lo anterior se entiende que un tamaño de partícula fino es de gran importancia.

La reducción en el tamaño de partícula ha sido uno de los grandes avances en la tecnología del pigmento dióxido de titanio.

Las industrias que mayormente utilizan el  $TiO_2$  son las de pinturas, plásticos, cerámica, papel y textiles.

Para la industria alimentaria se utiliza  $TiO_2$  en su forma de Anatasa <sup>28</sup>. Está clasificado dentro de la categoría de colorantes debiendo tener una pureza no menor del 99% de  $TiO_2$  en base seca <sup>44</sup>.

#### 2.1.4 Toxicología

En el cuerpo humano, la cantidad de  $TiO_2$  presente es de 15 mg, encontrándose almacenado principalmente en los pulmones, adquirido probablemente por inhalación <sup>45</sup>. Se han realizado estudios en numerosas especies, incluyendo al hombre, sin encontrarse absorción significativa. Por exposición a inhalación se han reportado pequeñas fibrosis de tejido pulmonar sin que el daño haya sido considerable. Del  $TiO_2$  que se ingiere, un 14 es absorbido, y de este, la mayor parte es eliminada en orina <sup>46</sup>.

De acuerdo con los datos obtenidos experimentalmente no ha sido necesario establecer para el  $TiO_2$  un nivel diario de ingestión considerando las cantidades en que esta sustancia es empleada en alimentos para lograr el efecto deseado <sup>47</sup>. De hecho, por su insolubilidad, es considerado fisiológicamente inerte por todas las rutas (ingestión, inhalación, contacto y subcutánea) <sup>48</sup>. Sin embargo, su uso no debe exceder del 14 en peso del alimento <sup>49</sup>.

La probable dosis letal para el ser humano es mayor a 15 g/kg de peso y el nivel de toxicidad es de 1 (prácticamente no tóxico) <sup>48</sup>.

## 2.2 Soya

La soya, que puede ser considerada en la actualidad como una probable solución para los problemas de alimentación de la humanidad, es un alimento que ha sido consumido por siglos en ciertas regiones de Asia. La primer referencia se tiene en los escritos del emperador chino Shang-Hung, en el año 2838 (A.C.). En la literatura americana, la primer mención se remonta al año 1894 y fue hecha por James Mease. Sin embargo, no fue sino hasta principios del siglo XX cuando comenzó a estudiarse.

La soya es originaria del este de Asia, concretamente de China. Con la soya se han preparado alimentos fermentados como el Miso, Soji, Miso y Shoya que aún son consumidos<sup>1,2</sup>.

Inicialmente, el interés se centró en la obtención de aceite destinado para uso industrial, empleándose la pasta sobrante como fertilizante o alimento para ganado. En los años treinta se comenzó la extracción comercial de aceite con solvente y simultáneamente comenzaron las investigaciones para su aplicación en alimentos. Finalmente, en los años cincuenta se desarrollaron procesos para la obtención de harinas, concentrados y aislados de soya.

La soya es la leguminosa más importante por área sembrada y por producción a nivel mundial<sup>3</sup>. Los principales productores son Estados Unidos, Brasil y China, estando México entre los diez primeros<sup>4</sup>.

En México, los primeros datos acerca del cultivo de soya se remontan a 1911, cuando se introdujo experimentalmente por parte de la Secretaría de Agricultura y Fomento, iniciándose el cultivo comercial desde 1959 en el Valle del Yaqui, Sonora<sup>5</sup>. La soya se cultiva principalmente en 5 estados de la República: Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Tamaulipas y Chiapas.

La soya pertenece a la familia Leguminosae, sub-familia Papilionoidae y al género *Glycine*, que comprende de 13 a 15 especies, siendo la más importante *Glycine max* (L.) Merrill, que es el nombre correcto de la soya<sup>6</sup>.

### 2.2.1 Características del grano

Hay una gran variedad de semillas que difieren en color, tamaño y forma dependiendo de la variedad. Generalmente se usan para cultivo los granos esféricos y amarillos.

El grano está compuesto por tres secciones principales: la corteza (3%), cotiledón (20%) e hipocotilo (2%).

Los constituyentes más importantes son la proteína y el aceite. Los azúcares constituyen una tercera parte del grano aproximadamente, dentro de los cuales se encuentran estaquiosas, rafinosas, sacarosa y polisacáridos.

### 2.2.2 Derivados de la soya

Con los métodos de producción actualmente empleados se obtienen tres productos principales, cuya diferencia básica es el contenido de proteína, aceite y carbohidratos. La composición de los diferentes derivados se puede observar en la Tabla 1.

TABLA 1

Composición química del grano de soya y derivados (g/100g)					
PRODUCTO	P	G	F	C	HC
Frijol soya	41.0	30.0	3.3	5.4	31.3
Harina de soya	50.0	1.0	3.5	6.0	38.5
Concentrados	70.00	01.0	4.5	5.0	19.5
Aislados	86.00	00.1	0.1	3.5	00.3

Resultados obtenidos en base seca.

Harina de soya desengrasada.

P - Proteína    G - Grasa    F - Fibra cruda  
C - Cenizas    HC - Hidratos de carbono

#### 2.2.2.1 Harina de soya

En la actualidad se pueden obtener una gran variedad de harinas, cada una con características específicas. No obstante, los tipos mayormente empleados son los siguientes:

= Harina de soya desengrasada, que se produce extrayendo el aceite, utilizando hexano como solvente, hasta sacar del 14.

- Harina de soya baja en grasa, que puede obtenerse tras la extracción parcial del aceite de las hojuelas o bien agregando aceite de soya a una harina desengrasada a un nivel específico (generalmente de 5 a 6%).

- Harinas con toda la grasa, en las que no se realizó extracción de aceite.

La composición promedio típica de estos productos se muestra en la Tabla 2.

TABLA 2

Composición de harinas de soya<sup>21</sup>

	Harina de soya desengrasada	Harina de soya baja en grasa	Harina de soya con toda la grasa
Proteína (%) (N x 6.25)	50.5	46.0	41.0
Grasa (%)	1.5	6.5	20.5
Fibra (%)	3.3	3.0	3.8
Cenizas (%)	5.0	5.5	5.3
Hidratos de Carbono (%)	34.3	31.5	25.2

Dependiendo de la humedad relativa, el contenido de humedad en harinas de soya puede variar de 5 a 10%.

El producto mayormente usado es la harina de soya desengrasada cuyo proceso se describe a continuación.

#### - Harina de soya desengrasada

Al recibirse, los granos contienen una humedad aproximada del 11 al 14% así como una variedad de impurezas. El primer paso consiste en eliminar impurezas por medio de cribado y aspiración. Después de obtener grano limpio, se reduce el contenido de humedad a 10% y se pasa por rodillos estridores, que rompen el grano en fragmentos de la sexta a la octava parte del tamaño original. Los fragmentos de cotiledón se seleccionan en cribas de acuerdo a su tamaño y la cáscara se elimina por aspiración. La

porción principal (malla 4,5 a 14) es acondicionada para el proceso de laminación ajustando el contenido de humedad a 10% y elevando la temperatura a 70-75°C. El laminado se realiza pasando los fragmentos entre rodillos lisos, obteniéndose laminillas u hojuelas de 0.25 a 0.30 mm. de espesor, rango en el que la difusión de la miscela es eficiente.

La extracción del aceite se efectúa remojando las hojuelas en solvente (generalmente hexano grado alimenticio) separándose las mezclas de solvente-aceite y hojuelas. El siguiente paso, la eliminación del solvente remanente en las hojuelas, constituye el punto crítico del proceso al tenerse que emplear tratamiento térmico, que puede afectar la calidad, solubilidad y funcionalidad de la proteína.

Antes de continuar con el proceso es conveniente mencionar que existen dos índices para medir la solubilidad de la fracción peptónica: el índice de solubilidad de nitrógeno (ISN) y el índice de dispersabilidad de la proteína (IDP), que se utilizan ampliamente como medida de control del tratamiento térmico utilizado.

El ISN representa el porcentaje de nitrógeno total soluble bajo condiciones controladas de extracción mientras que el IDP es el porcentaje de proteína total que se puede dispersar en agua bajo condiciones controladas de extracción. Normalmente, las proteínas de una harina o sésola de soya son fácilmente extraídas con agua si no se utilizó tratamiento térmico durante el procesamiento o bien si éste fue ligero. Sin embargo, la solubilidad puede disminuir de un valor inicial de 30% hasta 20-25% después de aplicar vapor durante 10 minutos<sup>24</sup>. El tratamiento térmico implica desnaturalización peptónica por lo que, a mayor tratamiento térmico, menores serán los valores de IDP e ISN.

Hay 3 procesos fundamentales de desolventización: la desolventización flash (DF) en donde se emplean vapores sobrecalentados de hexano (120°C) lo que llevará al solvente remanente hasta el punto de ebullición (85°C) por transferencia de calor, siendo el tiempo de retención de pocas segundos y obteniéndose productos con IDP de 90%.

Las hojuelas, con un contenido inicial de 27 a 30% de solvente salen del desolventizador con un 1.5% remanente, que puede eliminarse agregando vapor de agua sobrecalentado, obteniéndose productos con alto IDP (70-90%). Si se requiere de hojuelas con bajo IDP se agrega agua junto con el vapor sobrecalentado y se aumenta la presión, con un tiempo de residencia de 5 a 30 minutos, obteniéndose productos con IDP desde 10 hasta 90%.

La desolventización-tostado (DT) aplica altas temperaturas (100-110°C) obteniéndose hojuelas con proteína desnaturalizada poco soluble (IDP 10%) de alto valor nutritivo, generalmente destinadas a la alimentación animal.



Las hojuelas se secan hasta reducir la humedad a 11-13% y finalmente se muelen. La granulometría puede variar, de acuerdo con el uso, habiendo varios tipos de productos (Tabla 3).

TABLA 3

---

 Granulometrías para productos de soya<sup>46</sup>


---

Producto	Tamaño de partícula *
Edulcor	
Gruesa	10 - 20
Medio	20 - 30
Fina	30 - 50
Harinas	100 ó más

---

\* número de malla

### 3.2.3.3 Concentrados

Los concentrados se elaboran de harinas y edulcor desengrasados de soya. El proceso se basa en la insolubilización de proteínas en tanto se eliminan los azúcares solubles (sacarosa, rafinosa y estaquiosa) junto con cenizas y otras constituyentes menores. Hay tres procedimientos de extracción:

- empleando alcohol acuoso (etanol 60-80%).
- empleando ácidos diluidos (clorhídrico o acético) ajustando el pH a 4.5
- tratamiento térmico seguido de lavado con agua.

en el segundo proceso se puede neutralizar a pH 6.7-7.1 después de la extracción.

Finalmente, los edulcor se secan por separado. Las diferencias entre los productos obtenidos por los 3 procesos se pueden observar en la Tabla 4.

TABLA 4

Análisis aproximado de concentrados<sup>46</sup>

Propiedad o constituyente	Tipo de procesamiento		
	Alcohol	Acido	Térmico/agua
ISN	5	69	3
pH dispersión en agua 1:10	6.9	6.6	6.9
Proteína (N x 6.25)	66	67	70
Humedad	6.7	5.2	3.1
Grasa	0.3	0.3	1.2
Fibra cruda	3.5	3.4	4.4
Canitas	3.6	4.8	3.7

## 3.2.2.3 Aislados

Constituyen la forma más refinada de proteínas de soya comercialmente disponibles. Es importante partir de harinas de soya desengrasadas con altos valores de ICP e ISN para asegurar un buen rendimiento de proteínas.

La proteína se extrae con agua a pH neutro o ligeramente alcalino (pH 7-9) separándose los polisacáridos insolubles y algo de proteína residual por filtración o centrifugación. El extracto clarificado se acidifica con algún ácido grado alimenticio (clorhídrico o acético) a pH 4.3, que corresponde al punto isoeléctrico de la proteína, precipitándose como un cuajo. El cuajo se separa de los componentes solubles por centrifugación y se lava con agua. Se puede secar o bien neutralizar con NaOH a pH 7, obteniéndose el precipitado. Las diferencias entre productos comerciales analizados se muestran en la Tabla 5.

TABLA 5

Análisis aproximado de 4 aislados comerciales<sup>46</sup>

Propiedad o constituyente	A	B	C	D
ISM	85	95		
pH dispersión en agua 1:10	7.1	6.8	5.2	5.5
	Porcentaje			
Proteína (N x 6.25)	92.8	92.2	92.9	94.7
Humedad	4.7	6.4	7.6	3.7
Fibra cruda	0.2	0.1	0.1	0.2
Cenizas	1.6	3.5	2.0	2.7

#### 3.3.3.4 Texturizados

La texturización de proteínas ha significado un importante descubrimiento para la industria alimentaria ya que los procesos desarrollados han permitido impartir una estructura fibrosa a proteínas de soya similares a las de productos cárnicos. Hay, básicamente, dos tipos de texturizados:

- productos hilados
- productos extruidos<sup>47</sup>

#### Productos hilados.

Para este proceso se utiliza como materia prima proteína aislada de soya. La proteína puede solubilizarse en agua a pH 6.5-7, precipitarse con ácido a pH 4.5 para incrementar el contenido de proteína a más del 90% y dispersar en alcali a pH mayor de 10<sup>2</sup>.

La solución se pasa por una hiladora (plato metálico, generalmente de platino, con más de 15000 orificios de 0.001 in de diámetro)<sup>48</sup> hacia un baño ácido de coagulación, con un pH de 4.2 a 4.5, formándose las fibras que son después estiradas, lavadas para remover el ácido, calentadas, saborizadas, adicionadas de color, grasa y finalmente cortadas al tamaño y forma deseadas. La composición final de este tipo de productos puede variar, pero una composición típica se muestra en la Tabla 6.

El hilado es un proceso complejo que involucra tecnología altamente sofisticada y elevada inversión, siendo el producto obtenido considerablemente más caro que el obtenido por extrusión termoplástica.

TABLA 6

Composición de productos hilados\* (proteína aislada)<sup>4,6</sup>

Componente	Porcentaje
Fibra hilada	40
Proteína ligante	10
Grasa	20
Sabores, colores y suplementos	30

\* Base seca

#### Extrusión termoplástica

La materia prima comúnmente utilizada es harina o semola de soya desengrasada. Se requiere de un acondicionamiento inicial hasta tener una humedad de 30-40% y pH de 6.5 a 7.5. El pH se puede reducir con ácidos diluidos e incrementar con hidróxido de sodio, magnesio o calcio<sup>4,5</sup>. Así mismo, se eleva la temperatura a 60-90°C lo cual mejora la hidratación de la semola y facilitará la alimentación del extrusor. En este punto se pueden agregar sabor, color, emulsificantes, minerales, etc. La adición de azufre y cloruro de calcio favorecerán la formación de puentes disulfuro. Una vez acondicionada la semola se alimenta al extrusor, cuya función es, mediante calentamiento y presión, formar una masa donde la proteína sea una fase continua y plástica. Normalmente se trabaja con temperaturas de 150 a 200°C y presiones de 17 a 40 atm durante tiempos que pueden variar de 20 a 60 seg. dependiendo de las condiciones de procesamiento. El material es forzado a pasar por una matriz y al salir se expande violentamente debido a la liberación de vapor sobrecalentado como resultado de la caída de presión. A la salida del extrusor, una cuchilla corta el producto en piezas de varios tamaños (de acuerdo con el tipo deseado). La humedad es de 18 a 24% por lo que se seca a temperatura de 110°C hasta reducirlo a 6-8%. Se eliminan los fines y, si se se adicionaron al principio, pueden agregarse color, sabor y ocasionalmente vitaminas y minerales.

El mecanismo de formación de texturizado supone la desnaturalización de proteína mediante tratamiento térmico cambiando su forma globular inicial a cadenas lineales. Las proteínas quedan así libres para reorientarse y recombinarse al estar los sitios acti-

vos lo suficientemente cerca para formar nuevos enlaces intermoleculares (puentes de hidrógeno, enlaces disulfuro y peptídicos) manteniendo así la forma fibrosa desnaturalizada.

### 2.2.3 Propiedades nutricionales de las proteínas de soya

La soya y sus derivados están constituidos por diversos nutrientes, siendo el mayor atractivo su elevado contenido de proteína.

Analizando la composición de aminoácidos (AA) esenciales (Tabla 7) el patrón que conforma a la proteína de soya es comparable al de proteínas de origen animal, consideradas de alta calidad. Se observa, sin embargo, que hay deficiencia de aminoácidos azufrados, siendo la metionina el AA limitante.

Se han realizado estudios en niños y adultos encontrándose que la adición de metionina mejora la calidad de la proteína lo cual se puede comprobar observando los resultados de la Tabla 8. La soya sin adición de metionina da una suplementación negativa, lo que significa que la eliminación de nitrógeno por el organismo fue mayor que el nitrógeno retenido, siendo por lo tanto de valor biológico menor que en el caso contrario, donde la suplementación fue positiva.

TABLA 7

Aminoácidos esenciales en proteínas de soya y otros alimentos (mg/g N)<sup>a</sup>

Aminoácido	Soya	Maíz	Cerrea	Leche	Patrón FAO/OMS <sup>b1</sup>
Isoleucina	316	309	337	407	350
Leucina	482	610	513	626	440
Lisina	395	100	346	498	340
Fenilalanina	309	284	257	309	340 <sup>a</sup>
Tirosina	199	382	212	335	
Cisteína	111	81	79	57	220 <sup>b</sup>
Metionina	84	116	155	156	
Treonina	246	247	276	394	350
Triptófano	84	38	73	90	60
Valina	328	319	347	428	310

a = Fenilalanina + Tirosina

b = Cisteína + Metionina

TABLA 8

Suplementación de proteína de soya con metionina. Estudio realizado en adultos <sup>4</sup>		
Nivel de proteína ingerida (gN/día)	Suplementación	Retención de N (g/día)
3.0	negativa	-1.21
3.0*	positiva	0.08
4.5	negativa	-0.08
4.5*	positiva	0.64
6.0	negativa	-0.36
6.0*	positiva	0.76

\* soya suplementada con metionina

Por su alto contenido en lisina, la suplementación de cereales con soya incrementa considerablemente la eficiencia proteínica. Como ejemplo, la suplementación de maíz con frijol soya para la elaboración de tortillas dió los resultados expuestos en la Tabla 9.

TABLA 9

Proteína y PER a diferentes niveles de fortificación <sup>41</sup>			
Fortificación (%) con soya	Proteína (%)	PER	PER (%)
0.0	9.5	1.8 *	0.35 59
8.0	13.4	2.5 *	0.32 84
16.0	14.7	2.6 *	0.22 88
caseína	--	3.0 *	0.15 160

En una gran variedad de alimentos de origen natural, como las leguminosas, hay presentes factores antinutricionales y el frijol soya no es la excepción. Algunas de las actividades biológicas en el harina cruda de soya son:

- Inhibición de tripsina
- Hemoaglutinación
- Goltroquencia
- Estrogenicidad
- Alergenicidad
- Flatulencia

la mayoría de las cuales son eliminadas mediante tratamiento térmico o saltes.

#### 3.3.4 Propiedades funcionales de las proteínas de soya

A pesar del valor nutricional de los derivados de soya, el desarrollo de esta industria se debe principalmente a la utilización de éstos por sus propiedades funcionales, que impartirán cambios favorables en estructura, textura y composición de un alimento a precios atractivos (a excepción de algunos productos análogos de carne, pocos productos de soya se consumen como tal).

En la industria alimentaria se busca principalmente al lograr algunos o algunas de las siguientes funciones: emulsificación, absorción de agua y grasa, textura, adhesión, cohesión, elasticidad, aeración, gelificación, retención de color y sabor en productos procesados de carne (res, puerco, pescado), suplementos proteínicos, análogos cárnicos y algunos otros (ver Tabla 10).

Estas propiedades generalmente se relacionan con las proteínas presentes en un sistema. Sin embargo hay otros componentes químicos que pueden participar en la obtención de cierta característica. Por ejemplo, la presencia de polisacáridos en harina de soya hace posible la absorción de una mayor cantidad de agua en comparación con la que podría absorber una cantidad equivalente de proteína<sup>4</sup>.

Las propiedades funcionales de las proteínas de soya pueden verse afectadas por factores como pH, concentración iónica, contenido de sólidos, condiciones de procesamiento, etc., por lo que es conveniente evaluar el comportamiento del sistema para cada caso en particular.

TABLA 10

Propiedades funcionales de las proteínas de soya en sistemas de alimentos<sup>1, 2</sup>

Propiedad funcional	Sistemas utilizados	Forma proteínica
Solubilidad	Bebidas	H, C, A, Hd
Absorción, retención de agua	Carnes, embutidos	H, C, A
Viscosidad	pan, pasteles	
Gelificación	sopas, salsas	H, C, A
Cohesión, Adhesión	Carnes, quesos	C, A
	Carnes, embutidos, pastas, productos horneados, análogos de carne	H, C, A
Elasticidad	Carnes, productos horneados	A
Emulsificación	Embutidos, sopas, pan	H, C, A
Absorción de grasa	Carnes, embutidos	H, C, A
Retención de sabor	Análogos cárnicos	H, C, A
Aeración	Productos de panificación, productos batidos	A, Hd
Control de color	Pan	H

H - Harina C - Concentrado A - Aislado Hd - Hidrolizado

Hay otras propiedades por las cuales también se emplean las proteínas de soya:

- Se ha descubierto un efecto antioxidante en el frijol crudo así como en harinas de soya desengrasada, concentrado y aislado, viéndose que la rancidez oxidativa ha sido menor en muestras de carne molida contaminada soya que en carne molida sin soya adicionada<sup>3</sup>.

-La adición de cualquier ingrediente a un producto puede repercutir en la vida de anaquel y calidad del mismo. En los derivados de soya utilizados actualmente se ha reportado buena calidad microbiológica, sin embargo, en la mezcla de soya y proteína cárnica se ha notado un aumento en el crecimiento microbiano, probablemente debido al incremento de nutrientes<sup>4</sup>. Lo anterior se comprobó en un estudio donde se suplementó tortilla con 2 % de harinas de soya.



Comparando los resultados con una muestra de tortilla sin suplementación, la mayor acidez debida a una cuenta bacteriana mayor fué notoria en la muestra suplementada. Los resultados del estudio se muestran en la Tabla 11.

TABLA 11

Calidad microbiológica en tortilla suplementada y sin suplementación de soya<sup>1</sup>

Tiempo de almacenamiento	pH		bacilos gram(+)		C.B.T./g	
	NS	S	NS	S	NS	S
0	4.9	5.3	900	8000	7900	8200
12	4.7	5.1	1300	9100	9100	10300
24	4.6	4.6	10700	9900	11300	11300
36	4.5	4.1	---	14400	---	11400

NS - no suplementada S - suplementada C.B.T. - cuenta bacteriana total

El aprovechamiento de las propiedades funcionales de las proteínas de soya con el fin de obtener productos de mejor calidad es importante. Sin embargo, ante el creciente aumento de la población mundial y la consecuente demanda de alimentos, principalmente de origen animal, las investigaciones se deben dirigir al desarrollo de productos nutritivos, con calidad y de bajo costo (principalmente los destinados a países del tercer mundo).

Se han realizado varios intentos por introducir al mercado proteínas de soya como substitutos de carne sin haber tenido éxito comercial probablemente debido a las costumbres culinarias de cada región, siendo el rechazo mayormente notorio en poblaciones con menor ingreso económico.

Por otra parte, al no ser un producto costoso, ha crecido de una propaganda adecuada para su comercialización. Actualmente se está dando un nuevo enfoque a los productos de soya en países desarrollados: al de alimentos saludables. Estudios realizados en la población han reflejado que el interés por parte de los consumidores hacia alimentos sanos ha aumentado, considerando a un alimento como sano a aquel por el cual el consumo de grasa, colesterol y calorías es menor, manteniéndose buenas características organolépticas<sup>2</sup>.

Se pueden conseguir en el mercado diferentes formas de proteínas de soya que no contienen colesterol y prácticamente sin grasas ni hidratos de carbono mediante los cuales es posible desarrollar alimentos de buena calidad.

### 2.3 Ebutidos

El término embutido se deriva del latín "salicus", que significa sal ó, literalmente traducido, carnes picadas preservadas por salazón. En su inicio, las masas se introducían en intestinos ó estómagos de animales presentando al producto una forma más o menos cilíndrica, lo cual se considera una característica de los embutidos. Sin embargo, la forma de cada tipo particular de embutido se debe a la tradición, tras muchos años de presentarse en la misma manera.

Los embutidos son de los alimentos procesados más antiguos. Aunque no se tienen pruebas para demostrarlo, se ha informado que los chinos y babilonios consumían embutidos (1500 A.C.). De lo que sí se tienen referencias es del uso de este tipo de alimentos por el Siglo VII (A.C.), siendo la más notoria "La Odisea" de Homero.

#### 2.3.1 Clasificación

Los embutidos son productos cárnicos picados y condimentados, algunos de estos emulsionados, que pueden haber sido también curados, ahumados, moldados y tratados térmicamente.

De acuerdo con el tipo de procesamiento empleado para su elaboración, los embutidos se pueden agrupar en alguna de las siguientes categorías :

- 1 - Frescos
- 2 - Crudos y ahumados
- 3 - Cocidos y ahumados
- 4 - Cocidos
- 5 - Secos o fermentados
- 6 - Especialidades cárnicas cocidas

siendo los siguientes ejemplos de cada categoría :

- 1 - Embutido fresco de cerdo
- 2 - Embutido de cerdo ahumado, embutido italiano de cerdo
- 3 - Salchicha Frankfurt, mortadela boloñesa
- 4 - Embutido de hígado, salamis cerviceros y cocidos
- 5 - Embutido de venado, salamis desecados, pepperoni, chorizo
- 6 - "Luncheon meat", pan de carne

#### 2.3.2 Composición

En la formulación de un producto se incluyen varios componentes como carne, sales de curado, especias, ligantes, substancias de relleno y agua. La elección de los ingredientes dependerá de las características de consistencia y textura deseadas, sabor,

apariciencia, tradición, buscando obtener siempre la misma calidad cumpliendo con las normas establecidas por los organismos que regulan estos productos.

### 2.3.2.1 Componentes cárnicos

En la elaboración de embutidos se pueden emplear una gran variedad de tejidos animales pero las características en cuanto a su contenido de humedad, proteína y grasa así como su pigmentación y capacidad de ligar agua y grasa, hacen necesario conocer la materia prima con que se desea trabajar para obtener una formulación correcta.

Por otra parte, el grado de desarrollo del tejido de acuerdo con la edad del animal influye también para el destino de una materia prima hacia cierto producto en particular. Por ejemplo, los cerdos adultos, de músculos firmes, proporcionan carnes adecuadas para la elaboración de productos como salchichones y chorizos, mientras que los músculos de cerdos jóvenes, magros y acuosos, dan carne adecuada para embutidos escalzados<sup>12</sup>.

Para la elaboración de embutidos se utiliza principalmente carne proveniente de ganado porcino y vacuno, aunque puede emplearse la de ovinos, aves e incluso equinos (si la legislación lo permite).

No solo la carne que cubre el esqueleto, sino también la de subproductos (despojos) se aprovecha, lo que no reduce el valor nutritivo ni las características sensoriales de un producto y permite una reducción de costos.

### 2.3.2.2 Humedad

Constituye del 45 al 60% del peso final de los productos<sup>12</sup>. La mayor parte proviene de la carne, más puede agregarse como parte de la formulación generalmente en forma de hielo durante el proceso de emulsificación con el fin de mantener una temperatura baja. Algunos productos llegan a perder tal cantidad de agua que, de no ser añadida, perderían su palatabilidad. Los productos adicionados de agua son generalmente más tiernos y jugosos<sup>12</sup>.

También pueden utilizarse como parte de la formulación vino, algunas otras líquidos alcohólicos o vinagre, de acuerdo con el tipo de embutido, región, tradición, sabor, etc.

### 2.3.2.3 Condimentos

Todos los embutidos requieren de una fuerte condimentación para lograr un agradable aroma y sabor. La sal y la pimienta constituyen la base para la obtención de estas características siendo los demás complementos, aunque no menos importantes para

desarrollar aromas y sabores característicos. Las especias más utilizadas son el pimentón, clavo, suos molidos, ajo, cardamomo, jengibre, comino, anís, cebolla, laurel y otras características de cada región. Por su naturaleza, estos productos presentan cuentas microbianas elevadas siendo necesario un control estricto al respecto pues de lo contrario la calidad y vida de anequeal de un producto disminuirán. El uso de especias esterilizadas, aceites esenciales, acorresinas o especias esterilizadas evitarán tales problemas.

Los edulcorantes están considerados dentro de los condimentos, siendo los más empleados sacarosa, dextrosa, jarabe de maíz y lactosa. Se pueden utilizar con el fin de dar un sabor dulce o por su disponibilidad para la fermentación ácido-láctica que tiene lugar en la preparación de embutidos secos.

#### 2.3.2.4 Dispersantes, ligantes y rellenos

Se busca lograr una retención de agua así como emulsificación, aumento del valor nutritivo y mejoramiento de las características sensoriales. Los derivados de soja son ampliamente usados. También se utiliza leche en polvo descremada o caseinato de sodio (cuya solubilización es más fácil y, por consiguiente, su capacidad emulsificante es mayor que la de la caseína). El suero de leche es también un buen emulsificante por la presencia de lactoglobulina y lactalbúmina, fácilmente solubles. Asimismo se utilizan ampliamente almidones, harinas y jarabes de maíz, que son buenos ligantes de agua pero deficientes emulsificantes.

#### 2.3.2.5 Otros ingredientes

Para el desarrollo de color se emplean nitritos y nitratos. Inicialmente se usaban ambos, sin embargo el nitrato debe pasar a nitrito (mediante la acción de bacterias reductoras) lo cual representa más tiempo que si son agregados los nitritos directamente. Al no ser necesaria la reducción se acelera el desarrollo del color rosa-rojizo, característico de ciertos embutidos.

Los nitritos también ejercen una acción antimicrobiana.

Las sales sódicas de los ácidos ascórbico y eritárbico pueden adicionarse como agentes reductores para la formación de óxido nítrico, necesario para el desarrollo del color.

Otros ingredientes ampliamente usados son los fosfatos, que proporcionan los siguientes beneficios :

- mayor capacidad de retención de agua
- aumento de la blandura y jugosidad de la carne

No se conoce el mecanismo por el cual los fosfatos retienen agua, pero se piensa que puede deberse a que evitan la interacción de actina y miosina al presentar un efecto sequestrante de iones calcio, lográndose así una mayor interacción entre las moléculas de agua y las proteínas<sup>30</sup>.

### 2.3.1 Procesamiento

Debido a la gran variedad de productos, es difícil tener un mismo procesamiento. No obstante, los siguientes constituyen los puntos básicos para la elaboración de embutidos.

#### 2.3.1.1 Curado

En esta fase se logra el desarrollo del color rosa-rojizo que caracteriza a ciertos embutidos. Se utiliza una mezcla de sal nítricos, agentes reductores y pueden agregarse en este paso especias y fosfatos. La reacción básica del desarrollo de color es la siguiente :



obteniéndose el óxido nítrico de la reducción del nítrico. El óxido nítrico se combina con la porción hemo de la metemoglobina, formándose oxinitrosometemoglobina, que se reduce a oxinitro hemoglobina y, por acción de calor, la porción proteínica de la hemoglobina se desnaturaliza quedando intacta la estructura hemo a la cual está unida el óxido nítrico, formándose el nitrosil hemocromo, de color rosa.

#### 2.3.1.2 Picado

Mediante el cual se reduce el tamaño de la carne hasta obtener un producto uniforme en tamaño de partícula y homogeneidad de componentes. El grado de trituration dependerá del producto a elaborar.

#### 2.3.1.3 Mezclado

También denominado espateado. En este punto se adicionan a la carne los condimentos y otros ingredientes que, por medio del mezclado, quedarán homogéneamente distribuidos en la pasta.

#### 2.3.3.4 Fermentación

Antes de embutirse, algunas mezclas se dejan en reposo, que viene siendo una fermentación debida a bacterias productoras de ácido láctico. La fermentación se puede realizar aprovechando los microorganismos presentes en la mezcla o bien utilizarse cultivos iniciadores, como pueden ser *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus cerevisiae*<sup>16</sup>. La producción de ácido láctico ayudará para la preservación del producto al verse reducido el pH así como al desarrollo de sabor y aroma. La pasta es dejada en cuartos fríos hasta alcanzar la acidez deseada.

Algunos productos elaborados de esta forma son chorizos, longanizas, salamis y salchichones.

#### 2.3.3.5 Emulsificación

Para lograr una emulsificación se utilizan dos tipos de equipos : outters y molinos cónicos. Durante este paso, la temperatura de la pasta debe ser controlada, ya que debido a la fricción se puede incrementar a tal punto que ocasionaría una ruptura de la emulsión en pasos subsiguientes. Una emulsión cárnica está formada por una matriz de fibras de tejido muscular y conectivo o por fracciones de las mismas suspendidas en un medio acuoso en el cual se encuentran las proteínas y otros componentes musculares solubles. Las proteínas solubles actúan como emulsificantes recubriendo las partículas grasas esféricas dispersas en la matriz.

#### 2.3.3.6 Moldado

A los productos cárnicos procesados se les da forma para obtener un aspecto característico y uniforme. Generalmente se utilizan tripas y moldes, empleándose los últimos en aquellos productos que se presentan como bloques. Las tripas, aparte de ser contenedores de forma, densificándose al proceso de introducir el producto cárnico en la tripa, embutido.

Se pueden utilizar dos tipos de tripas : naturales y artificiales. Las naturales derivan casi exclusivamente del tracto gastro-intestinal del ganado porcino, vacuno u ovino. La mayoría son digeribles y pueden consumirse.

Las artificiales son de cuatro tipos :

- de celulosa
- de colágeno no comestible
- de colágeno comestible
- de plástico

presentan características similares a las de origen natural con la ventaja de tener cargas microbianas reducidas además de diámetro uniforme, mayor fuerza y variedad de tamaños.

### 2.3.1.7 Tratamiento térmico y ahumado

Más que una cocción se trata de un escaldado, utilizando agua a 80°C. Por sus características, en algunos productos se debe alcanzar una temperatura interna de 65 a 75°C a la cual se destruyen la mayoría de los microorganismos además de las triquinias.

En este paso se logra dar al producto una estructura firme mediante la cual mantiene la forma, hay desarrollo de color y cambios en textura.

Algunos productos son ahumados. El ahumado puede considerarse como un método de sazónación. Los principales objetivos son el desarrollo de aroma y mejoramiento del aspecto.

Actualmente se utilizan ahumadores por los cuales circula una corriente de humo procedente de la combustión de aserrín. Hay equipos que permiten realizar la cocción y el ahumado simultáneamente, elaborándose de esta forma las salchichas Frankfurt y la mortadela.

Hay productos que carecen de cocción pero que son ahumados, como el chorizo y longaniza. Otros llevan únicamente cocción, como el embutido de hígado.

La temperatura del humo dependerá del tipo de embutido. Productos de larga conservación y profunda desecación, como el chorizo, se ahuman en frío (temperatura inferior a 25°C)<sup>12</sup>, mientras que otros como salchichas, mortadelas y morcillas son ahumados en caliente (70-90°C).

El proceso de ahumado se puede evitar utilizando humo líquido, el cual carece de los compuestos carcinogénicos presentes en el humo de madera<sup>12</sup>.

### 2.3.1.8 Maduración

Durante esta etapa se busca :

- 1 - Desarrollar aroma
- 2 - Cambios de textura
- 3 - Completar reacciones del curado
- 4 - Desecación y endurecimiento del producto



El producto se somete a condiciones controladas de temperatura (12-18°C) y humedad (85-91%) por diversos periodos de tiempo. Por ejemplo, un salami madura durante 30 días. La pérdida de humedad es el cambio más común con respecto a la textura, volviéndose el producto más firme.

Durante esta etapa continúa el proceso de fermentación.

Se puede presentar un ablandamiento por acción de enzimas autolíticas presentes en el músculo<sup>14</sup>.

Si se utilizan nitratos, la maduración es necesaria para la conversión en nitritos.

### 2.4 Retrospectiva de los análisis

Con el fin de detectar y cuantificar la proteína de soya adicionada a alimentos cárnicos se han desarrollado diferentes métodos analíticos, mismos que pueden clasificarse de la siguiente forma:

- 1 - Microscopía e Histoquímica
- 2 - Análisis químico de constituyentes no proteínicos del frijol soya
- 3 - Análisis de aminoácidos y péptidos
- 4 - Métodos inmunológicos
- 5 - Métodos electroforéticos
- 6 - Adición de rastreadores

Considerando las diferencias que existen entre tejidos vegetales y animales, podría pensarse que el desarrollo de un método es sencillo. Hay una gran cantidad de sustancias que solamente están presentes en tejidos vegetales por lo que la identificación de alguno de estos compuestos indicaría la presencia de proteína de origen vegetal y, empleando un análisis adecuado, cuantificarlo.

Basándose en las características particulares de las proteínas se lograría igualmente lo anterior, empleando métodos inmunológicos o electroforéticos, sin embargo, debido a la gran variedad de productos de soya altamente purificados, todos con propiedades diferentes, se dificulta el desarrollo de un método confiable.

#### 2.4.1 Microscopía e histoquímica

Probablemente el método más conocido, se fundamenta en la determinación de células con forma de reloj de arena o hueso, características de la soya, presentes en el residuo remanente de una extracción con  $\text{NH}_4^+$ .<sup>14</sup> Es necesario que el analista tenga experiencia para detectar la presencia de tales células sin confundirlas. El método es aplicable únicamente cuando se trate de un producto adicionado de harina de soya o soya texturizada.

#### 2.4.2 Análisis químico de constituyentes no proteínicos del frijol soya

Se basan en la determinación de constituyentes característicos del frijol soya como hidratos de carbono, ácidos grasos, etc. El aceite de la semilla es un ejemplo. Las plantas producen ácidos grasos (AG) poliinsaturados de cadena larga, tales como el ácido linoleico y linolénico, y son la fuente de estos AG para tejidos animales. La diferencia en la composición de AG entre manteca de cerdo y grasa de soya es considerable, principalmente con respecto al ácido linolénico. Sin embargo, la harina

Desengrasada de soya contiene apenas 1% de grasa, por lo que en embutidos, donde el principal aporte de AG es de origen animal, se dificulta establecer una diferencia significativa.

El inhibidor de tripsina (IT) de la soya puede detectarse por un método colorimétrico rápido, pero la actividad del IT es eliminada por tratamiento térmico.

Se puede medir la actividad enzimática de la lipo-oxigenasa de la soya. No obstante, al ir envejeciendo, el grano va perdiendo actividad, misma que, por otra parte, es eliminada para prevenir el desarrollo de olores y sabores indeseables.

La soya contiene una elevada cantidad de hidratos de carbono (HC) siendo el contenido promedio de estos en harina desengrasada del 27% del cual 7.6% corresponde a galactosa y 2.4% a arabinosa<sup>1</sup>. Mediante acción enzimática de la galactasa se puede monitorizar espectrofotométricamente la producción de NADH por oxidación de la galactosa. Con este análisis se pueden determinar harinas, concentrados y aislados ya que el contenido de los HC mencionados es mayor en los derivados de soya que los presentes en carne. No obstante, otros ingredientes de origen vegetal, como las especies, contienen altos niveles de galactosa.

### 2.4.3 Análisis de aminoácidos y péptidos

Las diferencias entre aminoácidos (AA) de proteínas de soya y carne no son lo suficientemente marcadas como para desarrollar un método de cuantificación. Más bien, se ha partido de la presencia de AA metilados en carne por medio de los cuales puede cuantificarse la cantidad de proteína de origen animal. La diferencia entre la proteína total y la proteína animal corresponderá a la proteína de origen vegetal. Sin embargo, si la adición de proteína de soya es en porcentajes bajos y están presentes otros ingredientes que aporten proteína (leche, huevo) el análisis resulta poco confiable.

### 2.4.4 Análisis inmunológicos

Se trata de métodos basados en la especificidad de una inmunoglobulina a los sitios activos del antígeno, habiendo dos limitantes para la aplicación de estos métodos:

- 1 - Las proteínas desnaturalizadas por calor, como regla, son muy difíciles de disolver en amortiguadores fisiológicos.
- 2 - Por tratamiento térmico, los sitios activos del antígeno son perdidos progresivamente<sup>18</sup>.

También es importante establecer la especificidad del antisuero ya que, según se reporta en ciertas investigaciones, los antisueros comerciales para proteínas de soya presentan una alta incidencia de resultados erróneos, especialmente, si se trabaja con productos que han recibido tratamiento térmico<sup>14</sup>.

A través de ensayos que no se basan en la formación de un precipitado antígeno-anticuerpo sino en que el sitio activo se hace visible por sistemas de amplificación como el Radio Inmuno Ensayo (RIE) o el Enzima Inmuno Ensayo (EIE), se pueden detectar pequeñas cantidades de proteínas. Se anticipa que estos métodos, actualmente usados en el área clínica, tendrán aplicación en el análisis de alimentos.

#### 2.4.5 Métodos electroforéticos

La electroforesis permite la resolución, según su carga, de moléculas y complejos moleculares presentes en una solución amortiguada, en un campo eléctrico.

La técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida con sulfato sódico de dodecilo (SSD) ha reportado buenos resultados<sup>5</sup>. El SSD actúa como detergente encerrando las moléculas proteínicas dándoles una carga negativa global. De esta forma, la velocidad de desplazamiento dependerá más del tamaño y menos de la forma de la proteína. La migración de los complejos proteína-SSD será hacia el ánodo. Las bandas de proteína se localizan e identifican usando agentes de tinción como el azul de Coomassie<sup>5</sup>. Se recomienda esta técnica para la determinación de proteínas de soya en productos cárnicos crudos o pasteurizados a temperaturas no mayores a 100°C.

#### 2.4.6 Reactores

Se trata de un método indirecto mediante el cual, adicionando  $TiO_2$  a derivados de soya se puede cuantificar la soya presente en un subproducto con base a la cantidad de dióxido de titanio detectada. En el método para determinación, no publicado<sup>15</sup>, la muestra es calcinada y las cenizas disueltas en una solución de ácido sulfúrico. Al adicionar peróxido de hidrógeno se forma un complejo amarillo titanio-peróxido. Se considera que el complejo puede ser  $TiO_2(SO_4)_2$  o un ión similar<sup>16</sup>. Otros autores consideran la formación de  $Ti(\beta_2O_2)^{+6}$  o un complejo análogo<sup>17</sup>.

También se piensa en la formación del ácido pertitanico  $H_4TiO_6$ <sup>18</sup>. Para el desarrollo de color es suficiente la presencia de 2.5 ppm<sup>15</sup>. La concentración de  $TiO_2$  está directamente relacionada con la absorbancia de la muestra a 408 nm, longitud a la que el  $TiO_2$  presenta su máxima absorción.

Este análisis presenta ventajas en comparación con otros métodos. No requiere de mucho tiempo para la obtención de resultados. Es cualitativo y cuantitativo. No se necesita de equipo y reactivos costosos, desventajas que presentan métodos como los inmunológicos y electroforéticos. No es afectado por factores como temperatura de procesamiento o presencia de otros ingredientes, mismas que influyen en otros análisis. Tampoco es necesario tener experiencia, como lo es para los métodos microscópicos, electroforéticos e inmunológicos.

## Objetivos

### 1 OBJETIVOS

1.1 - Adaptar un método para la determinación de  $TiO_2$  en productos cárnicos embutidos realizando las pruebas necesarias para establecer la reproducibilidad del mismo.

1.2 - Realizar un estudio en muestras comerciales de embutidos y detectar la presencia de soya por el método microscópico (células características) así como cuantificar por el método propuesto, detectando  $TiO_2$ , y comparar los resultados para conocer si los derivados de soya empleados fueron adicionados de  $TiO_2$ .

## Metodología

### 4 METODOLOGIA

#### 4.1 Descripción del método

Para la realización del presente método se tomó como base el método espectrofotométrico descrito en el A.O.A.C. para determinación de titanio en queso<sup>10</sup>. Fue necesario realizar diferentes pruebas para establecer la sensibilidad del método así como la reproducibilidad de resultados al trabajarse con productos cárnicos embutidos.

##### 4.1.1 Preparación de la muestra

Para prevenir la pérdida agua durante la preparación y subsecuente manejo no se deben usar muestras pequeñas (la cantidad mínima aceptable es de 500 g). Guardar el material sólido en recipientes de vidrio o similares con tapas heréticas que la protejan del aire y del agua.

Preparar las muestras para el análisis de la siguiente forma

##### a) Embutidos

Quitar la cubierta y pasar através de un molino de alimentos con placas de aproximadamente 3 mm de abertura, mezclar perfectamente después de cada molienda (repetir la operación tres veces) y hacer la determinación. Si el análisis no se realiza de inmediato, congelar la muestra para inhibir su descomposición (-2 a -4°C).

##### 4.1.2 Procedimiento

( 1 ml = 0.1 mg de  $TiO_2$  )

Pesar exactamente 50 mg de  $TiO_2$  y transferir a un vaso de precipitado de 350 ml. Agregar 15 g de  $Na_2SO_4$ , 50 ml de  $H_2SO_4$  concentrado y perlas de ebullición. Cubrir con vidrio de reloj y calentar a ebullición sobre parrilla eléctrica hasta disolver. Dejar enfriar. Agregar 100 ml de agua destilada y mezclar. Si la solución queda turbia, calentar en baño de vapor hasta clarificar. Dejar enfriar y transferir a un matraz volumétrico de 500 ml. Diluir a la marca con agua destilada.

**4.1.3 Preparación de la curva estándar de comparación**

Medir alícuotas de 1 a 10 ml de la solución estándar y transferir a matraces volumétricos de 10 ml. Aforar con  $H_2SO_4$  (1+3) y agregar 0.2 ml de  $H_2O_2$  (10%). Mezclar y determinar absorbancia a 400 nm, recorriendo el espectro desde 550 nm hasta 300 nm.



## 4.2 Pruebas para validación del método

### 4.2.1 Adición de $TiO_2$ a almidón

Se realizó con el fin de conocer el grado de recuperación de  $TiO_2$  al ser mezclado con una sustancia inerte, en este caso almidón, procediéndose de la siguiente forma :

Pesar en una cápsula de platino exactamente 10 mg de  $TiO_2$  y agregar 5 g de almidón. Mezclar cuidadosamente. Continuar de acuerdo con el método 4.1 desde el paso 4.1.3.

### 4.2.2 Adición de soya texturizada marcada con $TiO_2$ a muestras de chorizo

Primeramente, se determinó el contenido de  $TiO_2$  en una muestra de soya texturizada comercial que en su lista de ingredientes declaraba la adición de 0.1 mg de  $TiO_2$ . La determinación de  $TiO_2$  se hizo siguiendo el método 4.1 pero en este caso la muestra de soya texturizada es pulverizada en licuadora de alta velocidad durante tres minutos. Una vez conocida la concentración de  $TiO_2$  por gramo de muestra se continuó de la siguiente forma :

Pesar en la cápsula de platino exactamente 3 g de la muestra de soya texturizada, previamente sólida. Agregar 10 g de chorizo (preparado según 4.1.1) y mezclar cuidadosamente hasta incorporar. Continuar con el método 4.1 desde el paso 4.1.2.

Con esta prueba se estableció la exactitud y reproducibilidad de resultados para la determinación de  $TiO_2$ , trabajando directamente en un sistema cónico, en este caso chafizo, adicionado de soya texturizada.

### 4.2.3 Efecto del tiempo en el desarrollo del color Después de la adición de $H_2O_2$

En el método usado como referencia no se especifica el tiempo que debe transcurrir después de haberse agregado el  $H_2O_2$  (10%) para determinar la absorbancia de una muestra. Con el fin de establecer el efecto del tiempo en el desarrollo de color, se adicionó  $H_2O_2$  (10%) a una solución estándar de dióxido de titanio, determinándose la absorbancia en diferentes tiempos. El procedimiento fue :

Medir alícuotas de 3 y 5 ml de solución estándar de  $TiO_2$  y transferir a matraces volumétricos de 10 ml. Afofar con  $H_2SO_4$  (1+9). Agregar 0.2 ml de  $H_2O_2$  (10%) y determinar absorbancia a 408 nm con los siguientes intervalos de tiempo :

tiempo 1 - 50 minutos  
 tiempo 2 - 55 minutos  
 tiempo 3 - 10 minutos  
 tiempo 4 - 15 minutos  
 tiempo 5 - 40 minutos  
 tiempo 6 - 24 horas

Las muestras deben ser recuperadas después de cada lectura.

#### 4.2.4 Determinación de la cantidad necesaria de $H_2O_2$ para desarrollar el color

Se adicionaron diferentes cantidades de  $H_2O_2$  (30%) a solución estándar de Dióxido de Titanio para conocer el efecto que sobre el desarrollo de color ejerce una mayor o menor concentración de  $H_2O_2$  (30%). Procedimiento:

- Medir alícuotas de 3 ml de solución estándar de  $TiO_2$  y transferir a matraces volumétricos de 10 ml. Aforar con  $H_2SO_4$  (1+9) y agregar 0.1, 0.2, 0.4 y 0.8 ml de  $H_2O_2$  (30%) respectivamente. Determinar absorbancia a 408 nm.

#### 4.2.5 Efecto de la concentración de $H_2SO_4$ en la intensidad del color

De acuerdo con la bibliografía<sup>30</sup>, la determinación de absorbancia se realiza generalmente a una concentración de  $H_2SO_4$  en la muestra de 1.5 a 1.5 N. A una mayor concentración, la intensidad del color puede afectarse ligeramente. Para comprobar lo anterior, se preparó una solución con una concentración de  $TiO_2$  igual a la solución estándar (0.1 mg  $TiO_2$  /ml) pero con una concentración de  $H_2SO_4$  mayor.

- Procedimiento: Pesar exactamente 25 mg de  $TiO_2$  y transferir a un vaso de precipitado de 250 ml. Agregar 7.5 g de  $H_2SO_4$  y 50 ml de  $H_2SO_4$  concentrado. Agregar perlas de ebullición, cubrir con vidrio de reloj y calentar a ebullición sobre parrilla eléctrica hasta disolver. Dejar enfriar. Agregar 100 ml de agua destilada y mezclar. Si la solución queda turbia, calentar en baño de vapor hasta clarificar. Enfriar y transferir a un matraz volumétrico de 250 ml. Aforar con agua destilada.

Medir alícuotas de solución estándar y solución estándar concentrada de 3,6 y 10 ml y transferir a matraces volumétricos de 10 ml. Aforar y determinar absorbancia a 408 nm.

#### 4.3 Experimentación en muestras de embutidos

Una vez definido el método perfectamente con base a las pruebas anteriores se realizó una investigación en muestras de embutidos, principalmente chorizo y longaniza, productos que por su apariencia se prestan para la adición de soya texturizada. Las muestras evaluadas fueron tomadas de las recibidas en los Laboratorios Nacionales de Salud Pública. En total se analizaron 90 productos agrupados de la siguiente forma :

Descripción	Cantidad
- longaniza	32
- chorizo	18
- salchicha	10
- jamón	10
total	90

En todas las muestras se realizó también la determinación cualitativa de soya basada en la presencia de células características con forma de reloj de arena<sup>18</sup>.

##### 4.3.1 Determinación cualitativa de soya en embutidos

Pesar 10 g de la muestra previamente molida (4.1.1) en un tubo para centrifugar de 100 ml graduado. Agregar 75 ml de solución alcoholica de KGM (8%) y calentar en baño de vapor durante 40 min. Diluir a 100 ml con etanol absoluto. Tapar y agitar perfectamente. Centrifugar a 1700 r.p.m. durante 4 min. Decantar y desechar el sobrenadante. Agregar 50 ml de agua hirviendo al residuo. Tapar y agitar vigorosamente. Dejar reposar 1 min. Centrifugar nuevamente a 1700 r.p.m. durante 4 min. Desechar el sobrenadante. Agregar 10 ml de HCl (1:1 v/v) al residuo y homogeneizar con la ayuda de un agitador. Agregar 15 ml de etanol al 25% y agitar. Centrifugar a 1700 r.p.m. durante 4 min. eliminando el sobrenadante. Examinar el residuo bajo el microscopio, usando preferentemente luz polarizada. La presencia de células con forma de reloj de arena indican la adición de proteína de soya.

## Resultados

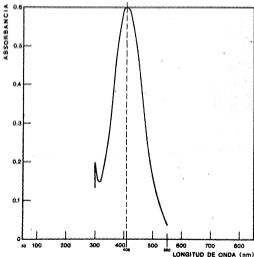
### 5 RESULTADOS

#### 5.1 Curva característica de absorción de $TiO_2$

En la gráfica 1 se puede observar la curva obtenida al graficar las absorbancias del complejo formado al agregar  $H_2O_2$  a una solución de  $TiO_2$ , habiéndose recorrido el espectro de luz desde 350 nm hasta 600 nm.

GRÁFICA 1

Curva característica de absorción del complejo  $TiO_2-H_2O_2$



## 5.1.1 Curva estándar de comparación

Las absorbancias determinadas para las muestras preparadas según 4.1.4 se muestran en el Cuadro 1.

CUADRO 1

Absorbancia de solución estándar a diferentes concentraciones	
Concentración (mg T102 /ml)	Absorbancia
0.010	0.088
0.020	0.173
0.030	0.261
0.040	0.350
0.050	0.440
0.060	0.526
0.070	0.612
0.080	0.697
0.090	0.792
0.100	0.876

## 5.1.2 Curva estándar corregida

Utilizando las absorbancias obtenidas en 4.1.4 se corrigió la curva estándar por el método de mínimos cuadrados, obteniéndose la recta mostrada en la gráfica 2. Los valores para la recta fueron:

pendiente (a) = 8.773939394  
ordenada al origen (b) = -0.001066667  
correlación (r) = 0.999969379

despejando y substituyendo en la ecuación para una recta

$$y = mx + b$$

$$x = (y - b) / m$$

$$x = (y + 0.001066667) / 8.773939394$$

$$x = (y / 8.773939394) + 1.215721 \times 10^{-4}$$

dada :

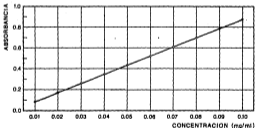
$y$  = absorbancia determinada

$x$  =  $\text{mg TiO}_2/\text{g muestra}$

utilizándose la ecuación substituida para determinar la concentración de  $\text{TiO}_2$  presente en una muestra con base a la absorbancia de la misma.

Gráfica 2

Curva estándar corregida



## 5.2 Resultados de las pruebas para validación del método

5.2.1 Adición de  $TiO_2$  a almidón

Se adicionó  $TiO_2$  a una muestra de almidón para determinar el grado de recuperación en un agente inerte. Los resultados se muestran en el Cuadro 2.

CUADRO 2

Recuperación de $TiO_2$ adicionado a muestras de almidón		
mg $TiO_2$ pesados	absorbancia	mg $TiO_2$ determinados
10.00	0.445	10.1679
10.00	0.440	10.0540
10.00	0.454	10.1452
10.00	0.450	10.2820
10.00	0.441	10.0740
10.00	0.437	9.9856
10.00	0.443	10.0906
10.00	0.446	10.1908
10.00	0.438	10.0004
10.00	0.420	9.8981

la media ( $\bar{x}$ ) obtenida fue 10.0606 con una desviación estándar ( $\sigma$ ) de 0.0317. Se puede observar que la variación entre la cantidad de  $TiO_2$  pesada y la cantidad determinada experimentalmente fue poco significativa, lográndose una reproducibilidad y precisión de datos que muestran la confiabilidad del método. Sin embargo, era necesario comprobar el mismo comportamiento trabajando con un sistema más complejo, como lo es el de un embutido.

5.2.2 Adición de soya texturizada marcada con  $TiO_2$  a muestras de chorizo

Se consiguió una muestra de soya texturizada comercial la cual estaba adicionada de 0.14 de  $TiO_2$ , según declaraba la lista de ingredientes. Los resultados se muestran en el Cuadro 3.

CUADRO 3

Determinación de  $TiO_2$  en muestra de soya texturizada comercial

Cantidad de soya pesada (g)	absorbancia	mg $TiO_2$ /ml sol.	mg $TiO_2$ /100g soya
2.0000	0.349	0.03990	199.50000
2.0103	0.351	0.04013	199.52195
1.9975	0.347	0.03947	198.59835
1.9936	0.350	0.04001	201.70397
2.0010	0.352	0.04034	201.09945

La concentración promedio obtenida (200.10472 mg  $TiO_2$ /100 g soya) equivale a 0.21, cantidad que difiere de lo declarado en el producto (0.14).

Para cálculos posteriores, se consideró como valor promedio 200 mg de  $TiO_2$  por cada 100 g de soya.

La cantidad de  $TiO_2$  por cada 100 g de muestra se determina con la siguiente fórmula :

$$T = \frac{100(a)(100)}{(b)}$$

donde :

T = mg de  $TiO_2$  por cada 100 g de soya  
 a = mg de  $TiO_2$  por ml de solución  
 b = g de muestra por ml de solución  
 100 = para llevar a porcentaje

Una vez conocida la concentración de  $TiO_2$  en la muestra de soya texturizada utilizada para esta prueba, se adicionó a muestras de cherizo comercial, con los resultados del Cuadro 4.



CUADRO 4

Determinación de $\text{TiO}_2$ en cherizo adiccionado de soya				
cantidad de soya pesada (g)	absorbancia	mg $\text{TiO}_2$ /ml sol.	cantidad de soya determinada (g)	
2.0175	0.165	0.04172	2.0860	
2.0012	0.169	0.04217	2.1085	
2.0322	0.168	0.04206	2.1032	
2.0072	0.166	0.04089	2.0345	
2.0154	0.168	0.04093	2.0463	
2.0020	0.167	0.04194	2.0975	
2.0038	0.171	0.04240	2.1202	
2.0048	0.168	0.04206	2.1032	
2.0026	0.165	0.04172	2.0860	
2.0161	0.168	0.04206	2.1032	

Con base a los resultados se concluye que la determinación de  $\text{TiO}_2$  no es afectada por los ingredientes que componen un sistema cárnico del tipo de los embutidos. La mayor variación obtenida entre la cantidad pesada y la cantidad determinada experimentalmente fue de 0.1164 g de soya, cantidad que resulta poco significativa. De esta forma, se comprobó la exactitud de los resultados obtenidos utilizando este método.

### 5.2.3 Efecto del tiempo en el desarrollo de color después de la adición de $\text{H}_2\text{O}_2$

Se determinó la absorbancia de las muestras a diferentes tiempos con los resultados del Cuadro 5.

Analizando los resultados se concluye que el color, y consecuentemente la absorbancia, no son afectados por el tiempo una vez agregado el  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%). De hecho, se ha reportado la estabilidad del color hasta por dos años<sup>11</sup>.

Las muestras se recuperaron después de realizar cada lectura. Para el caso de la última determinación, las muestras se conservaron en refrigeración para evitar evaporación. No se cuantificó  $\text{TiO}_2$  pues el objetivo de la prueba era observar la probable variación entre absorbancias.

CUADRO 5

Efecto del tiempo en el desarrollo de color después de la adición de  $H_2O_2$  (30%)

1	2	3	1	2	3
0.030	00	0.262	0.050	00	0.441
0.030	05	0.262	0.050	05	0.440
0.030	10	0.262	0.050	10	0.440
0.030	15	0.262	0.050	15	0.441
0.030	20	0.262	0.050	20	0.441
0.030	24h	0.262	0.050	24h	0.441

1-ng  $TiO_2$ /ml de solución

2-t (min)

3-absorbancia

#### 5.2.4 Determinación de la cantidad necesaria de $H_2O_2$ para desarrollar el color

En el método utilizado como base se menciona agregar 0.2 ml de  $H_2O_2$  (30%). Para conocer el efecto de agregar mayor o menor cantidad en el desarrollo de color se realizó esta prueba, cuyos resultados se pueden ver en el Cuadro 6.

CUADRO 6

Cantidad de $H_2O_2$ necesaria para desarrollar el color		
ng $TiO_2$ /ml sol	ml $H_2O_2$ (30%)	absorbancia
0.030	0.1	0.262
0.030	0.2	0.262
0.030	0.3	0.262
0.030	0.4	0.262

siendo evidente que no hay variación entre las absorbancias

### 3.2.5 Efecto de la concentración de $H_2SO_4$ en la intensidad del color

Estudios realizados<sup>19</sup> han revelado que la absorbancia es ligeramente menor al trabajar con concentraciones de ácido mayores a 3.5N. En el método propuesto (4.1) se sugiere repetir la evaluación si la absorbancia determinada fue muy baja pero acercarse a 50 ml. Al mantenerse la cantidad de  $H_2SO_4$  concentrado y llevarse a un aforo menor se alcanza una concentración 7.93N. Lo anterior hizo necesario conocer la magnitud de la variación entre absorbancias de una muestra estándar (3.96N) y una muestra con mayor concentración (7.93N). Los resultados se muestran en el Cuadro 7.

CUADRO 7

Efecto de la concentración de  $H_2SO_4$  en la intensidad del color

mg $TiO_2$ /ml sol	absorbancia	absorbancia	mg $TiO_2$ /ml	mg $TiO_2$ /ml
	sol 3.96 N	sol 7.93 N		
0.010	0.262	0.259	0.0299	0.0296
0.060	0.525	0.521	0.0599	0.0595
0.100	0.676	0.672	0.0999	0.0995

analizando los resultados, ciertamente la absorbancia es ligeramente menor a una mayor concentración de  $H_2SO_4$ . Sin embargo, se trata de una variación despreciable toda vez que representaría un error de 0.015 g en la cantidad final de soya determinada.

## 5.3 Resultados de la experimentación en muestras de esbutidos.

5.3.1 Determinación de  $TiO_2$ .

De las 90 muestras evaluadas :

- 10 resultaron positivas a la determinación de  $TiO_2$ , de las cuales 5 correspondieron a chorizo y 5 a longaniza.

- 9 muestras declaraban en su composición la presencia de soya texturizada. De las 9, solamente 3 dieron positivo al análisis de  $TiO_2$ .

los resultados se muestran en el Cuadro 8.

CUADRO 8

Determinación de  $TiO_2$  en muestras comerciales de esbutidos

d	g	gm	a	x	s
100	9.7047	0.097047	0.387	0.04423947	22.7877
50	15.6474	0.312948	0.146	0.01878178	2.6780
50	11.8311	0.232622	0.326	0.03727706	8.0123
50	10.3246	0.208492	0.211	0.02417006	5.8525
100	9.5907	0.095907	0.553	0.06314913	19.9220
50	12.7800	0.255600	0.181	0.02075085	4.0592
50	11.7118	0.234236	0.505	0.05787839	12.3130
50	11.8727	0.239454	0.420	0.04799061	10.0308
50	10.5636	0.211272	0.173	0.01983908	4.6951
50	9.9879	0.199758	0.097	0.01117704	2.7976

d-dilución                      g-gramos de muestra pesados                      a-absorbancia  
 x-mg  $TiO_2$  por g muestra por ml de solución                      s-gramos de soya por  
 cada 100 g de muestra                      gm-g muestra por ml de solución

donde log s de soya por 100 g de muestra se obtienen con la siguiente fórmula :

$$s = \frac{(x/100) \times 0.5}{gm}$$

donde :

$w$  = gramos de soya por cada 100 g de muestra  
 $x$  = mg de  $TiO_2$  por g muestra por ml (5.1.2)  
 $q_2$  = gramos de muestra por ml  
100 = para llevar a por ciento  
0.5 = factor de relación : por cada 100 g de soya hay  
100 mg  $TiO_2$  .

### 5.3.2 Determinación cualitativa.

De las noventa muestras evaluadas :

- 10 resultaron positivas al detectarse la presencia de células características con forma de reloj de arena.
- Comparando los resultados de ambas determinaciones se observa una diferencia de 20 muestras positivas, lo que significa que no toda la soya comercial está adicionada de  $TiO_2$  .

## Conclusiones

### 6 CONCLUSIONES

- Con base a los resultados de las pruebas de validación se concluye que el método es confiable para la cuantificación de  $TiO_2$ .

- Debido al tiempo requerido y a la facilidad de desarrollo del método, se puede decir que presenta ventajas sobre otros como los electroforéticos e inmunológicos, que requieren de equipo costoso personal especializado y mayor tiempo para la obtención de resultados.

- En el reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios, se especifica que se permite la adición a productos emulsionados embutidos de harina de soya o concentrado hasta en un 1.5% y de proteína aislada de soya, adicionada de 0.1% de  $TiO_2$  como rastreador, hasta en un 1%. Queda claro que no se exige la adición de  $TiO_2$  a todos los derivados de la soya ni se permite la adición de  $TiO_2$  para poder así controlar y evitar abusos en la cantidad de soya adicionada, como quedó en evidencia de acuerdo con los resultados.

## Bibliografía

### 7 BIBLIOGRAFIA

- 1 - Barrocio, José A., "La soya y su importancia en la alimentación mundial", EL NACIONAL, 1.8.58, p. 7.
- 2 - Barrocio, José A., "Desaprovechado en México el potencial nutritivo de la soya", EL NACIONAL, 2.8.58, p. 7.
- 3 - Berkowitz, David B., Webert, Donald W., "Determination of soy in meat", J.A.O.A.C., vol. 70, núm. 1, 1967, pp. 83 - 90.
- 4 - Bressani, R., "The role of soybeans in food systems", J.A.O.A.C., vol. 58, marzo 1981, pp. 392 - 400.
- 5 - Caldwell, B.E., ed., "Soybeans: improvement, production and uses", Wisconsin, U.S.A., American Society of Agronomy, Inc., 1973.
- 6 - Campbell, M.F., "Processing and product characteristics for textured soy flours, concentrates and isolates", J.A.O.C.S., vol. 58, marzo 1981, pp. 336 - 338.
- 7 - Colella, Silvia M.C., "Industrialización de la soya para usos alimentarios". México, Asociación Americana de Soya.
- 8 - Christalle, Elisa H.S., "Determinación de soya en productos cárnicos", tesis presentada en la Escuela de Química de la Universidad La Salle, México, D.F., 1979.
- 9 - Dobbelaers, Siegfried, Manual de técnicas analíticas para la determinación de proteínas de soya en alimentos cárnicos por procedimientos electroforéticos, St. Louis, Missouri, U.S.A., The Reiston Furins Co., 1982, pp. 1 - 8.
- 10 - Euxbury, Dean D., "Isolated soy proteins add lite image to meat products", Food Processing, vol. 49, núm. 4, Abril 1988, pp. 64 - 66.
- 11 - Earnshaw, Alan, "Chemistry of the elements", Great Britain, Pergamon Press Ltd., 1964.
- 12 - Espada, Cesareo S., "Chacinería", en Enciclopedia de la carne Madrid, España, España Calpe, 1967, pp. 573 - 645.
- 13 - El cultivo de la soya en México, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.G., abril 1970, pp. 3 - 10.
- 14 - Eldridge, A.C., "Determination of soya protein in processed foods", J.A.O.C.S., marzo 1981, pp. 481 - 485.
- 15 - "Food and Drugs", en Code of Federal Regulations, revised as of april 1, U.S.A., 1987, pp. 270.

## Bibliografía

- 15 - Forrest, John C., Aberle, Elton D., Madrick, Harold B., Judge, Max D., Merkel, Robert A., "Fundamentos del procesamiento de la carne", en Fundamentos de ciencia de la carne, Zaragoza, España, Editorial Acribia, 1979, pp. 183 - 196.
- 17 - Furia, Thomas E., ed., Regulatory status of direct food additives, Florida, U.S.A., CRC Press Inc., 1980, pp. 264 - 265.
- 18 - Goswelin, Robert E., Hodge, Harold C., Smith, Roger P., Gleason, Marion N., "Ingredient Index", en Clinical toxicology of commercial products - acute poisoning, Baltimore, U.S.A., The Williams and Wilkins Co., 1976, p. 102.
- 19 - Goyer, Robert A., "toxic effects of metals", en Casarett and Doull's toxicology - The basic science of poisons, N.Y., U.S.A., Mac Millan Publishing Co., 1986, pp. 627 - 628.
- 20 - Harper, Judson M., Extrusion of foods, Florida, U.S.A., CRC Press Inc., 1981.
- 21 - Kamm L., "Meat and meat products - immunochemical quantitation of soybean protein in raw and cooked meat products", J.A.O.A.C., vol. 51, núm. 8, 1978.
- 22 - Kamper, W.A., "titanium dioxide", en Fettes, Temple G., ed., Pigment Handbook, vol. 1, Properties and economics, N.Y., U.S.A., Wiley - Interscience, pp. 1 - 16.
- 23 - Mandigo, Roger W., Sander, Ryan C., "Uses, limitations and detection of soy proteins in meat products", presentado en el seminario : Legislación de soya en productos cárnicos, Asociación Americana de Soya, México, D.F., agosto 1988.
- 24 - Mandigo, Roger W., Sander, Ryan C., "U.S. regulations on the use of soy protein in manufactured meats products", presentado en el seminario : Legislación de soya en productos cárnicos, Asociación Americana de Soya, México, D.F., agosto 1988.
- 25 - "Meat and meat products - preparation of sample", en Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.), U.S.A., 1984, p. 431.
- 26 - Milligan, E.D., Amile, J.W., Boyes, J., García, A., Meyer, B., "Processing for production of edible soya flour", J.A.O.C.S., vol. 58, marzo 1981, pp. 331 - 333.
- 27 - Muñoz, Dulce M., "Utilización de las propiedades funcionales de la soya en la industria alimentaria", Soya Noticias, México, D.F., núm. 190, 15.8.86, p. 3.



## Bibliografía

- 28 - Noonan, James, "Color additives in food", en CRC Handbook of food additives, Faria, Thomas E., ed., Florida, U.S.A., CRC Press Inc., 1972, vol. 1, pp. 603 - 604.
- 29 - Chren, J.A., "process and product characteristics for soya concentrates and isolates", J.A.O.C.S., vol. 58, marzo 1981, pp. 333 - 335.
- 30 - Pearson, Albert M., Tauber, Francis W., Processed Meats, U.S.A., The AVI Publishing Co. Inc., 1964, pp. 187 - 269.
- 31 - Poseranz, Yeshajahu, Functional Properties of Food Components, Florida, U.S.A., Academic Press, Inc., 1985.
- 32 - Rakosky, Joseph J., "Soy products for the food industry", J.A.F.C., vol. 18, n.º. 6, 1970, pp. 1008 - 1009.
- 33 - Rakosky, Joseph J., "Soy grits, Flour, concentrates and isolates in meat products", J.A.O.C.S., vol. 51, enero 1974, pp. 123A - 127A.
- 34 - Rakosky, Joseph J., "Soy protein in foods : their use and restrictions in the U.S.", J.A.O.C.S., vol. 52, abril 1975, 272A - 274A.
- 35 - Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios Diario Oficial de la Federación, México, D.F., Tomo CDXII, n.º. 11, 18.1.88.
- 36 - "Report of current progress in quantitative methods for the differentiation of vegetable and animal proteins", Joint FAO / WHO food standards programme, Codex Committee on vegetable proteins, La Habana, Cuba, febrero 2 - 6, 1987, 4a. sesión, pp. 1-10.
- 37 - Rosal, Franco, Aguilera, José M., Pontecorvo, Aldo, "análisis preliminar de posibilidades para el uso de los productos derivados del frijol soya en alimentos para consumo humano en América Latina, con especial referencia a los países miembros del comité de acción sobre complementos alimenticios de alto valor nutritivo (SELA), Asociación Americana de Soya, Caracas, Agosto de 1974.
- 38 - Revelo, Ma. Concepción, La proteína de soya como alternativa de solución al problema nutricional en México, tesis presentada en la Universidad Veracruzana, Xalapa, México, 1984., pp. 41-50.
- 39 - Sandell, E.S., Colorimetric determination of traces of metals, N.Y., U.S.A., Interscience Publishers, 1959, pp. 868-874.

## Bibliografía

- 40 - Scheffer, Edward R., "Titanium", en Furman, H.H., ed., Standard Methods of Chemical Analysis, vol. 1, The Elements, N.Y., U.S.A., Robert E. Krieger Publishing Co., Inc., 1962, pp. 1106 - 1109.
- 41 - Sierra, Susana D., "tortillas fortificadas con soya", ASA / Mex NH núm. 33., Asociación Americana de Soya, 1984, pp. 1-18.
- 42 - Smith, Alan K., Circle, Sidney J., "Soybeans : chemistry and technology", vol. 1, Proteins, Connecticut, U.S.A., The AVI Publishing Co. Inc., 1972.
- 43 - Snell, Foster D., Snell, Cornelia T., "Titanium", en Colorimetric Methods of Analysis, N.Y., U.S.A., D. Van Nostrand Co. Inc., vol. II, 1949, pp. 438 - 441.
- 44 - The United States Pharmacopeia, XXI Revision, N.Y., U.S.A., The United States Pharmacopoeial convention, Inc., 1.1.83, p.1065.
- 45 - "Titanium in cheese - spectrophotometric method", en Official Methods of Analysis of the A.O.A.C., U.S.A., 1984, p.475
- 46 - U.S. Department of Agriculture, "Edible soy protein - operational aspects of producing and marketing", Research report 33, January 1976.
- 47 - Veterazzi, Gastón, Handbook of international food regulatory toxicology, vol. 3, Profiles, N.Y., U.S.A., SP Medical & Scientific Books, 1981, p. 76.
- 48 - Whitehead, J., "Titanium compounds (inorganic)", en Grayson M., ed., Encyclopedia of Chemical Technology, U.S.A., Wiley - Interscience, Vol. 23, 1983, pp. 139 - 153.
- 49 - Wilcke, Harold L., Hopkins, Daniel T., Waggle, Coyle W., eds., Soy Protein & Human Nutrition, N.Y., U.S.A., Academic Press, 1979.
- 50 - Wolf, W.J., "Proteínas esenciales de la soya y sus usos", ASA/México NH núm. 5, Asociación Americana de Soya, pp. 1 - 22.
- 51 - Zarueta, Fernando A.F., Estudio químico y nutricional de diversas variedades de garbanzo cultivadas comercialmente en México, tesis presentada en la Escuela de Química de la Universidad La Salle, México, D.F., 1984, p. 24.