



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



FALLA DE ORIGEN

**" IMPLEMENTACION DE UNA TECNICA PARA LA
EVALUACION DE LA ADULTERACION DE JAMON
COCIDO CON PROTEINA DE ORIGEN NO CARNICO "**

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERA EN ALIMENTOS
P R E S E N T A I
NANCY CARBONELL GUADARRAMA**

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. SARA E VALDES MARTINEZ

COASESOR DE TESIS :

p.M.C. EDGAR AGUILERA CERON



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

FALLA DE ORIGEN



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el trabajo

Implementación de una Técnica para la Evaluación de la Adulteración de Jamón Cocido con Proteína de Origen no Cárnico.

que presenta la pasante: Nancy Carbonell Guadarrama.

con número de cuenta: 8606337-1 para obtener el TITULO de:
Ingeniera en Alimentos.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 6 de Febrero de 1995

PRESIDENTE M.en.C. Adolfo Obaya Valdivia.

VOCAL Dra. Sara E. Valdés Martínez.

SECRETARIO I.A. Alfredo Alvarez Cárdenas.

1er. SUPLENTE I.A. Laura M. Cortazar Figueroa.

2do. SUPLENTE I.B.O. Saturnino Maya Ramírez.

DEDICATORIAS.

A tí Dios mio por ser infinitamente todo.

**A mis padres y hermanos:
Por su inmesurable amor, esfuerzo y sacrificio
porque sin ustedes nada hubiera sido posible.**

**A mi familia (tíos y primos):
Por su siempre sincero apoyo. Especialmente
a tí Hector Hugo por ser una gran luz en los
momentos más duros.**

**A Armando Puttzis:
Por ayudarme a ser lo que soy,
por haber sido a pesar de todo
y de todos (hasta de nosotros mismos)
por siempre el mejor de los amigos.**

AGRADECIMIENTOS.

**A la Dra Sara E Valdés Martínez:
Por su gran apoyo académico y moral
por ser una gran persona.**

**Al p.M.C Edgar Aguilera Cerón:
Por su tan atinada guía.**

**A la p M.C. Carolina Moreno Ramos:
Por su incondicional apoyo.**

**A la p I. A. Claudia Acosta Santana:
Por su invaluable ayuda.**

**A la LA:
Laura Viloría Montoya**

**A los p.I. A. :
Heriberto Padilla González
Alfa C. Arzate López
Claudia Jaques Huacuja
Carmen Cruz Cruz
Ana L. Jasso Sánchez
Selene Corona Gutiérrez.
p Q.F.B. Gabriela Rodríguez Barrón**

Por ser tan excelentes amigos.

INDICE.

	Página
Resumen	1
Introducción	2
Objetivos	7
Capítulo I	
Generalidades	8
1.1 Composición	10
1.2 Color y aroma	16
1.3 Maduración	16
1.4 Descomposición y participación de los Microorganismos	18
1.5 Conservación de la carne	20
2. Clasificación de embutidos	22
2.1 Clasificación de Jamones	
Definición	23
2.2 Diagrama general de jamón cocido	27
2.3 Especificaciones del producto terminado	32
3. Adulteraciones	33
3.1 Adulterantes	34
3.2 Aditivos en productos cárnicos	34
3.3 Métodos de determinación	36
4. Electroforesis en gel de poliacrilamida	38
Cuadro Metodológico	41
Capítulo II	
Materiales y métodos	45
Extracción proteica	46
Electroforesis en gel de poliacrilamida	47

Obtención de patrones electroforéticos de jamón, aislado proteico de soya y caseinato de calcio	49
Curva de calibración de pesos moleculares	49
Elaboración de embutidos tipo jamón	51
Técnicas experimentales para la determinación de la composición de jamón	56
Capítulo III	
Resultados	57
Composición Proximal de jamón	58
Extracción proteica	58
Electroforesis en gel de poliacrilamida - SDS	61
Patrones electroforéticos de jamón, aislado proteico de soya y caseinato de calcio	63
Electroforesis de jamones adulterados	66
Capítulo IV	
Discusión de resultados	70
Extracción proteica	71
Electroforesis en gel de poliacrilamida	72
Obtención de patrones electroforéticos de jamón, aislado proteico de soya y caseinato de calcio	74
Electroforesis de jamones tipo adicionados con concentraciones conocidas de aislado proteico de soya y caseinato de calcio	81
Capítulo V	
Conclusiones y recomendaciones	85
Referencias	88
Anexos	92

IMPLEMENTACION DE UNA TECNICA PARA LA EVALUACION DE LA ADULTERACION DE JAMON COCIDO CON PROTEINA DE ORIGEN NO CARNICO

RESUMEN.

En el presente trabajo se diseñó una metodología mediante el empleo de electroforesis que permitió la detección cualitativa de proteína de origen no cárnico, en especial soya y caseinatos de calcio, adicionada a embutidos tipo jamón cocido.

Se obtuvieron bandeos proteicos mediante la aplicación de una técnica electroforética tanto de jamón cocido no adulterado, como de los "adulterantes" empleados en la elaboración de los mismos que definieron, las bandas de proteínas más comunes y sus respectivos pesos moleculares para permitir su comparación y posterior diferenciación entre sí.

Una vez establecidos los patrones de bandeo de cada uno de los elementos de estudio se procedió a la elaboración de jamones tipo que contuvieron porcentajes de los adulterantes en cuestión (mediante la adición de soya y caseinato de calcio a diferentes porcentajes, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0 y 4,0 %, en el proceso de elaboración.) y fueron sometidos a la prueba electroforética correspondiente en la que se observó el bandeo proteico y se detectó, mediante el empleo de los patrones proteicos ya establecidos de los aditivos y el jamón estandard, la adulteración previamente realizada.

JUSTIFICACION

Debido al alto consumo de alimentos de rápida preparación en los tiempos recientes la producción de jamón se ha visto incrementada considerablemente por su alta aceptación entre los consumidores.

La fluctuación de precio en jamón en el mercado nacional va de N\$8.00 hasta N\$43.00, en tanto que el kilogramo de carne de cerdo es ofrecido al consumidor en de N\$20.00, por esto no es lógico que el precio de un producto transformado, con valor agregado sea en ocasiones el 40% del valor de la materia prima empleada en su elaboración. La Secretaría de Comercio y Fomento Industrial [SECOFI] consciente de que es imposible elaborar un producto con valor agregado con menor costo que la materia prima de que procede sin algún tipo de adulteración, decide tomar medidas, normalizando los productos a través de la llamada "Pirámide de Calidad para jamón cocido" (40). En esta pirámide de calidad se marcan topes de precio dependiendo del porcentaje de proteína total en el producto y del porcentaje de proteína de soya, liberando el precio al producto que se encuentra en la punta de la pirámide con 18% mínimo de proteína y 0% de proteína diferente a la cárnica (40).

Las proteínas alternas que se emplean en la elaboración de embutidos tipo jamón, pueden tener un excelente balance de aminoácidos y por ende pueden ser tan nutritivas como las proteínas de la carne, más no son carne, y su costo no es el mismo.

Las técnicas comúnmente empleadas para la cuantificación de proteína reportan principalmente el contenido de nitrógeno total en el producto pero no definen el tipo u origen de la proteína presente. La técnica oficial para determinar presencia o ausencia de soya en los jamones se basa en la presencia de la enzima ureasa que libera NH_3 y vira un papel tornasol. La técnica dá negativa a otras proteínas de origen vegetal o animal que no sean soya (5), cuyo uso en la elaboración de este tipo de productos ha sido reportado en diversos trabajos, las proteínas más empleadas para ese fin son caseinato de calcio, suero

lácteo, sangre, huevo en polvo etc. Por lo anterior se consideró de importancia la implementación de una técnica que permita la identificación del tipo de proteína empleada en la elaboración de dichos embutidos. La implementación de esta técnica permitirá contar con una herramienta que obligue al productor a informar en la etiqueta no únicamente la cantidad sino también el tipo de proteína que tiene su producto, a través de una técnica confiable y de mediana rapidez.

INTRODUCCION.

IMPLEMENTACION DE UNA TECNICA PARA LA EVALUACION DE LA ADULTERACION DE JAMON COCIDO CON PROTEINAS NO CARNICO.

Debido a la necesidad del hombre moderno para aumentar la disponibilidad y el tiempo de conservación de los alimentos que consume se han modificado los procesos de conservación dependiendo de la naturaleza del alimento y de otros factores inherentes al mismo. Actualmente se puede hablar desde un simple encurtido hasta el más sofisticado sistema de envasado, realizado bajo condiciones totalmente automatizadas, gracias a la alta tecnología.

La conservación de la carne, como la de otros alimentos, tiende a retardar tanto el deterioro de la calidad como su descomposición, los cambios que conducen a esta son graduales e irreversibles y deben ser controlados antes de que su consumo sea inconveniente.

Para el caso particular de la carne, los primeros métodos de conservación fueron la desecación, el ahumado y el salado, siguiéndole el encurtido, las salmueras y el curado. Estos procedimientos se siguen utilizando en la actualidad y sirven de complemento a los métodos modernos de conservación, tales como la refrigeración, congelación, enlatado, cocimiento, secado, etc. Ante la enorme gama de métodos de conservación el mejor será aquel que aplicado a cada caso funcione mejor según el tipo y destino de cada producto (2,6,8).

La producción nacional de cárnicos hasta el año de 1992 representaba un total de 9,729,296 toneladas con valor de N\$285,707.709 y desde entonces hasta 1993 ha sido encabezada en primer término por la producción de carne porcina que refleja promedios de 52.3 % y 56.8 % en cuanto a la producción en canal y su valor respectivamente, en el transcurso de estos años.

La producción de carne porcina ha contribuido a la elaboración de jamones con el 2.10 % de su total como promedio global hasta 1986, por lo que se observa que el valor es realmente

bajo y muestra el potencial del mercado a cubrir como son las carnes preparadas en forma de jamón.

De los productos manufacturados de primera calidad en la industria cárnica se señalan los jamones cocidos o bien el grupo de los llamados, "productos curados cocidos". De este tipo de productos son tomadas en cuenta por el consumidor principalmente las características de precio, sabor, aroma, color, consistencia, rebanabilidad, sabor, succulencia y otras como el contenido de proteínas, humedad, grasas, carga microbiana y posibles adulteraciones; dentro de las más relevantes (32).

La tecnología para la elaboración de jamón cocido han experimentado una serie de cambios principalmente durante la última década, la forma de curado común (colocación de salmuera por inyección a los vasos sanguíneos con una sola aguja) ha sido sustituida por la inyección multiagujas, además de recibir un subsecuente tratamiento como el tenderizado, masajeo o golpeteo, con más o menos intensidad de acuerdo al tamaño, tipo de músculo y tipo de jamón según la marca comercial a la cual se dirige (9,10). También se han desarrollado una gran cantidad de tecnologías para la aplicación de aditivos dentro de sus formulaciones los cuales ayudan a conferir características organolépticas, de mayor calidad al producto final.

En México los aditivos permitidos por la Dirección general de Normas según la Norma Oficial Mexicana para jamón cocido NOM-F-123-S-1982, se encuentran:

Oxidantes 156ppm.

Antioxidantes mínimo 0.5%

Estabilizadores Máximo agregado 0.7%

Condimentos, especias y saborizantes.

Proteínas vegetales hidrolizadas (máximo 2 %) (39).

En cuanto al uso de proteínas vegetales hidrolizadas se emplean aquellas que poseen propiedades funcionales similares a las de las proteínas miofibrilares de la carne siendo la de soya la proteína de origen vegetal más ampliamente utilizada por su alta capacidad de emulsificación, gelificación y retención de agua. No se permite el uso de proteína de origen animal para cumplir con las funciones antes descritas, por lo que su uso dentro de la elaboración de estos productos se considera una adulteración, ya que se reporta al consumidor un contenido proteico que no corresponde a proteína de origen cárnico. El uso de proteína cárnica de origen diferente al cerdo, resulta en una disminución en el costo de elaboración del producto que no se refleja en el costo del producto frente al consumidor, por lo cual se considera un fraude al consumidor.

La escala de calidad de estos productos no debe basarse tan solo en el contenido de proteína del producto, sino que debe tomarse en cuenta el tipo de proteína (relación Proteína cárnica/no cárnica) así como un adecuado seguimiento de buenas prácticas de manufactura llevadas a cabo desde el principio hasta el final de la elaboración del producto en cuestión.

OBJETIVOS.

Objetivo general.

Implementación de una técnica que permita la evaluación cualitativa de la presencia de proteína no cárnica, aislado de soya y caseinato de calcio, en embutidos tipo jamón cocido mediante la determinación de perfiles proteicos por electroforesis en geles de poliacrilamida.

Objetivos particulares.

I. Estandarización de las condiciones de extracción de proteínas de embutidos y corrida electroforética.

II. Obtención de patrones electroforéticos de jamón, proteína aislada de soya y caseinatos de calcio.

III. Elaboración y análisis electroforético de embutidos tipo jamón cocido que contengan en su composición presencia de proteína no cárnica (soya y caseinatos de calcio) a concentraciones conocidas.

CAPITULO I.
GENERALIDADES

CARNE.

"Se conoce como carne al producto que comercialmente es el conjunto de músculos, grasas incluidas, tendones, aponeurosis, etc, tal y como se presenta en trozos anatómicos diferenciados, en cortes o retales, cuando el componente predominante con claridad es el músculo" (9,20).

La carne comercial varía analíticamente dentro de estos límites para cada especie animal; es diferente para animales machos y hembras, varía con el sistema seguido en su crianza y engorde, con la raza y la edad. Pero se comportan de forma similar durante procesos como la maduración, deshidratación, nitrificación, etc siendo posible aplicar reglas y conceptos generales que definan variaciones físicas, químicas o biológicas.

El músculo magro está constituido como un paquete de fibras que forman las unidades fundamentales del tejido muscular, sus dimensiones dependen del tipo del animal, la edad y la función que el animal desempeña en la vida cotidiana.

El sarcolema es una envoltura muy fina y elástica con alta resistencia a la acción de las bases, ácidos, temperaturas de ebullición, etc, y actúa principalmente como medio defensivo, está formado por un sol proteico que forma un protoplasma donde están todos los núcleos llamado sarcoplasma, y también consta de estructuras filiformes largas, cilíndricas y delgadas con diámetros de 1 a 2 micras llamadas miofibrillas distribuidas a lo largo de toda la fibra muscular (2,26,28).

1.1 Composición.

La composición media de la carne de cerdo se refiere en la Tabla 1:

Tabla 1. Composición de la carne de cerdo

Componente	%
Agua	64.00-73.00
Proteína	14.00-20.00
Lípidos	5.00-16.30
Sales minerales	1.00
Carbohidratos	1.00

(2,24,35,39)

En cuanto a la composición de la carne de cerdo por piezas se refiere en la Tabla 2:

Tabla 2. Composición de la carne de cerdo por piezas.

Parte del animal	Tejido Oseo %	Agua %	Grasa %	Proteínas %	
				Tot.	Comp
Cuello	38.5	72.6	7.1	16.3	-
Paleta	23.7	71.5	9.2	16.4	11.9
Lomo	9.2	66.6	12.8	15.9	10.5
Pecho	16.6	64.7	16.3	14.0	9.0
Pierna	12.9	72.0	7.0	16.7	12.5

(35)

Como se observa la composición de las diferentes partes del cuerpo del animal varían según el contenido de grasa que este posea teniéndose una relación inversa entre el contenido de

grasa y el contenido de agua-proteína.

El valor nutritivo de la carne se basa en el contenido de proteínas digeribles y de la cantidad de proteínas completas que pueda tener en su composición.

A continuación se describe brevemente las características de cada uno de los componentes más importantes constituyentes del músculo cárnico.

AGUA:

La mayor parte del agua de composición se encuentra en el interior de las células, separadas por la membrana celular y sometidas a cambios iónicos por su proceso de ósmosis.

Una fracción de ella acompaña a las sales minerales, ocupa los espacios extracelulares, en forma similar a la del suero sanguíneo. El picado y macerado de la carne presupone que el agua, sola y asociada a otros elementos, fluye de la pasta. De esta propiedad así como de la viscosidad, concentración de agua, etc, se ha aprovechado la industria para trasladar y embutir los productos cárnicos.

Un 40% aproximadamente del agua contenida en la carne está unida a los grupos proteicos y está condicionada al valor de pH.

La variación del pH en el sentido de acidificar el medio aumenta la capacidad de retención del agua, pero si la variación se hace hacia la alcalinidad la carne pierde esta capacidad.

Existe una cantidad de agua que actúa como agua de reacción en ciertos procesos bioenzimáticos.

También existe una relación constante entre agua y proteína, que sirve de base analítica para determinar la cantidad de agua agregada a la carne picada o a un embutido (23,26).

GRASA.

Son compuestos químicos de glicerina y ácidos grasos. La composición química de las grasas depende en primer lugar de la especie animal y del tejido del que procede, por

ejemplo entre las grasas de depósito y la intersticial existe diferencia en su composición en ácidos grasos, que las condiciona para su empleo en la industria. De acuerdo con su localización cabe mencionar dos tipos de grasas animales: Grasas de depósito y grasas intercaladas entre las fibras musculares.

Para valorar la calidad de la grasa, en cuanto a su oxidación o enranciamiento se han propuesto diversos sistemas analíticos basados en el cálculo del número de ácidos grasos saturados del total de la muestra, en comparación con una grasa normal del mismo tipo.

Los principales lípidos neutros del músculo son los triglicéridos y el colesterol, son excelentes fuentes de energía y transportadores de la vitaminas liposolubles (A,D,E,K), contribuyen a la absorción de la vitamina D y a la disposición del calcio por los tejidos oseos (2,28).

CARBOHIDRATOS.

El azúcar dominante en la carne es el glucógeno, su contenido no supera en 1.00% en peso aunque existen también cierto número de monosacáridos, con funciones específicas, pero que no tienen significación cuantitativa en el total como la ribosa, manosa, pentosas, hexosas y ribulosas (26).

El glucógeno juega un papel importantísimo en el proceso de maduración de la carne, colaborando en la caída del pH, conjuntamente con ciertos compuestos procedentes de la transformación del ATP.

Los músculos del movimiento son los de mayor contenido en glucógeno, mientras que en los músculos menos móviles solamente se encuentra un 2.5% del contenido total de azúcares (2).

PROTEINAS.

Las proteínas formadas por asociación de aminoácidos, constituyen un importante factor en la alimentación, como proveedores de elementos plásticos indispensables para la

generación de tejidos orgánicos y otras funciones vitales. Sin embargo tienen un bajo valor energético, frente a los carbohidratos y las grasas por lo que a la carne se le considera un alimento con un alto valor dietético el cual viene dado por su contenido en aminoácidos. El contenido en aminoácidos esenciales (lisina, cistina, triptofano, etc.) justifica esta clasificación dietética. La proteína de la carne, en cuanto a su calidad, solamente es superada por la proteína de la leche y el huevo.

Existen las llamadas proteínas sarcoplásmicas las cuales son solubles en soluciones salinas de baja fuerza iónica pero no en agua, se localizan en soluciones con el líquido del sarcoplasma entre ellas se encuentran las enzimas glicolíticas, y creatinquinasa y la proteína mioglobina, que tienen puntos isoeléctricos entre el pH de 6 a 7 y tienen un papel importante como pigmentos musculares.

Se cree que la hemoglobina es sólo la responsable del color del músculo sin embargo se ha descubierto que la mioglobina también forma un papel muy importante dentro de la coloración muscular; en el tejido muscular la mioglobina forma del 80 al 90% de la pigmentación total y es mucho más abundante que la hemoglobina(26). La mioglobina se encuentra disuelta en el plasma celular y la hemoglobina se encuentra en los glóbulos rojos o eritrocitos, están íntimamente emparentadas debido a la presencia del componente coloreado "grupo hemo" en ambas proteínas, la mioglobina está formada por una porción proteica llamada globina (proteína globular) y una porción no proteica llamada anillo hemo. Aparecen varios tonos desde el púrpura y rojo hasta el gris pardo dependiendo de las reacciones químicas en las que se vea involucrada, posee un átomo de hierro que le confiere la capacidad de oxidarse y reducirse para combinarse con otros compuestos.

Otras proteínas musculares de gran importancia son aquellas llamadas proteínas estructurales y dentro de ellas se encuentran principalmente la miosina y actina, aparte de otras combinaciones proteicas cuantitativamente menos importantes. Las proteínas miofibrilares se localizan en la estructura de los filamentos del músculo.

La asociación miosina-actina provoca la rigidez muscular, por lo que tiene una gran

importancia en la aparición del *rigor mortis* de una canal, consecuentemente a las variaciones físico-químico-biológicas después del sacrificio.

Las proteínas miofibrilares se conocen también como proteínas estructurales y son solubles en soluciones altamente concentradas de sal. Algunas de estas proteínas coagulan también y cuando se extraen son las responsables de la capacidad para formar las emulsiones estables. Sin embargo, la función de estas proteínas en la carne reestructurada se ha enfocado en su habilidad para el ligado de los músculos cárnicos en una masa cohesiva, cuando el producto se encuentra cocido. El potencial de esta unión se debe principalmente a la miosina y se observa por la extrema dureza durante la desnaturalización en el cocimiento (29).

De las propiedades más importantes de estas proteínas destacan la capacidad de retención de moléculas de agua en su superficie y de manera similar la capacidad de ligado entre las mismas proteínas, por ello las propiedades funcionales más importantes son:

i) Retención de agua.

El ligado de agua por las proteínas musculares afecta la calidad de la carne, el rendimiento, el color y la textura del producto cárnico.

Para obtener buenos rendimientos durante el cocimiento o ahumado, la capacidad de retención de agua necesita estar a su nivel más alto posible y se ha encontrado que la máxima efectividad de retención acuosa se logra por factores como la cantidad de grasa en las superficies musculares, además del pH final alcanzado en la maduración de la carne y como consecuencia aquellas condiciones que son el resultado de cambios *postmortem* que dependen de la producción de ácido láctico, pérdidas de ATP durante el *rigor mortis* y los cambios que a nivel celular se encuentran asociados con la actividad de las enzimas proteolíticas.

La capacidad de retención varía ampliamente entre las diferentes especies y músculos del cuerpo. La habilidad para la retención de este líquido es mayor para la carne de cerdo razón por la cual es ampliamente usada en la industria de la transformación cárnica, esto se debe

a razones de tipo genético que responden a las variaciones de pH (2,22,37).

ii) Ligado.

Otro de los factores importantes en la carne son las propiedades de ligado basándose en el concepto de "fuerza de ligue" la cual se define como "La fuerza por unidad de área de una sección transversal requerida para separar las piezas conjuntamente unidas de la carne" (41). Los factores que determinan la fuerza de este ligue son: la extracción de proteínas, el tratamiento mecánico, el medio iónico y la temperatura del tratamiento térmico (23,36,41).

El complejo de ligado será resultado de las interacciones entre las variables de proceso y la relación que estas tienen en el complejo proteico. Durante el proceso estas proteínas generan una matriz entre ellas, produciendo una carne suave y manejable, carne que durante el cocimiento proveera un producto cohesivo similar en textura a un músculo intacto cocido. Este rasgo de los productos reestructurados de formar una matriz proteica y ligar efectivamente las piezas cárnicas es eficaz si el producto es capaz de mantener su integridad estructural durante el siguiente manipuleo y cortado.

Puede decirse que el índice de ligazón es proporcional al contenido de proteína funcional y a la capacidad de emulsionar grasas de dicha proteína en un ingrediente determinado.

Otra proteína presente en la carne es la mioglobina la cual es esencial para la coloración del músculo, antes y después del sacrificio. Las combinaciones de la mioglobina de la carne con el nitrógeno son la base de la nitrificación, fenómeno muy importante en la industrialización de productos cárnicos.

Otras proteínas son las procedentes del sarcolema o envoltura de las fibras musculares, existiendo además asociaciones de proteínas con ácidos polinucleicos las cuales son básicas en el proceso de maduración de la carne (4,28,35).

El colágeno y la elastina son también complejos proteicos, que se encuentran formando parte de los ligamentos de unión de los músculos en las cápsulas articulares especialmente y son llamadas proteínas del tejido conectivo. Son proteínas de menor valor biológico y de más bajo precio, que se usan comunmente como componentes de productos cárnicos de

bajo valor comercial (28).

SALES MINERALES.

Se encuentran hasta en un 1.00% aproximadamente del peso de la carne y juegan diferentes papeles en los procesos de maduración y transformación en productos cárnicos. El sodio, potasio, hierro el grupo PO_4^{3-} y el cloro son los más importantes (2).

1.2 Color y aroma.

La repartición espectral y la intensidad de la luz reflejada por la superficie de la carne son, en definitiva, los factores responsables de su color. Estos están en función de la concentración de cromóforo y de la estructura de la superficie reflectante. El cromóforo del músculo es la mioglobina, presente en todos ellos en concentraciones variables.

La aparición del rigor, en su relación con la coloración, se traduce en un aclaramiento de la carne, a medida que el pH baja pues entonces existe un aumento de la reflexión.

El aroma de la carne puede ser considerado como función de cuatro elementos: las fracciones no volátiles y las fracciones volátiles de las carnes crudas y las mismas correspondientes a las carnes cocidas. Los compuestos interesantes de la carne cruda incluyen los precursores del aroma que pueden ser ellos mismos no aromáticos, mientras no sufran la acción del calor en la cocción (2).

Los productos particulares específicos de cada especie van asociados a los compuestos volátiles derivados de los lípidos.

1.3 Maduración.

Después de la muerte del animal se producen en el músculo los fenómenos responsables de su transformación a carne hasta la maduración de la misma.

MUSCULO.

Estado palpitante (sacrificio)

Estado rígido (*Rigor mortis*)

Estado estable (Maduración)

(2)

La maduración se inicia con el cese de la circulación sanguínea, las transformaciones surgidas a consecuencia de la aportación de sangre son complejas, entonces se rompe ese equilibrio entre los sistemas que regulan la vida; los componentes orgánicos se afectan y ese complejo ser vivo pasa a ser la suma de sus elementos a merced de un proceso de destrucción de la materia, se convierte entonces en un abundante campo para el desarrollo de microorganismos. La dinámica de estos fenómenos fisicoquímicos y bioquímicos se ha establecido en dos grupos.

- Factores intrínsecos (propios de la vida del animal).
- Factores extrínsecos (están en función del medio ambiente que funciona después del sacrificio y la transformación del músculo hasta carne y sus derivados).

Las proteínas cárnicas durante la maduración presentan desnaturalización, afectando directamente el poder de retención acuosa de la carne y las subsecuente proteólisis.

La desnaturalización del ATP provoca la conjunción de la miosina y actina, generándose la actomiosina, complejo proteico que adopta una configuración cerrada y entonces anula la posibilidad de retención de agua por la carne, por lo tanto, cuando la actomiosina no se ha conformado muestra una estructura abierta y hay más posibilidad de retener agua. Durante la proteólisis, la degradación del ATP además de generar ADP, AMP e IMP, produce inosina, hipoxantina y ribosa; librándose paralelamente fósforo y amoníaco. La capacidad

de retención de agua del músculo afecta a la apariencia cárnica antes de la cocción, define al comportamiento durante la cocción e impregna de jugosidad y succulencia al producto cocido durante la masticación. Por lo general, la capacidad de retención acuosa disminuye después de la muerte provocando exudaciones en el músculo, cuando este desarrolla el *rigor mortis* su acidez se incrementa causando con ello aumento en las cargas negativas, y entonces se neutralizan las cargas positivas de las proteínas la cuál provoca la liberación de moléculas de agua, cuando esto sucede se dice que la carne ha alcanzado su punto isoeléctrico.

Otro factor importante en el proceso de maduración es el pH el cuál desempeña un papel importante en la calidad de la carne y los productos elaborados a partir de ella (2,6,26).

Algunas características resultan beneficiadas a pH bajo (capacidad para el curado, conservación, sabor).

Sin embargo hay cualidades que se favorecen a pH alto (color de la carne, capacidad fijadora de agua).

El tiempo para alcanzar el pH final es de 2 a 4 h en promedio para ir de 6.7 a 5.5 en cerdos y esto varía con el grado de exudación, tanto más elevado, mayor es la velocidad de caída del pH (4,16,26).

Dentro de los factores extrínsecos se incluyen las condiciones ambientales como el aire, temperatura, humedad, carga bacteriana y manejo de la carne desde el momento del sacrificio del animal hasta la obtención del músculo madurado denominado comercialmente carne.

1.4 Descomposición y participación de microorganismos.

Si la carne se almacena por tiempo prolongado a condiciones de temperatura superior a los 4°C se produce en ella cambios autolíticos provocados por las enzimas musculares y por las enzimas de los microorganismos del medio cárnico. Los cambios producidos por la autólisis incluyen cierto grado de acción proteolítica sobre los músculos y tejido conjuntivo y una

ligera hidrólisis de la grasa. La autólisis excesiva determina el "agriado", término sumamente impreciso que se aplica a numerosas alteraciones sufridas por los alimentos, es difícil distinguir entre el agriado por autólisis y los defectos causados por acción microbiana en especial cuando se trata de simple proteólisis.

La putrefacción es la descomposición de las sustancias proteicas causadas principalmente por los microorganismos, la transformación de los productos por descomposición de las proteínas se realiza a través de productos, medios, enteros y finales con olor desagradable y putrefacto y pueden llevarse a cabo en presencia y/o ausencia de oxígeno conociéndose como putrefacción aerobia y putrefacción anaerobia respectivamente. Durante la putrefacción los aminoácidos azufrados liberan sulfuro de hidrógeno y amoníaco, formándose mercaptano (7,24,36).

Las reacciones más comunes en la formación de los productos de descomposición son:

- Desaminación hidrolítica. Se forman amoníaco, oxiácidos e hidroxíácidos .
- Acción enzimática anaerobia. A partir de las bacterias se forma NH_3 y ácidos grasos volátiles
- Desaminación oxidativa. Se produce amoníaco y cetoácidos los cuales a su vez se transforman en aldehídos y dióxido de carbono.
- Descarboxilación enzimática. Se forman algunas aminas, tales como la cadaverina y putrecina las cuales son venenosas.

En cuanto el animal muere, los tejidos se ven invadidos por los microorganismos contaminantes. La invasión está determinada por las condiciones fisiológicas del animal, métodos de sacrificio y sangría, y velocidad de enfriamiento. Los microorganismos se extienden por los tejidos a través de los vasos sanguíneos y linfáticos y de los intersticios del tejido conjuntivo.

El elevado contenido hídrico de la carne, su riqueza en productos nitrogenados de complejidad diversa, en minerales y en factores accesorios de crecimiento convierten a la

carne en un medio de cultivo ideal para numerosos microorganismos. El desarrollo de los microorganismos y el tipo de alteraciones que estos producen en la carne se ven altamente determinados por:

-El tipo y número de microorganismos contaminantes y dispersión de los mismos en la carne.

-Propiedades físicas de la carne.

-Propiedades químicas de la carne.

-Disponibilidad de oxígeno.

-Temperatura. (4,8)

Las bacterias que más comunmente se localizan en este medio son *Clostridium sporogenes*, *clostridium putrefaciens*, *Clostridium putrificum*, *Clostridium flaveriferum*, *Clostridium putidus*, *Clostridium septicum* entre otros.

La putrefacción aeróbica generalmente es causada por *Pseudomona Serratia*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Bacillus*, etc; a este tipo de putrefacción se le debe el cambio de color en la carne hasta un tono verde por las bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno que se generan a partir de hemoglobina y mioglobina (6,19,28).

Por lo anterior es necesario someter a la carne a un método de conservación, ya sea mediante el uso de temperaturas bajas o por la adición de algún tipo de conservador, que inhiba de forma importante el desarrollo de los microorganismos que puedan entrar en contacto directo con ella.

1.5 Conservación de la carne.

El hecho de que la mayoría de las carnes constituyan excelentes medios de cultivo con humedad abundante, pH casi neutro y abundancia de nutrientes, unido a las circunstancias de que puedan encontrarse algunos microorganismos en los ganglios linfáticos, huesos y músculos y a que la contaminación por organismos alterantes es casi inevitable, hace que su

conservación sea más difícil que la de la mayoría de los alimentos. (8)

En la conservación de la carne es necesario la disminución de la acción de enzimas y microorganismos, tratando no solamente de conservar los elementos nutritivos propiamente dichos y microponderables de la carne y subproductos sino de conservar también la frescura original de los mismos. Para llevar a cabo la conservación de la carne y productos cárnicos se emplean métodos físicos y químicos y en algunas ocasiones se recurre a la combinación simultánea de estos procedimientos.

-Métodos físicos.

Entre los métodos físicos se encuentran principalmente la refrigeración (5 y -3°C), congelación (-30°C), esterilización (115 - 123 °C) y pasteurización (< 100°C), desecación (Se realiza generalmente combinada con salazón, curado y ahumado, además de la liofilización y secado por aspersión.). Acción de radiaciones ultravioletas e infrarrojas, así como calentamiento por alta frecuencia.

-Métodos químicos.

Entre los procedimientos químicos se encuentran la salazón (inmersión en salmuera con el 15-25% de sal y frotado de sal común), curado (adición a la carne de sal común, nitrato sódico o sal curante con nitrito y sustancias coadyuvantes para el curado como azúcar o jarabe desecado,; ahumado (se realiza mediante el empleo de virutas de madera entre 29 y 100°C. En la actualidad esta más restringido el empleo de este método debido a la producción de ácido pirrolico en la combustión de algunas maderas el cual es sumamente tóxico), acidificación (se aprovecha la acción conservadora del ácido etanoico cuya consecuencia final no es la muerte total de los microorganismos, sino una atenuación de su actividad) y adición de agentes conservadores químicos (en la industria cárnica tienen particular importancia el empleo de ácido benzoico y su sal sódica, éster etílico del ácido p-hidroxibenzoico y éster propílico del ácido p-hidroxibenzoico éster PHB y sus derivados sódicos, ácido sórbico y sus sales sódica, potásica y cálcica. Cabe mencionar que está estrictamente prohibida la adición de estos compuestos a la carne fresca pero son

empleados, con restricción de concentración, en algunos productos cárnicos) [20].

2. Clasificación de embutidos

Antes de referirse de lleno al jamón cocido es necesario conocer que este se encuentra dentro de una gran cantidad de productos transformados a partir de carne, es por eso que a continuación se presenta de forma general una de las más importantes clasificaciones de embutidos.

-Embutido crudo consistente.

El embutido crudo se fabrica a partir de carne y tocino picados crudos, a los que se añade sal común o sal curante de nitrito o nitrato potásico como sustancias curantes, azúcar, especias y otros condimentos y aditivos. Conllevan un proceso fermentativo o de maduración en donde se genera un descenso de pH y la aportación de consistencia deseable (dureza al corte), con una fase de desecación al final de dicha maduración; dentro de ellos se encuentran los salamis, chorizos, etc.

-Embutidos blandos. Salchichas

También son embutidos crudos los cuales poseen características de enrojecimiento, descenso de pH, microflora y algunas reacciones bioquímicas semejantes a los embutidos de corte consistente, solamente que no es conveniente la conservación por desecación puesto que con ella se pierde su sabor y textura. Su microflora debe consistir principalmente de lactobacilos y especies de micrococos. Dentro de esta clasificación se encuentran los salchichones, salchichones ahumados, salchichas, etc.

-Embutidos escaldados.

Son productos compuestos por tejido muscular crudo y tejido graso finamente picado, agua, sales y condimentos que mediante tratamiento térmico (coagulación) adquieren consistencia sólida que se mantiene aún cuando el producto vuelve a calentarse: se encuentran algunas variedades de salchichas y otros.

-Embutidos curados cocidos.

Son elaborados por medio de tejido muscular casi libre de grasa, limpio y tenderizado a los cuales se aplica la inyección de salmueras de curado y son sometidos a moldeado y cocimiento, generalmente mediante el empleo de agua caliente, hasta obtener un producto cocido. Deben poseer un típico aroma "a carne", un color estable sin tonalidades verdes, consistencia jugosa y tierna, con una capacidad de conservación bastante alta y un aceptable rendimiento. El ejemplo más importante de este tipo de embutidos es el Jamón cocido.

-Embutidos curados crudos.

Son elaborados a partir de tejido muscular a los cuales se somete a curación sin ningún proceso de cocción. Poseen consistencia sólida, pero blanda al corte, con un color rojo intenso y estable de carne; sabor suavemente salado, aunque conservando el sabor de la carne, y un buen buqué de curado, sin abusar de los condimentos. Dentro de ellos se encuentran algunos jamones con hueso, jamones curados crudos y derivados de éstos.

-Embutidos cocidos: embutidos de hígado.

Son embutidos elaborados a partir de hígado de cerdo y poseen un sabor suave, consistencia pastosa y untuosa y agradable tonalidad rojo-rosada. Existen algunas variedades gruesas las cuales tienen un sabor fuerte y penetrante reforzados con condimentos como la mejorana y el tomillo.

-Embutidos cocidos: embutidos de sangre.

Son mezcla de cortezas cocidas y picadas con sangre y tocino, en este grupo se encuentran distintas variedades de embutidos como son el salchichón rojo turinés, la morcilla de sangrey tocino, el salchichon rojo de jamón o la simple morcilla de sangre.(9)

2.1 Clasificación de jamones.

Definición.

Jamón cocido es:

"El producto alimenticio preparado con la carne de las piernas traseras de cerdos sanos,

sacrificados bajo inspección sanitaria. Las piernas deben ser recortadas en forma especial, se debe excluir la carne maltratada, además de quitar todos los huesos y dejar prácticamente libre de cartilago, tendones, ligamentos sueltos y tejido conjuntivo. Sometidos a curación y cocimiento. El producto final debe ser empaquetado y refrigerado" (39).

En la bibliografía se reportan diferentes clasificaciones de jamones tomando como referencia distintas características de los mismos. En los párrafos siguientes se presentan algunas de las más utilizadas en la actualidad.

i) De acuerdo a la temperatura interna que pueda registrar durante la cocción.

Se reconocen dos clases basadas en este término principalmente en el ahumado. Ahumado (Temperatura entre 60.00-63.88°C) y cocinado rápido o listo para comer (Temperaturas superiores a 64.44°C).

Los jamones clasificados como ahumados pueden también ser cocinados poco antes de ser consumidos y para incrementar su palatabilidad estos jamones deben poseer una temperatura interna de 71.11°C.

Los jamones cocinados lo son a temperaturas aproximadas a 66.66°C para incrementar su palatabilidad.

ii) De acuerdo a la cantidad de sustancias añadidas que se retienen después del proceso.

Muchos jamones son curados actualmente por bombeo de salmuera en las cuales los ingredientes de curado son disueltos en agua. Por esta razón se reconocen tres categorías de jamones dependiendo de la cantidad de sustancias añadidas remanentes en los jamones después del proceso. Las sustancias añadidas se refieren a agua y sal presentes en el producto curado en exceso de la cantidad normal presentes en productos no curados.

Básicamente el control es expresado en términos de peso, esto es, el peso del producto terminado no puede exceder al del producto fresco.

Este cálculo es el resultado de análisis químicos. En ellos se encuentran inevitables

diferencias entre pesos actuales y calculados pero se dan escalas de tolerancia para estas variaciones. Las tolerancias son expresadas en la forma de validación satisfactoria de rangos basados en el número de muestras analizadas. El control por análisis químicos está basado en el cálculo de acuerdo a la siguiente fórmula:

Producción estimada = % Humedad + % Sal - k x % Proteína + 100

Donde el factor k representa la relación aproximada de humedad proteína y difiere según el producto del que se trate (24).

Otra clasificación se lleva a cabo tomando en cuenta la presencia o ausencia de huesos dentro del jamón. Los jamones intactos pueden contener tres tipos diferentes de huesos cabeza, centro y canilla.

-Jamones con hueso.

Pueden ser de una sola pieza o cortados en secciones. Cuando el corte es a la mitad la sección es referida como media cabeza o media canilla. Si una o más de las piezas del centro han sido removidas después de que el jamón ha sido cortado a la mitad, las secciones o porciones restantes son llamadas cabeza o canilla.

-Jamones semi libres de hueso.

Son diseñados para proveerse convenientemente a los consumidores con algunas partes de hueso en el producto. Los huesos cabeza y canilla son removidos. Estos jamones poseen solo los huesos del femur los cuales facilitan el manejo al consumidor.

- Jamones libres de hueso.

Con el énfasis en la conveniencia del consumidor los jamones libres de hueso han tomado una gran popularidad en los años recientes. Son hechos en contenedores de forma plana y embutidos en envases de celulosa y son rápidamente cocinados lo cual permite mantener la forma plana antes mencionada.

Uno de los desarrollos en la elaboración de este tipo de jamones es que los pedazos de carne son amasados por golpeo para extraer proteína soluble en sal, se comprimen las secciones pequeñas en moldes de metal y son cocinados. El resultado final es una pieza sólida de carne producto de piezas pequeñas. Este producto es usado para obtener rebanadas de jamón empleado en muchas ocasiones para la elaboración de emparedados.

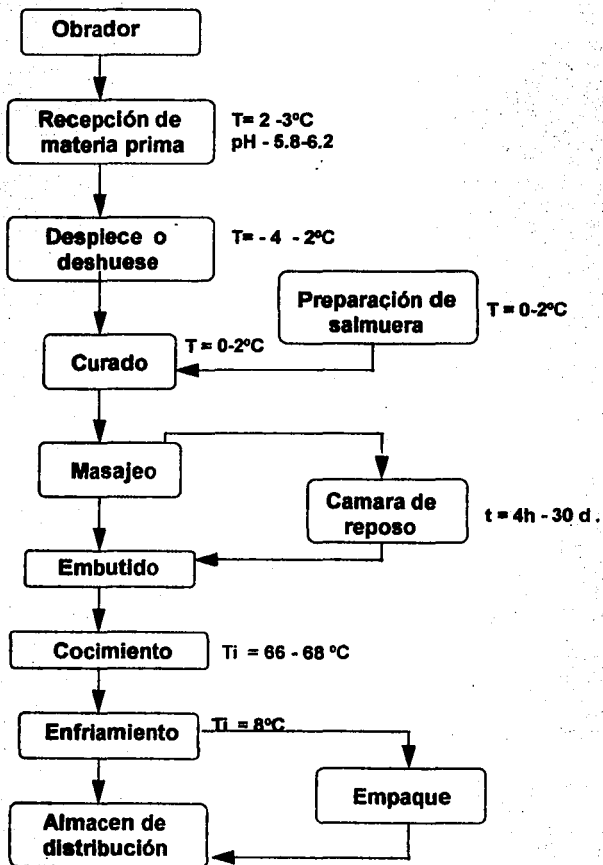
- Jamones cocinados.

Son deshuesados y envasados en moldes de metal, cocinados en tanques con agua a temperaturas de 73.88 - 82.22°C y con temperaturas internas de 66.66 - 71.11°C.

- Jamones horneados.

Este término se aplica sólo a productos que tienen cocción por acción directa de calor seco por suficiente tiempo para permitir que asuma las características del horneado (24).

2.2 Diagrama 1. Diagrama de bloques general para la elaboración de jamón cocido (24).



Descripción del diagrama de bloques (Diagrama1).

1.- Obrador.

Es la sección encargada de hacer el sacrificio del animal y obtener la materia prima en condiciones normalizadas y aceptables o cuando menos conocidas para continuar con la siguiente operación.

Deberán exigirse piezas o canales de un tamaño aproximadamente igual, si esto no fuera posible, puede establecerse dos o más sitios de recepción de materia prima para controlar estas variantes. (9,10)

2.- Recepción de materia prima.

Departamento de recepción del material cárnico con el que se trabajará. Como la materia prima del jamón cocido deberá mantenerse en condiciones de bajas temperaturas (2 a -4°C) [18,43] y con un adecuado control de pH, deberá oscilar entre 5.8 y 6.2 teniendo bajo control los siguientes aspectos.

- a) Obtener la materia prima en buenas condiciones higiénicas.
- b) Cuando se devuelva una pierna fresca cuidar que esta sea manejada bajo condiciones de refrigeración (-4 a 2°C).
- c) Durante el almacenamiento de la materia prima vigilar rigurosamente las temperaturas (-4 a 2°C) y la humedad relativa de la cámara frigorífica (90 a 92 %).
- d) Mantener bajo control la variación del pH de la carne.
- e) Evitar el uso de carne calificada como "PSE" (palida, suave, exudativa), ya que representa valores en la carne de pH menores a 5.8.
- f) Evitar el uso de carne calificada como "DFD" (obscura, firme, y seca), ya que representa valores de pH mayores a 6.2.
- g) Evitar las sobrecargas microbiológicas sobre las superficies en contacto con las piezas de carne.

Mediante la elección de materia prima con calidad se sientan las bases para la obtención de un producto también de excelente final (9,13).

3.- **Deshuese o despiece.**

Para obtener productos con ligue aceptable, es importante cortar las piezas de tal modo que se liberen de grasa suelta y tejido conjuntivo.

Las fundas del tejido conjuntivo deben de rasgarse para facilitar la salida de proteína. Además deben eliminarse los ganglios linfáticos, cartilagos, tendones gruesos y grasa situada entre las piezas de carne.

El tamaño y tipo de corte cárnico estará en función del producto al cual se le dará destino, y por lo tanto diferirá según la marca comercial de la cual formará parte. Se recomiendan temperaturas de cámara de -4 a -2°C.

4.- **Curado y tenderizado.**

El propósito de esta operación es el de suministrar la salmuera hacia el músculo. La composición de la salmuera dependerá del producto del que se trate.

Las normas indicadas para la inyección de la salmuera son las siguientes:

- a) No aplicar de una vez la cantidad a inyectar.
- b) Regular adecuadamente la presión en el cabezal de inyección.
- c) Verificar la limpieza y sanitizado de los dispositivos para la inyección.
- d) Verificar y evitar la corrosión de la aguja de inyección.
- e) Efectuar pesadas a la entrada y salida de las piezas de carne para controlar la cantidad de salmuera incorporada a cada una de ellas.
- f) En cuanto a los coadyuvantes para el enrojecimiento se recomienda incluir en la salmuera solo productos de ascorbato recién preparados.
- g) Haber superado el *rigor mortis*.
- h) Controlar la temperatura de la salmuera suministrada para no aumentar la rigidez y disminuir la difusión de sales a temperaturas bajas.

Después de la inyección se provoca un rasgado sobre la superficie de los músculos inyectados para incrementar el área superficial expuesta a la extracción de proteínas y para disminuir el tiempo necesario para la distribución homogénea de la salmuera entre el

músculo. De este modo se favorece la cantidad de proteína extraída a partir de un músculo crudo (11,12).

5.- Tratamiento mecánico o masajeo.

Durante esta operación se persigue transferir la energía mecánica del equipo hacia la carne causando rompimiento celular y de tejidos que integran el músculo provocando la extracción, concentración y distribución de la proteína miofibrilar y desarrollar un exudado rico en proteínas. Esta operación es esencial en el proceso cuando se desea obtener un producto de calidad y altos rendimientos (11,12,13).

6.- Reposo en cámaras de refrigeración.

Para asegurar la completa difusión de la salmuera es importante dar un determinado tiempo de reposo; así que después del tratamiento deberá darse un tiempo de maduración y va desde 4h hasta 30 días bajo temperaturas de -4 a -2 °C antes de aplicar el siguiente tratamiento mecánico (12,19).

7.- Embutido.

Consiste en el llenado de la funda con la pasta cárnica. El embutido deberá tomar en cuenta la aplicación de vacío, esto debido al efecto de reacción del oxígeno del aire durante el curado y su influencia en la coloración de la carne. Las piezas embutidas son posteriormente moldeadas y prensadas en el interior del molde; para los casos en los que la formación de jamón no requiere de molde, los embutidos a partir de fundas llenas se mandan a la sección de cocimiento (11,12).

8.- Cocimiento.

Según la forma, peso y tamaño de la pieza se seleccionarán las temperaturas aplicadas durante este tratamiento. Deberá de considerarse además la impermeabilidad de la funda para la selección de temperaturas, la destrucción de aquellos microorganismos patógenos, el tipo de calor ya sea húmedo, seco, etc.

Se debe cocer de acuerdo a la temperatura interna 66 a 68°C. cada grado de aumento de temperatura mejora la capacidad de conservación de los productos y la estabilidad del

color. No se deberá elevar la temperatura interna más de 75°C para cualquier caso ya que se verán afectados los resultados finales (11).

9.- Enfriamiento.

Se reduce la temperatura repentinamente con el fin de provocar un choque térmico a nivel microbiológico y obtener el producto frío en el tiempo mínimo necesario del proceso, entre el cocimiento, enfriamiento y desmolde para obtener un producto cuya temperatura interna sea de 8 °C (12,13).

10.- Empaque.

En este paso se define la presentación final del producto. Los lotes de jamón cocido elaborado deben calificarse según la fecha de fabricación, se etiquetan según el producto o marca comercial y tipo de jamón, con todo esto las piezas son trasladadas al almacén de distribución y de aquí a los principales puntos de consumo.

Conjuntamente con las indicaciones que se mencionan para la elaboración del jamón cocido se deben seguir adecuadamente las "Buenas Prácticas de Manufactura" para asegurar la obtención de un producto de buena calidad.

Nota: Consultar Anexo IV.

2.3 Especificaciones del producto terminado

Para que el producto final pueda ser catalogado como producto de calidad es necesario que éste se adecue a las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales que se describen en la tabla 3.

Tabla 3. Especificaciones generales de Jamón Cocido de pierna.

Características	Especificaciones		Estándar	Unidades
	Min	Máx		
Fisicoquímicas				
-pH	5.7	6.2	5.9	
-Acides	-	0.0	0.0	%
-Fuerza del gel	-	-	500.00	g/cm ²
-Proteína	18.0	25.0	21.0	%
-Humedad	60.0	68.0	64.0	%
-Grasa	1.0	3.0	2.0	%
-Féculas	0.0	0.0	-	%
-Carrageninas	-	-	0.6	%
-Nitrito de Sodio	156.0	200.0	-	ppm
-Sodio	-	3.5	-	%
-Azúcar	1.0	3.5	2.3	%
Microbiológicas				
-Cuenta Total	-	10.0	10.0	col/g
-Coliformes	-	-	0.0	col/g
Organolépticas				
-Forma	Según molde			
-Textura	Suave y jugosa			
-Tamaño	Según molde			
-Sabor	Ligero a carne cruda			
-Color	Rosado sin zonas verdes			

(2,24,35,38,39)

3. Adulteraciones.

Debido a la alta demanda de éste producto en la actualidad algunos productores han recurrido a la extensión proteica de los jamones mediante la adición de proteínas de origen no cárnico disminuyendo con esto el costo de producción; la adición de estos componentes son en muchas ocasiones no permitidos por las normas de calidad ya que asegura la obtención de un producto con mayor volumen pero con menor cantidad de carne empleada. Estos pueden ser de diferentes tipos y toman algunas características de los complejos protéicos contenidos en el jamón natural que confieren ciertas propiedades funcionales deseadas por los fabricantes de estos alimentos. Estos "aditivos" permiten además cubrir los requerimientos de proteína exigidos por la norma de calidad vigente sin necesidad de presentar el "contenido de carne" necesario para satisfacerlos.

Entre las sustancias más empleadas con este fin se encuentran principalmente los caseinatos, que se emplean debido a sus excepcionales cualidades como emulsificantes y como agentes de enlace, y aislados proteicos de soya, la cual confiere propiedades similares a las proporcionadas por los caseinatos en los productos cárnicos.

Dentro de la Norma Oficial Mexicana para Jamón cocido de pierna sólo se permiten los aditivos a continuación mencionados.

Oxidantes.

Nitrito de Sodio 156 mg/kg 156 ppm como máximo en producto terminado.

Antioxidantes.

Ascorbato y/o Eritorbato de sodio, mínimo 0.5% .

Estabilizadores.

Polifosfatos de sodio y/o potasio, máximo agregado 0.7%.

Condimentos, especias y saborizantes.

Todas las especias naturales y los condimentos preparados a base de mezclas de ellos y/o sus extractos y/o sus aceites esenciales, azúcares (glucosa, sacarosa, lactosa y fructuosa), sal, glutamato monosódico, proteínas vegetales hidrolizadas (39).

3.1 Adulterantes.

"Un aditivo alimenticio es cualquier sustancia que pueda ser componente o no de un alimento, intencionalmente o no añadidos durante alguna parte del proceso. Generalmente los aditivos proteicos son conocidos como seguros." (32)

Un alimento se considera adulterado si:

- Contiene alguna sustancia venenosa o artificial.
- Consiste en su total o en parte de alguna sustancia putrida o descompuesta.
- Ha sido preparado, empacado o manipulado en condiciones no sanitarias.
- Algún constituyente valioso ha sido en su totalidad o en parte omitido o sustraído de él. Aún cuando el daño haya sido cubierto de alguna manera.
- Alguna sustancia ha sido añadida al alimento mezclado o envasado con eso o se reduce su calidad o resistencia, o lo hace parecer mejor o de mayor valor que por sí mismo (32).

3.2 Aditivos en productos cárnicos.

Los aditivos usados en productos cárnicos poseen, entre otras, las características de ser aglutinantes (cereales, almidón vegetal, harina de soya, concentrado proteico de soya, leche seca no grasa, suero seco, lactosa reducida de suero, minerales reducidos de suero, lactato de calcio y caseinato de calcio.)

Los aditivos se emplean con ciertos estándares para los diferentes productos cárnicos en los que los aglutinantes y extensores son permitidos. En el caso particular de jamón cocido la Pirámide de Calidad permite únicamente un 2% de adición de proteína de Soya y 0% de cualquier otro tipo de extensor o aglutinante (40). Nota: Consultar anexos II y III.

En otros productos no estandarizados se han usado otras sustancias proteicas como son caseinato de calcio, caseinato de sodio, concentrado proteico de suero, y espuma seca de leche.

Las razones del uso de estos aditivos en cárnicos son principalmente:

Para hacer a la carne más favorecedora y para cambiar las características del platillo o

producto.

A escalas comerciales el procesado no usa normalmente productos caseros por el costo elevado, por ello se usan aditivos proteicos para alcanzar los beneficios, esto es para alterar la textura o cambiar una característica o alterar un sabor, para prevenir encogimiento en el momento de asar, para promover una función como el aglutinamiento y una extensión parcial. (32)

Los aditivos proteicos se presentan generalmente en tres formas: polvos, granulos y productos aglomerados o texturizados y como ya se ha dicho estos aditivos deben tener un origen de soya o leche.

-Soya.

Las proteínas de soya son generalmente derivados de las hojuelas desgrasadas con un contenido de proteína aproximado del 50% para las harinas y texturizados y superior de 85% para los concentrados. La harina de soya y productos granulosos son obtenidos por trituración de las hojuelas desgrasadas. Si el tamaño de la partícula es de malla 100 o más fina esto es llamado harina si no son gránulos de soya.

Si los azúcares solubles son removidos de la hojuela desgrasada, el producto resultante es un concentrado de soya, que también puede estar en forma de una harina o de un granulado.

Este tipo de proteína es altamente usado por su capacidad de extensión y aglutinamiento. Se recomienda su uso en productos embutidos a una concentración máxima del 2% (2, 4,9,16,32).

-Proteínas de leche.

La mayoría de las formas son polvos obtenidos por aspersion o por otro tipo de proceso de secado.

Dentro de estos se encuentra el Caseinato de calcio el cual es un producto soluble que debe contener en su extracto seco no menos del 35% de proteína y no más de 10.5% de componentes minerales, así como no más del 14.0% de agua y nada de alcali libre.

Los tipos más comunes de caseinatos son:

- Caseinato de sodio.
- Caseinato de calcio.
- Caseinato de potasio y otros.

Los más empleados en la industria cárnica son soya y caseinato; estos productos deben estar finamente molidos con granulometría menor a 200 μ m. Se emplean por sus excepcionales cualidades de emulsificación y como agentes de enlace (30,32,44).

3.3 Métodos de determinación.

Existe una gran variedad de métodos que han sido empleados para la detección del tipo de adulterante. Aunque algunos son más eficientes que otros, otros más son más sencillos y fáciles de realizar e implementar.

Entre los métodos recomendados para la evaluación de adulterantes por la bibliografía se mencionan cinco categorías: Microscopía, Serología, Electroforesis, Análisis aminoácidos-péptidos y métodos indirectos.

Cuando se utiliza principalmente proteína texturizada de soya se ha procedido principalmente a hacer determinaciones organolépticas pero esta forma de detección no es muy confiable debido a que la sensibilidad de estas determinaciones a las concentraciones empleadas del adulterante es muy reducida.

El método de **microscopía** es generalmente empleado para la determinación de soya en productos que tienen un alto contenido de la misma y ésta es identificada generalmente por la forma típica de células empalizadas y células en forma de vidrio de reloj. Para tener una mayor resolución en este método se puede recurrir al empleo de la luz polarizada o toluidina azul.

Los métodos **serológicos** dependen de la alta interacción específica entre un antígeno, el cuál es específico a una proteína y anticuerpo presentes en un antisuero obtenido por un antígeno de un animal experimental. Todos los métodos dependen de la reacción específica

del antígeno y el anticuerpo para formar un complejo compuesto e insoluble.

La electroforesis está basada en el principio de que un ión cargado o grupo puede migrar hacia uno de los electrodos cuando se coloca en un campo eléctrico. En la electroforesis las mezclas de proteínas son separadas en sus componentes de acuerdo a la carga y peso molecular de cada tipo de moléculas presentes (30,31).

En la zona estándar de la técnica de electroforesis, la mezcla que va a separarse es aplicada en una banda estrecha sobre una franja de papel o medio soporte de acetato de celulosa el cual termina en un baño en una solución amortiguadora.

El medio es seleccionado para ofrecer una pequeña resistencia para la corriente y para ser inerte a las proteínas y a los tintes usados en ellas.

La electroforesis en gel ha recibido mas atención. El método es aplicable para proteínas solubilizadas. Las proteínas son extraídas desde la matriz de la carne con soluciones que contengan urea (5-10M) en combinación con mercaptanol y en algunos casos dodecil sulfato. El extracto es usualmente amortiguado con una solución a un pH 7-9, aunque haya sido usada urea 5M en 30% de ácido acético. Algunos investigadores usan geles de poliacrilamida con un medio de transporte adecuado que contenga una solución amortiguadora y extractante a un pH alcalino.

La identificación y estimación cuantitativa es hecha por manchas de bandas proteicas con tinte. Las mediciones son realizadas por técnicas de exploración microdensitométricas. La estimación cuantitativa del contenido de soya está sujeta a errores experimentales normales y también depende del uso de materiales estandarizados los cuales se aproximan en forma y tratamiento a los que se encuentran en las muestras. En procesos a altas temperaturas las proteínas comienzan a desnaturalizarse progresivamente y por tanto se tiene mayor dificultad para extraerse y las bandas de las proteínas son casi imperceptibles o se pierden caracterizando estructuras finas (21,30,31).

4. Electroforesis en gel de poli(acrilamida).

Es un método analítico de alto poder resolutivo que combina la migración en un campo eléctrico y el tamizado molecular a través de un gel de corrida.

El poro del gel desarrolla un papel fundamental. En el caso de los geles de poli(acrilamida) pueden conseguirse poros de diferentes diámetros según las condiciones de la polimerización; como consecuencia para un gel de determinado poro el tamaño molecular y la carga neta serán los factores determinantes de la separación de las moléculas de una mezcla.

Los geles de poli(acrilamida) resultan de la polimerización en largas cadenas de la acrilamida monomérica ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) y de su entrecruzamiento por intermedio de la N,N'-metilbis(acrilamida) ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$) corrientemente designada bis(acrilamida). El poro del gel formado dependerá de las concentraciones relativas de ambos reactivos durante la polimerización. La polimerización de la poli(acrilamida) necesita de un iniciador de proceso siendo los más comunmente usados el persulfato de amonio y la riboflavina. Se añade además como acelerador N,N,N',N'-tetrametilendiamina (TEMED). En el sistema Persulfato de amonio-TEMED, este último cataliza la formación de radicales libres a partir del persulfato lo que en definitiva inicia la polimerización.

Cuando se utiliza riboflavina es necesaria la luz para que la polimerización se lleve a cabo, ésta origina radicales libres al fotodescomponer la riboflavina.

Experimentalmente la electroforesis en gel de poli(acrilamida) puede efectuarse en tubos o en placa. En el primer caso se utiliza un cilindro de gel para cada muestra a analizar, mientras que cuando se emplean placas pueden correrse en forma simultánea, en una sola de ellas, varias muestras. Este procedimiento resulta útil para separar proteínas de una mezcla, las que pueden ser aisladas por simple cortado del gel y posterior elución.

La electroforesis en geles de poli(acrilamida) puede desarrollarse también usando soluciones amortiguadoras que contienen sustancias disociantes, en especial detergentes no iónicos (dodecil sulfato de sodio SDS). Las proteínas a analizar son hervidas a 100°C en exceso de

SDS y 2-mercaptoetanol. En esas condiciones el tior rompe los puentes disulfuros que pudieran existir y el agente desnaturalizante hace que las proteínas se desdoblén en sus polipéptidos constitutivos, los que fijan SDS en una relación constante (1.4 g de SDS por gramo de polipéptido) a causa de ello la carga intrínseca del péptido se hace insignificante ante el exceso de carga negativa del SDS; como consecuencia la carga de todas las moléculas será prácticamente idéntica. Su desplazamiento en un campo eléctrico en el que el soporte de corrida es un gel de determinada porosidad dependerá exclusivamente de su tamaño molecular. Este método permite por comparación con sustancias de peso molecular conocido que han sido corridas simultáneamente, determinar el peso molecular relativo de los productos en análisis. Se utiliza en forma rutinaria con tal finalidad y para ello son necesarias ínfimas cantidades de muestra.

La electroforésis en gel de poliacrilamida puede desarrollarse usando sistemas amortiguadores continuos o discontinuos. En el primer caso, los iones que constituyen el amortiguador durante todo el recorrido de la muestra (gel concentrador o reservorio) son los mismos y el pH es constante. En algunas situaciones sólo puede variar la concentración iónica en los pozos de contención o reservorios. Cuando se usan estos sistemas, las muestras a analizar se siembran directamente en el gel de resolución. En los sistemas discontinuos el amortiguador de los geles y de los reservorios de los electrodos son diferentes. Normalmente los pH de ambas soluciones amortiguadoras son también distintos. Las muestras a analizar se siembran en un gel de poro grueso (gel de paso rápido, apilamiento o stacking) en amortiguador Tris-HCl, pH 6.8, el que se ha hecho polimerizar por sobre el gel de corrida (pH de 8.8). El amortiguador del recipiente que contiene el cátodo es Tris-glicina pH 8.3. Ello permite que volúmenes apreciables de muestras diluidas de proteínas puedan ser analizadas ya que al ser sembrados en un gel de éste tipo en el que iones y el pH de los amortiguadores son diferentes, las moléculas se desplazarán a través del gel y se concentrarán en una zona estrecha, en el límite correspondiente al gel de corrida, previo a su separación de éste. El pH del gel de apilamiento y de la muestra (pH

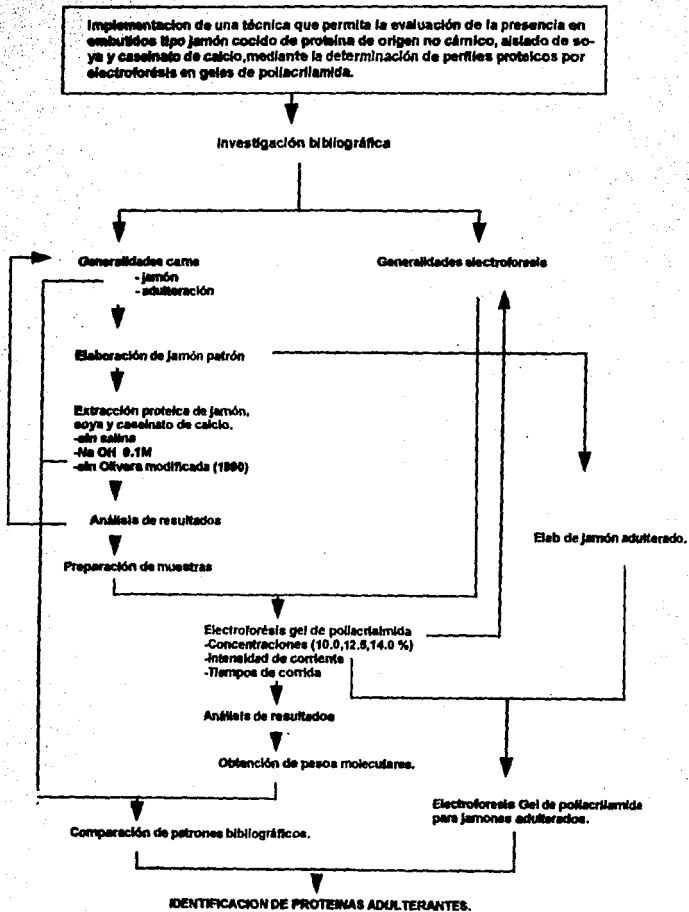
6.8), la glicina que forma parte del amortiguador del reservorio catódico está muy poco disociada ya que este es próximo a su pK_a por lo que su movilidad en el campo eléctrico será reducida. Los iones cloruro en cambio a ese pH tendrán una movilidad mayor debido a su grado de disociación y la movilidad de las proteínas ocupará una posición intermedia.

Cuando se aplique un voltaje los iones cloruro migran alejándose de la glicina dejando tras de ellos una zona de menor conductividad. Como es inversamente proporcional al campo de fuerza, esta zona genera un gradiente de voltaje que acelera la migración hacia ella de la glicina, la que se aproxima a los iones cloruro, creándose un estado de uniformidad en el que los productos de movilidad y gradiente de pH de ambos iones es igual.

Estos se mueven a la misma velocidad, con un estrecho límite de separación entre ellos.

Cualquier proteína que se mueve por delante de la banda iónica es rápidamente atrapada ya que la movilidad de estas es menor a la de los iones cloruro pero mayor que la de la glicina, como consecuencia es concentrada en una delgada banda. Las diferentes proteínas se irán apilando una sobre otra en una banda delgada por detrás de los iones cloruro y por delante de la glicina, acumulándose finalmente en el límite del gel de resolución (15,18,21,25,30,31).

CUADRO METODOLOGICO.



DESCRIPCION DEL CUADRO METODOLOGICO.

-Para poder cubrir el objetivo general de "Implementación de una técnica que permita la evaluación de la presencia en embutidos tipo jamón cocido, de proteína de origen no cárnico, aislado de soya y caseinato de calcio, mediante la determinación de perfiles proteicos por electroforesis en geles de poliacrilamida."

Se llevó a cabo la investigación bibliográfica correspondiente sobre generalidades de carne de cerdo, jamón cocido y electroforesis.

-Posteriormente se determinaron los posibles tipos de extracción proteica enfocandose principalmente en las siguientes:

- a) Mediante el empleo de solución salina.
- b) Mediante el empleo de hidróxido de sodio 0.1M.
- c) Mediante el empleo de la técnica modificada de Olivera (1990).

Variable dependiente: Extracción proteica

Variable independiente: Tipo de solución extractora

Variable de respuesta: Concentración de proteína

Niveles de variación: 3

Repeticiones: 3

-Se realizó el análisis de resultados correspondientes encontrando las mejores condiciones de extracción de proteína. Habiendose cubierto éste punto se prepararon las muestras para su análisis.

- Una vez estandarizada la técnica de extracción se procedió a la estandarización de los geles separadores utilizados para la técnica de electroforesis estudiada en la parte de información bibliográfica; se probaron las siguientes concentraciones de acrilamida -

bisacrilamida del gel separador:

a) 10.0 %

b) 12.5 %

c) 14.0 %

Variable dependiente: Perfiles proteicos (claros y con el mayor número de bandas posibles de alto y bajo peso molecular)

Variable independiente: Concentración del gel (% acrilamida-bisacrilamida)

Variable de respuesta: Cantidad y Calidad de definición de las bandas presentes

Niveles de variación: 3

Repeticiones: 3

En este punto se definieron también tiempos de corrida y precorrida así como Amperaje, realizando dichas pruebas para jamón estandar (no adulterado), aislado proteico de soya y caseinato de calcio.

-Se llevó a cabo el análisis de resultados correspondientes y se eligió la concentración del gel más apropiada y las mejores condiciones de corrida para las muestras de los perfiles electroforéticos.

- Se obtuvieron los pesos moleculares correspondientes de las proteínas presentes en los geles obtenidos de las muestras corridas en el punto anterior (para el gel más adecuado) y se compararon con los marcados por la bibliografía para carne de cerdo, soya y caseinato de calcio con el fin de determinar cuales son las proteínas que se encuentran en ellos.

Variable dependiente: Proteínas presentes

Variable independiente: Peso molecular

Variable de respuesta: Rf

- Se elaboraron jamones adulterados con soya y caseinato de calcio, a concentraciones definidas previamente, según los límites establecidos en la norma de calidad editada por SECOFI para este embutido (máx 2% para soya 0% para caseinato de calcio).

Variable dependiente: Calidad del jamón elaborado (en cuanto al tipo de proteína)

Variable independiente: Concentración de proteína no cárnica adicionada.

Niveles de variación: 6 para soya y 6 para caseinato de calcio.

Repeticiones: 3

- Los jamones fueron sometidos a extracción y posteriormente a las corridas electroforéticas bajo las condiciones ya establecidas.

Variable dependiente: Proteínas presentes

Variable independiente: Peso molecular

Variable de respuesta: Rf

- Se obtuvieron los pesos moleculares correspondientes para cada uno de los jamones y se compararon con los perfiles obtenidos para los estándares y con los definidos en la investigación bibliográfica.

- Por último se realizó la identificación de proteínas adulterantes dentro de los jamones elaborados (adulterados) y se obtuvieron las conclusiones correspondientes.

Variable dependiente: Calidad del jamón elaborado (en cuanto al tipo de proteína)

Variable independiente: Concentración de proteína no cárnica adicionada

Variable de respuesta: Aparición de bandas (preestablecidas) de soya y caseinato de calcio.

Repeticiones: 3

CAPITULO II.

MATERIALES Y METODOS.

Materiales y métodos

Extracción proteica.

Para la extracción de proteínas a partir del embutido se emplearon los siguientes métodos:

1) Solución salina fisiológica. Se tomó 1 g de jamón homogenizado en mortero y se sometió a agitación con 12.5 ml de solución salina, en un Vortex-Genie modelo K550-G durante 5 min a la velocidad máxima alcanzada por el aparato para después ser centrifugando a 3500 rpm durante 30 min. A continuación se tomó el sobrenadante con una pipeta Pasteur y la pastilla fue nuevamente resuspendida en 12.5 ml de solución salina sometiéndola por segunda vez a agitación y centrifugada a las mismas condiciones. Se llevó a cabo la misma metodología para el caso de los aislados proteicos de soya y caseinatos (2,7,26).

2) Se empleo solución de hidroxido de sodio 0.1M y se realizó la extracción siguiendo la secuencia señalada para el caso de solución salina fisiológica tanto para jamón estándar como para los aislados proteicos de soya y caseinato de calcio (2,7,26).

3) El tercer método de extracción consistió en el empleo de la técnica de Olivera (1990) ligeramente modificada, la cual consistió en el empleo de una solución digestora de amortiguador Tris-HCl 0.006 M / 2% Mercaptoetanol pH 6.8. Se tomó un gramo de muestra previamente homogenizado y se diluyó en 12.5 ml de solución extractora, sometiéndola a agitación en un Vortex-Genie modelo K550-G a la velocidad máxima alcanzada por el aparato durante 5 min y se sometió a ebullición durante 10 min. Posteriormente se llevó a cabo un centrifugación a 3500 rpm durante 30 min y después se tomó el sobrenadante volviendo a someter la pastilla residuo al mismo tratamiento juntando los sobrenadantes (31,32). Se concentraron las muestras de jamón diez veces volumen en sacos de diálisis mediante el empleo de azúcar glas como medio deshidratador.

La concentración de proteína para cada uno de los extractos se efectuó por medio del

empleo de la técnica de Bradford (17).

Electroforesis en gel de poliacrilamida - SDS.

La electroforesis en gel de poliacrilamida - SDS se llevó a cabo en geles discontinuos según el sistema de Laemmli 1970(25), utilizando geles separadores al 10, 12.5 y 14 %, a fin de determinar el sistema que permitiera la mejor resolución de las proteínas contenidas en los jamones.(15,18,21,25,27,31,32)

Los geles separadores se obtuvieron a partir de una solución madre de 30% en peso de acrilamida y de 0.8% en peso de N,N'-bis-metilen acrilamida en Tris-HCl 0.375M, pH 8.8 con 0.1 % de SDS. Los geles fueron polimerizados químicamente por la adición de 0.025 % en volumen de tetrametilendiamina (TEMED) y persulfato de amonio. El gel concentrador se preparó de una solución madre de la misma concentración referida para el gel separador pero en Tris-HCl 0.125 M, 0.1% SDS pH 6.8 y fué polimerizado químicamente en la misma forma que el gel separador. El amortiguador de electrodo contenía Tris 0.025 M, Glicina 0.192M, pH 8.3 con 0.1% de SDS (25).

Para cada uno de los sistemas se efectuó una preelectroforesis a 20 mA de corriente constante durante 30 min empleando amortiguador de electrodo pH 8.3, con el fin de efectuar una limpieza del gel eliminando posibles partículas extrañas que posteriormente obstruyan el paso de las proteínas, además de saturar al gel con el amortiguador y dejarlo cargado electricamente para facilitar la migración proteica posterior, al término de esto se realizó el cambio de amortiguador para efectuar las pruebas de electroforesis correspondientes. Las corridas se realizaron a 20 mA de corriente constante durante 1hr. Las bandas fueron reveladas por tinción con azul de Coomassie (17). [Se utilizaron como marcadores de peso molecular miosina (205 Kd), β -galactosidasa (116 Kd), albúmina bovina (60 Kd), ovoalbumina (45 Kd) y anhidrasa carbonica (29 Kd). Todos los marcadores

fueron comprados a SIGMA Chem. Co.] (42).

Se empleo una celda de electroforesis modelo SE 250-Migthy small II. (21).

Nota: Consultar Anexo I.

En las corridas, las composiciones finales de los geles a emplear fué la siguiente:

Gel Tapón.

Acrilamida-Bisacrilamida pH 8.8 1ml.

TEMED 4.0 μ l

Persulfato de amonio 98% 8.0 μ l

Gel concentrador.

Acrilamida-Bisacrilamida pH 6.8 800 μ l

Amortiguador Tris HCl pH 6.8 5.2 ml

TEMED 20 μ l

Persulfato de amonio 98% 40 μ l

A. Gel separador 10%.

Acrilamida-Bisacrilamida pH 8.8 3.36 ml

Amortiguador Tris HCl pH 8.8 6.73 ml.

TEMED 20 μ l

Persulfato de amonio 98% 40 μ l

B. Gel separador 12.5 %.

Acrilamida-Bisacrilamida pH 8.8 4.2 ml

Amortiguador Tris HCl pH 8.8 5.9 ml.

TEMED 20 μ l

Persulfato de amonio 98% 40 μ l

C. Gel separador 14.0 %.

Acrilamida-Bisacrilamida pH 8.8 4.7 ml

Amortiguador Tris HCl pH 8.8 5.4 ml

TEMED 20 μ l

Persulfato de amonio 40 μ l

(25).

Obtención de patrones electroforéticos de jamón, soya y caseinatos de calcio.

Los extractos de jamón elaborado en este trabajo, aislados proteicos de soya y caseinato de calcio fueron sometidos al corrimiento electroforético a fin de obtener los perfiles proteicos y los pesos moleculares correspondientes a las bandas de proteína presentes para ser tomados como estándares de referencia y compararlos con los perfiles obtenidos posteriormente para los jamones adulterados cuyas muestras de jamón adulterado se trabajaron de igual forma.

Todas las experimentaciones se realizaron por triplicado con dos lotes distintos de jamón y posteriormente se obtuvieron los perfiles promedios correspondientes mediante un análisis estadístico de varianza simple.

Curva de calibración de pesos moleculares.

Para poder establecer los pesos moleculares de las proteínas de los jamones fué necesario preparar una curva de calibración con los marcadores empleados. Habiendo finalizado las corridas con sus respectivas tinciones, se determinaron las distancias a las cuales se ubicaron las bandas de proteína en el gel midiéndose desde el borde superior del gel hasta el centro de la banda en cuestión. Posteriormente se realizó el cálculo de R_f que es la relación entre la longitud total del gel y la distancia a la cuál se ubicó la banda de proteína al final de la corrida.

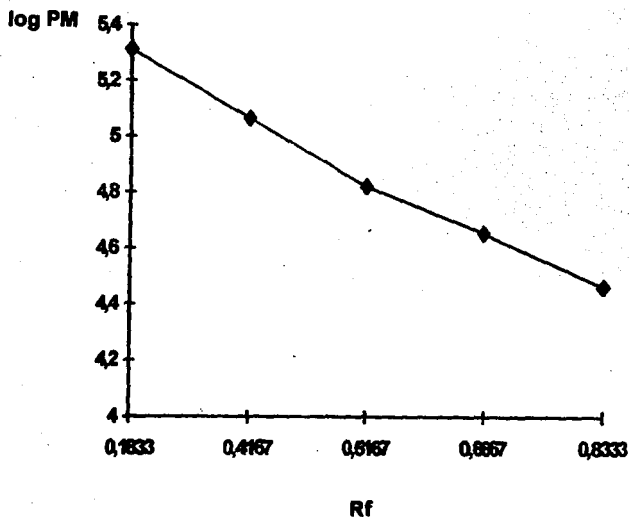
$R_f = \text{Distancia de ubicación} / \text{Longitud total de gel.}$

Una vez obtenidos los R_f para cada una de las proteínas se procedió a construir la curva de calibración para los pesos moleculares mediante una interpolación en el gráfico $\log PM$ vs R_f , representado en la figura 1, se determinaron los pesos moleculares de las proteínas en los problemas.

Fig 1. GRAFICO PARA OBTENCION DE PESOS MOLECULARES

(R_f vs $\log PM$)

Gel 12.5% Acrilamida - Bisacrilamida



Elaboración de embutidos tipo jamón.

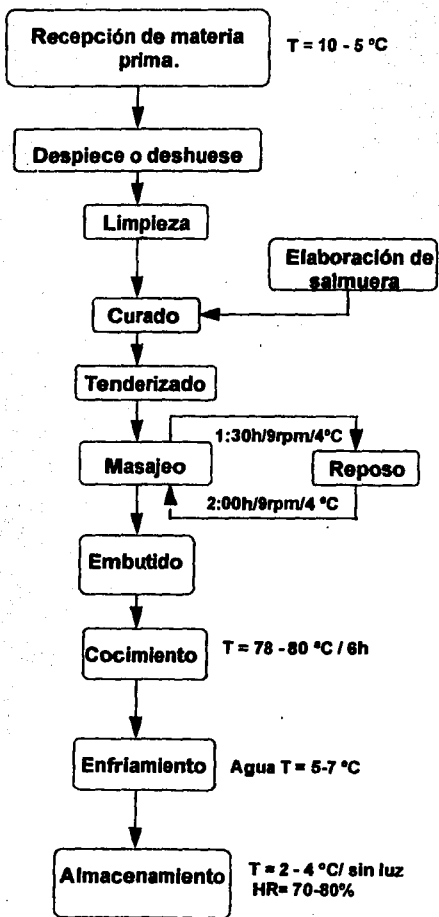
La elaboración de los embutidos tipo jamón se llevó a cabo con adulteración por aislados proteicos de soya y caseinato de calcio en rangos preestablecidos de 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 3.0% y 4.0% en peso, tomando en cuenta los límites máximos de adición de aislado proteico de soya (2.0%) permitidos por la Norma de calidad para jamón cocido, basándose en las recomendaciones de aplicación aportadas por el proveedor.

Tabla 4. Niveles de adición de adulterantes (soya y caseinato de calcio) en jamones elaborados

JAMON	% PROT. SOYA	JAMON	% PROT. CAS.
A	0.0	A	0.0
D	0.5	J	0.5
E	1.0	K	1.0
F	1.5	L	1.5
G	2.0	M	2.0
H	3.0	N	3.0
I	4.0	N	4.0

La adición de los adulterantes se realizó en el momento de la inyección de la salmuera y fueron dispersados según las especificaciones del proveedor, el proceso de elaboración se describe a continuación y se muestra en el diagrama 2.

Diagrama 2. Diagrama de bloques de jamón elaborado.



Descripción del diagrama de bloques.

1. Recepción de materia prima.

Se eligió carne magra proveniente de pierna trasera de cerdo en canales de entre 70 y 100 kg, las cuales se sacan en el corte nacional o americano. Las piernas se reciben con un máximo de grasa exterior del 4 al 5% . En caso de que la carne llegue caliente, se efectúa un preenfriamiento a una temperatura de 10 a 5 °C.

2. Despiece o deshuese.

En este punto se retiraron los huesos de la cadera y el fémur sin dañar los músculos de la pierna, retirando también tendones, cartilagos y excesos de grasa constituyentes de la carne, además de residuos de sangre, por medios mecánicos.

3. Limpieza.

Se despiezó y se limpió cada una de las partes de la pierna (cara, contra, bola, aguayón, cohete y chambarete).

4. Curado.

El curado se llevó a cabo mediante inyección al 35% de salmuera en forma manual con una jeringa de 250 cc a una temperatura de 0 a 2 °C en las piezas de carne con una temperatura de 4 a 6 °C. La descripción del contenido de la salmuera propuesta se presenta en la tabla 5.

Tabla 5. Composición de salmuera de curado para la elaboración de Jamón cocido.

Componente.	%
Agua	50.50
Hielo	28.32
Acuerdo	5.00
Polvo Praga	3.00
Lactosa	1.60
Dextrosa	5.32
Sacarosa	4.26
Carragenina	0.50
Eritorbato	0.70
Bicarbonato	0.25

Todos los constituyentes se reportan como porcentaje en peso del total de la salmuera necesaria para la inyección de la carne.

5. Tenderizado.

La carne se perfundi6 mediante tenderizado (rasgado de la carne) a una distancia de 1cm de penetraci6n empleando cuchillos de acero inoxidable para lograr este prop6sito.

6. Masajeo.

El masajeo se realiz6 en dos etapas. El primero fu6 un masajeo suave en bombo con un tiempo de 1:30h a 9 rpm con una temperatura de 4 6C en una masajeadora Metalquimia 240, Capacidad 20kg, 9-12 rpm sin vaci6.

Posteriormente se dej6 reposar la masa durante 18 h a 4 6C para completar el curado de la carne. Una vez transcurrido el tiempo de reposo se realiz6 el segundo masajeo durante 2h a 9 rpm a una temperatura de 4 6C.

7. Embutido.

El embutido se realiz6 de forma manual con estoquinetes y fundas de celulosa celladas

haciendo presión para el correcto acomodo de la carne y la eliminación de aire. Después se efectuó el moldeado en moldes de acero inoxidable cerrándose a presión media de una capacidad aproximada de 5kg.

8. Cocimiento.

Los jamones se sometieron a cocción en forma directa por medio de paila a una temperatura constante de 78-80 °C con un tiempo aproximado de 6h, hasta que la temperatura interna del producto alcanzó aproximadamente 70 °C con un tiempo mínimo de esta temperatura de 20min.

9. Enfriamiento.

Una vez terminado el tiempo de cocción se procedió al enfriamiento rápido del jamón para provocar el choque térmico necesario para la inactivación de aquellos microorganismos que pudieran subsistir al proceso de cocción. Se realizó hasta que el producto alcanzó una temperatura interna de 8 °C mediante el empleo de agua a presión a una temperatura aproximada de 0 a 4 °C. Una vez concluida esta operación se quitó el molde a la pieza y se retiró el estoquinate manteniendo las fundas de celulosa.

10. Almacenamiento.

Ya obtenidos los jamones se almacenaron a una temperatura de 2 a 4 °C, 70-80% de Humedad relativa, sin luz para evitar posibles reacciones de deterioro en el producto terminado.

Técnicas experimentales para determinar la composición de jamón.

El Análisis Químico Proximal de los jamones elaborados se realizó empleando las técnicas oficiales tal como se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Técnicas analíticas para determinación de AQP.

DETERMINACION	TECNICA	REFERENCIA
Proteína	Micro kjeldahl	1
Humedad	M.General estufa (100°C/arena)	1
Grasa	Werner- Schmit	5
Ceniza	M. General (500-550°C)	1
Carbohidratos	M. de Nelson	43

Se efectuó cada prueba por triplicado se obtuvieron promedios y se realizó análisis estadístico de varianza simple para hacer comparaciones entre los productos.

CAPITULO III

RESULTADOS.

RESULTADOS

Composición proximal de jamón.

En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos de la composición proximal del jamón elaborado y los datos marcados en la Norma de Calidad correspondiente. De estos resultados puede observarse que el jamón elaborado o jamón tipo cumple con la norma y puede ser clasificado por su contenido de proteína como un jamón FINO según la "Piramide de Calidad para Jamón Cocido" editada por SECOFI (40).

Consultar Anexo II.

Tabla 7. Composición proximal de jamón elaborado.

Componente	Res. experim.	NOM-F-123-S-1982
	%	%
Humedad	70.0	máx 74.0
Proteína	17.0	mín 16.0
Grasa	9.3	máx 15.0
CHOS	2.5	N.R
Cenizas	1.2	N.R

N.R = no reportado

Extracción proteica.

Se determinó la cantidad de proteína presente en cada uno de los extractos por medio de la técnica de Bradford observando los resultados en la Tabla 8.

Tabla 8. Concentración proteica de extractos de jamón (método de Bradford)

EXTRACTO	PROTEINA $\mu\text{g/ml}$
1. Solución salina	25.98
2. Hidroxido de Sodio	219.50
3. Técnica Olivares	236.60

La concentración más baja de proteína fué la del extracto obtenido mediante el empleo de solución salina fisiológica. La concentración de proteína en el extracto obtenido a partir de hidroxido de sodio fué 8.44 veces mas alta que la obtenida con solución salina pero la obtenida a partir del método de extracción de Olivera (1990) modificado fúe 9.10 veces mayor que la de solución salina. Posteriormente se sometio a cada uno de los extractos a una corrida electroforética y se obtuvo lo que se muestra en las figuras 2,3 y 4.

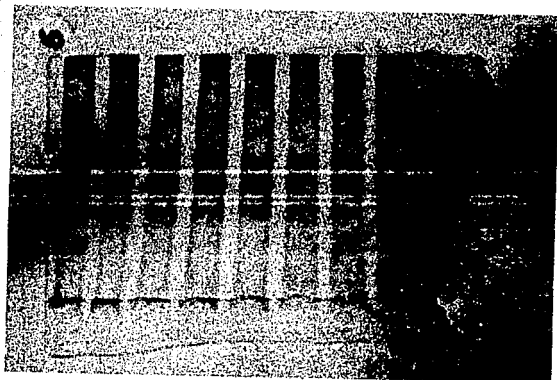


Fig. 2 Perfil
proteico con
sln. salina

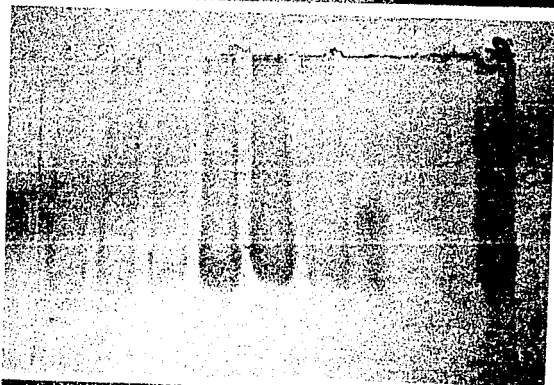


Fig. 3 Perfil
proteico con
NaOH 0.1N

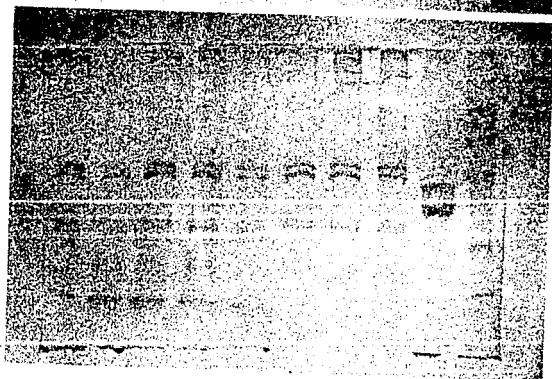


Fig. 4 Perfil
proteico con
sln. extractora
Olivera modif. (1990)

Electroforésis en gel de poliacrilamida - SDS.

A fin de obtener el sistema que aportara la mejor resolución de perfiles proteicos de jamón estandar se procedió a la elaboración de geles separadores a 10.0, 12.5 y 14 % de concentración de acrilamida-bisacrilamida. Los resultados se observan en las figuras 5,6 y 7. El gel obtenido para el extracto de jamón estandar mediante el uso de solución salina fisiológica presentó un perfil de muy baja resolución lo que resultó en una difícil detección de las bandas proteicas. Por otro lado el gel realizado para el extracto de jamón empleando hidróxido de sodio como medio para extraer las proteínas no resultó adecuado, la definición de bandas no se presentó y se observó unicamente un perfil no definido.

El perfil proteico del extracto de jamón obtenido mediante la técnica modificada de Olivera (1990) fué el que presentó mejores resultados ya que en el se tiene una mejor definición de las bandas proteicas tanto de alto como de bajo peso molecular, no se presentó ningún tipo de interferencia de la solución extractora en la naturaleza de los geles de electroforésis lo que permitió una correcta migración de las proteínas a través del gel separador.

Las pruebas hechas a diferentes concentraciones de gel separador aportaron los siguientes resultados:

A. Gel 10% de Acrilamida-Bisacrilamida.

En el gel a concentración de 10% se pudo observar que las bandas de bajo peso molecular tienden a perder definición y en algunas ocasiones no aparecen dependiendo de los lotes de jamón tratados.

B. Gel 14% de Acrilamida-Bisacrilamida.

El perfil de proteínas no es completo, las bandas correspondientes a proteínas de alto peso molecular no migran en el gel y se quedan concentradas en la parte superior del mismo.

C. Gel 12.5 % de Acrilamida-Bisacrilamida.

Presentó la mayor cantidad de bandas proteicas tanto de alto como de bajo peso molecular sin perderse resolución en ningún caso.

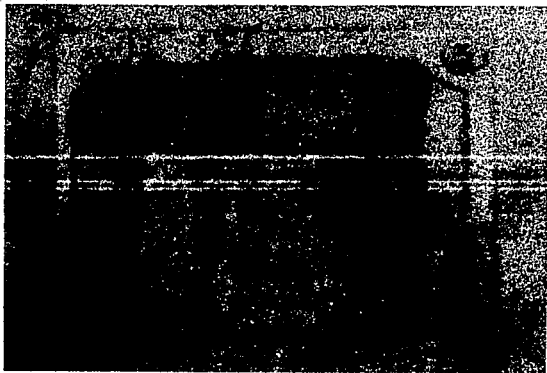


Fig. 5 Gel
Acrilamida-
Bisacrilamida 10%

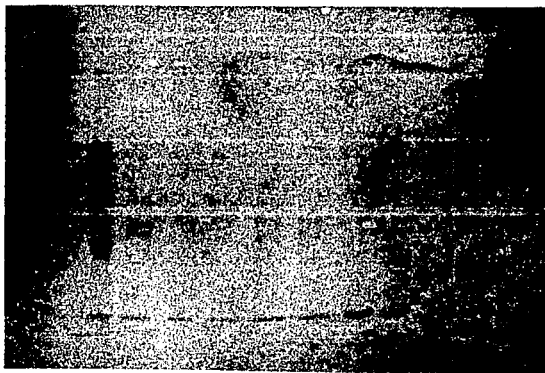


Fig. 6 Gel
Acrilamida-
Bisacrilamida 14%

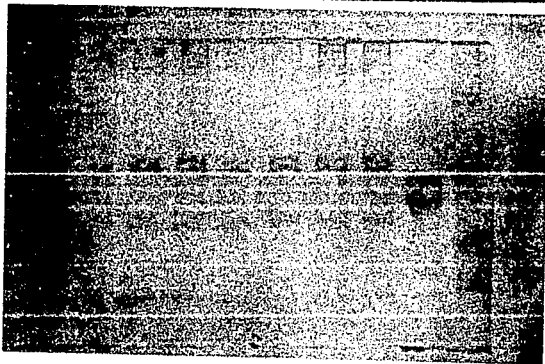


Fig. 7 Gel
Acrilamida-
Bisacrilamida 12.5%

FALLA DE ORIGEN

Patrones electroforéticos aparentes de jamón, aislado proteico de soja y caseinato de calcio.

Habiendo establecido la solución extractora y la concentración del gel más adecuado para realizar las corridas, se procedió a la obtención de patrones electroforéticos de jamón estandar, aislado proteico de soja y caseinato de calcio.

Se realizó electroforesis a jamón, aislado proteico de soja y caseinato de calcio en las condiciones establecidas en la etapa anterior, obteniendo los resultados que se presentan en las tablas 9,10 y 11. Adicionalmente se obtuvo un promedio para los perfiles electroforéticos que se presenta en la fig 8.

Tabla 9. Perfil electroforético de jamón estandar (pesos moleculares Daltones [D])

Número de banda	Peso molecular (D)
1	359,750
2	351,670
3	343,400
4	326,790
5	304,340
6	297,770
7	289,800
8	268,820
9	223,190
10	202,740
11	189,970
12	175,250
13	162,940
14	148,240
15	138,040
16	130,820
17	122840
18	110,270
19	104,110
20	96,370
21	81,250
22	73,570
23	56,350
24	43,570
25	35,840
26	30,890
27	25,400
28	20,770

Tabla 10. Patrón electroforético de aislado proteico de soya (pesos moleculares D)

Número de banda	Peso molecular (D)
1	283,360
2	229,150
3	200,570
4	180,460
5	113,750
6	91,580
7	144,980
8	117,130
9	103,650
10	98,460
11	92,550
12	84,340
13	67,040
14	61,730
15	57,410
16	48,730
17	33,515
18	28,465

Tabla 11. Patrón electroforético de Caseinato de calcio (Pesos moleculares D).

Número de banda	Peso molecular (D).
1	352,030
2	212,390
3	173,105
4	158,950
5	113,750
6	91,580
7	87,410
8	74,730
9	62,760
10	55,690
11	48,260
12	36,740
13	30,990
14	25,410

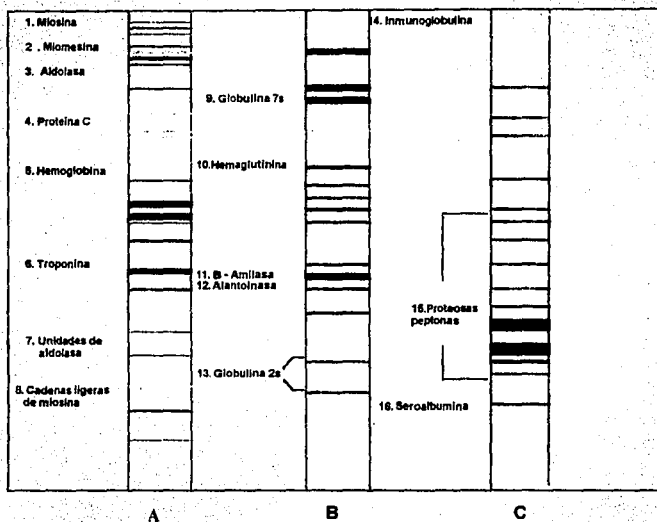


Fig 8. A. Perfil proteico de Jamón
 B. Perfil proteico de soya
 C. Perfil proteico de caseinato de Ca

Electroforésis de jamones adulterados.

Se elaboraron jamones adulterados al 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 3.0% y 4.0% en peso de aislado de proteína de soya y caseinato de calcio. La composición promedio de cada uno de ellos fué la misma que la reportada para el jamón sin adulterar, la variación en el contenido de proteína no fue significativa debido a la sensibilidad de la técnica de determinación (micro Kjeldahl) (1), ya que esta solamente determina la cantidad de nitrógeno total y no la cantidad exacta de proteína y mucho menos el tipo de proteína presente (5).

Las muestras se sometieron a extracción proteica y posteriormente a prueba de electroforésis a condiciones establecidas. Se realizó el revelado de las bandas y se llevó a cabo la obtención de pesos moleculares. Las pruebas fueron realizadas por triplicado para dos lotes distintos de jamón.

En las tablas 12 y 13 se reportan los pesos moleculares promedio. En las fig 9 y 10 se presentan los perfiles electroforéticos promedio para cada uno de los niveles de adulteración.

**Tabla 12. Patrón electroforético de jamones adulterados con soya.
(pesos moleculares D)**

Jamón estandard.	Soya	D	E	F	G	H	I
359750				353360	359750		
351670		353690	351666		352030	351670	351670
343400					347170	319110	
326790		329520	326790	326790	326490		
304340		316500		313910	319110	310010	319110
297770		292780		289130	302420		
289800		267170	281930	268820	289255		
268820	283360	241920		251090	276420		
223190	229150	235300	238450	236520	255815	27400	
202740	200570				235450	238450	238450
189970	180460	188210	188850	179650	223190	218450	
175250	173100				213710		
162940	164390	163190	160950	154820	202740	167290	
148240	144980		144610		184170	144610	
138040							
130820			128140				
122840							
110270	117130	110315	108905	110260	111656		
104110	103650				100000		
96370	98460	98790	97560	97555			
81250	92550						
73570	84340	74970	74070	73150	75590	76210	76220
64800	67040	64760	66220	67040	67040	68720	67480
56350	61730		62560	61800	61282	62150	60900
43570	57410	37670	57770	56370	57180	57410	57410
35840	48730	35030	38610	38610	43570		
30890	33515	30990	35080	34960	37990		
25400	28465	27970	29900		30320		
20770		24710	25330	24005	25175		

D: Jamón adicionado con 0.5% de soya. E: Jamón adicionado con 1.0% de soya.

F: Jamón adicionado con 1.5% de soya. G: Jamón adicionado con 2.0% de soya.

H: Jamón adicionado con 3.0% de soya. I: Jamón adicionado con 3.0% de soya.

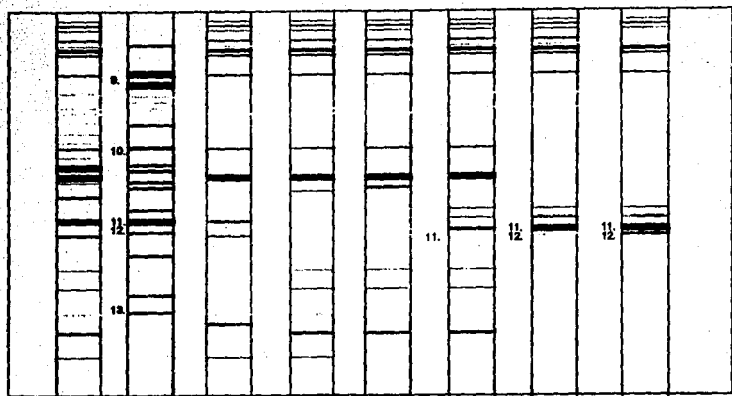
Nota: Las filas sombreadas con mayor intensidad corresponden a las bandas en las que se identifica la adulteración y las sombreadas con menor intensidad representan aquellas que van desapareciendo conforme avanza la adulteración.

Tabla 13. Patrón electroforético de jamones adulterados con caseinato de calcio.

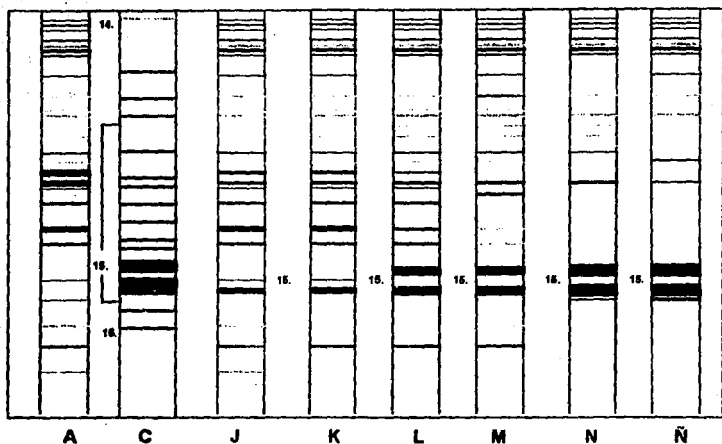
Jamón estandard.	Caseinato de calcio.	J	K	L	M	N	Ñ
359750		360030					
351670	352025	354750		352030	351485		
343400		349870	344830	344830	344830	344830	344830
326790		343400		326790	329090	334990	327800
304340		326800	304300	304300		311940	
297770		303670	297770	297770	296310	304300	
289800		294850	290470	290470	282050	297770	297770
268820		277500	283360	276420	276420	290470	290470
223190	212390	256950	276420	254250	267150		
202740		217720	263860				
189970		208480	223190		179650		225310
175250	173105	198390	197780	170960			
162940	158950	188790	159200	157740	158700		
148240		175250	148240	148240		148240	148240
138040		157010	134660	128140	134650	134660	134660
130820		145820	125240			128140	128140
122840		122140		12290	12290	119330	122320
110270	113750	117130		11300	11640	11000	
104110		107570	10310	10300	10300	10300	10300
96370	91580	103000		9670	96000	96000	97000
81250	87410	10300	81250	81250	7380		
73570	74370	96570	81250		73800		
64800	62760	79270		60600	61380		
56350	55690	62660		58405	58410		
43570	48260	58135			40450		
35840	36740	37680					
30890	30990	30320			29392		
25400	25410	24900		24900	26450		
20770							

J: Jamón adicionado con 0.5% de Caseinato de Ca. K: Jamón adicionado con 1.0% de Caseinato de Ca.
 L: Jamón adicionado con 1.5% de Caseinato de Ca. M: Jamón adicionado con 2.5% de Caseinato de Ca.
 N: Jamón adicionado con 3.0% de Caseinato de Ca. Ñ: Jamón adicionado con 4.0% de Caseinato de Ca.

Nota: Las filas sombreadas corresponden a las bandas en las que se identifica la adulteración con caseinato de calcio



A Jamón patrón
B Soya
D Jamón adicionado con 0.5% de Soya
E Jamón adicionado con 1.0% de Soya
F Jamón adicionado con 1.5% de Soya
G Jamón adicionado con 2.0% de Soya
H Jamón adicionado con 3.0% de Soya
I Jamón adicionado con 4.0% de Soya



A Jamón patrón
C Caseinato de Calcio
J Jamón adicionado con 0.5% de Caseinato de Ca
K Jamón adicionado con 1.5% de Caseinato de Ca
L Jamón adicionado con 3.0% de Caseinato de Ca
M Jamón adicionado con 1.0% de Caseinato de Ca
N Jamón adicionado con 2.0% de Caseinato de Ca
Ñ Jamón adicionado con 4.0% de Caseinato de Ca

CAPITULO IV

DISCUSION DE RESULTADOS

DISCUSION DE RESULTADOS

Extracción proteica.

Una vez obtenidos los diferentes extractos por medio de las tres propuestas se efectuó la determinación de proteína y se observó que el mejor método de extracción, por ser con el que se extrajo la mayor cantidad de proteína, fué el de Olivera modificado (30,31).

La baja concentración de proteína presente en el extracto obtenido mediante el empleo de solución salina fisiológica pudo haber sido consecuencia de la baja capacidad de esta solución para solubilizar las proteínas de la carne ya que por tratarse de una solución de baja fuerza iónica únicamente puede solubilizar las proteínas sarcoplásmicas las cuales constituyen el 5.6 % del total de las proteínas de la carne (26). La concentración de proteína en el extracto obtenido mediante el uso de hidroxido de sodio fué más alta que la anterior por la mayor fuerza iónica de la solución y la capacidad de romper los enlaces peptídicos de las proteínas tanto sarcoplásmicas como miofibrilares siendo ambas el 15.5 % del total de las proteínas cárnicas (3,26).

El tercer extracto, que presentó mayor concentración proteica, fué el obtenido a partir del método de Olivera(1990) modificado y una posible causa fué la composición de la solución extractora empleada, principalmente la capacidad del 2-mercaptoetanol de provocar el rompimiento de los enlaces disulfuro de las proteínas permitiendo con esto una mayor disgregación de los complejos proteicos teniendo como consecuencia una mejor extracción tanto de las proteínas solubles como de una pequeña parte de las proteínas insolubles en soluciones diluidas (2,19,26).

Como el objetivo de la extracción proteica, fué obtener la mayor concentración de proteína extraída se eligió el tercer método para realizar con el las pruebas posteriores.

Electroforesis en gel de Poliacrilamida-SDS.

El gel obtenido para el extracto de jamón a partir de solución salina fisiológica presentó un perfil de muy baja resolución y en algunas ocasiones no se detectó ningún tipo de banda, dicho comportamiento pudo deberse a la baja concentración proteica inicial del extracto que no fué suficiente para alcanzar la concentración de proteína establecida para cada pozo del gel concentrador (21). La concentración alcanzada fué de 4 µg de proteína / pozo, concentración que se considera muy baja para ser detectada bajo las condiciones de tinción empleada (25).

Por otro lado en el gel obtenido para el extracto de proteína con hidróxido de sodio no se observó una definición clara en las bandas que conformaron el perfil proteico, presentándose únicamente un barrido indefinido lo que indica una mala separación de las fracciones proteicas, este fenómeno se atribuyó a dos efectos principales: primero, a la diferencia de pH existente entre las muestras (pH=12) y el gel separador empleado en la electroforesis (pH=8.8) lo cual provocó que la migración de las proteínas a través del gel no se llevara a cabo correctamente y, segundo, a que la alta concentración de sodio presente en las muestras después de la extracción generara un fenómeno conocido como electroendosmosis el cual consiste en el corrimiento contrario de los iones de sodio al frente del corrimiento proteico (21).

El perfil proteico obtenido en el gel para la solución de extracción empleando el método de Olivera(1990) modificado fue el que presentó una mayor y mejor definición de las bandas proteicas, tanto de alto como de bajo peso molecular, no se observó ningún tipo de interferencia entre el gel y la solución extractora y se observó una correcta migración de las proteínas a través de él durante toda la corrida electroforética (fig 2, 3 y 4).

En las pruebas realizadas a diferentes concentraciones de gel se obtuvo una mayor cantidad de bandas proteicas en el gel elaborado a una concentración de acrilamida - bisacrilamida del 12.5% donde se observa una correcta definición de las proteínas de alto y bajo peso molecular y estas no se ven incrementadas al compararse con las presentes en los

geles a las otras dos concentraciones por lo que se obtuvo el perfil protéico aparentemente más completo.

Como el diámetro del poro de la red coloidal del gel separador depende de la concentración del monómero de acrilamida, se observó en el gel elaborado al 10 % de concentración de acrilamida - bisacrilamida que las bandas de bajo peso molecular pierden resolución y en algunas ocasiones estas tienden a desaparecer debido a que la apertura del poro formado era muy grande lo que provocaba que las proteínas pequeñas -de bajo peso molecular- migraran del gel separador concentrándose en el gel tapón, obteniéndose un perfil proteico de jamón incompleto. En el gel elaborado al 14% se observó que las bandas de alto peso molecular no presentaron una adecuada separación se concentraron en la parte superior del gel de separación, esto pudo deberse a que el tamaño del poro es muy pequeño y las proteínas grandes -de alto peso molecular o conformación muy compleja- sobrepasaban el tamaño del mismo provocando que no ingresaran al gel separador. No se observó por lo tanto un perfil proteico completo (fig 5,6 y 7).

Obtención de patrones electroforéticos aparentes de jamón, aislado proteico de soya y caseinato de calcio.

Jamón.

A partir de la tabla 9, pagina 63 en la que se presenta el perfil electroforético aparente promedio para jamón se realizó la comparación con los pesos moleculares de las proteínas presentes en la carne reportados en bibliografía (3,20,42) tabla 14 las cuales pueden corresponder a las que se muestran en la tabla 15:

Tabla 14. Perfil proteico bibliográfico de carne de cerdo

Proteína	Peso molecular (D)	Nº de subunidades	P.M/ Subunidad.
Miosina	460,000	2 pesadas / 2 ligeras	200,000 / 27,000-15,000
Meromiosina	340,000		
Actina - α	190,000		
Fosfoglucomutasa	190,000	2	78,000
Miomesina	185,000		
Aldolasa	160,000	4	40,000
Fosfogliceral. desh.	144,000	4	36,000
Proteína C.	140,000		
Lactato desh.	140,000		
Enolasa	91,000-100,000	2	50,000
Creatin-quinasa.	80,000	2	40,000
Malato desh.	73,000	2	37,000
Hemoglobina	64,500	4	16,000
Troponina	64,000		
Tropomiosina	64,000		
Actina G	42,000		
Mioglobina	16,900		
Citocromo C	13,370		

(2,7,20,26,42)

Tabla 15. Proteínas cárnicas presentes en jamón.

PROTEINA	PESO MOLECULAR (D)
Miosina	359,750
Miomesina	189,970
Actina- α	189,970
Aldolasa	162,940
Lactato deshidrogenasa	138,040
Proteína C	138,040
Troponina	81,250 - 73,570
Hemoglobina	81,250 - 73,570
Enolasa	56,350
Lactato deshidrog.	35,840
Cadena ligera de miosina	25,400 - 20,700

En el caso del complejo enzimático que conforma a las proteínas sarcoplásmicas no se pudo llevar a cabo una identificación completa debido a que la mayoría de sus subunidades poseen pesos moleculares similares entre sí de 35,000 y 50,000 D (20, 26, 42), lo que ocasionó que coincidieran en el rango que se había determinado, 10000 D +/-, para identificar a una proteína (debido a que la posición de las mismas proteínas dentro de los geles [repeticiones] variaba de 0.50 mm a 1.00 mm) en las corridas electroforéticas. Las proteínas que pudieron haber estado presentes dentro de estos rangos, según su peso molecular, fueron principalmente subunidades fraccionadas de las enzimas referidas con anterioridad debido a las características desnaturalizantes del gel separador; pudiendo ser las que se presentan en la tabla 16.

Tabla 16. Enzimas presentes en jamón

ENZIMA	PM (D)	REF.
Frac de lactato deshidrogenasa	35,000	(26)
Frac de fosfogliceraldehido	36,000	(26)
Frac de aldolasa	40,000	(20)
Frac de creatinquinasa	40,000	(42)
Frac de enolasa	50,000	(20)
Frac de malatodeshidrogenasa	34,000	(42)

Dentro del patrón obtenido se encontraron proteínas no identificadas cuyos pesos moleculares fueron:

130,820 D

110,270 D

104,110 D

96,370 D

Estas bandas proteicas se presentaban eventualmente en los geles lo que pudo deberse a una pequeña variabilidad en la composición de los jamones de los diferentes lotes y a la posición de los mismos de las cuales se extrajeron las muestras o bien posiblemente son fracciones no reportadas de alguna otra proteína.

Soya.

Los pesos moleculares de las proteínas obtenidas fueron comparados con los reportados en la bibliografía (3) para soya, tabla 17, y se identificaron las proteínas reportadas en la tabla 18.

Tabla 17. Perfil proteico reportado para Soya.

Proteína	Peso molecular.
Fración 15S	600,000
Globulina 11S	350,000
Globulina 7S	210,000-186,000
Hemaglutinina	110,000
Lipoxigenasa	108,000
β -amilasa	61,700
Alantoinasa	50,000
Globulina 2.8S	32,000
Inhibidor de tripsina 1	21,500
Globulina 2.3S	18,200
Citocromo C	12,000
Inhibidor de tripsina 2	8,000

(3)

Nota : La línea sombreada pertenece a la banda que indica la adulteración en los jamones adicionados con soya

Tabla 18. Proteínas presentes en Soya.

PROTEINAS	PM (D)
Globulina 7s (conglucina)	229,150 - 173,100
Hemaglutinina	117,130
Lipoxigenasa	103,650
β -amilasa	103,650
Alantoinasa	48,730
Globulina 2.3s	33,515 - 28,465

Además se encontraron seis proteínas no identificadas cuyos pesos moleculares fueron:

283,360 D

164,390 D

144,980 D

98,460 D

92,550 D

84,340 D

La presencia de estas proteínas en el extracto de aislado de soya pudo haber sido consecuencia de la variedad de soya empleada, del tipo de tratamiento realizado por el proveedor para obtener el aislado o del fraccionamiento no identificado de alguna proteína debido a la forma de extracción empleada. Estas proteínas se presentaron de forma eventual en los geles (repeticiones) electroforéticos.

Las bandas que se manifestaron más intensas en el gel fueron las correspondientes a Globulina 7s (PM 200570 - 229150 D), Hemaglutinina (PM 117130 D), y β -amilasa (PM 57410 - 61730 D) de lo que se puede decir que las proteínas de mayor concentración presentes en el aislado proteico empleado son estas. Se encontraron coincidencias en pesos moleculares similares entre el perfil proteico de jamón y el de proteína de soya principalmente entre la globulina 7s de la soya y la actina- α de la carne y algunas cadenas de la miosina; la β -amilasa de la soya y parte del complejo enzimático de las proteínas sarcoplasmáticas de la carne y por último la globulina 2.3S de la soya y las cadenas ligeras de la miosina, la lipoxigenasa coincide con una de las proteínas eventuales presente en el perfil de jamón.

Caseinato de calcio.

El caseinato de calcio presentó un perfil de bandas muy particular tomando en cuenta lo que se observa en bibliografía (3), tabla 19, se esperaba encontrar únicamente proteínas de pesos moleculares entre 14,000 y 26,000 D los cuales son correspondientes a las proteínas de las caseínas de la leche. Sin embargo al realizarse la comparación de este perfil con el obtenido experimentalmente se observaron bandas de pesos moleculares mayores por lo que se realizó la comparación con el perfil proteico reportado en la bibliografía (3) para leche, tabla 20, identificándose las proteínas que se muestran en la tabla 21.

Tabla 19. Perfil proteico bibliográfico para Caseinato de Calcio.

Proteína	Peso molecular (D)
Caseína- α_2	25,228
Caseína- β	23,980
Caseína- α_1	23,228
Caseína- κ	19,005
β -lactoglobulina	18,263
α -lactoalbumina	14,174

(3)

Tabla 20. Perfil proteico reportado para leche bronca.

Proteína	Peso molecular.
Inmunoglobulinas	1×10^6 -150,000
Proteosa peptona	200,000-4,000
Seroalbumina	69,000
Caseína- α_2	25,228
Caseína- β	23,980
Caseína- α_1	23,228
Caseína- κ	19,005
β -lactoglobulina	18,263
α -lactoalbumina	14,174

(3)

Nota: La línea sombreada indica la proteína que identifica la adulteración en los jamones con adición de "caseinato de calcio"

Tabla 21. Proteínas lacteas presentes en "Caseinato de calcio"

PROTEINA	PM (D)
Inmunoglobulina	325,025
Proteosa peptona	212,390
Seroalbumina	62,760
Caseína - α	36,740 - 25,410

Siendo todas ellas proteínas constitutivas de la leche sin tomar en cuenta la posibilidad de que existan, dentro del caseinato de calcio empleado proteínas de otro origen.

También se encontraron otras proteínas:

55,690 D

48,260 D

las cuales no fueron identificadas en ninguno de los dos perfiles proteicos bibliográficos encontrados.

Debido a lo obtenido se pudo observar que el "caseinato de calcio" empleado no es un caseinato puro y podría tratarse más bien de un caseinato con una gran cantidad de componentes no específicos del mismo, consecuencia posible del tipo de precipitación realizado a nivel industrial, dato que el proveedor no proporcionó, quizá realizado mediante el empleo de renina o algún cuajo similar que no posee la capacidad de precipitación correcta como para aportar el caseinato de calcio puro que se ofrece.

También se presentaron coincidencias, en peso molecular, de ciertas proteínas de jamón con proteínas de "caseinato de calcio" principalmente el amplio rango que abarcan las proteosomas peptonas del "caseinato" con miosina, miomesina, aldolasa y proteína C del jamón, seroalbumina del "caseinato" con tropomiosina del jamón y por último caseina- con el complejo enzimático de las proteínas sarcoplasmáticas con la cadena ligera de la miosina presentes en el jamón.

Las bandas de mayor resolución fueron las correspondientes a las proteosomas peptonas principalmente las de pesos moleculares de 91,580 D y 113,750 D de lo que se presupone que el extracto de "caseinato de calcio" empleado posee como mayor componente proteico este tipo de proteínas.

Electroforesis de jamones tipo adicionados con concentraciones conocidas de aislado proteico de soya y caseinato de calcio.

De los jamones tipo elaborados se observó que la composición promedio fué similar a la del jamón no adulterado, debido al tipo de técnica empleada. El análisis de varianza realizado a estos demostró que no existe diferencia significativa entre ellos, esto es lógico, ya que la proteína presente se evaluó a través del contenido de Nitrogeno (Micro Kjeldahl) (1) técnica que es incapaz de diferenciar entre tipos de proteína, además de ser un método poco sensible para bajos nfeles de adulteración. La Tabla 22 muestra la cantidad presente de proteína en cada uno de los jamones adulterados con soya y caseinato de calcio.

Estadsticamente se observó un 2.73%, como coeficiente de variación del análisis estadístico de varianza simple, lo cual representa una variación poco significativa en cuanto a la cantidad de proteína más no al tipo de la misma.

Tabla 22. Porcentaje de proteína en jamones adulterados

% Soya adicionado	% Total de proteína	% Caseinato adic.	% Total de proteína
0.5	16.85	0.5	17.42
1.0	16.83	1.0	17.28
1.5	16.95	1.5	16.35
2.0	17.32	2.0	18.01
3.0	18.10	3.0	17.51
4.0	17.24	4.0	17.10

Es en este sentido en donde la pirámide de calidad editada por SECOFI no cubre las necesidades específicas de identificación de proteína ya que se puede tener un jamón que cubra el porcentaje requerido de proteína pero no se detectaría si el total de dicho porcentaje corresponde estrictamente a proteína de origen cárnico o bien a la suma de esta más algún tipo de proteína adicionada, principalmente caseinato de calcio, no permitida por la norma oficial de calidad de jamón.

Se realizaron las pruebas electroforéticas, una vez obtenidos los extractos proteicos mediante la técnica establecida, y se reportan los patrones y perfiles promedio de lo que se observa lo que se discute a continuación.

Adulteración con aislado proteico de soya.

Los perfiles proteicos aparentes de los jamones a cada uno de los niveles de adulteración fueron contrastados con el perfil obtenido para el jamón sin adulterar. De aquí se presentó la variación en intensidad, como era de esperarse, en una forma proporcional a la adulteración de ciertas proteínas propias del jamón principalmente de aquellas cuyos pesos moleculares relativos promedio fueron 78620 D y 56950 D los cuales corresponden a troponina, tropomiosina y hemoglobina. El aumento de intensidad en estas bandas fué detectados con mayor facilidad a partir de la adición de soya en un 2% hasta hacerse totalmente evidente en la adición al 4% como puede observarse en la figura 9 página 69. Se realizó la comparación de los perfiles de los jamones adulterados con el perfil obtenido para el aislado proteico de soya y se pudo observar que la proteína posiblemente responsable del incremento gradual de intensidad en las bandas fué la α -Amilasa presente en la soya que se encuentra entre 55,000 - 65,000 D.

Por otro lado las bandas proteicas de jamón cuyos pesos moleculares se encuentran entre 20,000 - 25,000 D, correspondientes a la fracción ligera de la miosina, sufren un efecto inverso a la adulteración observándose la disminución de la intensidad conforme aumenta la proporción de adulterante dentro del jamón hasta desaparecer totalmente a partir del 3.0% de adición lo cual se debió posiblemente al efecto de dilución que va sufriendo la Globulina 2.3s de la soya dentro de los jamones con proteína de origen diferente al cárnico.

Adulteración con caseinato de calcio.

Los perfiles proteicos aparentes de los jamones adulterados con caseinato de calcio en sus distintos niveles también fueron comparados con el perfil proteico del jamón sin adulterar y

se observó que :

Las bandas correspondientes a la miosina, y sus fracciones (PM 200,000 - 400,000) permanecen constantes independientemente de la concentración de adulterante adicionado esta misma situación se presenta con la miomesina, aldolasa y proteína C.

Las bandas cuyos pesos moleculares son de 82,000 D y 125,000 D y en ocasiones algunas bandas cuyos pesos moleculares se encontraban entre 116,400 y 122,320 D, presentan un incremento de intensidad proporcional al incremento de adición de caseinato de calcio siendo esto más evidente a partir del 1.5 % de concentración en peso del adulterante como se observa en la figura 10, pag 69, realizando la comparación de los perfiles de jamones adicionados con caseinato de Calcio con el perfil patrón de "caseinato de calcio" se observó que las posibles causantes del enriquecimiento de las bandas hayan sido las proteínas proteicas peptonas en sus diferentes pesos moleculares principalmente aquellas que se encuentran dentro de estos rangos (116,400-122,320 D). Posiblemente la razón de aumento de concentración en algunas bandas eventuales pudo ser la forma en la que se distribuyó el caseinato de calcio, contenido en la salmuera de inyección, dentro de la pieza de jamón y como las muestra fueron tomadas de diferentes puntos de la pieza no se pudo observar perfiles completamente homogéneos para cada una de las repeticiones de los distintos lotes de jamones adulterados de prueba. Las bandas de bajos pesos moleculares como la hemoglobina, tropomiosina y las fracciones ligeras de la miosina comienzan a sufrir una disminución de intensidad hasta desaparecer totalmente a partir del 3.0 y 4.0 % de concentración de Caseinato de Calcio en la formulación.

Las proteínas que conforman el complejo enzimático constituyente del sarcoplasma de la carne también sufren disminución en intensidad a partir del 1.0% de adición de caseinato de calcio apareciendo eventualmente en algunos jamones cuya adición fué de 1.5 y 2.0 %.

Para los dos tipos de adulterantes se observó que en los perfiles protéicos obtenidos la intensidad de las bandas representantes de las proteínas de alto peso molecular presentaron

fluctuaciones en cuanto a intensidad, aún cuando aparecían en casi todos los geles obtenidos, y esto pudo haber sido consecuencia del lote de carne, el sitio de la pieza de jamón del cual se obtuvo la muestra y/o la efectividad de la digestión que sufrieron las proteínas en el momento de preparar las muestras para la prueba de electroforesis.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Con base en los resultados obtenidos del presente estudio, se puede decir que:

- La extracción proteica de las muestras debe realizarse por el método de Olivera (1990) modificada para efectos de este estudio.
- Para la correcta identificación de bandas proteicas en los geles, (las cuales tienden a mostrar cierta heterogeneidad en los diferentes lotes, aún cuando se han identificado bandeos constantes que indican adulteración sin importar el lote) es necesaria experiencia práctica por parte del analista buscando analizar siempre aquellos geles en los que la definición de las bandas sea la más clara posible.
- Las condiciones óptimas de corrida para la electroforesis son: Gel Separador acrilamida-bisacrilamida al 12.5% en amortiguador Tris-HCl 0.375M pH 8.8, Amortiguador de electrodo Tris-glicina 0.195M pH 8.3, durante 60 min a 20 mA con precorrida de 30 min.
- Las adulteraciones son reconocidas a partir de los bandeos correspondientes a las fracciones de globulina 7s (20-22.9 Kd), Hemaglutinina (11.7 Kd) y β -amilasa (57.4-61.7 Kd) para soya, y a las fracciones de proteosos peptonas (91.5-113.7 Kd) para caseinato de calcio.
- La técnica estandarizada de electroforesis es capaz de detectar la presencia de proteínas no cárnicas en la composición de embutidos tipo jamón cocido.
- La técnica propuesta es sencilla, debe resaltarse que el equipo utilizado no es de fácil acceso a un laboratorio común de control de calidad y que la precisión de los resultados

depende de un estricto control en las condiciones de trabajo experimental a fin de obtener resultados representativos que definan convenientemente las adulteraciones debidas al empleo de soya y caseinato de calcio.

Es recomendable que en estudios posteriores basados en los resultados obtenidos en este se determine:

- La presencia de proteínas de origen diferente al cárnico lo cual podría ser evaluado a través de la alteración en la relación albuminas/globulinas del producto, habría que establecer una técnica que permita evaluar de manera más rápida y sencilla la presencia de esta anomalía. Una posibilidad es la cuantificación a través del uso de una técnica modificada de verde de Bromocresol, para la determinación de la fracción de albumina y proteínas totales por el método de Bradford (debido a que la concentración obtenida para las proteínas de los extractos no es suficiente para ser detectada por el método normal de verde de Bromocresol y Biuret), ya que en los perfiles proteicos este cambio es observado.

- Un probable indicador de adulteración con soya sería determinación de la actividad remanente de β -amilasa a partir de un ensayo colorimétrico, ya que ésta enzima resiste las condiciones de producción del embutido y se ve enriquecida con el aumento del adulterante.

- Es necesario validar la técnica propuesta con un estudio de campo con lotes de jamones comerciales.

En suma se puede decir que la técnica propuesta para la determinación de proteína de origen no cárnico en embutidos tipo jamón es adecuada y ofrece las ventajas de ser aplicada a la determinación de adulterantes, de este tipo, en otro tipo de embutidos cuidando, obviamente, los métodos de extracción proteica para cada caso.

REFERENCIAS.

- 1.- A.O.A.C.(1980) *Official Methods of analysis / of the association of official analytical chemists*, Ed by Sidney Williams Arlington Virginia: Association of Official Analytical Chemists. Edición 40. 1141p.
- 2.- Amo Visier. (1980) *Industria de la carne, salazones y chalcinerías* A.E.D.O.S. Barcelona España. p.23-36
- 3.- Badui Dergal S. (1990) *Química de los alimentos*. Ed Alhambra México D.F. Segunda edición.
- 4.- Brauer Horst. (1988) *Producción de Jamón Cocido desde el punto de vista de la práctica*. División Técnica y laboratorio de Van Hess y Gewürzmühlen GmbH, Walluf. Fleischwitsch español (1) p.34-36.
- 5.- Eagan Harold, Ronald S.K., Ronald S.(1991) *Análisis químico de alimentos de Pearson*. Ed. CECSA México DF.
- 6.- Fox R. y Corral J. (1986) *Seminario sobre higiene de la carne*. Fud alimentos S.A. de C.V. Xalostoc Estado de México, p.1-15.
- 7.- Forrest J.M. (1979) *Fundamentos de la ciencia de la carne*. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- 8.-Frazier W.C. (1978) *Microbiología de los alimentos*. Ed. Acribia, Zaragoza, España. p 251-278.
- 9.-Frey Werney. *Fabricación Fiable de embutidos*. Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- 10.-Frey Werner. (1989) *Embutidos curados cocidos*. Die Fleischerei, no.3 Primera parte. p VI-VII
- 11.- Frey Werner. (1989) *Embutidos curados cocidos*. Die Fleischerei, no.6 segunda parte p.III-V.
- 12.- Frey Werner (1989) *Embutidos curados cocidos*. Die Fleischerei, no. 7 tercera parte p. III-V.

- 13.- Frey Werner (1989) *Embutidos escaldados*. Die Fleischerei octava parte. p. III-IV.
- 14.- Frye, C.B. L.W Hand, C.R Calkins, and R.W. Mandigo. (1986). *Reduction replacement of sodium chloride in a tumbled ham product*. J.F.S. vol(51), no.3 : 836-837.
- 15.-Galyen R.D. and O.J. Cotterill (1979) *Chromatography and electrophoresis of native and spray-dried egg white* J.F.S. Vol(44): 1345-1351
- 16.- Gerhardt-Widbad, Ulrich. (1988) *Productos Curados cocidos con excesivo contenido de agua*. Fleischerei, español, n° 1 p.30-33.
- 17.- González M.S. Peñalosa C.I. *Técnicas bioquímicas y químicas para determinación de compuestos*. E.N.E.P. - Iztacala. UNAM p. 429.
- 18.- Greiner S.P., Kellen G.J. and Carpenter D. *A rapid immunoturbidimetric Method for whey proteins in nonfat dry milk and buttermilk* J.F.S Vol (50): 1106-1109.
- 19.- Guardo Fransesco (1979) *Ultimos avances tecnológicos en la elaboración de jamón, paleta y lomo cocidos*. Centro de investigación Tecnológica de carnes. Buenos Aires, Argentina p 2-19.
- 20.-Heinz Weinling, Gutmacher E., Applet Claus, Kratsch Rudolf.(1973) *Tecnología práctica de la carne*. Ed. Acribia Zaragoza, España. p 109-118.
- 21.- Hoeffer Scientific Instruments.(1992) *Instructions SE 250-Mighty Small II Slab Gel Electrophoresis Unit*. San Francisco,California E.U. p.25.
- 22.- Hofman Klaus. (1988) *El pH una característica de calidad de la carne*. Instituto de Química y Física del departamento Federal de investigación en carnes, Kulbach. Fleischwirtsch. español, n° 1, p 13-18.
- 23.- Honikel, Karl O. (1988) *Capacidad de fijación de agua de la carne*. Instituto de Química y Física del departamento Federal de investigación en carnes, Kulbach. Fleischwirtsch. Español, n°1, p 3-12.
- 24.- Kramlich, Pearson and Tauber (1980) *Processed Meats*. 30ª impresión, AVI Publishing, West Conecticut. E.U. p 21-42.
- 25.-Laemli, V.K (1970) *Cleavage of structural proteins the assembly of the head of*

- bacteriophage T4*. : Nature Vol (227): 680-685.
- 26.-Lawrie, R.A. (1977) *La ciencia de la carne*. 2ª Edición española, Zaragoza, España. p 462-490.
- 27.- Lee Y.B., Rickaasrud E.C., Hagberg R.H. Forsythe. (1976) *Detection of various nonmeat extenders in meat products*. J.F.S Vol (41): 590-593.
- 28.- Mengana Calixto, Martinez E., Tournal R. *Bioquímica de la carne*. Ed Oriente, Santiago de Cuba p 9-124.
- 29.-Ockerman H. W., Plimton R.F., (1978) *Influence of shorttumbling, salt and phosphate on cured canned pork*. J.F.S. Vol(43): 878-881.
- 30.-Olivera Carrión M, Valencia M.E. (1990) *Detección y cuantificación de soja en productos cárnicos por electroforesis I. Estudio en sistemas modelo*. Rev. Agroquímica de los alimentos Vol (30/4): 509-517.
- 31.-Olivera Carrión M, Valencia M.E. (1990) *Detección y cuantificación de soja en productos no cárnicos por electroforesis II. Identificación e interferencia de otras proteínas diferentes a la soja*. Rev. Agroquímica de los alimentos de los alimentos Vol (30/4). 518-527.
- 32.-Rakosky Joseph (1989). *Protein Additives in foodservice preparations*. AVI Publishing New York p. 71-90, 141-184.
- 33.- Reichert Joachim E., Dagmar F. y Anner F. (1984) *Cohesión de las lonjas de jamón cocido*. Die Fleischerei, primera parte. p V-VIII.
- 34.- Reichert Joachim E., Dagmar F. y Anner F. (1984) *Cohesión de las lonjas de jamón cocido*. Die Fleischerei, segunda parte. p VII.
- 35.- Reid S.N. "Carragen" (1975) *Processed meat technology*. Noyes data Corporation. p 17-23.
- 36.- Rust R.E. (1973) *Meat Curing principles and modern practice*. Department of animal science Iowa State University p 4-30.
- 37.- Rust R.E. (1975) *Sausage and processed meats manufacturing*. A.M.I. Center for

continuing education. American Meat Institute. p 11-15.

38.- Rust R.E. and Olson, Dennis. (1988) *Tumbling and massaging revisited. Meat and Poultry*. p. 18

39.- SECOFI.(1982) *Norma Oficial Mexicana*. NOM-F-123-S-1982 Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial. p 1-6.

40.-SECOFI. (1990) *Piramide de calidad*. Secretaria de Patrimonio y Fomento Industrial. p 1-4.

41.- Siegel D.G., Theno G.R., Schmidh G.R., (1978) *Meat massing on cooking loss, binding strength and exudate composition in seccioned and formed ham*. J.F.S Vol(43) p 331-343.

42.- Sigma Chemical Company. *Biochemicals Organic Compounds for research and Diagnostic Reagents*. Sigma Chemical Company St Louis,MO USA 1994.

43.- Southgate

44.- Stauffer chemical company (1977) *Food Ingredients Division*. Westport Connecticut p. 10.

45.- Troeger Klaus y Woltesdorf Wolfgang (1988) *Deshuesado y obtención de carne caliente de cerdo II. Aptitud para el procesamiento*. Instituto de tecnología del Departamento Federal de Investigación de carnes, Kulmbach. Fleischwirtsch. español, n° 1 p 24-30.

TESIS SIN PAGINACION

COMPLETA LA INFORMACION

ANEXO I.

ANEXO I.

Montaje y preparación de geles en la celda para electroforesis Mighty Small II SE 250.

La celda para electroforesis Mighty Small II es una unidad miniatura de placas verticales para la realización de electroforesis rápidas de proteínas o ácidos nucleicos en muestras de volúmenes pequeños. Puede correr simultáneamente dos "sandwiches" de geles, tanto de agarosa como de poliacrilamida de 7x8 cm. Los geles de poliacrilamida son corridos usando los platos de cristal y alumina provistos en la unidad.

Partes constituyentes.

*Cámara superior de amortiguador.

*Cámara inferior de amortiguador.

*Corazón central.

*Tapa de montaje con cables.

*Platos de alumina con muesca.

*Platos rectangulares de cristal.

*Espaciadores.

*Abrazaderas.

*Silicón para sellar.

*Peines para pozos de muestra.

*Acetatos indicadores de pozos.

Montaje de la celda.

1.- Colocar silicón a lo largo del empaque o banana que se encuentra en la ranura en forma de U en los lados y parte inferior del corazón central, eliminando el exceso con un papel de limpieza.

2.- Colocar el plato de alumina sobre el corazón central encima de la banana en forma de U.

-Colocar los espaciadores encima del plato de alumina (con un poco de silicón) uno en cada

borde lateral del mismo.

-Colocar el plato de cristal limpio encima de los espaciadores.

3.- Tomar este ensamblaje (corazón, plato de alumina, espaciadores y cristal) con una mano manteniendolos juntos y colocar las abrazaderas a cada lado del ensamblado.

-Colocar una capa de durex en la parte inferior del ensamblado que abarque todos sus constituyentes para evitar la salida de los geles.

4.- Voltear la cámara y repetir las operaciones de 1 a 3 en el otro lado de la misma en el caso de que se vayan a correr dos geles simultáneamente.

Preparación de los geles.

Una vez montada la celda se procede a la preparación de los geles de poliacrilamida según las concentraciones deseadas, (pág.)

Gel tapón.

1.- En un tubo de ensayo colocar:

- 1.0 ml de acrilamida-bisacrilamida 30% pH 8.8
- 4.0 µl de persulfato de amonio 90%.
- 8.0 µl de TEMED (N'N'N'N' tetrametilendiamina).

2.- Inmediatamente agregar a la celda de electroforesis (espacio entre el plato de alumina y plato de cristal) 400 µl de la solución contenida en el tubo de ensayo, dejar polimerizar.

Gel Separador.

1.- En un matraz quitasatos colocar las cantidades descritas de acrilamida-bisacrilamida y amortiguadores de Tris-HCl en la pag según la concentración deseada del gel.

2.- Tapar el matraz y someterlo a vacío durante 2 min aproximadamente con el fin de eliminar la mayor cantidad posible de oxígeno contenido en la solución.

3.- Agregar 20 µl de TEMED y 40 µl de Persulfato de amonio 90% y agitar muy suavemente.

4.- Agregar ml a la celda arriba del gel tapón ya polimerizado.

5.- Adicionar 200-300 µl de alcohol etílico para asegurar que los geles queden derechos en la

parte superior, dejar polimerizar.

6.- Escurrir el alcohol etílico sobrante y enjuagar con agua destilada.

7.- Secar con un papel filtro el exceso de agua.

Gel concentrador.

1.- Colocar en un matraz quitasatos:

- 800 μ l de acrilamida-bisacrilamida pH 6.8 30%

- 5.2 ml de amortiguador Tris-HCl pH 6.8

2.- Tapar el matraz y someter a vacío durante 2 min aproximadamente.

3.- Agregar 20 μ l de TEMED y 40 μ l de Persulfato de amonio 90%

y agitar suavemente.

4.- Adicionar a la celda de electroforesis arriba del gel separador.

5.- Colocar los peines formadores de pozos y dejar polimerizar.

6.- Una vez polimerizado el gel extraer el peine.

7.- Eliminar el durex de la parte inferior del ensamblado en donde han sido montados los geles.

Pre corrida electroforética.

Una vez que han sido formados los geles para la electroforesis se monta la cámara en la celda contenedora de amortiguador de electrodo.

Posteriormente llenar la celda con amortiguador de electrodo pH 8.3 (0.025M tris y 0.192M glicina con 0.1% SDS) así como el espacio entre el corazón y el plato de alumina, colocar la tapa y conectar a la fuente de poder a 20 mA por gel durante 30 min.

Terminado el tiempo de la pre corrida retirar el amortiguador de electrodo de ambos sitios de la celda de electroforesis.

Colocación de muestras.

1.- Renovar el amortiguador de electrodo en los mismos sitios de la celda en los que se colocó para la pre corrida.

- 2.- Colocar el acetato indicador de pozos en la parte externa de los platos de cristal.
- 3.- Colocar los μ l de muestra necesarios en cada uno de los pozos mediante el empleo de una microjeringa de 10 μ l.
- 4.- Colocar la tapa y conectar a la fuente de poder a 20 mA por gel durante 1h aprox.
- 5.- Terminado el tiempo necesario para la electroforésis desmontar la celda y separar los geles para colocarlos en Isopropanol 25%/Ac acético 7% aqu. para fijar las protefmas al gel separador durante un tiempo aproximado de 2h.

Tinción con azul de Coomassie.

- 1.- Retirar los geles de la solución de isopropanol y someterlos a una solución de azul de coomassie al 0.125% en metanol:ac.acético:agua. (62.5ml sln azul de coomassie R250, 250ml metanol absoluto, 50ml Ac acético glacial, 137.5ml Agua destilada) con agitación a 50 rpm durante 1 h.
- 2.- Retirar el colorante y agregar 150ml de solución desteñidora I (500ml Metanol absoluto, 100ml de Ac acético glacial y 400ml de agua destilada) con agitación a 50rpm durante 1h.
- 3.- Retirar la solución desteñidora I y agregar 150ml de solución desteñidora II (70ml metanol absoluto, 50ml Ac acético glacial, 880ml agua destilada) con agitación a 50 rpm durante 1h.
- 4.- Retirar la solución desteñidora II y colocar los geles en agua destilada.
- 5.- Almacenar los geles en un recipiente con agua destilada, hermeticamente cerrado y en refrigeración.

ANEXO II.

ANEXO II.

PIRAMIDE DE CALIDAD.

Como breve introducción la pirámide de calidad para jamón fué establecida por la Secretaría de Salud (S.S.) y por la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI). Dichas Secretarías querían ofrecer por mediación de la Industria Cárnica y en colaboración con la Camara Nacional de la Industria de la Transformación (CANACINTRA), al consumidor un producto de calidad a un precio asequible (1990).

Establecido por parte de la S.S. la calidad del producto y por parte de la SECOFI el precio, el cual era controlado en base al contenido de proteína del producto.

Dicha pirámide fué adoptada por todos los empacadores y fabricantes de carnes frías.

Debido a la competencia del mercado interno y a la competencia extranjera, originó que la SECOFI liberara sus precios respetándose ahora solamente el contenido proteico del producto.

A continuación se mencionan los acuerdos a los que se llegaron para poder realizar la pirámide de calidad para jamón.

ACUERDOS.

1.- Las partes firmantes consideran necesario establecer mecanismos que coadyuven al reordenamiento actual del mercado en términos de calidad y precio, que habrá de definir las características de calidad por tipo de jamones.

2.- Las empresas fabricantes de carnes frías y embutidos se comprometen a elaborar y comercializar en el mercado nacional jamones observando las disposiciones que establece el reglamento sanitario vigente en materia de composición microbiológica, de acuerdo con las calidades y tipos que se determinan en la siguiente tabla de especificaciones:

PIRAMIDE DE CALIDAD PARA LA COMERCIALIZACION DE JAMONES.

GRADO DE CALIDAD	PROTEINA		FECULA	
	ANIMAL	ADIC.*		%MAX
	%mín	%máx.		
Extrafino	18	0	0	
Fino	16	0	0	
Preferente	14	0	0	
Económico	12	2	0	
Intermedio	11	2	0	
Popular	10	0	7	

*Adicionada vegetal o animal.

3.- Los fabricantes se obligan a que todas sus envolturas indiquen en forma visible y ostensible las especificaciones relativas al contenido de proteínas, féculas señalados en la pirámide de calidad para la comercialización de jamones.

4.- El grado de calidad de los jamones se indicará en la superficie principal de exhibición en la envoltura o empaque del producto.

5.- Las empresas se comprometen a celebrar contratos permanentes con los laboratorios que defina SECOFI, para que sus productos sujeten a los análisis procedentes, a fin de determinar el contenido de proteínas y féculas del producto y establecer por esta vía las certificaciones del grado de calidad que corresponda.

6.- El incumplimiento por parte de las empresas fabricantes de los acuerdos señalados en la presente concertación será sancionado por las Secretarías de Comercio y Fomento Industrial y de Salud en los términos que señala la Ley Federal de Protección al Consumidor, y el reglamento de la Ley General de Salud, respectivamente.

Lo anterior es con el objeto de instrumentar las medidas necesarias que permitan mantener un abasto suficiente y oportuno al consumidor.

Pirámide de calidad para jamón. SECOFI, S.S. 1990.

ANEXO III.

**SECRETARIA DE PATRIMONIO
Y
FOMENTO INDUSTRIAL**

**NORMA OFICIAL MEXICANA
NOM-F-123-1982**

**ALIMENTO-JAMON COCIDO-ESPECIFICACIONES.
FOODS-COOKED HAM-SPECIFICATIONS.**

DIRECCION GENERAL DE NORMAS.

ANEXO III.

0 INTRODUCCION.

Las especificaciones que se establecen en esta norma sólo podrán satisfacerse cuando en la elaboración del producto se utilicen materias primas e ingredientes de calidad sanitaria, se apliquen buenas técnicas de elaboración, se realicen en locales e instalaciones bajo condiciones higiénicas, que aseguren que el producto es apto para el consumo humano de acuerdo con el Código Sanitario de los Estados Unidos Mexicanos, sus reglamentos y demás disposiciones de la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION.

Esta Norma Oficial Mexicana establece las especificaciones que debe cumplir el producto alimenticio denominado "Jamón cocido".

2 REFERENCIAS.

Esta Norma se complementa con las vigentes de las siguientes Normas Oficiales Mexicanas:

NOM-F-66-S Determinación de cenizas en alimentos.

NOM-F-68-S Alimentos-Determinación de proteínas.

NOM-F-83 Determinación de humedad en productos alimenticios.

NOM-F-89-S Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos.

NOM-F-97-S Determinación de nitritos en embutidos.

NOM-F-253 Cuenta de bacterias mesofílicas aerobias.

NOM-F-285 Muestreo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

NOM-F-286 Preparación y dilución de muestras de alimentos para análisis microbiológicos.

NOM-F-304 Método general de investigación de *Salmonella*, en alimentos.

NOM-F-310 Determinación de cuenta de *Estafilococos Aureo*, coagulasa positiva, en alimentos.

NOM-F-318 Determinación de nitratos en embutidos.

NOM-F-320 Determinación de fosfatos en embutidos.

NOM-Z-12 Muestreo para la inspección por atributos.

3 DEFINICIONES.

Para los efectos de esta Norma se establecen las siguientes definiciones:

3.1 Jamón Cocido.

Es el producto alimenticio preparado con la carne de las piernas traseras de cerdos sanos, sacrificados bajo inspección sanitaria. Las piernas deben ser recortadas en forma especial, se debe excluir la carne maltratada, además de quitar todos los huesos y dejar prácticamente libre de cartílagos, tendones, ligamentos sueltos y tejidos conjuntivos. Sometida a curación (véase 3.2) y cocimiento (véase 3.3).

El producto final debe ser empacado y refrigerado.

3.2 Curación.

Es la aplicación de salmuera preparada con una mezcla de sal, nitrito de sodio, adicionado o no de aditivos (véase 5.5), al jamón. La carne almacenada en refrigeración entre 273 y 278 °K (0 y 5 °C) pasa a su curación, a temperaturas entre 276 y 284 °K (3 y 11 °C), por tiempo necesario según técnica empleada.

3.3 Cocimiento.

Es el que se efectúa al producto en condiciones de tiempo y temperatura necesarias dependiendo del tamaño y forma del jamón de tal manera que se logre un cocimiento completo del producto, siendo la temperatura interna mínima de 341 °K (68 °C), a una presión de 767 mm de mercurio.

4 CLASIFICACION Y DESIGNACION DEL PRODUCTO.

El producto objeto de esta Norma se clasifica en un sólo tipo y en un sólo grado de calidad.

5 ESPECIFICACIONES.

El producto objeto de esta Norma debe cumplir con las siguientes especificaciones:

5.1 Sensoriales.

Color : Rosado característico.

Olor : Agradable característico, exento de olores extraños.

Sabor : Agradable, característico, exento de sabores extraños

Consistencia: Firme, compacta y el aspecto del producto al rebanarse debe ser terso.

5.2 Físicas y Químicas.

Los jamones deben cumplir con las siguientes especificaciones físicas y químicas anotadas en la tabla 1.

TABLA 1

ESPECIFICACIONES	MINIMO	MAXIMO
Humedad %	N.R	74
Grasa %	N.R	15
Prot. animal %	16	

5.3 Microbiológicas.

5.3.1 El producto objeto de esta norma no debe contener microorganismos patógenos, toxinas microbianas, antibióticos ni otras sustancias tóxicas que puedan afectar la salud del consumidor o provocar deterioro del producto.

5.3.2 El jamón cocido debe cumplir con las especificaciones microbiológicas anotadas en la tabla 2.

TABLA 2

ESPECIFICACIONES	Col/g Máximo.
Mesofílicas aerobias	100 000
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000
<i>Salmonella</i> en 25g	Negativo

5.4 Materia extraña objetable

El producto objeto de esta norma debe estar libre de: fragmentos de insectos, pelos, y excretas de roedores, así como de cualquier otra materia extraña.

5.5 Aditivos alimentarios

Se permite el uso de los siguientes aditivos y otros dentro de los límites autorizados por la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

5.5.1 Oxidantes.

Nitrito de sodio máximo en producto terminado (156 ppm)

5.5.2 Antioxidantes

Ascorbato y/o Eritorbato de sodio, mínimo 0.5 %

5.5.3 Estabilizadores.

Polifosfato de sodio y/o de potasio, máximo agregado 0.7%. Expresado como P_2O_5 máximo agregado 0.3%.

5.5.4 Condimentos, especias y saborizantes.

Todas las especias naturales y los condimentos preparados a base de mezclas de ellos y/o sus extractos y/o sus aceites esenciales, (Glucosa [dextrosa], sacarosa, lactosa y fructosa), sal, glutamato monosódico, proteínas vegetales hidrolizadas (PVH).

5.6 contaminantes químicos

El producto objeto de esta norma debe estar libre de contaminantes químicos en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud. Los límites máximos para estos contaminantes quedan sujetos a lo que establezca la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

6 MUESTREO.

6.1 Cuando se requiera el muestreo del producto, está podrá ser establecido este podrá ser establecido de común acuerdo entre productor y comprador, recomendándose el uso de la Norma Oficial Mexicana NOM-Z-12 (véase 2)

6.2 Muestreo oficial

El muestreo para efectos oficiales estará sujeto a la legislación y disposiciones de la Dependencia Oficial correspondiente.

7 METODOS DE PRUEBA.

para verificación de las especificaciones físicas, químicas y microbiológicas que se establecen en esta Norma, se deben aplicar la Normas Oficiales Mexicanas que se indican en el capítulo de referencias (véase 2).

8 MARCADO, ETIQUETADO Y ENVASE

8.1 Marcado y etiquetado.

8.1.1 Marcado en el envase o etiqueta

Cada envase del producto debe llevar una etiqueta o impresión permanente, visible e indeleble con los siguientes datos:

- Denominación del producto, conforme a la clasificación de esta norma.
- Nombre o marca comercial, pudiendo aparecer el símbolo del fabricante.
- La leyenda "Contenido Neto" de acuerdo con las disposiciones vigentes de la Secretaría de Comercio.

En presentación a granel debe aparecer la siguiente leyenda, en lugar de "Contenido Neto":

"Este producto se vende a granel, sírvase pesar en presencia del consumidor al momento de su venta".

- Lista completa de ingredientes en orden de concentración decreciente, incluyendo los aditivos, porcentaje y su función.
- Texto de las siglas Reg. S.S.A No. _____ "A", debiendo figurar en el espacio en blanco el número de registro correspondiente.
- Nombre o razón social y del fabricante.
- Las leyendas "HECHO EN MEXICO" y "CONSERVE EN REFRIGERACION".
- Otros datos que exija el reglamento respectivo o disposiciones de la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

8.1.2 Lote o fecha de fabricación en clave

Debe ir en una etiqueta adicional dentro del envase, optativamente puede ir marcado en el mismo.

8.2 Envase

El producto objeto de esta norma, se debe envasar en un material resistente e inocuo que garantice la conservación del mismo, que evite su contaminación y no altere su calidad ni sus especificaciones.

9 ALMACENAMIENTO

El producto terminado debe almacenarse en refrigeración y en locales que reúnan los requisitos que señala la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

APENICE A.

A.1 Esta Norma Oficial Mexicana debe ser sometida a rvisión a los seis meses posteriores a la fecha de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

10 BIBLIOGRAFIA.

- Microbiología de los alimentos.
W.C. Frazier.
Ed. Acribia Zaragoza.
- Practical Food Microbiology and Technolgy.
Harry H. Weiser.
The AVI Publishing Company Inc.
- Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.)
- Code federal Regulations 21 Food and Drugs 1977.
- The Chemical Analysis of Foods.
David Pearson.
- The Science of Meat and Meat Products.
J.F. Price
B.S. Schweigert

W.H. Freeman and Company

- **Processed Meats.**

W.E. Kramlich.

A.M. Pearson

F.W. Tauber.

The AVI Publishing Company Inc.

- **Prepared Meat Product Manufacturing.**

Donald S. Mackenzie.

American Meat Institute.

Edwards Brothers, Inc.

- **Técnicas de Análisis de laboratorio, de la Dirección General de Laboratorios de Salud Pública.**

Naucalpán de Juárez, Edo. de México; a 29 Nov 1982.

**EL DIRECTOR GENERAL DE CONTROL
DE ALIMENTOS, BEBIDAS Y MEDICA-
MENTOS DE LA SECRETARIA DE SA-
LUBRIDAD Y ASISTENCIA.**

**EL DIRECTOR GENERAL DE
NORMAS COMERCIALES DE LA
SECRETARIA DE COMERCIO.**

LIC. ARMANO VAZQUEZ GALVAN

LIC. HECTOR V. BAYARDO M

EL DIRECTOR GENERAL DE NORMAS

GLA/EEPPR/JLCH/cbp DR. ROMAN SERRA CASTAÑOS.

ANEXO IV.

BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA.

Los cambios que se están dando en el ámbito comercial y económico y la necesidad de mejorar el nivel de vida de la población, han demandado la adecuación de los sistemas de control sanitario de bienes y servicios, para efectivamente minimizar el riesgo para la salud en el manejo, uso y consumo de los productos, así como crear una cultura de calidad tanto en los empresarios y los consumidores, como en el personal encargado de verificar la calidad sanitaria de los mismos, a fin de fomentar el mejoramiento del nivel de vida del mexicano.

la aplicación de prácticas adecuadas de higiene y sanidad, en el manejo de alimentos y bebidas, reduce significativamente el riesgo de intoxicaciones a la población consumidora, lo mismo que las pérdidas del producto, al protegerlo contra contaminaciones contribuyendo a formarle una imagen de calidad y, adicionalmente, a evitar al empresario sanciones legales por parte de la autoridad sanitaria.

El manual de buenas prácticas de higiene incluye recomendaciones generales para ser aplicadas en los establecimientos dedicados a la obtención, elaboración, fabricación, mezclado, acondicionamiento, envasado, conservación, almacenamiento, distribución, manipulación y transporte de alimentos y bebidas, de tabacos, productos de limpieza, de perfumería y belleza así como de materias primas y aditivos, a fin de reducir los riesgos para la salud de la población consumidora.

Dentro de los rubros que deben de tomarse en cuenta para llevar a cabo unas correctas prácticas de manufactura se engloban los siguientes.

Personal.

- Enseñanza de la higiene
- Consideraciones generales
- Visitantes
- Enfermedades contagiosas
- Exámen médico

Instalaciones físicas.

- Vías de acceso

- Pisos
- Edificios
- Pisos
- Pasillos
- Paredes
- Techos
- Ventanas
- Puertas
- Rampas y escaleras

Instalaciones sanitarias.

- Inodores
- Vestidores y duchas
- Instalaciones para lavarse las manos en zonas de producción
- Instalaciones de desinfección.

Servicios a planta.

- Abastecimiento de agua
- Drenaje
- Iluminación
- Ventilación
- Recipientes para la basura
- Ductos

Equipamiento.

- Equipo y utensilios
- Materiales
- Mantenimiento
- Recomendaciones específicas para un buen mantenimiento sanitario.

Operaciones

- Materia prima
- Proceso

-Prevención de la contaminación cruzada

-Envasado

-Almacenamiento

-Transporte

-Evaluación de la calidad

Control de plagas.

-Consideraciones generales

-Como entran las plagas a una planta

-Formas de controlar las plagas

.Insectos

.Roedores

.Pajaros

Limpieza

-Principios generales

-Programas de inspección e higiene

-Personal

-Precauciones

-Métodos de limpieza

-Clasificación de detergentes

-Eliminación de capas de grasa

-Remoción de partículas de suciedad

-Prevención de depositos petrificados

-Secado después de la limpieza

Desinfección

-Consideraciones generales

-Técnicas de desinfección

-Clasificación de desinfectantes

-Verificación de la eficacia de los procedimientos.