

300627
10
2ej



UNIVERSIDAD LA SALLE

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

ELABORACION DE UN EMBUTIDO TIPO
SALCHICHA CON BAJO CONTENIDO
EN COLESTEROL

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
ARACELI CORRAL SANCHEZ

DIRECTOR DE TESIS:
M.C. CONSUELO LOBATO CALLEROS

TESIS CON
VALIA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1992



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.

Agradecimientos.....	
Lista de Cuadros.....	5
Lista de Figuras.....	6
1. Introducción.....	8
2. Objetivos.....	12
3. Generalidades.....	13
3.1 Descripción y Propiedades del Colesterol.....	13
3.2 Metabolismo del colesterol.....	14
3.2.1 Papel de las Lipoproteínas.....	16
3.2.2 Metabolismo de los Triglicéridos.....	18
3.3 Mortalidad por enfermedades del Aparato Circulatorio.....	19
3.3.1 Estudios Estadísticos acerca de la Frecuencia de la Enfermedad Coronaria.....	21
3.4 Descripción y Producción de Embutidos.....	21
3.4.1 Procesos fisicoquímicos en la elaboración de un embutido tipo salchicha.....	24
3.4.2 Preparación de la Emulsión en salchichas.....	24
3.4.3 Materia Prima utilizada en la elaboración de Embutidos	
3.4.3.1 Carne.....	28
3.4.3.2 Grasa.....	28
3.4.3.3 Agua.....	30
3.4.3.4 Aditivos.....	31

3.5 Descripción de Métodos Tradicionales para Cuantificar Colesterol	
4. Materiales y Metodos	40
4.1 Desarrollo de una técnica de cuantificación de colesterol adecuada para productos cárnicos, a través de las técnicas de colorimetría y cromatografía	40
4.1.1 Selección de los métodos de saponificación y extracción de la fracción insaponificable en productos cárnicos	40
4.1.2 Elección de las condiciones en el Cromatógrafo de Gases necesarias para cuantificación de colesterol	41
4.1.3 Determinación de la curva de calibración de colesterol por Cromatografía de Gases.....	42
4.1.4 Selección de la técnica enzimática- colorimétrica para el análisis de colesterol	42
4.1.5 Determinación de la curva de calibración de colesterol mediante colorimetría	43
4.2 Cuantificación de Colesterol en materia prima	43
4.3 Elaboración de una salchicha con bajo contenido en colesterol	45
4.3.1 Elaboración de formulaciones para salchicha en las que la fracción grasa animal sea sustituida gradualmente por manteca vegetal	46
4.3.2 Adecuación del proceso tradicional utilizado en la elaboración de salchichas para el logro de una mejor integración de la grasa vegetal a la emulsión	47
4.4 Formulación de una pasta para salchicha con una fracción cárnica constituida por carne de aves en un 100%.....	48

4.5 Análisis efectuados a las salchichas de las diferentes formulaciones	
4.5.1 Prueba de Emulsificación.....	50
4.5.2 Evaluación Sensorial.....	50
4.5.3 Cuantificación de Colesterol	51
4.5.4 Análisis bromatológico y microbiológico.....	51
5. Resultados y Discusión	52
5.1 Extracción de la Fracción Insaponificable.....	52
5.2 Condiciones del Cromatógrafo de Gases en la Cuantificación de Colesterol	52
5.2.1 Curva de calibración de colesterol por Cromatografía de Gases	55
5.3 Selección de la técnica Enzimática-Colorimétrica para el análisis de colesterol	56
5.3.1 Curva de Calibración de Colesterol por Colorimetría.....	57
5.4 Formulación de una pasta para salchicha con una Fracción Cármica constituida por carne de aves en un 100%.	59
5.5 Adecuación del Proceso Tradicional utilizado en la elaboración de la salchicha para el logro de una mayor integración de la grasa vegetal a la emulsión	61
5.6 Análisis efectuados a las salchichas de las diferentes formulaciones	
5.6.1 Prueba de Emulsificación.....	62
5.6.2 Cuantificación del Colesterol	62
5.6.2.1 Comparación del método colorimétrico respecto al cromatográfico	63

5.6.3 Evaluación Sensorial.....	65
5.6.4 Análisis Bromatológico.....	66
5.6.5 Análisis Microbiológico.....	67
6. Conclusiones	68
7. Bibliografía	70

LISTA DE CUADROS

Página

1. Principales Tipos de Lipoproteínas Plasmáticas Humanas y Principales Lípidos que las transportan	17
2. Riesgo Atribuible a los Factores de Riesgo para Enfermedad Aterosclerosa Coronaria.....	21
3. Producción, Exportación e Importación de Embutidos en México.....	22
4. Datos de Exportación e Importación de Embutidos.....	23
5. Condiciones del Cromatógrafo.....	24
6. Composición en Acidos Grasos de Manteca Vegetal y Lardo de Cerdo.	44
7. Formulaciones Propuestas.....	45
8. Especies empleadas en la Formulación	46
9. Relación Comparativa entre los Cromatógrafos	53
10. Valores de Colesterol en Materia Prima	58
11. Composición Proteína PP500E	61
12. Valores de Colesterol en Productos.....	62
13. Comparación del método colorimétrico respecto al enzimático	63
14. Análisis de Varianza y Prueba de Tukey.....	65
15. Análisis Bromatológico.....	66
16. Análisis Microbiológico.....	67

LISTA DE FIGURAS.

1. Estructura del Colesterol.....	14
2. Renovación del Colesterol Orgánico.....	15
3. Representación Esquemática de una Emulsión Cármica.....	26
4. Reacción de Formación de Óxido Nítrico	33
5. Procedimiento para Cuantificar Colesterol.....	38
6. Reacción colorida susceptible a Interpretación Colorimétrica.....	49
7. Curva de Calibración del Colesterol por Cromatografía de Gases	55
8. Curva de Calibración de Colesterol por Colorimetría	57
9. Cromatograma obtenido de la salchicha con bajo contenido en Colesterol	64

I. INTRODUCCION

Durante la primera mitad de este siglo, las principales causas de muerte del ser humano fueron consecuencia de infecciones como tuberculosis, neumonías, salmonelosis y otras enfermedades de alta virulencia. Por el advenimiento de la terapéutica antibacteriana de gran capacidad curativa, constituida por las sulfonamidas, antibióticos y sus derivados sintéticos, la duración de la vida se amplió en forma notable y así, en las últimas cuatro décadas, las enfermedades cardiovasculares y los padecimientos tumorales sustituyeron a las infecciones como causas más frecuentes de mortalidad en el adulto y en el anciano. Quedan excluidos de estas precisiones, los grupos sociales de pobreza extrema en los que la desnutrición y sus consecuencias acortan la duración de la vida de modo que el tiempo no es suficiente para que este último grupo de enfermedades tengan manifestaciones evidentes.

Estudios estadísticos han mostrado la existencia de factores que aumentan el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, estos factores son: edad, sexo masculino, hipertensión, tabaquismo, hiperglicemia, colesterol plasmático de las lipoproteínas de alta y baja densidad (HDL y LDL). Otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular se consideran secundarios, como el exceso de peso, la vida sedentaria, antecedentes familiares de cardiopatías antes de los 65 años de edad, tensiones emocionales y la existencia de determinado tipo de personalidad. (13).

En la actualidad y por lo antes mencionado, existe una tendencia general a disminuir la ingestión de colesterol y ácidos grasos en la dieta, mucho más acentuada en portadores ya sea de cardiopatía isquémica, ó de otros factores de riesgo y en pacientes obreros o con trastornos del metabolismo de lípidos. Aparecen en la actualidad multitud de productos en los que se ha restringido el contenido de grasas animales.

El colesterol, factor de riesgo en enfermedades cardiovasculares, interviene en la formación de aterosclerosis, término que usó por primera vez Marchand en 1904, para referirse a enfermedades arteriales.

Se llama aterosclerosis a la presencia de sustancias constituidas por gran cantidad de lípidos que se depositan en forma de placas en la pared interna de las arterias. Debe distinguirse de la arterioesclerosis, que se refiere al engrosamiento y rigidez de la pared interna de los vasos en forma concéntrica y difusa, a diferencia de las lesiones ateroscleróticas, que son focales y excéntricas. Los lípidos implicados en la formación de estas lesiones, son los mismos que circulan por el plasma sanguíneo, principalmente fosfolípidos, colesterol libre y esterificado y triglicéridos. El material graso que se deposita en las paredes de los vasos sanguíneos recibe el nombre de ateroma .

El daño en la superficie vascular constituye un obstáculo al libre flujo de la corriente sanguínea, también propicia la acumulación de ciertos elementos figurados de la sangre que terminan por formar coágulos. Por otra parte, el depósito estrecha la luz de los vasos y limita el aporte sanguíneo. La trombosis puede bloquear completamente una arteria pequeña u otra cuyo volumen ha sido estrechado por el ateroma. Cuando tal bloqueo ocurre en las pequeñas arterias coronarias que riegan el músculo cardíaco, se habla de trombosis coronaria.

Un ejemplo de alimentos de consumo diario con elevado contenido en grasas saturadas, incluyendo colesterol, lo constituyen los embutidos, no obstante constituyen un grupo importante dentro de los productos cárnicos ya que mediante su elaboración las materias primas adquieren mejor sabor, variabilidad en cuanto a presentación y una prolongada vida de anaquel, características que han hecho que su demanda mundial aumente anualmente (21).

En la clasificación general de embutidos se encuentran los escaldados y , entre estos, la salchicha. Su preparación consiste en la mezcla de carne de res y/o cerdo, lardo, hielo, sales de cura, sazónadores e ingredientes emulsificantes y ligantes. Para lograr la formación de una emulsión estable, se debe seleccionar la materia prima con base en sus propiedades funcionales y determinar las condiciones del proceso que permitan la obtención de un producto con las características deseadas.

Debido a que el colesterol representa un factor de riesgo importante en el padecimiento de enfermedades cardiovasculares, en la actualidad existe una tendencia general a disminuir su ingestión al igual que la de ácidos grasos. Estas restricciones en la dieta son mucho más acentuadas en personas portadoras de cardiopatía isquémica, de otros factores de riesgo o con trastorno de metabolismo de lípidos. Lo anterior ha generado la aparición de productos en el mercado en donde el contenido de grasas animales ha sido limitado.

En países en desarrollo como el nuestro, es deseable el desarrollo de tecnologías que permitan la obtención de alimentos bajos en grasas saturadas, destinados a resolver carencias o sustituir importaciones y proporcionar dietas adecuadas a personas con restricciones habituales.(4).

En este trabajo se propone la elaboración de un embutido con bajo contenido en grasas animales, cuyos componentes sean debidamente dosificados y pueda ser consumido por la población con fines preventivos de salud.

2. OBJETIVOS

- 1) Obtener una salchicha de bajo contenido en colesterol con una aceptación comparable a una preparación estandar comercial.**
- 2) Determinar la formulación del embutido que permita sustituir la mayor cantidad de carne y grasa de cerdo por carne de ave y grasas vegetales sin detrimento de sus cualidades sensoriales.**
- 3) Establecer el método analítico adecuado para la cuantificación de colesterol en productos animales.**

3. GENERALIDADES

3.1. DESCRIPCION Y PROPIEDADES DEL COLESTEROL

El colesterol fue descrito por primera vez en la segunda mitad del siglo XVIII por De Fourcroy (1789), quién lo aisló a partir de calculos biliares. Es el principal esteroide de animales superiores, se encuentra principalmente en espina dorsal y en grasas y aceites animales. Su punto de fusión es de 148.5 °C, es insoluble en agua y muy soluble en soluciones alcohólicas, éter, cloroformo y piridina (9).

El colesterol es un compuesto metabólico de origen animal, componente de la membrana celular, precursor de sales biliares, vitamina D y hormonas esteroides. Químicamente está constituido por un núcleo central sintetizado a partir del ácido acético, producto terminal en la degradación de ácidos grasos. Su estructura se muestra en la Figura 1.

Es el más importante de los compuestos clasificados como esteroides. Se encuentra prácticamente en todas las células animales, siendo componente esencial de la membrana plasmática. Las fuentes dietéticas de colesterol, que alcanzan a ser de 500 a 750 mg. diarios en el adulto, son principalmente lípidos de productos animales como carnes, hígado, huevo leche, etc.

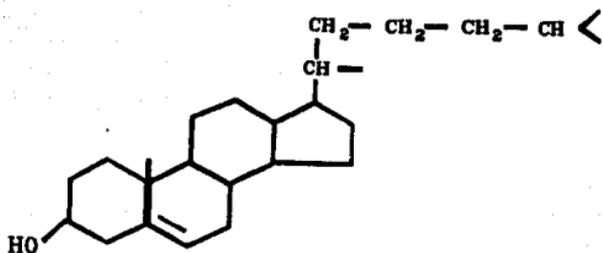


Fig. 1. Estructura del Colesterol.

3.2. METABOLISMO DEL COLESTEROL.

El organismo humano obtiene colesterol mediante dos vías, una endógena que consiste en su biosíntesis a partir del ácido acético, producto terminal de la degradación de ácidos grasos, y una exógena, a través de la ingestión de grasas de origen animal. El colesterol que proviene de los alimentos es una mezcla de colesterol libre y esterificado con ácidos grasos .

Los diversos factores que influyen en la renovación del colesterol orgánico se ilustran en la figura 2:

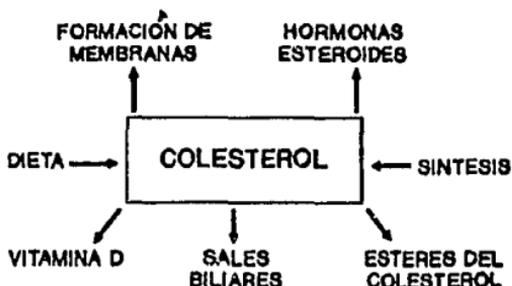


Fig. 2. Renovación del Colesterol Orgánico

Se estima que casi el 50% de la producción diaria de colesterol es convertida en ácidos biliares y segregada como sales biliares en la bilis, por lo que en su mayoría se reabsorbe. Parte del resto de la necesidad diaria de colesterol, estimada en 0.5 a 1 gr. por día, es utilizada para la formación de hormonas esteroideas (unos 40 mg. diarios), membranas celulares y vitamina D en la piel, como se observa en el diagrama. Todo exceso de colesterol de aproximadamente 750 a 1250 mg. diarios en el adulto normal se excreta en la bilis y el tracto intestinal. Una parte es reducida por microorganismos intestinales a coprostanol y colestanol. Estos tres lípidos constituyen por ende, la mayor parte de los esteroides fecales.

Una pequeña cantidad de colesterol, aproximadamente 50 mg. diarios en el adulto, es excretada también a nivel de superficie cutánea como células descamadas, sudor y secreciones sebáceas.

3.2.1. Papel de las lipoproteínas.

Dado que los lípidos son insolubles en un medio acuoso, su transporte en el plasma sanguíneo plantea un problema especial. Después de su síntesis, principalmente en el hígado, el colesterol libre se esterifica en la posición C3-OH con ácidos grasos de cadena larga, por lo general ácido linoléico. Más tarde, esos ésteres de colesterol son integrados en el interior de vesículas lipídicas cuya monocapa externa está constituida de fosfolípidos y colesterol no esterificado. Las porciones hidrofóbicas de la monocapa lipídica se orientan hacia el interior oleaginoso de los ésteres de colesterol. Las cabezas polares hidrofílicas de los lípidos de la monocapa están expuestas en la superficie de la partícula, permitiendo a ésta solvotarse en el agua. Cuando las proteínas se asocian con la vesícula al embeberse en la vaina lipídica externa de ésta, la estructura resultante se denomina complejo lipoprotéico. Según la proporción de lípidos y proteínas, y de la naturaleza del lípido implicado, se forman complejos de diferente densidad: lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, "very low density lipoproteins"), lipoproteínas de baja densidad (LDL, "low density lipoproteins"), y lipoproteínas de alta densidad (HDL, "high density lipoproteins"), como se muestra en el siguiente cuadro:

CUADRO 1 . Principales Tipos de Lipoproteínas Plasmáticas Humanas y Principales Lípidos que las transportan.

LIPOPROTEINAS	LÍPIDO PRINCIPAL TRANSPORTADO
Quilomicrones	Triglicéridos (intestinales)
Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).	Triglicéridos (del hígado)
Lipoproteínas de baja densidad (LDL).	Colesterol endógeno
Lipoproteínas de alta densidad (HDL).	Colesterol

El contenido relativamente elevado de triglicéridos en los quilomicrones y las VLDL , es un reflejo del importante papel que juegan en el transporte de triglicéridos del intestino al hígado y de éste a otros tejidos. Existen evidencias que indican que las LDL se forman a partir de la fracción VLDL por remoción de triglicéridos (33).

El contenido marcadamente mayor de colesterol en las fracciones LDL y HDL está de acuerdo con sus principales funciones en el transporte de colesterol, principalmente esterificado. Aproximadamente el 70% de colesterol plasmático está contenido en la fracción LDL. Las HDL parecen servir particularmente para remover el colesterol de las células periféricas y transportarlo de nuevo al hígado, donde se elimina alrededor del 95% excretado por el organismo. Existe cierta evidencia de que las HDL compiten realmente por los sitios de fijación celular de las LDL, impidiendo así el depósito de los ésteres de colesterol en las células (8).

3.2.2. Metabolismo de los triglicéridos.

Durante el transporte desde el lumen hasta el sistema linfático, los ácidos grasos libres con cadenas más largas de 10 carbonos son resintetizados a triglicéridos, por la vía del monoglicérido o por la del L-glicerofosfato.

En la primera vía, el 2- monoglicérido actúa como aceptor de los ácidos grasos activados y en la segunda es el L-glicerofosfato, que se convierte en ácido fosfatídico y puede pasar tanto a triglicéridos como a fosfolípidos.

Los triglicéridos que se sintetizan en el epitelio intestinal durante la absorción de las grasas, se segregan en la linfa en forma de quilomicrones, lipoproteínas de baja densidad compuestas por un 86% de triglicéridos y de cantidades menores de proteínas, colesterol, fosfolípidos y vitaminas liposolubles. En esta forma, la grasa de la dieta es transportada a los distintos tejidos del organismo.

5

Únicamente los ácidos grasos de cadena larga son utilizados en la síntesis de triglicéridos, que posteriormente son incorporados en quilomicrones y segregados en la linfa. Los ácidos grasos de menos de 10 carbonos no forman triglicéridos, sino que pasan sin esterificar a la circulación portal en lugar de pasar a la linfática.

3.3.MORTALIDAD POR ENFERMEDADES DEL APARATO CIRCULATORIO

En México, la primera causa de mortalidad entre 1982 y 1986 estuvo constituida por enfermedades del aparato circulatorio, y, de ellas, la enfermedad aterosclerosa coronaria, que, de significar en 1950 el 0.1% de las defunciones totales y 4.4% de las defunciones por enfermedades cardiovasculares del mismo año, varió en los mismos conceptos hasta significar el 4.9 Y 12.6 % respectivamente en 1985 (41).

3.3.1. Estudios estadísticos acerca de la frecuencia de la enfermedad coronaria.

Según Trejo Gutierrez y Lozano (44), en los últimos 35 años las enfermedades cardiovasculares escalaron los primeros lugares como causa de defunción en México y, a partir de 1980 se consideran como las principales causas de muerte.

Expresado de otra forma, las defunciones por enfermedades cardiovasculares sufrieron un incremento absoluto de 3 veces en ese lapso, sobretodo a expensas de la enfermedad aterosclerosa coronaria cuyo incremento fue de 30 veces en ese mismo período.

Los mismos autores señalan que si se ajusta por edad la mortalidad debida a la enfermedad ateriocoronaria de la población mayor de 30 años y se compara con la de Estados Unidos ó Canadá, los hombres de estos países presentaron un riesgo 3 veces mayor de morir que los de México en 1985; sin embargo, hace 15 años, el exceso era 6 veces mayor, lo que hace destacar la disminución del riesgo en aquellos países y el aumento en el nuestro.

Estos datos no pueden hacerse extensivos a todo el país, existen diferencias de gran importancia entre las distintas entidades federativas y, dentro de ellas, entre la población urbana y rural dispersa, en la que es evidente un subregistro que impide conclusiones estadísticas al igual que el ya manifestado por Velázquez Monroy y col.(11) al respecto de la mortalidad infantil neonatal.

En 1988, Posadas y col. (33) informaron acerca de la distribución nacional del colesterol total. Se usó el suero recolectado en la Encuesta Nacional Seroepidemiológica (Sepúlveda y col., 1987) que constituyó una muestra probabilística de la población mexicana y que incluyó diversos grupos de edad y sexo en el territorio nacional.

Los resultados mostraron un aumento en los niveles promedio de colesterol en los estados del norte del país y descenso paulatino hasta los territorios del sur. Se observó una correlación entre los niveles promedio de colesterol en los estados y la enfermedad aterosclerosa coronaria.

El siguiente cuadro tomado del estudio de Trejo y Lozano (44) hace explícitos los porcentajes de los principales factores de riesgo en empleados de la Ciudad de México.

CUADRO 2. Riesgo atribuible a los Factores de Riesgo para Enfermedad Aterosclerosa Coronaria. Empleados de la Ciudad. de México.

factor de riesgo	coeficiente de regresión logística(*)	riesgo relativo	Proporción de población expuesto(**)	riesgo atribuible
Colesterol (240mg/dl)	0.0070	5.3	28 %	55 %
Tabaquismo (2+=1 caj)	0.4223	2.3	22 %	23 %
Presión sistólica. (160mm Hg)	0.0068	2.9	7 %	12 %

Valores de 40-49 años de edad.

*Tomados de Truett y col. , J.Chronic Dis (1967) 20, 511

**Tomado de Cueto y col, Arch Inst. Cardiol.

Fuente : Tabulaciones de la Dirección General de Estadística, SPP Dirección General de Informática Estadística, S.A.

3.4. DESCRIPCION Y PRODUCCION DE EMBUTIDOS.

Los embutidos son productos constituidos a base de carne condimentada y picada en forma generalmente simétrica. La palabra embutido deriva de bodes, del latín tardío, o incluso buttis, que significa embutir.

La Norma Oficial Mexicana define salchicha como " producto alimenticio embutido de pasta semifirme de color característico, elaborado con la mezcla de carne (60% mínimo) de ternera o res, cerdo y grasas de las especies mencionadas, adicionado de condimentos, especias y aditivos para alimentos ".

La preparación de embutidos evolucionó lentamente a partir de los procesos de salazón y desecación aplicadas a carnes frescas que no podían ser consumidas inmediatamente. El sabor, textura y forma de los diferentes embutidos surgieron como consecuencia de variaciones en los procesos de elaboración impuestos por diferencias geográficas, disponibilidad de materias primas y condiciones climáticas.

A continuación se muestran los datos de Producción , Importación y Exportación de embutidos en México.

CUADRO 3. Producción, exportación e importación de embutidos en México

	PRODUCCION DE EMBUTIDOS :			
	1987		1988	
	<u>VOLUMEN</u> Ton	<u>VALOR</u> miles de dólares	<u>VOLUMEN</u> Ton	<u>VALOR</u> miles de dólares
Salchicha	3,488	1,167	3,882	16,821
Longaniza y chorizo	368	1,290	440	2,642

CUADRO 4 . Datos de Exportación e Importación de Embutidos.**EXPORTACIONES (MILES DE DOLARES)**

Embutidos	fracción	tipo de bien	1985	1986	1987	1988	1989
y productos similares	160 100	consumo	21	390	617	0	2

IMPORTACIONES (MILES DE DOLARES)

Embutidos	fracción	tipo de bien	1985	1986	1987	1988	1989
	1 601 001	consumo	1062	852	823	4026	8691

FUENTE: Secretaria de Comercio y Fomento Industrial, Dirección General de Estadística Factorial e Informática. Información de importaciones al mes de Agosto de 1989. (Proporcionado por CANACINTRA).

Los datos del cuadro 3, muestran que en 1989 de estos productos se exportaron 5 millones 748 mil pesos, en tanto que las importaciones tuvieron un costo de 24 millones 877 mil 934 pesos, lo que pone de relieve la caída de la producción nacional y la oferta exportable en contraste la creciente necesidad de adquirir este tipo de productos en el exterior. Aún cuando se observa un aumento en su producción, éste ha sido insuficiente para cubrir los requerimientos del país.

3.4.1. Procesos fisicoquímicos en la elaboración de un embutido tipo salchicha:

Los productos cárnicos son ejemplo de emulsiones grasa en agua, en las que la grasa se encuentra dispersa en la fase continua que es el agua. Normalmente el agua y el aceite no son miscibles, pero si se mezclan en presencia de un emulsionante, pueden formar una mezcla estable denominada suspensión coloidal. Las fases de una emulsión cárnica se denominan continua (agua) y discontinua o dispersa (grasa); en donde las proteínas solubilizadas de la carne actúan como emulsificantes. (7).

Uno de los principales constituyentes de formulaciones tipo salchicha es la carne magra, constituida en un 75% por agua, 20 % de proteína, (del sarcoplasma, del tejido conectivo, hidrosolubles y las proteínas solubles en sal) 3% de grasa y 2% de otros compuestos.

Las proteínas desempeñan un papel importante en la preparación de emulsiones ya que, con el agua, forman una matriz que encapsula los glóbulos de grasa. El factor de mayor importancia en la preparación de emulsiones estables es la extracción y solubilización de proteínas. Antes del sacrificio, el pH del músculo se aproxima a la neutralidad, pero, al implantarse el rigor mortis, el pH suele descender a valores de 5.3 a 5.7 . Dado que el punto isoeléctrico de la actinmiosina se halla a un pH de 5, la extracción de la proteína es mínima en estado de rigor mortis. Para aumentar la cantidad de proteína extraída, la carne suele congelarse y desintegrarse en la "cutter", además de añadirle sal y hielo que la mantienen a baja temperatura durante varias horas.

Para la solubilización de las proteínas cárnicas, se aplican los siguientes procedimientos: 1) tratamiento de las carnes magras con salmuera diluida para solubilizar las proteínas miofibrilares, principalmente actina y miosina y 2) acción de corte de las cuchillas de la "cutter."

Los principales emulsificantes de las emulsiones cárnicas son soluciones salinas de proteínas solubles (actina y miosina), en cambio, las proteínas hidrosolubles de procedencia sarcoplásmica pierden la capacidad emulsificante en medios salinos (Schut and Brouwer, 1971).

Por estudios recientes se sabe que la miosina, constituyente mayoritario de las proteínas miofibrilares, contribuye en forma muy importante a la emulsificación de la grasa y a la ligazón de agua durante el calentamiento del enbutido.

Asimismo, la porción de proteínas miofibrilares activada por la sal principalmente actomiosina, retiene agua y proporciona textura y jugosidad al producto final durante el calentamiento. Una vez obtenida la solución de proteínas, se dispersa la grasa, de tal forma que la fase continua recubre a los glóbulos de grasa (Fig. 3.)

Las proteínas solubles en sal (SSP) llevan a cabo la emulsificación de la grasa libre. Los glóbulos de grasa emulsificada son estables al calor, pero la grasa libre no emulsificada se hincha durante el calentamiento y se expele como glóbulos de grasa en el producto.

En el dibujo siguiente se muestra una emulsión con la proteína solubilizada y los glóbulos de grasa cubiertos por la proteína.

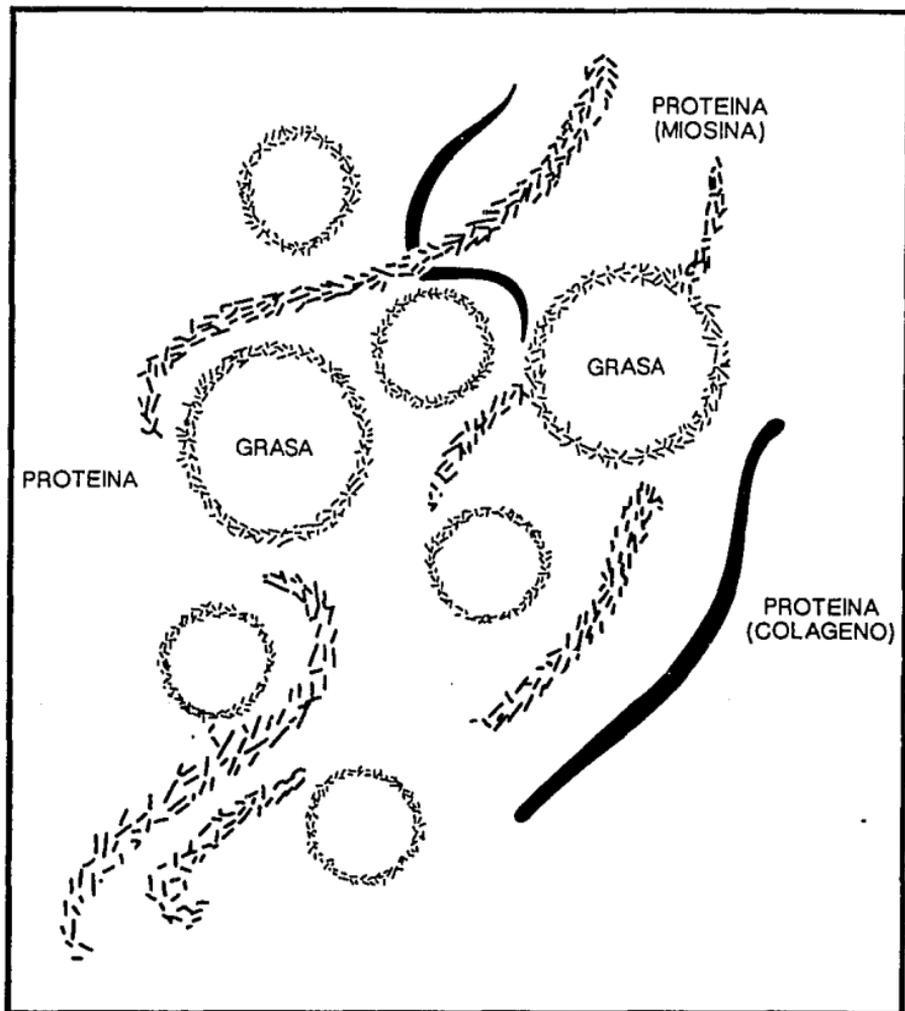


Fig. 3 . Representación esquemática de una Emulsión Cárnica

3.4.2. Preparación de la emulsión en salchichas

Para preparar emulsiones tipo salchicha, se colocan en la cortadora o cutter las carnes magras, el hielo, agua, sal, especias y los agentes de curado (nitrato y nitrito sódico) y se mezclan los componentes dejando funcionar la cortadora durante 1 a 5 minutos. A continuación se añaden las carnes grasas y prosiguen la división durante varios minutos más, hasta que la emulsión se estabiliza y alcanza la textura deseada.

El agua y la sal, que se adicionan junto con la otra carne magra, forman una salmuera que disuelve las proteínas miofibrilares, se añaden también los condimentos y agentes de curado, para que se dispersen uniformemente y se obtenga el máximo color de curado. Si se emplean agentes ligantes constituidos por proteínas no procedentes de la carne, también se añaden a la carne magra al inicio de la acción cortadora de la "cutter " o antes de agregar la materia grasa, para que se disuelvan y sean mas eficaces en la estabilización y retención de agua de la emulsión.

La cantidad de proteína extraída depende en parte, del tiempo de operación de la cortadora y de la temperatura de la carne.

Las carnes magras permanecen en la cortadora hasta que se haya solubilizado suficiente cantidad de proteína para recubrir los glóbulos de grasa. La solubilización tiene que hacerse lo más rapidamente posible para que el grado de emulsificación sea máximo. Para conseguir la máxima estabilidad, la práctica normal consiste en desintegrar las carnes magras a una temperatura mínima de 3° C y máxima de 11° C (30).

3.4.3. Materia prima utilizada en la elaboración de embutidos.

3.4.3.1. Carne: Las carnes de res y cerdo constituyen la materia prima más utilizada en la elaboración de embutidos, sin embargo se emplean también otras como las de pavo, ya que representan un menor costo o resuelven problemas como el de la escasa disponibilidad de las mismas. En general se obtienen en forma de recortes o pastas. La carne de cerdo es una fuente rica en proteínas, minerales y vitaminas del complejo B, pero tiene una menor concentración de niacina y calcio en comparación con la carne de aves. Presenta una menor estabilidad en lo que respecta a la duración de la emulsión en comparación con las preparadas a partir de carne de aves; representa así un mayor gasto promedio en carne para la elaboración del embutido, posee una consistencia firme y se puede mejorar el sabor al mezclarla con otro tipo de carnes.

3.4.3.2. Grasa : La grasa también contribuye a la blandura y jugosidad de los embutidos, constituye la fase discontinua de las emulsiones cárnicas y por tanto es uno de sus principales componentes estructurales.

La grasa generalmente se añade a las emulsiones a través de recortes de carne vacuna y de cerdo. Puesto que las grasas de la carne de cerdo son mas blandas y funden a temperaturas mas bajas, su desintegración es mas fácil que la de la carne vacuna. Sin embargo, las emulsiones preparadas con grasa vacuna tienden a ser mas estables puesto que este tipo de grasa se desintegra a temperaturas muy elevadas.

Si durante la preparación de la emulsión en la cortadora se mantiene baja la temperatura de la grasa de cerdo, entonces apenas existen diferencias en la estabilidad de las emulsiones que contienen predominantemente grasa de cerdo y las que poseen un predominio de grasa vacuna.

El tejido graso intacto incluido en la pared celular es muy estable a tratamientos térmicos , pero en conjunto, en el producto cárnico las células grasas se destruyen por acción mecánica y la grasa de ese tejido queda libre. La fracción protéica soluble en agua emulsifica a la grasa libre durante el troceado y mezclado. Los glóbulos de grasa emulsificados son estables al calor, pero la grasa libre no emulsificada puede coalescer durante el calentamiento y salir a la superficie como glóbulos de grasa en el producto procesado.

La sustitución de la grasa animal por grasa vegetal produce cambios en las características del producto, la textura suele describirse como quebradiza y durante la cocción el color suele ser lustroso.

La preestabilización de las grasas permite mejorar formulaciones con mucha mayor libertad, entre otras, aquellas en que se usa cualquier tipo de grasa, incluso las que llegan a proporcionar problemas de exudación, como la de res, pollo y grasas vegetales.

La carne de pavo constituye una buena fuente de proteínas, minerales y vitaminas. Presenta un valor nutricional igual al de la carne de cerdo, pero posee una mayor concentración de calcio y niacina, es una carne con bajo contenido en grasa, tiene mayor suavidad la carne de crías jóvenes debido a una menor proporción de tejido conectivo. A su vez presenta mayor digestibilidad debido al bajo contenido de grasa, por lo que los fermentos de la digestión actúan con más facilidad sobre la proteína del músculo.

Este tipo de carne presenta buena estabilidad en la formación de una emulsión , sola o en combinación con otras carnes, así como una buena capacidad de retención de agua. Su utilización en la elaboración de embutidos repercute en menores pérdidas de peso durante el proceso.

3.4.3.3. Agua : Su incorporación en el proceso de elaboración de salchichas es esencial, ya que contribuye a la jugosidad, textura y gusto, además de lograr la emulsificación de la grasa. El agua puede adicionarse a la pasta como hielo picado, impidiendo así la fundición de la grasa y permitiendo su distribución homogénea en forma de pequeños glóbulos.

El enfriamiento, temperatura no mayor a 10° C contribuye también a la estabilidad de la emulsión por la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas de proteína y entre éstas y el agua.

El agua es el componente cuantitativamente mas importante de los embutidos cocidos, ya que constituye aproximadamente el 45.55% del peso total.

Las proteínas tanto cárnicas como no cárnicas tienen que ser extraídas y dispersadas para que actúen eficazmente como emulsionantes. El agua permite disolver las proteínas hidrosolubles y la salmuera que se requiere para solubilizar proteínas miofibrilares.

El agua mejora las características sensoriales contribuyendo a la blandura y jugosidad de los embutidos. Ambos factores de calidad dependen fundamentalmente del contenido de agua y grasa, de modo que al aumentar éstos aumenta también la blandura y jugosidad de los embutidos.

3.4.3.4. Aditivos: Los productos cárnicos procesados requieren de aditivos para obtener una solubilización suficiente de proteína miofibrilar y adquirir de esta manera mayor poder ligante. Su selección y forma de adición depende del producto que se desea obtener. Los más comunes son : sal, agua, fosfatos, azúcar, nitratos y nitritos, agentes ligantes y de relleno, saborizantes y especias.

Sal común : La sal ejerce influencia en múltiples reacciones del proceso de elaboración de los embutidos. Agregando sal común se reduce la actividad acuosa (Aw), con lo que se restringen las condiciones de desarrollo de muchos microorganismos. El valor de Aw es un índice del agua presente en el alimento que puede influir en el desarrollo bacteriano . Así, la disminución del valor de actividad de agua y su descenso por adición de sal y otras sustancias son factores deseables en el proceso de elaboración de un embutido. En productos cárnicos se usa como agente conservador, preservador y sazoador. Se utiliza en productos de carne fresca, solo en cantidades suficientes para añadir un ligero sabor agradable al paladar. No es bactericida en las concentraciones en que se utiliza en las carnes, pero ejerce un efecto de preservación por medio de su acción inhibitoria sobre muchas especies de bacterias.

Los productos cárnicos curados con un 3.5% en promedio de sal, tienen una estabilidad considerable . La sal contribuye a ligar el agua debido a que aumenta la cantidad de proteína soluble potencialmente utilizable y por tanto incrementa la capacidad ligante, que depende esencialmente de las proteínas del músculo.

Edulcorantes : El principal edulcorante utilizado en embutidos es la sacarosa. Los azúcares deben su acción conservadora a su efecto osmótico, así como a su capacidad de retener humedad y evitar que la utilicen los microorganismos como vía de obtención de nutrientes.

Los hidratos de carbono se adicionan para descender el pH a fin de conservar el embutido dentro de un límite, además de producir en esta forma un intenso y rápido enrojecimiento. Se utilizan también para enmascarar el sabor salado de los embutidos.

En algunos casos se adiciona con la finalidad de que los microorganismos fermentativos específicos lo usen como fuente de energía.

Nitratos y Nitritos : Los nitratos de sodio y potasio son los responsables en el desarrollo de los típicos color rosa y sabor característicos de los productos cárnicos curados.

Los nitratos se desdoblán a óxido nítrico y oxígeno como puede observarse en la Fig. 4. El primero reacciona con la mioglobina para formar nitrosomioglobina, la que por medio de enzimas y un tratamiento térmico se reduce y forma el nitrosohemocromo, que es de color rosa pálido y muy estable a la temperatura ambiente, pero no a la luz directa, por lo que debe asegurarse su correcto almacenamiento .

En esta reacción una molécula de óxido nítrico sustituye a la molécula de agua que se haya unida al átomo de hierro del grupo hemo del pigmento, sin que se modifique el estado de oxidación del hierro, formando un derivado llamado óxido nítrico.

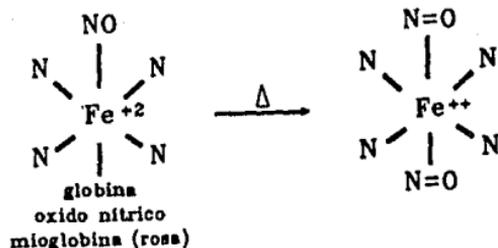


Fig.4. Reacción de formación de óxido nítrico. N indica los átomos de nitrógeno de la estructura pirrólica heterocíclica del anillo planar de la porfirina

Muchas mezclas comerciales de curado contienen nitrato sódico o potásico además del nitrito sódico. En este caso, el curado de los productos tiene lugar durante un largo período de tiempo que permite la reducción del nitrato por las bacterias que contiene el producto.

Cuando el proceso se efectúa directamente con nitrato es difícil saber la cantidad final de nitrito que se formará. Si ésta es excesiva se produce la oxidación del pigmento de la carne curada. En ocasiones se utiliza en el curado una mezcla de nitrato y nitrito con la pretensión de que el nitrito produzca un curado inicial rápido, y que el nitrato conserve durante el almacenamiento el color del producto, al reducirse a nitrito.

Conservadores: La sal sódica del ácido benzóico se ha utilizado mucho como agente antimicrobiano en los alimentos. Es relativamente ineficaz a valores de pH próximos a la neutralidad, pero aumenta su actividad al elevarse la acidez, siendo el pH óptimo de 2.5 a 4.

La eficacia de acción de los ésteres del ácido benzóico aumenta al incrementarse la longitud de la cadena del grupo éster.

Antioxidantes : Las carnes contienen importantes cantidades de grasa en su composición, cuando las grasas se exponen al aire, luz o calor, tienden a oxidarse produciendo sabores rancios y olores desagradables. Los problemas de oxidación pueden ser parcialmente controlados con métodos adecuados de preparación de los productos cárnicos, la formulación de los mismos, el empaque usado, las condiciones de almacenamiento y los antioxidantes naturales presentes en el producto que puedan protegerlo de la rancidez, pero no es suficiente la protección y el cuidado cuando el producto sale del almacén, por lo que se usan antioxidantes adicionales para que la vida útil del producto se prolongue el mayor tiempo posible. Los principales antioxidantes son la lecitina, tocoferoles, ácido cítrico, fosfórico, etc.

Fosfatos: Con el uso de los fosfatos tiene lugar un aumento en la fuerza iónica, estabilización de pH y, sobretodo, una acción directa sobre la proteína, lo que da lugar a una mejora en la fijación del agua y la capacidad emulsionante de estas proteínas miofibrilares. La consistencia, corte y calidad general del embutido resultan mejorados.

Condimentos : Los condimentos sirven para conferir sabor y delicadeza a los embutidos, careciendo de toda influencia tecnológica. En los embutidos crudos se incluyen condimentos y sustancias sápidas, es además recomendable la incorporación de un preparado completo y atender el que los condimentos carezcan de gérmenes, con objeto de evitar que tenga lugar la intensa contaminación de la pasta.

Las especias deben su calidad de condimento a la presencia de aceites aromáticos esenciales, que se volatilizan a temperatura ambiente; las oleoresinas, en cambio, son mezclas complejas que se obtienen mediante la extracción, concentración y estandarización de los aceites esenciales de las especias. El uso de las oleoresinas es más seguro que el de las especias naturales, ya que están libres de toda posible contaminación.

En las concentraciones usuales , las especias y condimentos carecen de acción bacteriostática, solo cooperan con otros compuestos en la prevención del crecimiento microbiano. El papel inhibitor varía con las distintas especies y microorganismos. Algunas de ellas tienen acción antioxidante como la pimienta negra, clavo, nuez moscada, romero, savia y tomillo.

Potenciadores de sabor : Algunos alimentos procesados requieren sustancias que fortalezcan el sabor. El glutamato monosódico y los nucleótidos han ayudado a solucionar problemas relacionados con el sabor cárnico de estos productos. Es efectivo el mantener el nivel del sabor de alimentos cárnicos desde su procesamiento hasta su consumo. El grado de intensificación del sabor se ve favorecido por la disminución de la acidez.

Ligantes : Según su procedencia las sustancias ligantes se clasifican en animales y vegetales. En ambos casos, el ingrediente activo es la proteína que contienen, y su función principal es la de ligar agua.

Los productos de soya se utilizan frecuentemente como aditivos de los embutidos debido a su alto contenido proteico, bajo costo, poseen un sabor ligero, se dispersan rápidamente en agua y gelifican cuando se calientan.

Las proteínas que contienen son globulinas, por lo que se solubilizan en soluciones salinas diluidas, se adicionan por sus propiedades funcionales, que consisten en su capacidad emulsificante y retención de humedad.

Entre los factores que deben considerarse para elegir un ligante se encuentran: contenido proteico, solubilidad de la proteína, sabor, características ligantes y color.

El uso de estos aditivos en cantidades excesivas, produce un embutido con textura seca, pastosa, ahulada y sin sabor.

Sustancias de relleno: Las harinas que suelen emplearse provienen de diversos granos: trigo, arena, cebada. Son pobres en proteína y ricas en almidón, por consiguiente, carecen de la capacidad emulsionante que confieren las proteínas ligantes. La degradación o hidrólisis del almidón sólo se produce cuando se calienta por encima de la temperatura de gelatinización, sin pasar de 80° C, temperatura que inactiva las amilasas de la carne.

En el proceso de cocción de la emulsión a temperaturas que oscilan entre 50 y 55 °C, los puentes intermoleculares de amilosa y amilopectina contenidos en el almidón se rompen. Como consecuencia, hay mayor cantidad de agua atrapada mediante la formación de puentes de hidrógeno, conformando una red tridimensional. Este fenómeno se conoce como gelatinización y contribuye a retener humedad y dar conformación y estructura firme a la emulsión cárnica.

Como precaución, debe evitarse el uso de cantidades excesivas de rellenos, ya que el producto final resulta con una textura granulosa y pegajosa.

3.5 DESCRIPCIONES DE METODOS TRADICIONALES PARA CUANTIFICAR COLESTEROL.

Los lípidos son componentes de mecanismos enzimáticos y sistemas de transporte de membranas biológicas y comprenden gran variedad de moléculas distintas. Esta diversidad en estructura bioquímica es la causa de problemas relacionados con su análisis y la interpretación detallada de su función biológica. (9).

La mayor parte de los procedimientos utilizados para determinar el contenido de colesterol en carnes y otros alimentos son aquellos originalmente desarrollados para cuantificar colesterol sérico con pequeñas modificaciones.

Para cuantificar colesterol en carne y productos cárnicos por métodos colorimétricos se puede realizar el siguiente procedimiento general : extracción de lípidos totales con una mezcla de cloroformo/metanol (2:1 vol/vol), 2) separación del solvente del extracto lípido total, 3) saponificación alcalina del residuo lípido total, 4) extracción de insaponificables, 5) separación del solvente de la fracción insaponificable, 6) reacción de la porción insaponificable con un reactivo que desarrolle color.

El método Liebermann-Buchard y aquellos que emplean cloruro de Hierro II y reactivo de ácido sulfúrico han sido evaluados y sus limitaciones se conocen bien (Sweeney and Wehrauch, 1976, Tonks 1967, Vanzetti, 1964.)

A partir de entonces se han realizado estudios en donde colaboraron diversas Universidades e Institutos, con el propósito de desarrollar un método analítico simple y exacto para determinar colesterol en alimentos por cromatografía gas-líquido, como se puede ver en la siguiente figura :

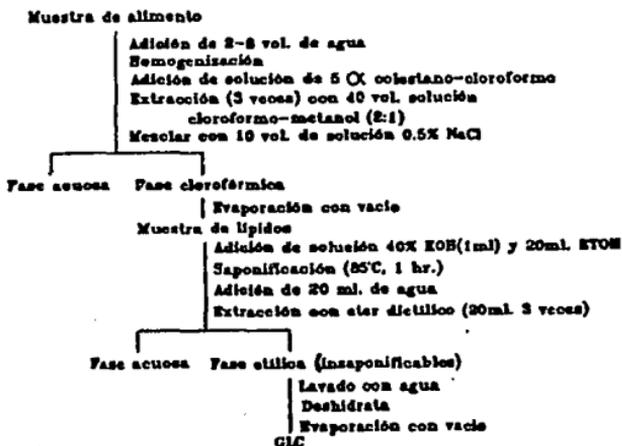


Fig. 5. Procedimiento para cuantificar colesterol

La muestra del alimento se pesa; si se trata de una muestra seca, deberá homogeneizarse adicionando agua. Después de adicionar una alícuota de solución de 5 colestano-cloroformo (sol. standar interno), los lípidos se extraen con una mezcla de cloroformo-metanol (2:1). Posteriormente se saponifican y la materia insaponificable se extrae con éter dietílico. Después de secar la solución con sulfato de sodio anhidro, el solvente se evapora a presión reducida. El residuo resultante se disuelve en una pequeña cantidad de éter dietílico y se aplica GLC. (36).

Debe hacerse hincapié acerca del papel importante que desempeña la selección de un solvente en la extracción de los lípidos, especialmente en muestras sometidas al análisis por GLC. Existen procedimientos que emplean hexano, cloroformo, cloroformo-metanol (2:1), isopropanol, ciclohexano.

La mayoría de los estudios coinciden en el empleo de una mezcla cloroformo:metanol (2:1) con resultados satisfactorios (10).

4. MATERIALES Y METODOS

4.1 DESARROLLO DE UNA TECNICA DE CUANTIFICACION DE COLESTEROL ADECUADA PARA PRODUCTOS CARNICOS, A TRAVES DE LAS TECNICAS DE COLORIMETRIA Y CROMATOGRAFIA

4.1.1 Selección de los métodos de saponificación y extracción de la fracción insaponificable en productos cárnicos..

Se realizaron modificaciones a las operaciones de saponificación y extracción de la fracción insaponificable propuestas en el método de Kovacs et al. (23) para la cuantificación de colesterol por cromatografía de gases.

Los productos que se sometieron a estas operaciones previas a la determinación de colesterol fueron : manteca vegetal, lardo de cerdo, salchicha comercial, pasta de pavo y salchicha con bajo contenido en colesterol.

De acuerdo a la composición del material a analizar se manejaron dos tamaños de muestras : 5 mg y 5 gr que se homogenizaron en un mortero. La saponificación de las mismas se llevó a cabo mediante la adición de 2 ml. de potasa alcohólica al 40 % y calentamiento en Baño María a 90°C por 1 hora. El residuo se separó por filtración a través de un embudo de vidrio. Para la extracción de la fracción insaponificable se probaron diferentes solventes orgánicos : cloroformo, éter y hexano.

Posteriormente esta fracción orgánica se obtuvo por decantación , y se lavó con agua hasta neutralización. Se secó haciéndola pasar por una columna de sulfato de sodio anhidro y se evaporó el solvente orgánico por aplicación de vacío. Finalmente el remanente se redisolvió en 1 ml. de éter y guardó bajo congelación antes del análisis de colesterol.

4.1.2. Condiciones en el Cromatógrafo de Gases para la Cuantificación de Colesterol.

El cromatógrafo utilizado fue modelo HP 5890A con una columna OV- 17. Las condiciones en que se trabajó se presentan a continuación :

CUADRO 5 . Condiciones del Cromatógrafo de Gases.

temperatura inicial	=	300°C
temperatura final	=	0°C
temperatura del horno	=	300°C
tiempo inicial	=	4-6 minutos
temperatura del inyector	=	285-325°C
temperatura del detector	=	285-325°C
Flujo de Nitrógeno	=	20 ml/min.
Flujo de Aire	=	400 ml/min.
Flujo de Hidrógeno	=	30 ml/min.

4.1.3. Curva de Calibración de Colesterol mediante Cromatografía de Gases

Para la obtención de la curva de calibración, se usaron estándares de colesterol de 5, 10, 20, 30 y 40 mg. de colesterol/ ml (Laboratorios Sclavo, Italia) y de 2, 2.5, 4.6, 6.2, 7.98 y 9.7 mg/ml.

Serrano Sánchez Mónica Isabel : Desarrollo de un método rápido para cuantificar colesterol en alimentos, Facultad de Química, U.N.A.M., México, 1991.

4.1.4. Técnica Enzimática Colorimétrica para el Análisis de Colesterol.

Se pesaron 0.5 g. de lardo de cerdo, salchicha comercial, manteca vegetal, pasta de pavo y pollo, y 1 g. de la salchicha con bajo contenido en colesterol. Las muestras se homogenizaron y saponificaron, los insaponificables se extrajeron con porciones de hexano.

Se empleó el Monotest Chod Pap (Laboratorios Lakeside Hanheim Boheringer) cuyo fundamento químico consiste en el desarrollo de una reacción colorida susceptible a interpretación colorimétrica :

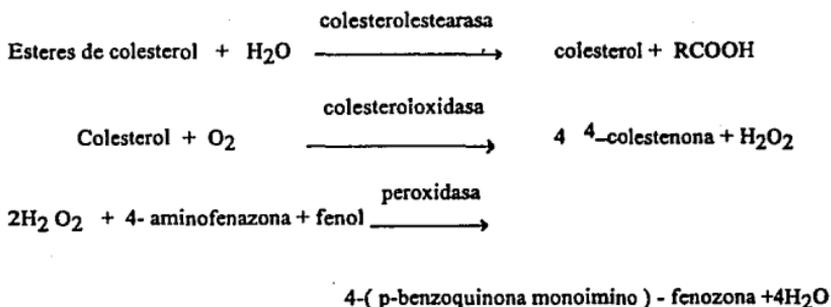


Figura 6. Reacción Colorida susceptible a Interpretación Colorimétrica.

El procedimiento consiste en la adición de 2 ml. de solución reactiva a 0.02 ml. del extracto insaponificable se mezcla e incuba a 20° C durante 10 minutos. Las lecturas se realizaron en un Spectronic 20, frente a un blanco reactivo, a 500 y 546 nm (37)

4.1.5. Curva de Calibración de Colesterol por Colorimetría .

Se utilizaron los estándares señalados en el punto 4.1.3. y se siguió el mismo procedimiento que el realizado para efectuar las lecturas de las muestras analizadas.

4.2 CUANTIFICACION DE COLESTEROL EN MATERIA PRIMA :

Se procedió a cuantificar colesterol en la materia prima empleada para desarrollar las formulaciones, a través de las técnicas ya mencionadas. La porción grasa seleccionada fue lardo de cerdo y manteca vegetal Inca Especial, clave 633027 de Anderson Clayton, S.A. de C.V. , y la porción cárnica estuvo constituida por carne de pollo y pasta de pavo por ambos métodos.

En el cuadro 6 se hace una comparación de la composición de las porciones grasas que se seleccionaron como materia prima.

Cuadro 6 . Composición en ácidos grasos de manteca vegetal y lardo de cerdo

ACIDO GRASO	COMPOSICION LARDO (%)	COMPOSICION MANTECA VEGETAL (%)
Acido láurico	0.3	
Acido mirístico	1.7	
Acido miristoléico	0.2	
Acido pentadecanóico	0.1	
Acido palmítico	26.2	11.75
Acido palmitoléico	4.0	0.03
Acido margárico	0.5	0.03
Acido esteárico	13.5	7.41
Acido oléico	42.9	75.39
Acido linoléico	9.0	3.69
Acido heptadecenóico	0.3	
Acido linolénico	0.73	0.73
Acido eicosenoico	0.8	
Acido araquidónico	0.2	0.51
Acido gadoléico		0.47

La característica fundamental de la manteca de soya es el elevado contenido en ácido oléico (más del 70%) y contenidos mas o menos elevados de ácido palmítico y esteárico

4.3. ELABORACION DE UNA SALCHICHA CON BAJO CONTENIDO EN COLESTEROL.

Puesto que la Norma Oficial Mexicana para salchicha establece requerimientos en relación a su composición, el producto a proponer debe cumplirlas.

Para satisfacer esta condición se partió de una formulación base ya experimentada, a la cual se realizaron cambios en sus componentes, para disminuir el contenido en colesterol..

Cuadro 7. Formulaciones Propuestas para la elaboración de la salchicha.

	Formulaciones (en %)			
carne	42.9	42.9	42.9	42.9
lardo de cerdo	9.0	7.0	4.0	-
manteca vegetal	5.0	7.0	10.0	14
polvo de papa	0.5	0.5	0.5	0.5
sal común	1.5	1.5	1.5	1.5
fosfatos	0.5	0.5	0.5	0.5
azúcar	0.3	0.3	0.3	0.3
proteína	2.0	2.0	2.0	2.0
fécula	8.0	8.0	8.0	8.0
agua	29.2	29.2	29.2	29.2
glutama				
to monosódico	0.051	0.051	0.051	0.051
eritrobato	0.1	0.1	0.1	0.1
especias	3.5	3.5	3.5	3.5

4.3.1. Elaboración de formulaciones para salchicha en las que la fracción grasa animal fue sustituida gradualmente por manteca vegetal.

Una vez lograda la formulación base, se sustituyó gradualmente el lardo de cerdo por manteca vegetal en diferentes proporciones :

- I 9% manteca vegetal
 5% lardo de cerdo

- II 7% manteca vegetal
 7% lardo de cerdo

- III 4% manteca vegetal
 10% lardo de cerdo

- IV 14% manteca vegetal

Proceso de Elaboración :

La carne se congeló a -7°C durante 1 semana, después se incorporaron diferentes porciones de lardo de cerdo y manteca vegetal que fueron finamente molidos para reducir el tamaño de partícula. En la cutter se adicionaron otros ingredientes como sal común, sal curante de nitritos, fosfatos, eritrobato y hielo a una temperatura que no excedió los 4°C .

4.3.2. Adecuación del proceso tradicional utilizado en la elaboración de salchichas para el logro de una mejor integración de la grasa vegetal a la emulsión.

A continuación, se llevó a cabo el proceso de emulsificación, que tomó aproximadamente 10 minutos a una temperatura inicial de 14°C para favorecer la emulsión. Fue necesario realizar pruebas y algunas modificaciones en la preparación de materias primas, como la adición de una proteína vegetal que coadyuvara a lograr una integración de la emulsión. La proteína PP500E (Proteína de soya) se hidrató previamente en dos porciones distintas recomendadas, hasta obtener un gel brillante:

2 proteína por 10 de agua, y una porción grasa total del 14%, del cual el 10% debe estar constituido por manteca vegetal, y un 4 % por lardo de cerdo, y

3 proteína por 15 de agua, con una porción grasa constituida por 14% de manteca vegetal .

La pasta formada fue embutida en tripas artificiales, y se sometió a un proceso e cocción durante 15 minutos hasta alcanzar una temperatura de 75-80°C en el centro del producto. Las salchichas ya cocidas finalmente se enfriaron y refrigeraron.

4.4 FORMULACION DE UNA PASTA PARA SALCHICHA CON UNA FRACCION CARNICA CONSTITUIDA POR CARNE DE AVES EN UN 100%.

Se realizaron variaciones en el tipo y cantidad de carne y especias agregadas, con la finalidad de encontrar aquella con mejor sabor , las formulaciones que se proponen se dan en el siguiente cuadro :

Cuadro 8 . Especies empleadas en la formulación :

apio	0.08%
cebolla	0.03%
ajo	0.20%
orégano	0.20%
pimienta negra	0.04%
cilantro	0.08%
paprika	0.4 %

CARNE

Molienda

Congelación
(-7°C, una semana)

Pasta Cárnica
(cutter, 10-15 mins. 4°C)

← sales, 50% fosfatos
← eritorbato de sodio
← hielo

Aislado de soya

Hidratación

Mezclado

Emulsificación
(10mins 14°C)

← 50% fosfatos, condimentos
← fécula
← grasa

|

←

Embutido

Cocción
(15 mins. 75-80°C)

Enfriamiento

Refrigeración

Fig. 6. Proceso de elaboración de la salchicha.

4.5 ANALISIS EFECTUADOS A LAS SALCHICHAS DE LAS DIFERENTES FORMULACIONES.

4.5.1. Prueba de emulsificación.

Después de 24 horas se realizó una prueba de emulsificación para comprobar que la grasa no se separaba de la pasta. Para ello, la pasta tomada de la cutter se enlató, se pesó y sometió a tratamiento térmico a 21 lb/ in² durante 15 minutos y observar la posible separación de la grasa. Finalmente la porción grasa que se desincorpora de la pasta se separa, y la lata se vuelve a pesar . Los resultados se expresan como porcentaje de grasa separada determinada por diferencia de peso.

4.5.2. Evaluación sensorial.

Se llevó a cabo una evaluación sensorial basada en una prueba preferencial en la formulación final de la salchicha con 40 jueces y 3 muestras que consistieron en :

- a) salchicha comercial 100% cerdo
- b) salchicha comercial 100% pollo
- c) salchicha con bajo contenido en colesterol.

Los resultados se analizaron estadísticamente por un análisis de varianza y prueba de Tukey.

4.5.3. Cuantificación de Colesterol

Se implementaron y desarrollaron las técnicas colorimétrica - enzimática y por Cromatografía de Gases, tanto en materia prima como en producto , para la cuantificación de colesterol.

Para comparar el procedimiento colorimétrico respecto al cromatográfico se aplicó una prueba t de student y se analizaron los resultados.

4.5.4. Análisis microbiológico y bromatológico.

Por último se practicó análisis microbiológico (mesofilicos aerobios) y bromatológico de la salchicha con bajo contenido en colesterol, según métodos señalados en la NOM F65-1984.

5. RESULTADOS Y DISCUSION.

5.1. EXTRACCION DE LA FRACCION INSAPONIFICABLE.

De los solventes utilizados para esta operación, que consistieron en hexano, cloroformo , isopropanol , cloroformo-metanol (2:1) y éter etílico, los dos últimos casos fueron los que reportaron resultados acordes a los observados en la literatura (10). No obstante, el uso de éter etílico facilitó aún más dicha separación, por la formación de dos fases perfectamente diferenciadas debido a sus valores de densidad y momento dipolar bajos que este último solvente presenta. La elevada volatilidad de este solvente hace necesario extremar las precauciones en la preparación de la muestra sujeta al análisis.

5.2. CONDICIONES DEL CROMATOGRAFO DE GASES EN LA CUANTIFICACION DEL COLESTEROL.

Las condiciones del cromatógrafo que proporcionaron una cuantificación fiable del colesterol, por aparición de un pico de tamaño y tiempo de retención susceptibles a interpretación se comparan con los referidos por Kovacs et al . (23) en el siguiente cuadro :

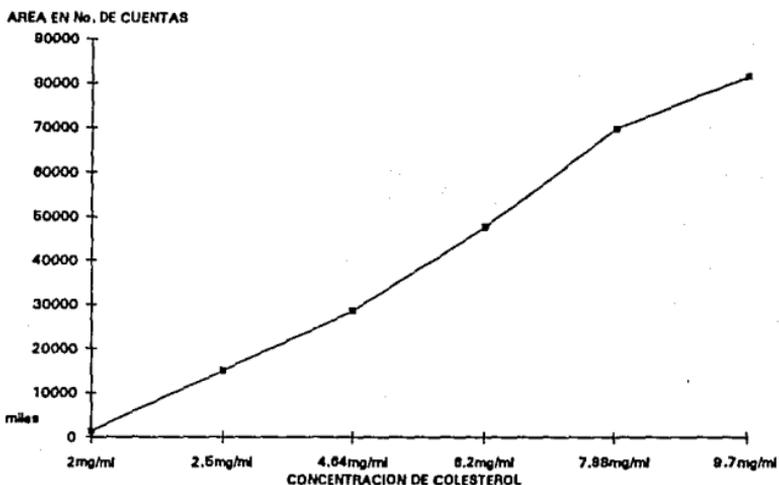
Cuadro 9. Relación Comparativa entre los Cromatógrafos.

	Kovacs et al .	Experimental
Modelo	Perkin Elmer	HP 5890A
Empaque	Gas Chrom Q	Gas Chrom Q
Malla	80 - 100	80 - 100
Columna	OV- 17	OV - 17
To.	230 °C	300 °C
Tf	230 °C	300 °C
T inyector	235 °C	325 °C
T detector	240 °C	325 °C
Flujo del gas		
Portador	Helio 40 ml/min	Nitrógeno 20 ml/min.

Deben destacarse los siguientes aspectos : las columnas cromatográficas son idénticas y además coincidentes con las recomendadas para analizar esteroides con alto punto de ebullición; las temperaturas inicial, final, del inyector y detector fueron más altas en el método propuesto que en el referido por Kovacs et al., lo que puede justificarse porque el gas acarreador empleado fue nitrógeno y no helio. En la literatura se encuentra explicado que para una misma intensidad de corriente de calefacción, la temperatura del elemento sensible en el hidrógeno o helio es mejor que en el nitrógeno.

El trabajo experimental demostró la necesidad de realizar modificaciones en las condiciones de trabajo, debido a la diferencia de modelos entre los cromatógrafos. En efecto, las proposiciones en ambos casos fueron equivalentes después de variar la temperatura y el flujo del gas, aunque se mantuvieron constantes las demás condiciones : soporte, malla, y, como ya se señaló, la columna.

5.2.1 Curva de calibración de colesterol por cromatografía de gases



$$r=0.993 \quad m=9.6 \times 10^{-8} \quad b=1.59$$

Se usaron estándares de 2, 2.5, 4, 6, 8 y 10 mg. colesterol/ml.

Figura 7. Curva de Calibración de Colesterol por Cromatografía de Gases.

5.3 SELECCION DE LA TECNICA ENZIMATICA COLORIMETRICA PARA EL ANALISIS DE COLESTEROL.

El método colorimétrico-enzimático que se seleccionó fue el Monotest Chod-Pap que es el utilizado para cuantificar colesterol sérico. Es importante destacar que en esta proposición metodológica se eligieron técnicas teniendo en consideración que existen numerosas diferencias en la presentación del colesterol sérico y el de los diversos alimentos . Así, la preparación de la muestra en este último caso requiere de una saponificación previa. Se obtiene entonces la porción insaponificable de la muestra aislada de otros componentes del alimento que imposibilitan el análisis.

5.3.1. Curva de calibración de colesterol por colorimetría.

densidad
óptica

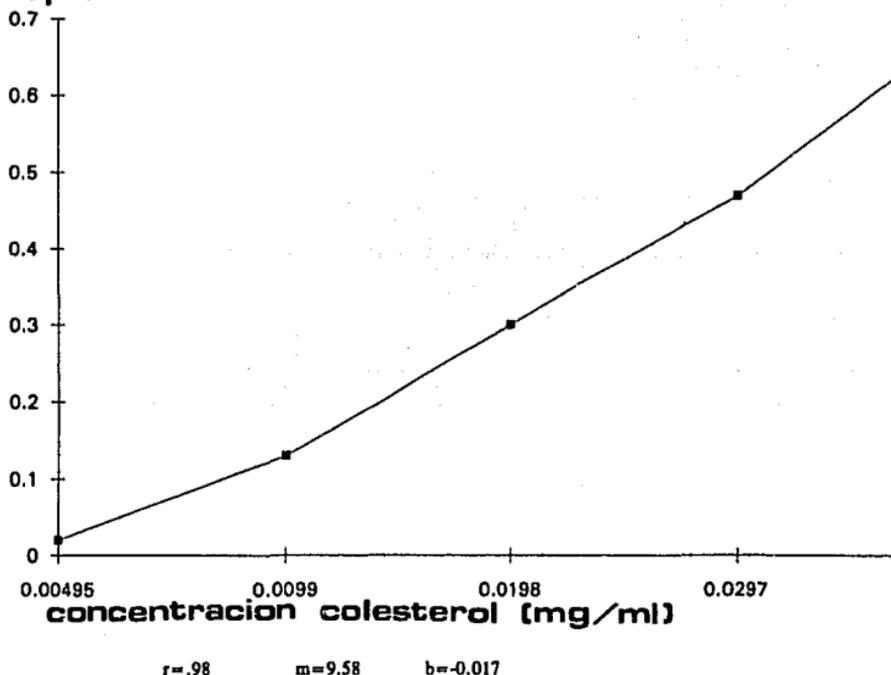


FIGURA 8. Curva de Calibración de Colesterol por Colorimetría.

En las figuras 7 y 8 se muestran los valores obtenidos de las regresiones lineales correspondientes así como las rectas corregidas.

La comparación entre los métodos colorimétricos-enzimáticos y cromatográficos hace evidente que los primeros son más simples de manipulación y menos costosos, además accesibles a la mayor parte de los laboratorios ; en contraste, los cromatográficos oficiales consumen reactivos tóxicos y volátiles en grandes cantidades, y el trabajo experimental resulta más complicado y costoso. En el desarrollo del trabajo se realizaron ajustes metodológicos que simplificaron las determinaciones, como es el implementar el

principio de saponificación directa en la preparación de la muestra y el empleo de éter etílico como solvente .

Cuadro 10 . Valores de colesterol en materia prima (mg/por 100 g. de muestra).

	Método 1	Método 2	Valor bibliográfico*
Lardo de cerdo	215.32	214.92	220
Carne de pavo	89.13	82.80	86
Carne de pollo	80.13	81.40	84

Método 1 : Cromatografía de Gases

Método 2 : Enzimático-Colorimétrico

*Fuentes : Composición de los alimentos : productos de granja y huevo. Crudos, procesados y preparados Agriculture Handbook 8 1. Depto. de Agricultura de E.U., Servicio de Investigación de Agricultura . Nov. 1976.

Pennington J. y Church H. Boves and Church's Food Values of Portions Commonly used. 14th. et al. Philadelphia J.B. Lippincott Co. (1985) .

Home and Garden Bulletin. Valor Nutritivo de los Alimentos. Depto. de Agricultura de E.U. Servicio de Información de Nutrición Humana (1986).

Como puede observarse, los valores obtenidos de colesterol para el lardo de cerdo resultaron inferiores a los reportados en la bibliografía, aunque muy semejantes comparando el método colorimétrico respecto al enzimático para la misma muestra, posiblemente debidos a errores de manipulación durante el análisis .

5.4. FORMULACION DE UNA PASTA PARA SALCHICHA CON UNA FRACCION CARNICA CONSTITUIDA POR CARNE DE AVES EN UN 100%.

La formulación III se seleccionó como base, su porción cárnica estuvo constituida en un 80% por carne de pavo y 20% de carne de pollo. A partir de ella, se sustituyó el lardo por manteca vegetal.

El 71 % representó el porcentaje máximo de manteca vegetal usado en sustitución de lardo de cerdo. Al rebasar esta cantidad, las salchichas presentaron una consistencia blanda y demulsificación. Acton et al. (1987) observaron que la sustitución de grasa animal por vegetal en salchicha tiene como consecuencia un aumento relativo en el contenido de agua lo que representa una textura floja.

Además, la manteca vegetal no fue completamente emulsificada en esta formulación, por lo que el producto mostró aglomerados de grasa en forma de pequeños grumos . El grado de dureza de la manteca empleada dificulta notablemente la acción de la cortadora sobre ella, lo que tiene como consecuencias como una menor cantidad de moléculas de grasa dispersas en el agua y formación deficiente de la emulsión. (30). Lo anterior constituye una desventaja en el empleo de sustitutos de grasas de cerdo en la formulación de nuevos productos, especialmente aquellos que se someten a un molido previo como parte del proceso.

Sin embargo, el contenido en ácidos grasos que constituyen la manteca vegetal Inca Especial guarda un balance recomendable para justificar su empleo con propósitos preventivos de lesiones cardiovasculares en alimentos. (8).

La relación ácido graso saturado / ácido graso insaturado influyen en los niveles de colesterol plasmático. Esta relación para el lardo de cerdo resulta baja, lo que tiende a incrementar los niveles de colesterol plasmático (Oh y Sand, Mónaco, 1985).

La misma relación para la manteca vegetal resulta mucho mayor, por lo que el riesgo anterior resulta disminuido.

5.5 ADECUACION DEL PROCESO TRADICIONAL UTILIZADO EN LA ELABORACION DE LA SALCHICHA PARA EL LOGRO DE UNA MAYOR INTEGRACION DE LA GRASA VEGETAL A LA EMULSION.

La proporción recomendada de proteína PP500E que resultó satisfactoria facilitando la incorporación de todos los ingredientes fue de dos porciones de proteína por 10 de agua, con un contenido graso de 10% de manteca vegetal y 4% de lardo de cerdo . De esta manera se logró reducir el contenido en colesterol en un 57.45% comparado con el contenido en la salchicha comercial. La adición de esta pre-emulsión de proteína de soya facilita la formación de una capa interfacial mucho más estable y textura más firme. Además, el incorporar derivados de soya en alimentos pudiera tener otros beneficios. A ese respecto, Mattson et al. (1977) observaron el descenso de colesterol plasmático si la absorción del mismo disminuye con la presencia de ciertos esteroides constitutivos de algunas plantas. (18).

AMINOACIDO	gr. AA/100gr. producto	gr. AA/100gr. proteína
Alanina	3.8	4.8
Arginina	8.7	7.0
Acido Aspártico	10.2	11.6
Cisteína	1.1	1.3
Acido Glutámico	18.8	19.1
Glycine	8.7	4.2
*Histidina	2.3	2.0
*Isoleucina	4.3	4.9
*Leucina	7.2	8.2
*Lisina	5.5	6.3
*Metionina	1.2	1.3
*Fenilalanina	4.8	6.2
Prolina	4.8	8.1
Serina	4.8	6.2
*Treonina	3.3	3.6

Cuadro 11. Composición PP500E.

5.6 ANALISIS EFECTUADOS A LAS SALCHICHAS DE LA DIFERENTES FORMULACIONES .

5.6.1. Prueba de Emulsificación : No se observó separación de la grasa en la emulsión resultante de la formulación seleccionada, por lo que se logró que la grasa estuviera emulsificada por las proteínas contenidas en la fracción cárnica, así como las de soya. Estas últimas se comercializan como materia prima sometida previamente a tratamientos químicos que modifican su estructura y permiten una mayor facilidad en la formación de un gel estable y textura más firme en el producto, además en el cuadro 12 se puede observar que el producto elaborado resultó bajo en contenido de colesterol, al compararlo con un producto comercial.

5.6.2. Cuantificación de colesterol .

Cuadro 12 . Valores del colesterol en productos. (mg/100 gr. de muestra).

	Método 1	Método 2	V.Bibliográfico
salchicha comercial	82.93	82.52	78
salchicha con bajo contenido en colesterol	47.83	47.23	-

Método 1. Cromatografía de gases.

Método 2. Enzimático colorimétrico.

Los valores de colesterol para la salchicha comercial resultaron similares entre sí por ambos métodos, por ligeramente mayores comparados con el bibliográfico.

5.6.2.1. Comparación del método colorimétrico respecto al cromatográfico.

Los datos en la comparación del procedimiento colorimétrico y cromatográfico se presentan en el siguiente cuadro:

Cuadro 13. Comparación de los valores en Colesterol obtenidos por procedimientos colorimétricos y cromatográficos.

Muestra	G C			COLORIMETRICO		
	\bar{X}	D.S.	C.V.	\bar{X}	D.S.	C.V.
Salchicha baja						
en Colesterol	47.83	1.29	2.69	47.23	0.49	1.04
Salchicha						
comercial	82.93	2.37	2.8	82.52	2.08	2.52
Lardo de cerdo	215.32	1.89	0.88	214.9	1.87	0.87
Carne de pavo	82.8	2.81	3.40	89.13	1.62	1.82
Carne de pollo	84.03	1.10	3.40	81.46	0.73	0.90

f=5.34

Los valores de colesterol obtenidos por ambos procedimientos no fueron significativamente diferentes ($P > 0.05$), a excepción de los resultados obtenidos para la carne de pavo.

Lo anterior puede explicarse en la dificultad de manipulación en la saponificación y análisis de esta muestra, dado su bajo contenido en colesterol.

A continuación se muestra el cromatograma obtenido del análisis de la salchicha con bajo contenido en colesterol :

5.6.3. Evaluación sensorial.

Los resultados de la prueba preferencial mostraron que la mayor aceptación fue para la salchicha comercial 100% cerdo, el segundo lugar en preferencia para la salchicha con bajo contenido en colesterol, y el tercer lugar para la salchicha 100% pollo, elaborada con grasa animal.

El análisis de Varianza y los resultados de la prueba de Tukey se muestran a continuación :

Cuadro 14. Análisis de Varianza y Prueba de Tukey.

	df	ss	ms	F**
Muestras	2	12.60	6.300	10.88**
Jueces	39	0.00	0.000	
Error	78	45.20	0.579	
Total	119	57.80		

df= grados de libertad

ss=suma de cuadrados

ms=cuadrado medio

F=cuadrado medio de los tratamientos/cuadrado medio del error

Se aplicó un análisis estadístico de varianza a los resultados y se obtuvo que $F= 5.18$ y $T_p < 0.01$, valores demostrativos de una diferencia no significativa entre la muestra a) y c) .

Hubo diferencias significativas entre los siguientes pares de muestras :

cerdo (100%) comercial - Pollo (100%) comercial

pollo (100%) comercial - salchicha con bajo contenido en colesterol.

La salchicha mejor aceptada por el consumidor fue la comercial 100% cerdo, sin embargo el análisis anterior demostró que no hubo diferencia significativa en comparación con la salchicha baja en colesterol que ocupó el segundo lugar en preferencia de las 3 muestras que constituyen la prueba .

5.6.4. Análisis bromatológico .

Cuadro 15. Resultados del Análisis bromatológico.

Humedad	55.65 %
Cenizas	3.11%
Extracto Etereo	20.42%
Proteína.....	13.45%
Carbohidratos.....	7.37%

De acuerdo a los resultados anteriores, el producto elaborado cumple con las especificaciones de la NOM F 65 1984 para salchicha, que especifica un contenido máximo de 70% de Humedad, 30% de extracto etereo y un mínimo de proteína de 9.5%.

5.6.5. Análisis microbiológicos .

Cuadro 16. Resultados del Análisis microbiológicos.

Microorganismo	Cuenta UFC/ g.
Coliformes	9
Hongos y levaduras	50
Salmonella en 25 g.....	ausente
Sta. DNasa en 25 g.....	ausente
Mesofilicos aerobios	15,000

La misma Norma establece un máximo de 500,000 col/g de mesofilicos aerobios y Salmonella negativa, por lo que el producto elaborado cumple también con las especificaciones microbiológicas.

6. CONCLUSIONES .

Un embutido con grasa animal a menudo proporciona el sabor y la textura óptima en este tipo de productos. Al sustituir la grasa de origen animal, no debe pasarse por alto que ciertas grasas vegetales son capaces de proporcionar el componente graso necesario en la formulación, pero deben advertirse dos hechos: evitar un contenido elevado de ácidos grasos saturados en mantecas vegetales y, como producto de experiencia de la emulsión propuesta, es aconsejable emulsionar previamente la proteína no cárnica de la salchicha y después integrarla a la pasta del embutido.

La ingestión excesiva de ácidos grasos saturados aumenta la concentración de lipoproteínas de baja densidad en humanos, lo que hace mayor el riesgo de padecimientos cardiovasculares. Por esa razón es necesario que al proponer productos relacionados con una dieta saludable, se tomen en cuenta todos y cada uno de los ingredientes. En el caso de los embutidos tipo salchicha con bajo contenido en colesterol, la manteca vegetal seleccionada guarda un balance en el contenido de ácidos grasos saturados y no saturados, de modo que reemplaza ventajosamente a la manteca de cerdo en la prevención de enfermedad aterosclerosa.

En la actualidad las proteínas se reconocen como buenos emulsificantes en la ciencia de los fenómenos de superficie. La adsorción de proteínas en interfases de fluidos es de gran importancia en la industria de alimentos, ya que proporciona estabilidad, y tiene particular interés en la elaboración de productos cárnicos tipo emulsiones.

El empleo de derivados de soya ha mostrado ventajas al incorporarse a los preparados bajos en contenido graso.

En efecto, además de los beneficios nutricionales y sensoriales, se añade que no tiene problemas de suministro, ya que existe en abundancia y es un producto confiable, tiene además un precio competitivo y proporciona mejoras en el sabor y estabilidad oxidativa de la grasa en su forma parcialmente hidrogenada.

BIBLIOGRAFIA.

1. Asociación Americana de la Soya: Manual de Procesamiento y utilización del aceite de soya . American Soybean Association, St. Louis Missouri, USA. 1980. pp. 339.
2. Arntzenius A. et al." Diet, lipoprotein and the Progression of Coronary Atherosclerosis ". New England Journal of Medicine, Vol. 312 No. 13. (1985). pp. 119 121.
3. Beeson, P.B., Mc Dermott Walsh, Wingardeen J. Tratado de Medicina Interna. Ed. Interamericana. México 1983. Tomo II.
4. Bender A.E." Nutrición y Alimentos Dietéticos " Ed. Acribia. España, 1977. pp.153.
5. Bohac C.E., Rhec K.S., Cross H.R. and Ono K. Journal of Food Science. Vol. 53, No. 6 (1988) .pp. 16.
6. Cahnell E.L., Savell J.W. " Fatty Acid Composition and Caloric Value of Ground Beef containing Low levels of fat ". Journal of Food Science. Vol. 54, No.5. (1989) .pp.1163 1170.
7. Carpenter, J.A. and Saffle R.L. " Some Physical and Chemical Factors affecting the Emulsifying Capacity of Meat Protein Extract ". Food Technology 19, 111. (1965)pp. 19.
8. Castelli W.P, Doyle J.T., Gordon T. Hames C.G. HDL Cholesterol and other lipids in Coronary Heart Disease " The Cooperative Lipoprotein Phenotyping Study Circulation. Vol. 55 (1977). 776-777.
9. Cook P. Cholesterol, Chemistry, Biochemistry and Phatology. Academic Press Publishers Inc, N.Y. 1958. USA.
10. Ebenend B.J., Venables and Daughtery K.E. " Lipid Separations : A review of chromatographic techniques for the analysis of glycolipids and phospholipids. L.C. Volume 3 Number 5. (1978). pp 16.

11. Epidemiología de la Enfermedad Aterosclerosa Coronaria en México. CIENCIA. Número Especial de Aniversario. (1990),pp. 103 119.
12. Fineen, J.B. and Michell, R.H. " Membrane Structure " J.B. Fireah and R.H. Michell, eds. (North Holland Biomedical Press, New York. (1981). pp. 1 36.
13. Henry, C., Mc Gill Jr. Nutrition, Aging and Atherosclerosis. Alan R. Liss Inc.Texas, USA. 1986. pp 211 227.
14. Herbert D., Du Pont L. " Uso práctico de antimicrobianos ". Ed. Interamericana, S.A. de C.V. México, 1980 pp. 3 6.
15. Horwitz W. " Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemiss ". 13th. ed. 1980 Washington, USA.
16. Gaska M, Regenstein J. " Timed Emulsification Studies with Chicken Breast Muscle ". Journal of Food Science. Vol. 47 (1982). pp. 1460 1462.
17. Grundy, Scott M. " Cholesterol and Coronary Heart Disease ". State of art/review. Journal of the American Medical Association. Vol 256, No. 20. 1986.
18. Ibrahim N, Puri R.K., Kapila S. y Unklesbay N. " A research Note, Plant Sterols in soybean hulls ". Journal of Food Science. Vol. 55, No. 1 1990.
19. Kanada T., Nakajama A. y Fujimoto K. " Quantitative Analysis of Cholesterol in foods by gas liquid chromatography". Journal of Nutrition Science, 26. (1985). pp.497 505.
20. Kinney Sweeten, Cross H.R., Smith G.C. and Smith S.B. " Subcellular distribution and Composition of Lipids in muscle and Adipose Tissues ". Journal of Food Science. Vol. 55, No.1 (1990). pp. 43- 44.
21. Kinsella E.J. " Trends in new product development, modifying the nutrient composition of animal products ". Food Technology. Vol 45, (1987) . pp. 62- 65.
22. Kritchevsky D., Dehoff L.J. " Sterol Content of Seafood as a function of analytical method " Journal of Food Science. Vol. 43 (1978). pp. 1786- 1170.

23. Kovacs M.I.P., Anderson W.E. and Ackman R.G. " A simple method for the determination of Cholesterol and some plant sterols in fishery based food products " *Journal of Food Science*. Vol 44, (1979) pp.1299- 1301.
24. Lloyd L.E., McDonald B.E., Crampton E.W. *Fundamentos de la Nutrición*. Ed. Acribia, Zaragoza, España 1982.
25. Maerker G. Unrun Jr. " Cholesterol Oxides. Isolation and Determination of some Cholesterol Oxidation Products ". *JAOCS*. Vol. 63 No. 6 (1986) pp. 115- 119.
26. Mandigo R.W. " Meat Product Forming Technology " California Meat Publishing Conf., San Francisco California USA. 1985.
27. Marques E., Ahmed E.M., Shireman R.B., Cornell J.A. y West R.L. " Dietary Effects of Frankfurters with added Beef Fat and Peanut oil ". *Journal of Food Science*. Vol. 54, No.3 (1989) pp. 497- 499.
28. Marques E.J., Ahmed E.M., Shireman R.B., Cornell J.A. y West R.L. " Colesterol: Un factor de riesgo." *British Food J*. Vol. 87, num. 927. (1989) pp. 97- 99.
29. McGill H.C. Jr. (1979). "The relationship of Dietary Cholesterol to serum cholesterol concentration and to atherosclerosis in man ". *Am J. Clin. Nutrition*. Vol. 32 (1979) pp. 2664- 2702.
30. Petrowsky G.E. . " Emulsion Stability and its relation to foods". *Adv. Food Research*. Vol. 22 (1976) . pp. 309- 359.
31. Pork J, Rhee K.S., Keeton J.T. and Rhee K.C. " Properties of Low Frankfurters containing Monounsaturated Omega 3 Poliunsaturated oils ". *Journal of Food Science* Vol. 54, No. 3, 1989.
32. Price J.P., Schweighent. " *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos* " Ed. Acribia, Zaragoza España. 1978 . pp. 493- 523.
33. Orten Neuhaus. " *Bioquímica Humana* ". Ed. Médica Interamericana. 10a. Ed. Argentina. (1990) . pág. 302 -320.
34. Posadas C., J Sepúlveda, R.Tapia y col, *Arch. Inst. Cardiol. México* (1989) 59, 15.

35. Robson W.E. and Dalgleish D. " Interfacial Composition of Sodium Caseinate Emulsions ". Journal of Food Science. Vol. 52, No. 6 (1987). pp.1694- 1698.
36. Sepúlveda, J.A. y R.C. Tapia, Dirección General de Epidemiología. (México, 1987).
37. Shannoa W.J. " Modern Sausage Production " Meat Process Vol. 6:33. (1966) pp 19.
38. Sheppard Alan J., Newkirk R.David, Hubbard Willard D. Hubbard and Theodore Osgood. " Gas liquid Chromatographic Determination of Cholesterol and other sterols in foods ". Journal of the A.O.A.C. Vol. 60, No.6 . (1977) pp.17.
39. Siedel J.H., Schlumberger, Klose S., Ziegenhorn J y Wahlefeld A.W. (1981). (Boehringer Mannheim GmbH). J.Clib. Chem. 19 (838). 1980.
40. St. John, Buyck M.J., Keeton J.T., Leur Smith. " Sensory and Physical Attributes of Frankfurters with reduced fat and elevated monounsaturated fats ". Journal of food Science. Vol. 51, No. 5. (1986) . pp 1143- 1179.
41. SteelTorrie. Bioestadística, Principios y Procedimientos. Mc Graw Hill. México, 1985. pp135-140.
42. Swen Daniel. " Baileys Industrial Oil and Fat Products. John Wiley and Sons. Vol. 1, 4th Ed. (1980). pp. 333-351.
43. Toro Vazquez and M. Regenstewin Joe. " Physicochemical Parameters of Protein Additives and their Emulsifying Properties ". Journal of Food Science. Vol. 54 No.5. (1989) pp.1177- 1183.
44. Trejo y Lozano. " Epidemiología de la Enfermedad Aterosclerosa Coronaria en México". Ciencia (1990). Especial, pp 103-109.
45. Velázquez o., Alvarez L.C., Lezama F.M.CIENCIA, número especial de aniversario. (1990). pp. 143- 158.
46. Weiss J. Theodore. " Foods, oils and their Uses ". 2d. Ed. The AVI Publishing Company Inc. 1980. pp.53- 57 . U.S.A.
47. Whitting R.C. " Addition of Phosphates: protein and gums to reduced salt Frankfurters Batters " Journal of Food Science. Vol. 49. (1984) pp. 1355- 1357.

