

COMPARACION DE METODOS PARA LA DETECCION Y CUANTI-
FICACION DE PRODUCTOS DE SOYA EN CARNICOS.

Autores: Iraida Ramírez
Alfredo Duplant
Abraham Levy
Werner G. Jaffé

Instituciones: UCV - CCIAN

Porlamar, 25-28 Mayo 1983

I N D I C E

	Págs.
Introducción -----	1
Objetivos -----	2
Conclusiones y Recomendaciones -----	3
Métodos -----	4-6
Materiales : Bases tomadas en cuenta para la elaboración de muestras de Soya-Carne -----	7-9
Elaboración de las muestras -----	9
Resultados -----	10-14
Bibliografía -----	15-16

Tablas:

Tabla N° 1: Métodos utilizados ---	5
Tabla N° 2: Elaboración de las muestras -----	8
Tabla N° 3: Resultados con harina de soya -----	11
Tabla N° 14: Resultados texturizada	12
Tabla N° 5: Resultados con Aislado	13

I N T R O D U C C I O N

El uso de la soya a nivel mundial es ampliamente conocido. El principal destino de estos granos es la fabricación de alimentos concentrados para animales, pero en numerosos países se emplea para ser adicionada a productos alimenticios con destino humano. Estos alimentos en donde la proteína tradicional constituye la principal característica, su reemplazo parcial se conoce como extensión. En alimentos tales como productos a base de carne molida y emulsificada; solo parte de las proteínas tradicionales pueden ser reemplazadas sin cambios marcados en la identidad del producto o alimento.

Desde el punto de vista nutricional el reemplazo parcial de la proteína animal por la proteína de soya, debe hacerse en base al contenido proteico y no sobre un reemplazo absoluto de peso de ingredientes.

En Venezuela la cantidad de soya que se cultiva es pequeña y son cultivos en fase experimental en expansión, al mismo tiempo - anualmente se importan aproximadamente 700.000 toneladas (entre tortas, harinas y soya en grano) con un monto o valor de 642 millones de bolívares. No se tiene información del empleo de los derivados proteicos de la soya en la fabricación de embutidos y conservas, sin embargo se puede asumir que evidentemente esta práctica será introducida en la industria nacional ya que ella abarata el costo sin una aparente pérdida de su calidad nutricional.

O B J E T I V O S

El frijol de soya es una leguminosa rica en proteína. De las semillas desgrasadas se fabrican los siguientes productos principales; la Harina de Soya cuyo contenido de proteínas es de 42% a 50% dependiendo si el destino es para consumo animal o para el humano, los texturizados con un 50% de proteína, los concentrados con un 72% y los aislados con un 90% de proteína. El costo cada vez mayor de las proteínas animales tales como la carne, leche, huevos, frena el consumo de estas fuentes de proteínas entre las poblaciones de menores recursos. El uso y desarrollo de equivalentes proteícos, extensores y sucedáneos hechos a base de los productos de soya permitirá disponer de proteínas vegetales como complemento en la alimentación humana. A este respecto se hace necesario una acción reguladora efectiva que determine el contenido de los productos de soya y que, a la vez permita controlar la adición de esta proteína vegetal a los productos cárnicos.

En el presente trabajo se persigue como objetivo la comparación de diferentes métodos que permiten detectar y cuantificar la cantidad de proteína de soya agregada a un producto procesado de origen animal.

Por todo lo expuesto anteriormente nos pareció interesante revisar los principales métodos que han sido propuestos para la detección de soya o sus derivados en productos cárnicos con el fin de evaluar y recomendar aquel o aquellos que nos pareciera de más fácil realización y de mayor sensibilidad que se presenten a una efectiva medida de control.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La experiencia de comparar todos estos ensayos permite proponer un esquema analítico sencillo que, según nuestro criterio, llena los requerimientos para poder ejercer un control efectivo sobre la presencia de productos de soya en cárnicos.

- 1º- Se investiga la presencia de inhibidores tripticos de las muestras desgrasadas y deshidratadas. Este método permite con bastante sensibilidad detectar harina de soya y aislado de soya y se pueden fácilmente analizar en unas 20 muestras/día/técnico.
- 2º- Otro método que se presta para una investigación de rutina es el microscópico que se basa en la detección de un tipo de células vegetal características de la soya, las llamadas células "Hour-Glass" las cuales se le hizo referencia en los apartes anteriores.

Requiere cierta experticia y se puede efectuar con un número considerable de muestras al mismo tiempo.

La cuantificación de los resultados es difícil y poco confiable en todos los casos. Por esta razón sería recomendable establecer la legalidad de productos cárnicos con soya que esta limitado por factores tecnológicos y gustativos. Evidentemente los cárnicos con soya deberían venderse a un precio al público inferior a el de los productos puros.

M E T O D O S

De la revisión bibliográfica se desprende que se han empleado numerosos métodos que permiten evidenciar y cuantificar la presencia de soya en mezclas con carne.

Se escogieron 7 métodos (Tabla Nº 1) para pruebas con la finalidad de escoger los más apropiados.

Métodos indirectos: que establecen una relación entre los componentes no proteícos y el contenido de proteínas de soya. Estos, a su vez, se pueden clasificar en el Método Microscópico el cual se basa en la observación al microscopio de la presencia o no de las células provenientes de la cubierta seminal o cáscara de la semilla; las cuales se visualizan con una mezcla de colorantes especiales.

El otro subgrupo serían los métodos químicos en donde estaría enmarcado el método de Fibra Dietética en el cual se cuantifica este componente que es aportado por los vegetales, y en este caso por la soya. Se utiliza una extracción con detergentes neutros que deja como único residuo a la fibra dietética, la cual consiste de carbohidratos indigeribles de las paredes celulares de los vegetales.

La medición de carbohidratos específicos y de los cationes bivalentes Ca y Mg se hace en base al aporte que el material de soya hace de estos constituyentes al producto en estudio, aunque hay que recordar que estos componentes se encuentran también en otros materiales vegetales de manera que estas pruebas químicas detectan solo la presencia de materia no cárnica sin poder definir las.

Los carbohidratos se detectan con facilidad con un método colorimétrico usando antrona o fenol. Para la detección de los cationes bivalentes Ca y Mg se aplicó el método espectrofotométrico de absorción atómica.

Métodos directos: que determinan la proteína de soya o una de sus fracciones. Entre estos métodos se cuentan:

Detección de los inhibidores proteícos de la soya, que se encuentran en la semilla y en los productos derivados de esta y no en la carne, su presencia en el producto analizado es un buen indicio de la adición de esta última.

Su detección es muy sencilla con una metodología desarrollada en la Facultad de Ciencia de la UCV. Consiste de la demostración de la inhibición de la digestión de caseína por la tripsina en portaobjetos cubiertos con agarosa, este método permite efectuar un gran número de ensayos simultáneamente.

TABLA N° 1

METODOS A UTILIZAR

- 1.- PRESENCIA DE CELULAS "HOUR - GLASS"
- 2.- DETECCION DE FIBRA DIETETICA
- 3.- CUANTIFICACION DE CARBOHIDRATOS APORTADOS POR LA SOYA
- 4.- CUANTIFICACION DE Mg Y Ca
- 5.- DETECCION DE LOS INHIBIDORES PROTEICOS DE LA SOYA
- 6.- INMUNOPRECIPITACION CON ANTISUEROS CONTRA SOYA
- 7.- IDENTIFICACION DE LAS PROTEINAS DE LA SOYA POR ELECTROFORESIS

El método inmunológico detecta proteína de la soya por el uso de antisueros preparados contra dicha proteína en conejos.

Y por último la presencia de bandas correspondientes a proteínas de la soya en la electroforesis de material de un producto cárnico es un indicio de su adición. Estas bandas pueden ser debidas a fracciones proteicas de la misma soya o a proteínas - agregadas como marcadores.

Para la aplicación de dicho método se requiere de un aparato de electroforesis en columna y cierta experiencia en efectuar la prueba y su interpretación.

M A T E R I A L E S

BASES TOMADAS EN CUENTA PARA LA ELABORACION DE LAS MUESTRAS DE SOYA - CARNE.

1.- Tipo de reemplazo escogido en la elaboración de muestras.

Un enfoque técnicamente correcto es (1) del considerar las proteínas de la soya como un sustituto directo para una igual cantidad de proteína animal y (2) la porción no proteínica del producto de soya como parte de los carbohidratos totales permitidos en el producto final.

En el presente trabajo se escogió el primer (1) criterio para la elaboración de las muestras.

2.- Factores que regulan el reemplazo parcial o extensión.

2.1 Características organolépticas.

La soya no se presta para el consumo directo, por sus características organolépticas intrínsecas tal como su sabor fuerte y poco agradable de algunos productos de soya, razón por la cual necesita diversos procesos de transformación para su consumo.

En la industria de la carne en Estados Unidos la reglamentación Federal limita el uso de harinas, sémolas y concentrados en productos embutidos a un 3,5% mientras que los aislados solo pueden usarse en un 2%. Tales productos son llamados tortas de carnes y no tienen restricciones en cuanto al nivel de soya que se le pueda agregar. En las tortas de carne, el sabor fija un límite máximo de un 6% de harinas. Los concentrados hidratados pueden añadirse a las tortas de carne hasta un nivel del 20% sin afectar el sabor.

Cuando se utilizan niveles mas altos se hace necesario la adición de especias que compensen la dilución del sabor de carne. El nivel al cual puede ser detectada e indeseable los sabores residuales de la soya, dependen de la clase de alimento al cual se vaya a incorporar.

Cabe destacar que, si bien es cierto que las mayores ventajas de orden económico pueden tener lugar en la extensión de las proteínas animales tradicionales, las limitaciones de tipo técnico-organoléptico constituye un mecanismo autoregulador para mayores niveles de uso de proteína de soya. En otras palabras, a una mayor cantidad empleada de proteína de soya, sigue una disminución en la calidad organoléptica del producto terminado.

b.2 Finalidad del uso del agregado de soya:

TABLA N° 2

PRODUCTOS DE SOYA ADICIONADOS	PORCENTAJE FINAL EN LA MORTADELA		
	1%	2%	3%
HARINA DE SOYA			
PROTEINA DE SOYA TEXTURIZADA			
AISLADO DE SOYA			

Otro punto importante a tomar en cuenta es el objetivo que se persigue, cuando se reemplaza parcialmente la proteína cárnica por algunos de los productos de proteína de soya. Porque además de los diferentes contenidos de proteína, estos productos poseen características intrínsecas diferentes, las cuales limitan su uso.

Para el caso de las harinas de soya, además de su aporte proteico, estas ocupan espacio (llenar). Esto influiría en la textura final del producto haciéndole mas compacto. Se usan en la relación de hidratación de 1:1 ó 1:2 si la harina es muy buena y se debe agregar al producto en un máximo de un 3% en base seca. Pues al agregar niveles superiores de la harina, influirían en el sabor del producto final.

Para la proteína de soya texturizada además de su aporte proteico, mejora la textura. Su relación de hidratación es de 1:2 - 1/2 y se calcula agregar al producto hasta un 30% en base húmeda.

En el caso del aislado de soya, además de su aporte proteico sirve como emulsificante. Su relación de hidratación es de 1:4 y se puede agregar al producto en un máximo de un 3% de su total en base seca.

ELABORACION DE LAS MUESTRAS DE SOYA - CARNE

Para todos los casos se preparó la mortadela con harina de soya, proteína de soya texturizada o aislado de soya. A tres concentraciones diferentes, es decir: 1,2 y 3% (Tabla N° 2).

R E S U L T A D O S

Para la evaluación de los resultados se presentaron 3 tablas comparando los diferentes métodos en un mismo producto, estableciendo de esta forma la eficiencia de cada uno de estos análisis en la detección de los productos de soya.

En la tabla N° 3 se observa el resultado cuando la mortadela se adicionó con harina de soya a tres porcentajes diferentes; se puede apreciar que en todos los casos y con la concentración mas baja los distintos métodos detectan presencia de soya. En algunos casos el aumento del producto de soya correlaciona bien con la respuesta del método.

Para la cuantificación de la soya en productos cárnicos se han estudiado las determinaciones de calcio, de magnesio y de carbohidratos, que en las muestras han permitido obtener resultados satisfactorios, pero que no permiten diferencias entre adiciones de soya y otros productos vegetales, como por ej: la harina de trigo.

Se logra una cierta cuantificación de la soya al investigar la cantidad de inhibidor triptico mediante un ensayo fotocolorimétrico. Sin embargo, para una interpretación correcta de los resultados es necesario conocer la actividad del inhibidor triptico en la materia prima utilizada por el fabricante, ya que depende de la variedad de soya usada y el tratamiento térmico al cual fué sometida, razón por la cual la aplicación del método para fines de cuantificación tiene limitaciones, no obstante su sencillez para la detección cualitativa.

Otros métodos que se pueden cuantificar (teóricamente) son los de electroforesis en S.D.S. y el inmunoquímico; sin embargo los 2 tienen sus serias limitaciones por lo complejo de la metodología y por el hecho de que los resultados dependen del tipo de soya utilizado.

En U.S.A. se aplica una variación del método de electroforesis en donde se utilizan marcadores de proteínas en el aislado de soya para su posible detección y cuantificación. Este procedimiento no sería recomendable, ya que en el país se importan productos en base a soya de muy diversas fuentes que puedan contener el marcador sin existir seguridad al respecto. En el caso, de que se adoptara el método basado sobre cierto marcador, se dependería de una sola fuente que se usa precisamente este tipo de marcador; es evidente que esta situación sería indeseable y peligrosa para el abastecimiento nacional.

Los ensayos de las tablas 3,4 y 5 que están señalados con -

TABLA N^o 3

METODO	HARINA DE SOYA			
	0%	1%	2%	3%
1.- PRESENCIA DE CELULAS "HOUR - GLASS"	-	+	+	+
2.- % DE FIBRA	2,46	2,55	2,81	3,13
3.- MG DE CARBOHIDRATOS	0	135	205	235
4.- μ G DE MG / ML	0,002	0,08	0,11	0,12
5.- % DE INHIBICION	0	49,2	60,2	74,0
6.- INMUNOPRECIPITACION	-	+	+	+
7.- ELECTROFORESIS	-	+	+	+

TABLA No 4

METODO	PROTEINA DE SOYA TEXTURIZADA			
	0%	1%	2%	3%
1.- PRESENCIA DE CELULAS "HOUR - GLASS"	-	+	+	+
2.- % DE FIBRA	2.46	2.32	2.96	3.19
3.- MG DE CARBOHIDRATOS	0	95	205	270
4.- μ G DE MG / ML	0.002	0.09	0.11	0.13
5.- % DE INHIBICION	0	42.8	44.2	57.0
6.- INMUNOPRECIPIACION	-	+	+	+
7.- ELECTROFORESIS	-	+	+	+

TABLA N°5

METODO	AISLADO DE SOYA			
	0%	1%	2%	3%
1.- PRESENCIA DE CELULAS "HOUR - GLASS"	-	+	+	+
2.- % DE FIBRA	⊘	⊘	⊘	⊘
3.-MG DE CARBOHIDRATOS	⊘	⊘	⊘	⊘
4.- μG DE CA / ML	0,63	1,89	1,96	2,42
5.- % DE INHIBICION	0	28,3	38,3	44,5
6.- INMUNOPRECIPITACION	-	+	+	+
7.- ELECTROFORESIS	-	+	+	+

(⊘) NO SE REALIZO EL EXPERIMENTO

cruz indican positividad.

Para el caso de proteína de soya texturizada se presenta la tabla N° 4 en donde se confirman los resultados.

Y en el caso del Aislado de Soya (tabla N° 5) se aprecian resultados similares. En este último caso no se determinó el porcentaje de fibra, ni de carbohidratos porque el aislado posee un contenido muy bajo de estos constituyentes.

B I B L I O G R A F I A

- (1) Kamura S.; Quantitative Chromatography of Sugar of the Cotyledon, Hull and Hipocotyl of Soy-beans of Selected Varieties. Tech. Bull. Fac. Agric. Kagawa Unjr. - Vol 18, N° 2 pp. 117-131 (1967).
- (2) Trabajo Especial de Grado del Br. Natividad Liscano. - (1980)
- (3) Programa Especial de Producción de semillas de soya. Realizado por el Departamento de Cereales y Leguminosas del MAC (1980).
- (4) Djien K.S. and Hesselstine C.W. Indonesia fermented food. Soybean Dig. Nov. pp. 14-15 (1961).
- (5) Bauernfeind J.C. Vitamin, Fortification and Nutrified - Food. Chemical Research Department. Hoffmann. La Roche. Inc. Nutley. New Jersey. U.S.A. pp. 3-8 (1970).
- (6) Bewder A.A. Nutritional Effects of Food Processing. Food Tech. pp. 261-289 (1970).
- (7) La Chance P.A. Nutrification, a New Nutritional Concept. Food Tech. pp. 100 (1970).
- (8) Wolf W.J. Proteinas comestibles de la Soya y sus usos. - Asociación Americana de la Soya. México N° 5. pp. 1-12 (1979).
- (9) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 11 th. Ed. AOAC. Washintong D.C. (1970).
- (10) Robertson J.M. The Detergent System of Fiber Analysis. Animal Science Department, Cornell University. Ithaca Nueva York. (1980).
- (11) Davis N.T. and Ried H. An evaluation of the phytate zinc, coepper, iron and maganese contents of, and Zn., avallability from soya - based tewtured - vegetable - protein meat-substitutes or meat-extenders. Br. J. Nutr.41 pp. 579-589 (1979).
- (12) Cunningham S.D.; Dennan P.J. and Sanders W.L. A Simple and Rapid Method for estimation of concentration of Textured - soybean protein in raw beef-soy blends, Journal of Food - Science 44. pp. 1326-1328 (1979).

- (13) Wallys T.E. Microscopia Analítica. Ed. Acribia. Zaragoza España. pp. 146-149 (1978).
- (14) Proyecto de Regulación para el uso de Proteínas derivadas de la Soya. Ralston Purina Company. (1978).
- (15) Frazier W.C. Microbiología de Alimentos. Ed. Acribia. - Zaragoza. España (1976).
- (16) Akeson W.B. and Stalermann M. Determinación de Digestibilidad "in vitro" de Proteínas. Journal Nutrition 83. pp. 257-261 (1967).
- (17) Dubois M.G.; Halminton J.A.; Robers P.A. and Smith F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Analytical Chemistry. 28 (3) p. 350 (1956).
- (18) Maier H.G. Métodos Modernos de Análisis de Alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza. España (1968).
- (19) Holt R. Journal Sci. Fd. Agric. (1955).
- (20) Tabla de Composición de Alimentos para uso práctico. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Instituto Nacional de Nutrición. Rev. 9-64. Rev. (1978).
- (21) Frinting Structure of Coleototrichum Dematun var. And Phomopsis Sojae Formed in Soybean seeds. Plant Disease Reported. pp. N° 10 Oct. (1968).
- (22) Marvin W.F.; Guy R.H. and Maclean D.D. Determination of Soy Products in Meat-Soy Blends. Journal of the AOAC. 57 - N° 4 pp. 841-846. (1974).
- (23) Jaffé W. Phytic Acid in Soybeans. Journal of the American Oil Chemist's Society. Vol 58 N° 3 pp. 493-495. March (1978).
- (24) Baldini P. And Porretta A. The use of soy proteins in the Manufacture of Some typical Italian meat products: Mortadella, Salami and Fresh Sausage. Industria Conserce Parma. Año 53-III. 4 de Octubre - Diciembre (1970).
- (25) Wolf W.J. and Baker F.L. Scanning Electron Microscopy of Soybeans, Soy Flours, Proteins Concentrates, and Protein Insolates. Cereal Chemistry. 52. pp. 387-396 (1975).
- (26) Analytical Method for the determination of Soya Protein in foods by using S.D.S- gel electrophoresis.