



Nacameh

Vocablo náhuatl para “carnes”

Volumen 1, Número 2, Junio 2007

Difusión vía Red de Computo semestral sobre Avances en Ciencia y Tecnología de la Carne

Derechos Reservados[©] MMVII

ISSN: 2007-0373

<http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>



http://www.geocities.com/nacameh_carnes/index.html

ISSN DIFUSIÓN PERIODICA VIA RED DE CÓMPUTO: 2007-0373

NACAMEH, Vol. 1, No. 2, pp. 97-109, 2007

Técnicas analíticas para la determinación de la autenticidad de la carne y de los productos cárnicos procesados térmicamente*

Juan Francisco Hernández-Chávez^{1,✉}, Aarón F. González-Córdova¹, Armida Sánchez-Escalante², Gastón R. Torrescano², Juan P. Camou², y Belinda Vallejo-Cordoba¹

¹Laboratorio de Calidad y Autenticidad de Alimentos. ²Laboratorio de Productos Cárnicos. Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD). Carretera a La Victoria Km. 0.6, Hermosillo 83000, Sonora. ✉ Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Autor para Correspondencia: vallejo@cascabel.ciad.mx.

Introducción

La adulteración o falsificación de los alimentos, es un problema que ha acompañado a la industrialización de los alimentos desde tiempos ancestrales, siendo los consumidores los principales perjudicados ante los fraudes cometidos. La adulteración de los alimentos no sólo causa perjuicios en los consumidores, sino que también afecta severamente al sector productivo, ya que la industria procesadora puede comprar materia prima de inferior calidad, transformándola y haciéndola pasar como de buena calidad, ocasionando una competencia desleal. La pérdida de calidad de los alimentos y la consiguiente insatisfacción de los consumidores, es también un factor que debe de ser considerado. Actualmente, en la mayoría de los países, las legislaciones se hacen cada día más estrictas, dejando pocas posibilidades para las prácticas fraudulentas.

* Derivado de la Conferencia “Técnicas analíticas para la determinación de la autenticidad de la carne y de los productos cárnicos procesados térmicamente”, por el Dr. Hernández-Chávez, presentada en el Coloquio en Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos 2006, Universidad Simón Bolívar.

A pesar de ello, los controles por parte de las agencias reguladoras se limitan a los análisis de rutina, los cuales no detectan adulteraciones. Por ello, se requieren de métodos que permitan abordar el problema de una forma eficaz y específica (Mata-Villaespin, 2000) La adulteración de la carne y los productos cárnicos, pueden ocurrir tanto en producto fresco como en procesado. En el caso de la carne, la autenticidad se centra en la identificación de la especie, ya que existen grandes diferencias de precio de acuerdo a ésta (Cota-Rivas y Vallejo-Cordoba, 1997, Hernández-Chávez, 2006).

Además del problema de una calidad inferior en el alimento adulterado, existe un gran porcentaje de individuos que presentan diversos problemas de alergia. Están también aquellos grupos de individuos que por razones de regímenes dietarios o creencias religiosas, no pueden consumir ciertos tipos de alimentos (Harbin, 1996). El consumidor depende totalmente de la veracidad de la lista de ingredientes en el etiquetado y es responsabilidad de las agencias reguladoras, el verificar y asegurar que los productos contengan solo los ingredientes indicados en sus etiquetas (Calvo y col., 2001).

En México existe la necesidad de implementar técnicas analíticas específicas y eficaces para determinar la autenticidad de la carne y los productos cárnicos procesados térmicamente (Hernández-Chávez, 2006). Con esto, las agencias reguladoras nacionales podrían estar capacitadas para aplicar y verificar la normatividad existente con el fin de controlar la calidad de los productos. Esto generaría una justa competencia que permita implementar estándares de calidad equivalentes a los establecidos por Estados Unidos, Canadá y la Comunidad Europea. Por lo anterior el objetivo general de esta revisión es describir las metodologías analíticas utilizadas para la determinación de la autenticidad de los productos cárnicos procesados.

Antecedentes

“Autenticidad” se define como confiable, fidedigno, genuino, sin duda del origen. En el caso de la carne, la confiable identificación de las especies es el punto de partida para la autenticación de los productos cárnicos y deberá estar basada en parámetros que no experimenten alteraciones drásticas durante su procesamiento (Lüthy, 1999). Hargin (1996) define a un

alimento no auténtico, como aquel que no es de la sustancia natural y calidad demandada por el consumidor. Este autor considera que un alimento está adulterado cuando se presenta, por lo menos una de los siguientes escenarios: 1) completa o parcial omisión de los constituyentes de alto valor, 2) total o parcial sustitución con componentes alimenticios de menor calidad o valor económico, 3) encubrimientos de daños o calidad inferior y/o 4) adición de materiales o sustancias no declaradas en la etiqueta, con el fin de incrementar el peso o volumen del producto.

La sustitución o adición de ingredientes en los productos cárnicos, puede ser del tipo: proteína y/o grasa de origen animal y/o vegetal. La proteína de origen animal proveniente de pasta de pavo o carne mecánicamente deshuesada (CMD), es la más utilizada en la industria procesadora de embutidos a nivel mundial (Hargin, 1996). El plasma sanguíneo también ha sido utilizado como un aditivo, no especificado en la etiqueta, en una variedad de productos cárnicos crudos y procesados térmicamente (Hargin, 1996). Entre los productos embutidos frescos se encuentra el chorizo, tradicionalmente fabricado a partir de carne y grasa de puerco o res, entre otros ingredientes. Actualmente es común encontrar en los mercados de México, chorizos que presentan sustitución de la carne de puerco o res con soya (González-Córdova y col., 1998); otro producto en el cual se ha encontrado soya sin declararlo en su etiqueta, es la salchicha (Woychik y col., 1987). Estas sustituciones son permitidas, siempre y cuando se encuentre debidamente indicadas en la etiqueta (NOM-051-SCFI-1994) y dentro de los límites permitidos (SECOFI, 1996), de lo contrario constituye un fraude al consumidor.

Las normas NOM-122-SSA1-1994 (SSA, 1995) y la NOM-145-SSA1-1995 (SSA, 1998) enuncian las especificaciones sanitarias y límites permitidos para aditivos, como proteínas no cárnicas y colágeno, entre otros, para los diferentes productos cárnicos. Los límites que mencionan dichas normas para estos aditivos son: aislado de soya (2.0%), concentrado de soya (3.5%), colágeno (2.0%) y harinas, féculas o almidones (10%). Estos pueden usarse, siempre y cuando, su porcentaje total, no rebase el máximo permitido para cada uno de ellos.

Actualmente en México, existe la NOM 158-SCFI-2003 (SECOFI, 2003) que denomina al jamón en base a la proporción de la fuente cárnica que se incluye en el producto final. Es importante enfatizar, que esta norma incluye

una técnica para determinar dicha proporción, pero ésta solo es de carácter cualitativo, por lo que no es posible cuantificar la proporción que especifican las denominaciones incluidas en esta norma. Lo anterior evidencia la necesidad de contar con metodologías analíticas capaces de determinar la concentración de cada especie en productos procesados térmicamente, como es el caso del jamón (Hernández-Chávez, 2006).

Técnicas Analíticas para Determinar la Autenticidad de la Carne y los Productos Cárnicos

Se han desarrollado diferentes métodos analíticos para la identificación de especies en carne fresca y procesada con la finalidad de proteger al consumidor de adulteraciones (Wolf y Lüthy, 2001). A través del tiempo se han utilizado diferentes metodologías para la identificación de especie, tanto en alimentos frescos como en procesados. Actualmente existen una gran variedad de técnicas analíticas, en las que predominan las que se basan en el análisis de proteínas. Sin embargo, la mayoría de las proteínas se desnaturalizan en los alimentos procesados térmicamente, resultando en cambios de la movilidad electroforética y antigenicidad de las mismas (Wolf y Lüthy, 2001), lo que se traduce en una interpretación equívoca de los resultados (Wintero y col., 1990). Las técnicas electroforéticas e inmunológicas a menudo fallan en la detección de especies en productos procesados térmicamente, y en alimentos de composición compleja, ya que las altas temperaturas causan cambios de conformación de las proteínas y otros componentes (Chikuni y col., 1990; Meyer y col., 1994; Calvo y col., 2002a). En el caso de las técnicas inmunológicas, generalmente los anticuerpos utilizados, son obtenidos del suero o del músculo de la carne fresca y no de la carne sometida a procesos térmicos. Wolf y col. (1999) y Hsieh y col. (1998) encontraron que en las técnicas inmunológicas, los anticuerpos que se emplean pueden presentar reacciones cruzadas, sobre todo en las proteínas de especies estrechamente ligadas; esto es, cuando las proteínas se desnaturalizan durante el procesamiento, sucede que los anticuerpos diseñados para reconocer las diferentes especies, no reconocen sus antígenos específicos, llegando a dar resultados erróneos. Otra de las principales desventajas de los inmunoensayos como técnicas de análisis, es que su precisión puede verse afectada cuando se analizan alimentos procesados, ya que estos son matrices complejas de proteínas y otros componentes. Algunas sustancias presentes en estas matrices, tales como:

surfactantes, compuestos fenólicos, ácidos grasos, fosfatasas endógenas y otras enzimas, son capaces de inhibir las interacciones específicas entre el antígeno y el anticuerpo (López y col., 2003).

En México, la NOM-023-ZOO-1995 (SAGDR, 1995) para la identificación de especie animal, utiliza la prueba de inmunodifusión pasiva en gel. Sin embargo, esta técnica presenta actividad cruzada con las diferentes especies animales, ya que los anticuerpos utilizados, son anticuerpos antisuero y no anticuerpos antimúsculo. Este es un protocolo que requiere de aproximadamente 24 horas para obtener los resultados (Meyer y col., 1994; Cota-Rivas y Vallejo-Cordoba, 1997; Andrews, 1998). De igual forma, con los métodos que utilizan electroforesis con isoelectroenfoque, no es posible determinar la autenticidad de productos cárnicos procesados, debido a que las altas temperaturas degradan las proteínas solubles del músculo. Los productos cárnicos marinados, también presentan dificultad para la determinación de su autenticidad por este método (Wolf y col., 1999). Es por lo anteriormente descrito, que la detección de la sustitución fraudulenta de especie en productos cárnicos procesados requiere de métodos específicos y confiables para la autenticación de los mismos, siendo fiable aún, ante situaciones de interferencias que se pudieran presentar por el tipo de proceso al que fue sometida la carne (Hunt y col., 1997; Lockley y Bardsley, 2000).

Electroforesis Capilar (CE)

La electroforesis capilar es una técnica que combina tanto aspectos de electroforesis convencional como de HPLC. La separación esta basada en la migración diferencial bajo un campo eléctrico y ocurre en solución libre sin el requerimiento de un gel. En la misma forma que en HPLC, la detección se realiza conforme ocurre la separación generando señales detectables por absorbancia UV, fluorescencia o espectrometría de masas, permitiendo el análisis en serie con automuestreadores de los sistemas. Con este tipo de detección se evitan los procedimientos de teñido y desteñido necesarios en la electroforesis en gel, disminuyendo así, la dificultad de los análisis (Bao, 1997; Dong, 1999). La ventaja más importante de esta técnica en el análisis de autenticidad de la carne y los productos cárnicos, radica en que requiere de cantidades muy pequeñas de muestra y soluciones amortiguadoras, eliminando así el problema de grandes cantidades de solvente y que es además automatizada (Canalon, 1995; Ren y col., 1999). La electroforesis

capilar es extremadamente versátil, ya que con el mismo instrumento básico y a menudo con el mismo capilar, se pueden analizar un amplio rango de moléculas desde proteínas (vegetal o animal), ácido desoxiribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN), productos de la reacción en cadena de la polimerasa, fragmentos de restricción, péptidos, aminoácidos y toda clase de moléculas orgánicas e inorgánicas (Bao, 1997; Andrews, 1998; Dong, 1999; Boyce, 2001; Recio y col., 2001).

Para el análisis de proteínas por electroforesis capilar, se han utilizado las diversas modalidades de la técnica: Electroforesis Capilar de Zona libre (CZE), Isoelectroenfoque (CIEF), Cromatografía Capilar Electrocinética Micelar (MECC), Electroforesis Capilar con Dodecil Sulfato de Sodio (SDS-CE) Electro cromatografía capilar (CEC) y Electroforesis Capilar en Gel (CEG) (Hu y Dovichi, 2002; Vallejo-Cordoba y col., 2005).

Actualmente el uso de la CE se ha extendido en el campo de la biología molecular, medicina humana y forense (Tsukagoshi y col., 2002). Hay una gran variedad de técnicas establecidas para el estudio del ADN en el área de salud pública y en los ingredientes utilizados en los alimentos (Hamdan y col., 1998). Estos autores mencionan que la electroforesis capilar es un método rápido y económico que puede ser utilizado para la separación y secuenciación de oligonucleotidos.

Cota-Rivas y Vallejo-Cordoba (1997) desarrollaron y optimizaron la técnica de SDS-CEG, para determinar proteínas en la diferenciación de especies cárnicas crudas, basándose en los perfiles de proteínas sarcoplásmicas del músculo. En otro estudio, estos mismos autores, analizaron los patrones electroforéticos obtenidos por medio del análisis multivariado, pudiendo discriminar entre las especies: res, cerdo y pavo (Vallejo-Cordoba y Cota-Rivas, 1998). Hernández-Chávez (2006) desarrolló y validó una metodología combinada, analizando productos PCR por medio de electroforesis capilar, para la identificación y cuantificación de especie en productos cárnicos procesados térmicamente.

Técnicas moleculares

Las técnicas moleculares son consideradas metodologías de las más novedosas para la detección de la adulteración en productos cárnicos procesados. Estas consisten en técnicas basados en el estudio de secuencias específicas de ADN de cada especie, como son la hibridación del

ADN (Wintero y col., 1990; Chikuni y col., 1990), la reacción de la polimerasa en cadena o PCR (Chikuni y col., 1994; Meyer y col., 1994) y la amplificación polimórfica del ADN en forma aleatoria (RAPD) (López y col., 2003). La principal ventaja de utilizar técnicas analíticas basadas en la identificación de ADN, es debida a que esta molécula se encuentra en todo tipo de células de un mismo individuo y contiene la misma información genética no importando el origen de la muestra (sangre, músculo, hueso, etc.). La información contenida en el ADN es mayor que en la encontrada en las proteínas, debido a que esta molécula es relativamente termoestable (Wolf y col., 1999), por lo que es menos susceptible a ser degradado durante el procesamiento de los alimentos, y aun degradado parcialmente permite identificar diferencias (López y col., 2003).

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La PCR consiste en la síntesis enzimática *in vitro* de millones de copias de un segmento específico de ADN. La química de la PCR se basa, como muchas otras técnicas de biología molecular, en la complementariedad de bases de ADN durante el calentamiento, en que se propicia que los puentes de hidrógeno que estabilizan la doble hélice se rompan y sus dos cadenas se separen. A este proceso se le conoce como desnaturalización o fusión del ADN. Si la solución de ADN se deja enfriar, la doble hélice se restaura (renaturaliza) debido a la complementariedad de sus bases. Para que esto suceda, es necesaria la presencia de una enzima: la ADN-polimerasa, misma que cataliza la replicación del ADN mediante la adición de nucleótidos complementarios de la hebra molde del ADN a un extremo 3' libre de la hebra naciente. Esta enzima requiere además de ADN molde, el cual se denomina primer o cebador, es decir un fragmento de ADN monocatenario que hibride con el ADN molde, y que suministra el extremo 3' libre a partir del cual ocurre la polimerización (Lockly y Bradsley, 2000).

PCR-RFLP.- La técnica de análisis de amplificación de fragmentos de restricción polimórficos (PCR-RFLP) consiste en la ampliación de fragmentos de DNA específicos mediante PCR, y su posterior tratamiento con enzimas de restricción, que las corta en fragmentos más pequeños. Esta técnica es muy utilizada para la diferenciación de especies cárnicas estrechamente relacionadas (Wolf y col., 1999).

PCR-SSCP.-La técnica de análisis del polimorfismo en la conformación de las cadenas sencillas de ADN de regiones amplificadas por PCR (PCR-SSCP), se basa en las diferencias de movilidad electroforética de una hebra de ADN monocatenaria que debido a su secuencia nucleotídica adoptan diferentes estructuras secundarias (Lockley y Bardsley, 2000).

RAPD.- La técnica de análisis del polimorfismo del ADN amplificado con cebadores arbitrarios (RAPD), consiste en la amplificación simultánea de múltiples fragmentos del ADN nuclear mediante PCR, utilizando para ello un único cebador, normalmente de 9-15 bases, cuya secuencia se escoge al azar. Como los productos RAPD son aleatorios, no requieren el conocimiento previo a la secuencia genotípica y el simple fallo y error se usa para determinar los cebadores. Por lo tanto, el tiempo perdido en la optimización del protocolo y la determinación de la secuencia se reduce al mínimo. Comparado con el RFLP no requieren la determinación de la secuencia específica. Sin embargo, los RAPD son más rápidos y baratos que el análisis del RFLP y pueden obtener mayor rendimiento, al igual que una mayor resolución (Leamon y col., 2000).

Por otra parte las técnicas de PCR cuantitativa se dividen en PCR competitiva cuantitativa (QC-PCR) y PCR en tiempo real (Real-Time PCR). Estas técnicas permiten la estimación de la concentración de una determinada secuencia de DNA en una muestra mediante comparación con curvas de DNA estándar, pero se distingue sustancialmente en el procedimiento que emplean para generar esas curvas estándar (García-Cañas, 2004).

QC-PCR.- se basa en la introducción en la mezcla de reacción de moléculas de ADN que se amplifican con el mismo par de cebadores que la secuencia diana. Partiendo de la condición de que ambas secuencias (secuencia específica y competidor) se amplifican con la misma eficiencia, la relación entre los productos de PCR obtenidos es proporcional a la relación del número de secuencias específicas y competidoras al inicio de la reacción. Por lo tanto, analizando los productos de amplificación y comparando las señales correspondientes a la diana y a la competidor, es posible obtener información cuantitativa sobre la secuencia de interés. Por su parte la PCR en tiempo real se basa en la detección del producto de amplificación ciclo a ciclo. Cuenta con sistemas de detección sensibles que permiten detectar la acumulación de productos en la fase exponencial de la reacción, cuando la

eficiencia es todavía constante y existe una buena correlación entre concentración de producto amplificado y concentración inicial de moléculas de interés. Es bien pues, una técnica que determina y cuantifica los productos PCR en línea en la misma reacción (García-Cañas, 2004).

Determinación de Especie en Productos Cárnicos Procesados Térmicamente

Existen varias técnicas para la autenticación de especies cárnicas. Las más usadas son las inmunológicas, electroforéticas y las cromatográficas. El problema con estos métodos es la dificultad de detectar especies en productos cárnicos procesados térmicamente. En los últimos 10 años las técnicas basadas en la detección de ADN en los alimentos, han tomado gran importancia en la autenticación de estos. Tal es el caso de la técnica PCR, la cual da como resultado una respuesta confiable al análisis en la diferenciación de especies y microbiología de los alimentos (Ibáñez y Cifuentes, 2001). Sin embargo, es necesario contar con tecnologías emergentes que simplifiquen los protocolos del análisis de los productos PCR (Lockley y Bardsley, 2000; Hernández-Chávez, 2006). Una tecnología capaz de cumplir con este propósito, es la electroforesis capilar, una atractiva alternativa al uso de los geles para un amplio rango de separación de ADN (Recio y col., 2001). Las principales ventajas de la electroforesis capilar incluyen la rapidez del análisis, una mayor eficiencia en la separación y la automatización (Ren y col., 1999).

Los métodos basados en la PCR, empleando técnicas electroforéticas convencionales para la detección de fragmentos de ADN, son frecuentemente usados para la detección de la adulteración de alimentos (Calvo y col., 2002b). Sin embargo la principal deficiencia de estos procedimientos analíticos para la caracterización de alimentos es su carácter semicuantitativo. La PCR cuantitativa en tiempo real, es una técnica que ha sido desarrollada como una alternativa a la PCR convencional para la cuantificación de secuencias específicas de ácidos nucleicos, lo que permite amplificación y cuantificación simultánea del ADN blanco. Sin embargo, estos métodos aun no están bien desarrollado para la detección de múltiples productos PCR (PCR multiplex) (García-Cañas y col., 2002a, 2002b; Klein, 2002).

Conclusión

La presente revisión ha descrito una panorámica general de las metodologías analíticas utilizadas para determinar la autenticidad de la carne y los productos cárnicos procesados térmicamente. A pesar de todos los esfuerzos realizados en esta materia, es evidente la necesidad de actualizar y mejorar, de forma constante, los métodos analíticos disponibles para evaluar y certificar a integridad de la carne y los productos cárnicos.

Referencias

- ANDREWS, A.T. 1998. Electrophoresis Methods. In "Analytical Methods of Food authentication". (Eds. P.R. Ashurst and Dennis M. J.) Blackie Academic & Profesional, London, pp. 204-238.
- BAO, J.J. 1997. Capillary Electrophoresis Immunoassays: Review. *Journal of Chromatography B*. 699: 463-480.
- BOYCE, M.C. 2001. Determination of Additives In Food by Capillary Electrophoresis. *Electrophoresis* 22: 1447-1459.
- CALVO, J.H., ZARAGOZA, P., OSTA, R. 2001. Technical Note: A quick and more sensitive method to identify pork in processed and unprocessed food by PCR amplification of a new specific DNA fragment. *Journal of Animal Science* 79: 2108-2112.
- CALVO, J.H., RODELLAR, C., ZARAGOZA, P., OSTA, R. 2002a. Beef- and bovine-derived material identification in processed and unprocessed food and feed by PCR amplification. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 5262-5264.
- CALVO, J.H., OSTA, R., ZARAGOZA, P. 2002b. Quantitative PCR detection of pork in raw and heated ground beef and pâté. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 5265-5267.
- CANCALON, P.F. 1995. Capillary electrophoresis: a new tool in food analysis. *Journal of AOAC International* 78: 12-15.
- CHIKUNI, K., OZUTSUMI, K., KOISHIKAWA, T., KATO, S. 1990. Species identification of cooked meats by DNA hybridization assay. *Meat Science* 27: 119-128.
- CHIKUNI, K., TABATA, M., KOSUGIYAMA, M., MONMA, M., SAITO, M. 1994. Polymerase chain reaction assay for detection of sheep and goat meats. *Meat Science* 37: 337-345.
- COTA-RIVAS, M., VALLEJO-CORDOBA, B. 1997. Capillary electrophoresis for meat species differentiation. *Journal of Capillary Electrophoresis* 4: 195-199.
- DONG, Y. 1999. Capillary electrophoresis in food analysis. *Trends in Food Science and Technology* 10: 87-93.

- GARCÍA-CAÑAS, V., GONZÁLEZ, R., CIFUENTES A. 2002a. Detection of genetically modified maize by the polymerase chain reaction and capillary gel electrophoresis with UV detection and laser-induced fluorescence. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 1016-1021.
- GARCÍA-CAÑAS, V., GONZÁLEZ, R., CIFUENTES, A. 2002b. Ultrasensitive detection of genetically modified maize DNA by capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence using different fluorescent intercalating dyes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 449-502.
- GRACÍA-CAÑAS, V. 2004. Análisis de organismos modificados genéticamente en alimentos mediante el uso combinado de reacción en cadena de la polimerasa y electroforesis capilar. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. España.
- GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A.F., COTA-RIVAS, M., CALDERÓN DE LA BARCA, A.M., VALLEJO-CORDOBA, B. 1998. Detección inmunoquímica de la adulteración de chorizo de puerco con proteínas de soja. *Food Science and Technology International* 4: 257-262.
- HAMDAN, I.I., SKELLEN, G.G., WAIGH, R.D. 1998. Use of capillary electrophoresis in the study of ligand-DNA interactions. *Nucleic Acids Research* 26: 3053-3058.
- HARGIN, K.D. 1996. Authenticity issues in meat and meat products. *Meat Science* 43: S277-S289.
- HÉRNANDEZ-CHÁVEZ, J.F. 2006. Identificación y cuantificación de especie cárnica en productos cárnicos procesados térmicamente mediante el uso combinado de electroforesis capilar y técnicas moleculares. Tesis Doctoral. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). México.
- HSIEH, Y.P., SEP, S., BRIDGMAN, R.C. 1998. Development of monoclonal antibody specific to cooked mammalian meats. *Journal of Food Protection* 61: 476-481.
- HU, S., DOVICH, N.J. 2002. Capillary electrophoresis for the analysis of biopolymers. *Analytical Chemistry* 74: 12:2833-2859.
- HUNT, D.J., PARKES, H.C., LUMLEY, I.D. 1997. Identification of the species of origin of raw and cooked meat products using oligonucleotide probes. *Food Chemistry* 60: 437-442.
- IBAÑEZ, E., CIFUENTES, A. 2001. New analytical technique in food science. *Critical Reviews in Food Science* 41:413-450.
- KLEIN, D. 2002. Quantification using real-time PCR technology: Applications and limitations. *Trends in Molecular Medicine* 8: 257-260.
- LEAMON, J.H., MOISEFF, A., CRIVELLO, J.F. 2000. Desarrollo de un proceso altamente productivo de búsqueda y detección de polimorfismos genéticos. *BioTechniques* 28: 994-1005.
- LOCKLEY, A.K., BARDSLEY, R.G. 2000. DNA-based methods for food authentication. *Trends in Food Science and Technology* 11: 67-77.

- LÓPEZ, M., MALLORQUÍN, P., VEGA, M. 2003. Tecnologías moleculares de trazabilidad alimentaria. informe de vigilancia tecnológica. Genoma España. Sector agroalimentario 1-78.
- LÜTHY, J. 1999. Detection strategies for food authenticity and genetically modified foods. *Food Control* 10: 359-361.
- MATA-VILLAESPIN, L. 2000. Autenticación e identificación de alimentos mediante métodos inmunoquímicos. *Alimentación, Equipos y Técnica Sep/Oct.*: 145-152.
- MEYER, R., CANDRIAN, U., LÜTHY, J. 1994. Detection of pork in heated meat products by the polimerase chain reaction. *Journal of AOAC International* 77: 617-622.
- RECIO, I., RAMOS, M., LÓPEZ-FANDIÑO, R. 2001. Capillary electrophoresis for the analysis of food proteins of animal origen. *Electrophoresis* 22: 582-585.
- REN, J., ULVIK, A., REFSUM, H., UELAND, P.M. 1999. Applications of short-chain polydimethylacrylamide as sieving medium for the electrophoretic separation of DNA fragments and mutation analysis in uncoated capillaries. *Analytical Biochemistry* 276: 188-194.
- SAGDR. 1995. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. NOM-023-ZOO-1995. Identificación de especie animal en músculo de bovinos, ovinos, equinos, porcinos y aves, por la prueba de inmunodifusión en gel.
- SECOFI. 1996. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. NOM-051-SCFI-1994. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasadas.
- SECOFI. 2003. Secretaría de Fomento Industrial. NOM-158-SCFI-2003. Jamón-Denominación y Clasificación Comercial, Especificaciones Fisicoquímicas, Microbiológicas, Organolépticas, Información Comercial y Método de Prueba.
- SSA. 1995. Secretaría de Salud. NOM-122-SSA1-1994. Bienes y servicios. Productos de la Carne. Productos cárnicos curados y cocidos, curados, emulsionados y cocidos. Especificaciones sanitarias.
- SSA. 1998. Secretaría de Salud. NOM-145-SSA1-1995. Bienes y servicios de la Carne. Productos cárnicos troceados y curados productos cárnicos curados y madurados. Especificaciones sanitarias.
- TSUKAGOSHI, K., SHIKATA, Y., NAKAJIMA, R., MURAT, M., MAEDA, M. 2002. Analysis of a biopolymer by capillary electrophoresis with a chemiluminescence detector using a polymer solution as the separation medium. *Analytical Science* 11: 1195-1198.
- VALLEJO-CORDOBA, B., COTA-RIVAS, M. 1998. Meat species identification by linear discriminat analysis of capillary electrophoresis protein profiles. *Journal of Capillar Electrophoresis* 5: 171-175.

- VALLEJO-CORDOBA, B., GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A.F., MAZORRA-MANZANO, M.A., RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, R. 2005. Capillary electrophoresis for the analysis of meat authenticity. *Electrophoresis* 28: 826-236.
- WINTERO, A.K., THOMSEN, P.D., DAVIES, W. 1990. A comparison of DNA-hybridization, immunodiffusion, countercurrent immunoelectrophoresis and isoelectric focusing for detecting the admixture of pork to beef. *Meat Science* 27: 75-85.
- WOLF, C., RENTSCH, J., HÜBNER, P. 1999. PCR-RFLP Analysis of mitochondrial DNA: A reliable method for species identification. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 47: 1350-1335.
- WOLF, C., LÜTHY, J. 2001. Quantitative competitive (QC) PCR for quantification of porcine DNA. *Meat Science* 57: 161-168.
- WOYCHIK, J.H., HAPPICH, M.C., TRINH, H., SEILERS, R. 1987. Quantification of soy protein in frankfurters by gel electrophoresis. *Journal of Food Science* 52: 1532-1534