



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE VITAMINA D₃ Y
25-HIDROXICOLECALCIFEROL EN LA CALIDAD
MICROBIOLÓGICA Y ESTABILIDAD OXIDATIVA DE
CARNE DE CERDO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

BRENDA SILVIA GARRIDO MONROY



MÉXICO, D. F. 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta 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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Eduardo Mendoza Martínez

VOCAL: Profesor: Agustín Reyo Herrera

SECRETARIO: Profesor: Edith Ponce Alquicira

1er. SUPLENTE: Profesor: Gabriela Alatorre García

2° SUPLENTE: Profesor: Hiram Fernando Ramírez Cahero

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

LABORATORIO S-132, DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA.

AVENIDA SAN RAFAEL ATLIXCO No.186 COLONIA VICENTINA DELEGACIÓN IZTAPALAPA, MÉXICO D.F. C.P 09340

Proyecto de colaboración UAM-INIFAP 109127 Evaluación de los indicadores de frescura de la carne de bovinos en México e indicadores de frescura y determinación de la vida de anaquel de carne de cerdo suplementada con antioxidantes naturales.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Edith Ponce Alquicira _____

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en B. Luis Humberto López Hernández _____

SUSTENTANTE (S):

Brenda Silvia Garrido Monroy _____

Proyecto de colaboración UAM-INIFAP 109127 Evaluación de los indicadores de frescura de la carne de bovinos en México e indicadores de frescura y determinación de la vida de anaquel de carne de cerdo suplementada con antioxidantes naturales.

Dedicatorias

A las personas más importantes de mi vida; las cuales, formaron parte importante para la obtención de este objetivo:

Silvia mi mamá, mi amiga, confidente, compañera de batallas, el motor de mi vida, mi inspiración y todo un ejemplo a seguir. Sin ti esto no se hubiera logrado, siempre has estado ahí, tu comprensión y completa dedicación me han ayudado a obtener este logro, gracias por tu amor, tu apoyo incondicional, tu confianza, por escucharme y ayudarme siempre.

Mayra compañera de aventuras y una que otra discusión, al igual que mi mamá tu viviste de cerca todo este recorrido y me brindaste la mano las veces que fueron necesarias para salir adelante; gracias por ser ejemplo de lucha y perseverancia, por escucharme, tu cariño, confianza y por darle el toque a mi vida.

Tala llegaste en el momento indicado de mi vida personal y profesional juntos hacemos el mejor papel en esta obra dando lo mejor de nosotros en cada acto. Gracias por apoyarme en los momentos más difíciles de este recorrido, escucharme, por sacar lo mejor de mí, por tu ejemplo de constancia e ir en busca de tus sueños y lo más importante por amarme.

Los respeto, admiro y los amo GRACIAS.....

La ciencia tiene una característica maravillosa, y es que aprende de sus errores, que utiliza sus equivocaciones para reexaminar los problemas y volver a intentar resolverlos, cada vez por nuevos caminos.

Ruy Pérez Tamayo

Agradecimientos

Durante todo este recorrido conocí a personas que formaron parte importante de este sueño y no puedo dejar de agradecerles.

A mi familia por su apoyo, confianza en todo momento y por alentarme a seguir adelante.

A Omar, por tu amistad, todos los consejos, tus ánimos, conversaciones, aventuras y lo más importante por el apoyo brindado en situaciones nada agradables.

Pato, por tu apoyo en cada uno de los proyectos de vida que he tenido, tu confianza, tu amistad y por hacerme parte de tu familia; mil gracias.

Al inigualable club garridito: Betty, Irene, Lalis, Mario, Pris y Yoz. Juntos formamos el mejor de los equipos, capaces de sobrellevar cualquier adversidad. Gracias por su sencillez, perseverancia, ocurrencias, por su amistad y su gran apoyo; porque las presiones siempre son más llevaderas si están acompañadas de momentos agradables y de personas que te permitan disipar la carga haciendo el trabajo más llevadero.

A mis amigos de la Facultad Cynthia, Dulce, Edgar, Era, Laurita, Laura y Oli. No les puedo dejar de agradecer por haberme hecho más amena esta trayectoria llena de alegrías, estrés, una que otra lágrima y sueños. Obviamente no puedo hacer a un lado el maratón de preguntas con ejemplos de la vida real y la lluvia de ideas, actividades claves que me hicieron llegar hasta aquí.

A Juan Carlos y familia, por transmitirme sus conocimientos y experiencias, por su amistad, consejos, terapias, por las aventuras memorables y apoyo incondicional.

A cada uno de los profesores involucrados en mi formación, gracias por transmitirme sus conocimientos, consejos y por motivarme a seguir adelante.

A Jorge Vela por cada uno de sus consejos y por darme la oportunidad de desenvolverme en el ámbito laboral.

A Jess, Judith, Karla, Diana, Alberto, Julia, Señora Emma, Señor Trigero por permitirme formar parte de un gran equipo de trabajo y hacer de esta experiencia una de las mejores de mi vida, por proporcionarme conocimientos invaluable, su alegría, consejos y confiar en mí para realizar el trabajo.

A mis compañeros de laboratorio S-132 Arturo, Consuelo, Edson, Isa, Isabel, Ivonne, Luis, Marianita, Mariel, Pepe, Ruth y Yeni por hacerme más ameno el trabajo, sus recomendaciones, el aprendizaje educativo y vivencial, en fin por cada una de la experiencias que viví a su lado.

A la Dra. Edith Ponce por haberme dado la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo, llevándome a adquirir nuevos conocimientos y por haberme guiado e instruido durante todo el proceso de este trabajo.

Al Dr. Héctor por la ayuda en el análisis estadístico de los resultados, el tiempo brindado y por aclarar cada una de las dudas surgidas.

A los miembros del jurado los profesores Eduardo Mendoza y Agustín Reyó por su tiempo para revisar el presente trabajo, por sus observaciones y orientación, la atención brindada y también gracias por sus consejos.

Al los miembros del laboratorio 114 Dr. Pandiyan, Bere, Charly y Marina por el asilo político durante el transcurso de los trámites, donde encontré a mis nuevas mejores amigas, las mejores historias e indudablemente momentos muy agradables.

A la Universidad Nacional Autónoma de México la máxima casa de estudios de la cual estoy orgullosa de pertenecer y a la Facultad de Química mi segunda casa, por darme la mejor preparación y herramientas para hacerle frente a cualquier adversidad.

*“La gran línea divisoria entre el éxito y el fracaso se encierra en tres palabras: “no tuve tiempo”
Palabras de un hombre sabio.*

ÍNDICE GENERAL

Resumen	1
Introducción.....	4
Justificación.....	6
CAPÍTULO I: ANTECEDENTES.....	7
1.1 El cerdo.....	7
1.2 Composición química de la carne de cerdo.....	7
1.2.1 Proteínas.....	8
1.2.2 Lípidos.....	9
1.2.3 Carbohidratos.....	10
1.2.4 Nutrimientos inorgánicos.....	10
1.2.5 Vitaminas.....	11
1.3 Vitamina D.....	11
1.3.1 Vitamina D en cerdos.....	12
1.3.2 Metabolismo de la vitamina D.....	12
1.4 Parámetros de calidad en la carne.....	15
1.4.1 pH.....	15
1.4.2 Color.....	16
1.4.2.1 Medida del color.....	17
1.5 Cambios durante la descomposición de la carne.....	19
1.5.1 Microbiología de la carne.....	19
1.5.2 Aminas biogénicas.....	20
1.5.2.1 Funciones e importancia.....	22
1.5.2.2 Microorganismos productores.....	23
1.5.3 Oxidación lipídica.....	24
1.5.3.1 Técnicas para medir la oxidación de los lípidos....	25
1.5.4 Oxidación proteica.....	27
1.5.4.1 Técnicas para medir la oxidación proteica.....	28
1.6 Métodos de conservación de la carne.....	29

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS	31
CAPÍTULO III: OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo general.....	32
3.2 Objetivos particulares	32
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	34
4.1 Determinación de pH	36
4.2 Determinación de grasa	36
4.3 Determinación de dienos conjugados	36
4.4 Determinación de TBARS.....	36
4.5 Determinación de pérdida de grupo tiol	37
4.6 Determinación de color	37
4.7 Determinación de mesófilos aerobios y enterobacterias.....	38
4.8 Determinación de aminas biogénicas	38
CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	76
Bibliografía	77
Anexos	85
Gráficas de curvas patrón.....	85
Análisis estadístico	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis y metabolismo de la vitamina D	14
Figura 2a. Evaluación del pH post-mortem.....	16
Figura 2b. Diferencia entre carne PSE, normal y DFD	16
Figura 3. Pigmentos de la carne	17
Figura 4. Funcionamiento del colorímetro	18
Figura 5. Espacio espectral	19
Figura 6. Formación de aminas biogénicas	21
Figura 7. Factores que influyen en la formación de aminas biogénicas	22
Figura 8. Etapas de la autoxidación	25
Figura 9. Reacción del ácido 2-tiobarbitúrico.....	26
Figura 10. Detección del grupo tiol usando el reactivo de Ellman´s	29
Figura 11. Gráficas de centroides para muestras de carne de cerdo empacadas en película permeable al oxígeno	40
Figura 12. Gráficas de centroides para muestras de carne de cerdo empacadas al vacío	41
Figura 13. Variación del pH con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.	43
Figura 14. Variación del pH con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.	44
Figura 15. Porcentaje de grasa en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.	45

Figura 16. Porcentaje de grasa en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno	46
Figura 17. Oxidación lipídica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío por el método de dienos conjugados	47
Figura 18. Oxidación lipídica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno por el método de dienos conjugados	48
Figura 19. Oxidación lipídica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío por el método de TBARS	50
Figura 20. Oxidación lipídica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno por el método de TBARS.	51
Figura 21. Oxidación proteica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío por el método de pérdida de grupo tiol.....	53
Figura 22. Oxidación proteica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno por el método de pérdida de grupo tiol.	54
Figura 23. Variación de la luminosidad (L) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.....	55
Figura 24. Variación de la luminosidad (L) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.....	56

Figura 25. Variación del índice de rojo (a^*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.....	58
Figura 26. Variación del índice de rojo (a^*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.....	59
Figura 27. Variación del índice de amarillo (b^*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.....	60
Figura 28. Variación del índice de amarillo (b^*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.....	61
Figura 29. Variación del porcentaje de oximioglobina superficial con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.....	63
Figura 30. Variación del porcentaje de oximioglobina superficial con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados en película permeable al oxígeno.	65
Figura 31. Variación del porcentaje de metamioglobina superficial con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.....	66
Figura 32. Variación del porcentaje de metamioglobina superficial con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados en película permeable al oxígeno.	67
Figura 33. Variación del crecimiento de mesófilos aerobios con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.....	69

Figura 34. Variación del crecimiento de mesófilos aerobios con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.	70
Figura 35. Variación del crecimiento de enterobacterias con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.	71
Figura 36. Variación del crecimiento de enterobacterias con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.	71
Figura 37. Partes por millón de putrescina con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.....	72
Figura 38. Partes por millón de putrescina con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno	73
Figura 39. Partes por millón de cadaverina con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.....	74
Figura 40. Partes por millón de cadaverina con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.....	75
Figura 41. Curva patrón de albumina serica bovina	85
Figura 42. Curva patrón de L- cisteína	85
Figura 43. Curva patrón de putrescina	85
Figura 44. Curva patrón de cadaverina	86
Figura 45. Cromatograma a 256 nm de la separación de aminas biogénicas	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de la carne magra de cerdo	8
Tabla 2. Composición de aminoácidos en carne de cerdo	9
Tabla 3. Composición de ácidos grasos en carne de cerdo	10
Tabla 4. Contenido mineral de diferentes tipos de carnes	11
Tabla 5. Concentración de vitamina D ₃ o 25-OH colecalciferol para cada tratamiento	34
Tabla 6. Gradientes de metanol empleados en la elución de aminas biogénicas	39
Tabla 7. Prueba de Lambda de Wilks para muestras empacadas en película permeable al oxígeno (aproximación de Rao).....	87
Tabla 8. Prueba de Lambda de Wilks para muestras empacadas al vacío (aproximación de Rao).	87
Tabla 9. ANOVA de pH en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	87
Tabla 10. Comparación de medias de la variable pH en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	88
Tabla 11. ANOVA de porcentaje de grasa en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío	88
Tabla 12. Comparación de medias de la variable porcentaje de grasa en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	89
Tabla 13. ANOVA de porcentaje de grasa en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	89
Tabla 14. Comparación de medias de la variable porcentaje de grasa en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	89
Tabla 15. ANOVA de dienos conjugados en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	89

Tabla 16. ANOVA de TBARS en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío.....	90
Tabla 17. Comparación de medias de la variable TBARS en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	91
Tabla 18. ANOVA de TBARS en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	91
Tabla 19. Comparación de medias de la variable TBARS en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	91
Tabla 20. ANOVA de pérdida de grupo tiol en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío.....	91
Tabla 21. Comparación de medias de la variable pérdida de grupo tiol en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	92
Tabla 22. ANOVA de pérdida de grupo tiol en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	92
Tabla 23. ANOVA de luminosidad en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío	93
Tabla 24. Comparación de medias de la variable luminosidad en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	94
Tabla 25. ANOVA de luminosidad en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	94
Tabla 26. ANOVA de índice de rojo en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	94
Tabla 27. Comparación de medias de la variable índice de rojo en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	95
Tabla 28. ANOVA de índice de amarillo en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío	95
Tabla 29. Comparación de medias de la variable índice de amarillo en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	96
Tabla 30. ANOVA de índice de amarillo en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	96

Tabla 31. Comparación de medias de la variable índice de amarillo en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	96
Tabla 32. ANOVA de porcentaje de oximioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío ...	96
Tabla 33. Comparación de medias de la variable porcentaje de oximioglobina superficial en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, P≤0.05)	97
Tabla 34. ANOVA de porcentaje de oximioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque ..	97
Tabla 35. Comparación de medias de la variable porcentaje de oximioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	98
Tabla 36. ANOVA de porcentaje de metamioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	98
Tabla 37. Comparación de medias de la variable porcentaje de metamioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	98
Tabla 38. ANOVA de mesófilos aeróbios en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	99
Tabla 39. ANOVA de enterobacterias en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque	99
Tabla 40. Comparación de medias de la variable enterobacterias en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	99
Tabla 41. ANOVA de putrescina en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.....	100
Tabla 42. Comparación de medias de la variable putrescina en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).....	100
Tabla 43. ANOVA de cadaverina en carne de cerdo suplementada con vitamina D ₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.....	100



RESUMEN

La carne es un alimento altamente susceptible de sufrir diversos procesos de deterioro que se presentan durante el almacenamiento y comercialización; por lo que se han propuesto diversas alternativas para retardar los procesos de deterioro, como la adición de antioxidantes. En este proyecto se suministraron dos fuentes de vitamina D₃, debido a que se ha demostrado que en carne de res retardan las reacciones de oxidación y a que existen pocos reportes en cerdo.

Se realizó un estudio comparativo de las características fisicoquímicas de carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OHD₃ como pH, porcentaje de grasa, dienos conjugados (DC), sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), pérdida de grupo tiol, color, porcentaje de oximioglobina y metamioglobina superficial. También se evaluó la población de mesófilos, enterobacterias y determinación de aminas biogénicas. Todas las técnicas se efectuaron al tiempo 1, 7, 14 y 21 días de almacenamiento a 4°C.

Las determinaciones se llevaron a cabo en cortes de *M. Longissimus dorsi* (*dorsal* izquierdo de cada cerdo) provenientes de 40 cerdos suplementados con dos fuentes de vitamina D₃. Los cerdos se sacrificaron en un rastro TIF 412 y a las 24 horas post mortem se cortaron en chuletas de 2 cm de grosor, cada corte fue empacado bajo dos sistemas (película permeable al oxígeno y al vacío).

A los resultados obtenidos, se les realizó un análisis discriminante, en el cual se tomó como criterio de separación el tipo de fuente de vitamina D utilizada. Encontrándose solo diferencias significativas en el empaque al vacío. Siendo, TBARS, pérdida de grupo tiol, luminosidad, índice de amarillo y porcentaje de oximioglobina superficial, las variables que más influyeron en la separación de grupos; es decir, las fuentes suministradas tuvieron un efecto significativo sobre estas variables.

Así mismo, se realizó un análisis de varianza para ambos tipos de empaque empleado, presentando diferencias significativas sobre las variables pH, % de



grasa, TBARS, índice de rojo, índice de amarillo, % de oximioglobina y metamioglobina superficial, así como la cuenta de enterobacterias y producción de aminas biogénicas (solo putrescina).

Con respecto a TBARS, el tratamiento con 25-OHD₃ tuvo una menor oxidación (0.71 ± 0.11 mg de MDA/kg de carne) durante el almacenamiento, teniendo este tratamiento una mayor estabilidad oxidativa. Para el análisis por empaque se obtuvo un menor índice de oxidación en las muestras almacenadas al vacío en comparación a aquellas empacadas en película permeable al oxígeno (0.78 ± 0.23 mg de MDA/ kg de carne y 0.87 ± 0.28 mg de MDA/ kg de carne respectivamente).

En el caso de oxidación proteica como pérdida de grupo tiol, el tratamiento 7 ($50 \mu\text{g/kg}$ de 25-OHD₃), presentó la menor oxidación de $7.00 \pm 1.27 \mu\text{mol}$ de tiol/mg de proteína.

Para la variable luminosidad (L) el control positivo mostró una mayor luminosidad (56.88 ± 1.61), en cambio el tratamiento con mayor concentración de vitamina D₃ (40000 IU/kg) mostró una menor luminosidad (53.40 ± 1.91).

Respecto al índice de amarillo (b*) se observaron diferencias significativas entre el tratamiento de mayor dosis de vitamina D₃ (40000 IU/kg) obteniendo el menor índice de amarillo (13.34 ± 0.85) con respecto al control positivo (14.56 ± 0.64) y al tratamiento de mayor dosis de 25-OHD₃ ($1000 \mu\text{g/kg}$, 14.44 ± 0.83). El análisis de varianza arrojó diferencias en el tipo de empaque empleado, el empaque al vacío dio como resultado un menor índice de amarillo (13.74 ± 1.31) que las muestras almacenadas en película permeable al oxígeno (14.72 ± 1.76).

Para el porcentaje de oximioglobina superficial se encontraron diferencias significativas en el tratamiento con la mayor dosis de vitamina D₃ (40000 IU/kg) con respecto a los controles experimentales. Siendo este tratamiento el que mostró un mayor % de oximioglobina superficial ($1.12 \pm 0.03 \%$). El análisis de varianza realizado mostró diferencias significativas entre las muestras analizadas por vacío con menores valores de oximioglobina superficial ($1.09 \pm$



0.04 % de oximioglobina superficial) con respecto a las analizadas en película permeable al oxígeno (1.10 ± 0.06 % de oximioglobina superficial).

En el análisis microbiológico ambos empaques se encontraron por debajo de los límites máximos establecidos en la NOM-034-SSA1-1993 para mesófilos aerobios que son de 6.69 UFC/cm². Con respecto a las enterobacterias (vacío) cumplieron con lo establecido; mientras que las muestras en empaque permeable al oxígeno a partir del día 14 de almacenamiento el crecimiento supero lo establecido por la NOM-194-SSA1-2004. Mientras que la determinación de aminas biogénicas, fue positiva para la producción de cadaverina y putrescina.

Finalmente, la 25-OHD₃ es recomendable administrarla a dietas de cerdos, ya que ayuda a retardar tanto la oxidación lipídica como proteica, los cuales son factores claves para prolongar las características de calidad en la carne fresca almacenada.



INTRODUCCIÓN

Los alimentos de origen animal forman parte de la dieta del hombre. Dentro de estos, la carne ha jugado un papel importante; por lo cual, al pasar de los años se ha tratado de mejorar su calidad. Entendiéndose esta última como un conjunto de características que determinan el grado de aceptabilidad por parte del consumidor (Schmidt, 1984).

La importancia de este alimento radica en su alto valor nutritivo debido a su contenido de proteínas, las cuales aportan aminoácidos esenciales como lisina, treonina e histidina, presentes en bajas concentraciones en la gran mayoría de las proteínas vegetales. Sin embargo, presenta la desventaja de ser un alimento altamente perecedero debido a que su composición favorece el desarrollo microbiano y modificación de los aminoácidos libres generando aminas biogénicas (Pérez, 1999). Las cuales son compuestos nitrogenados de bajo peso molecular, formados por la descarboxilación de aminoácidos libres. La presencia de estos compuestos en los alimentos son de gran importancia en la salud del consumidor, debido a su participación en diversos trastornos, como migraña, dolor de cabeza, úlceras gástricas e intestinales y las respuestas pseudoalérgicas (Hernández *et al.*, 1996).

La contaminación microbiana en conjunto con las malas condiciones de almacenamiento y transporte, aceleran el proceso de descomposición de la carne. La flora alterante está constituida por mesófilos Gram positivos, por ejemplo *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Bacillus* (Hui *et al.*, 2010).

Durlu *et al.* (2001) mencionan que la familia *Enterobacteriaceae* pueden estar involucradas en la producción de aminas biogénicas como: putrescina, histamina y cadaverina y las *Pseudomonas* se encuentran relacionadas con la producción de putrescina (Ansorena *et al.*, 2002).

Si bien, el desarrollo bacteriano es el principal factor en el deterioro de la carne, también la oxidación proteica y lipídica juegan un papel importante en su descomposición. Esta última genera una serie de compuestos de bajo peso molecular como aldehídos y cetonas, los cuales pueden reaccionar con otros componentes de la carne, modificando algunas características como son



sabor, olor, valor nutricional y principalmente la formación de compuestos tóxicos (Juntachote *et al.*, 2006). Esto puede ser acelerado por varios factores como el incremento en las grasas insaturadas, exposición al oxígeno, calor, luz, iones metálicos, pigmentos de la carne y enzimas oxidantes (Lee *et al.*, 2010).

Los principales productos de oxidación primaria y secundaria de los lípidos, son los hidroperóxidos y aldehídos, capaces de iniciar la oxidación de las proteínas del músculo y la consecuente modificación de sus propiedades funcionales, debido a la formación de carbonilos, hidroperóxidos y sulfóxidos, además la fragmentación de proteínas, entrecruzamiento, agregación y una disminución en la solubilidad de la proteína (Lund *et al.*, 2008).

La evaluación del pH es un factor clave en el grado de ablandamiento muscular y el color característico de la carne (Lindhahl *et al.*, 2006). Al disminuir rápidamente el pH después del sacrificio se presenta la carne PSE (pálida, suave y exudativa). Por el contrario, si el pH final de la carne es alto, las proteínas se encuentran fuera de su punto isoeléctrico y como consecuencia absorben grandes cantidades de agua que da una apariencia superficial seca y la luz se refleja poco, por lo que, el color de la carne es rojo oscuro y por la turgencia de las fibras musculares es firme quedando la carne oscura, firme y seca (Hui *et al.*, 2010).

Por otro lado varios estudios han demostrado que al suplementar a los animales con algunos nutrimentos puede ayudar a mejorar ciertos parámetros. Lahucky *et al.* (2007) demostraron que la suplementación con vitamina D₃ podría mejorar la actividad antioxidante del músculo del lomo de cerdo; lo cual ayudaría a mejorar su calidad y por ende prolongar su vida de anaquel. Otra forma de extender la vida de anaquel de los alimentos ha sido mediante el empleo de empaques al vacío, donde el oxígeno es reducido hasta 1%. El empaque tiene un papel importante ya que la presencia de oxígeno favorece las reacciones de oxidación.



JUSTIFICACIÓN

El desarrollo bacteriano es uno de los principales problemas en la pérdida de la calidad de la carne; además de la oxidación lipídica y proteica que son factores de gran relevancia en el deterioro de ésta, dando lugar al desarrollo de olores y sabores desagradables, pérdida de color y valor nutritivo, así como producción de sustancias tóxicas para la salud. Siendo un problema importante en la industria cárnica debido a que genera pérdidas económicas y baja aceptabilidad por parte de los consumidores hacia estos productos; por lo cual, es de gran relevancia la evaluación de ciertos parámetros que pueden ser modificados en la carne de cerdo, entre los que se encuentran color, pH, contenido de grasa, oxidación lipídica y proteica; con la modificación de la alimentación de los cerdos. La modificación de la alimentación de los cerdos mediante la suplementación de vitamina D₃ y 25-OHD₃ podría ser una alternativa que impacte en el color y estabilidad oxidante de la carne obtenida, prolongando la frescura.



CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

1.1 El cerdo

El cerdo es un animal vertebrado, mamífero, que pertenece a la familia de los Suidos, los cerdos corresponden al orden de los Artiodáctilos (con número par de dedos) y al suborden de animales con 44 dientes. Se cría en casi todo el mundo, principalmente como fuente de alimento por su alto valor alimenticio, alto en proteínas y por su exquisito sabor. En México, los términos cerdo, puerco, cochino, marrano o chanco se usan a menudo indistintamente para nombrar a estos animales (SAGARPA, 2009).

Los cerdos están adaptados y desarrollados para la producción de carne, dado que crecen y maduran con rapidez, teniendo un periodo de gestación corto de unos 114 días y pueden tener camadas muy numerosas (SAGARPA, 2009).

El porcino es una excelente fuente de nutrientes; este contiene grandes cantidades de vitaminas y minerales, además de un balance de aminoácidos superior a la de la mayoría de las proteínas vegetales. El cerdo es un eficiente depósito para la grasa; la cual se divide en tres principales categorías: la grasa asociada a los músculos (grasa intra e intermuscular) conocida como veteado, la grasa subcutánea y grasa abdominal (Lewis y Lee, 2001).

Aunque los ácidos grasos esenciales son críticos para la función normal en el animal, el principal uso de la grasa en la dieta porcina es como fuente de energía (Lewis y Lee, 2001). De acuerdo al Consejo Nacional de Investigación por sus siglas en inglés (NRC), la composición de las dietas porcinas, debe incluir energía, proteínas, minerales y vitaminas.

1.2 Composición química de la carne de cerdo

El concepto carne se refiere a la porción comestible de animales sanos destinados para consumo humano, constituida por tejido muscular y cantidades variables de tejido conectivo, epitelial, nervioso y adiposo, según la localización anatómica, edad, género y especie animal (Hui *et al.*, 2010). De acuerdo a la NOM-009-ZOO-1994 la definición del autor no difiere de esta.



Los componentes mayoritarios en la carne se muestran en la Tabla 1: agua, proteína y lípidos; cuya proporción varía de acuerdo a la actividad desarrollada por el músculo de procedencia y en menor proporción se encuentran los carbohidratos (glucógeno) y minerales (hierro, zinc, magnesio, potasio y sodio).

Dentro de los componentes mayoritarios el contenido de agua representa entre el 68 a 80 % del peso de la carne, mientras que la mayor parte comestible de la carne está compuesta de proteínas, las cuales son consideradas de gran valor nutrimental por los aminoácidos contenidos en ella; representando del 19-23 % del peso. Por otro lado, la composición de la carne varía entre las diferentes especies y cortes de la carne siendo el contenido de lípidos la mayor variación (Ramírez, 2009).

Tabla 1. Composición química de la carne magra de cerdo (USDA 2009).

Componente	%
Agua	70.39
Proteína	21.95
Lípidos	6.92
Minerales	0.74

1.2.1 Proteínas

Nutricionalmente, la carne de cerdo aporta en promedio de 18-20 gramos de proteína por cada 100 gramos de producto.

Las proteínas de este alimento son consideradas de alto valor biológico ya que cerca del 40% de los aminoácidos (Tabla 2) que componen a las proteínas son indispensables: lisina, isoleucina, treonina, valina, leucina, metionina, fenilalanina y triptófano (Hernández, 2011).



Tabla 2. Composición de aminoácidos en carne de cerdo (Price, 1994).

Aminoácidos esenciales	% de proteína cruda	Aminoácidos no esenciales	% de proteína cruda
Histidina	3.2	Alanina	6.3
Isoleucina	4.9	Arginina	6.4
Leucina	7.5	Ácido aspártico	8.9
Lisina	7.8	Cistina	1.3
Metionina	2.5	Ácido glutámico	14.5
Fenilalanina	4.1	Glicina	6.1
Treonina	5.1	Prolina	4.6
Triptófano	1.4	Serina	4.0
Valina	5.0	Tirosina	3.0

1.2.2 Lípidos

La grasa es el componente más variable dependiendo de la especie, raza, sexo, edad, corte de la carne y de la alimentación del animal. La carne de cerdo contiene ácidos grasos saturados y monoinsaturados. Cerca del 70 % de la grasa del cerdo está por debajo de la piel (Pardavé, 2009). La grasa intramuscular desempeña un papel importante en la calidad sensorial de la carne, considerándose un contenido de 3.2% en el músculo *longissimus dorsi* como óptimo para el sabor de carne de cerdo (Nollet y Toldrá, 2009)^a.

La distribución total de los lípidos (Tabla 3) en las diferentes fracciones (triglicéridos, monoglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos libres y fosfolípidos) determinan el alcance y la intensidad de la lipólisis y la oxidación que afecta a las propiedades de los productos cárnicos finales (Nollet y Toldrá, 2009)^a.

La calidad de las grasa se aprecia por su coloración, consistencia y olor; los lípidos cumplen diversas funciones en el organismo animal, destacando el mayor porcentaje de ácido graso oleico en la grasa de porcino, y el esteárico en la grasa de ovino. Estos componentes influyen mucho en las características de palatabilidad de las carnes, así como en la conservación y procesamiento industrial de las mismas (Solis, 2005).



Tabla 3. Composición de ácidos grasos en carne de cerdo (Price, 1994).

Ácido graso	Triglicéridos	Fosfolípidos
Caprico	0.1	
Laurico	0.2	
Mirístico	1.2	2.0
Tetradecenoico		0.2
Tetradecadienoico		0.6
Palmitico	23.9	20.0
Palmitoleico	7.4	2.3
Estearico	11.6	11.0
Oleico	45.2	16.2
Linoleico	8.7	27.9
Linolenico	1.6	1.0
Eicosatrienoico		1.6
Araquidónico	0.1	16.3
Docosadienoico		0.9
Total de ácidos saturados	37.0	33.0
Total de ácidos monoinsaturados	52.6	18.8
Total de ácidos poliinsaturados	10.4	48.2

1.2.3 Carbohidratos

Los carbohidratos constituyen menos del 1% del peso de la carne, la mayoría de los cuales lo compone el glucógeno. En la mayoría de los animales, el glucógeno se almacena en el hígado, por lo que los cortes de carne son realmente una fuente muy pobre de carbohidratos (Pérez, 1999).

1.2.4 Nutrientes inorgánicos

Los componentes minerales están fundamentalmente asociados al agua y a la fracción proteica de la carne, en la Tabla 4 se muestra la composición mineral de diferentes tipos de carne. Parte del sodio y pequeñas cantidades de calcio, fósforo y potasio se pierde por goteo, pero el hierro queda casi íntegramente retenido (Price y Schweigert, 1994).



Tabla 4. Contenido mineral de diferentes tipos de carnes (Price, 1994).

Tipo de carne	Cenizas (%)	Calcio	Fósforo	Hierro	Sodio	Potasio	Magnesio	Zinc
	(mg/ 100 g)							
Vacuno	0.8	11	171	2.8	65	355	18	4.3
Cerdo	1.2	9	175	2.3	70	285	18	2.4
Cordero	1.2	10	147	1.2	75	295	15	4.0
Tenera	1.0	11	193	2.9	90	320	15	

La carne contiene alrededor de 10 mg de selenio por cada 100 g, el cual es aproximadamente 25% del requerimiento de la dieta. El fósforo tiene importantes funciones bioquímicas en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas (Kerry y Ledward, 2002).

En general la carne fresca de cerdo ha mejorado su calidad en los últimos años; actualmente ofrece 31% menos de grasa, 14% menos de calorías y 10% menos de colesterol. Entre los animales, el cerdo es el más exigente en sus necesidades vitamínicas (Pardavé, 2009).

1.2.5 Vitaminas

La carne es una fuente excelente de vitaminas del complejo B. Las cantidades de las diferentes vitaminas presentes en un trozo de carne depende de la especie, la edad, el contenido de grasa, el tipo de alimentación y la parte procedente del trozo. Los animales monogástricos como el cerdo dependen directamente de los nutrientes de la dieta, y los niveles de vitaminas en los alimentos que ingieren se ve reflejado en sus tejidos. Por otro lado, la carne también contiene cantidades insignificantes de vitamina D, E y K (Price y Schweigert, 1994).

1.3 Vitamina D

La vitamina D "vitamina del sol", es en realidad una hormona producida a partir de esteroides en el cuerpo por la acción fotolítica de la luz ultravioleta sobre la piel. Las personas que reciben exposiciones modestas a la luz solar son capaces de producir su propia vitamina D. Sin embargo, este no es el caso para mucha gente, tales como aquellos que pasan la mayor parte de sus días



en el interior, en particular los que viven en las latitudes septentrionales o animales criados en ambientes controlados (Gerald y Combs, 2008).

Las dos principales fuentes naturales de vitamina D son colecalciferol (vitamina D₃), que se produce en los animales y ergocalciferol (vitamina D₂), que se encuentra en las plantas. Su potencia se expresa como unidades internacionales y se define como la actividad antirraquítica de 0.025 µg de vitamina D₃ cristalina (McDowell, 2000).

1.3.1 Vitamina D en cerdos

La deficiencia de vitaminas en estos animales les provoca trastornos en el metabolismo y algunas enfermedades graves por no tener la resistencia necesaria para combatirlas. Le son necesarias la vitamina A, D, B, ácido nicotínico (B₃), riboflavina (B₂), piridoxina (B₆) y ácido pantoténico (B₅). La vitamina D es conocida como vitamina antirraquítica, es muy necesaria durante el crecimiento y desarrollo del cerdo; en el régimen alimenticio es la segunda, después de la vitamina A. Cuando en el alimento de los cerdos jóvenes hay deficiencia o carencia de la vitamina D, rápidamente se nota la detención del crecimiento y desarrollo normal y se retrasa la soldadura de la diáfisis con la epífisis de los huesos largos (Escamilla, 1991).

Una deficiencia de vitamina D pone en peligro la absorción y el almacenamiento de calcio (Ca) y fósforo (P), lo que resulta en insuficiencia en la mineralización ósea. En animales jóvenes en crecimiento, genera raquitismo, mientras que en los animales más viejos presentan osteomalacia. Un aporte excesivo de vitamina D conlleva a una hipercalcemia con depósito de carbonato (CaCO₃) y fosfato cálcico (Ca₃(PO₄)₂) en diversos órganos (Quarterman *et al.*, 1964).

1.3.2 Metabolismo de la vitamina D

Como se puede observar en la Fig. 1, la vitamina D se forma en los animales por la acción de la radiación ultravioleta (UV 295-300 nm) en el 7-dehidrocolesterol presente en la piel. La reacción de activación depende de la



absorción de la luz UV por el 5,7-dieno del anillo B del núcleo del esterol, provocando una abertura e isomerización para formar la previtamina; esta reacción fisicoquímica parece convertir sólo del 5 al 15% del 7-dehidrocolesterol disponible a vitamina D₃. Esa eficiencia se ve afectada por las características de la piel y del medio ambiente, por lo que existe una diferencia entre individuos y especies y también muestra una gran variación según la hora del día, la estación y la latitud (Gerald y Combs, 2008).

La vitamina D₃ se metaboliza fácilmente por primera vez en el hígado a 25-hidroxicolecalciferol (25OHD₃), por medio de un sistema microsomal que hidroxila al carbono 25 en la cadena lateral. Este metabolito es la principal forma circulante de vitamina D en condiciones normales; sin embargo, el intestino y el riñón también puede producir 25-OH colecalciferol, aunque la cantidad producida en estos órganos es pequeña (McDowell, 2000).

En el riñón pasa de 25OHD₃ al metabolito activo 1,25-di-hidroxitamina D₃ (1,25 (OH)₂D₃) estando estrictamente regulada por la hormona paratiroidea y el calcio (Clausen *et al.*, 2003).

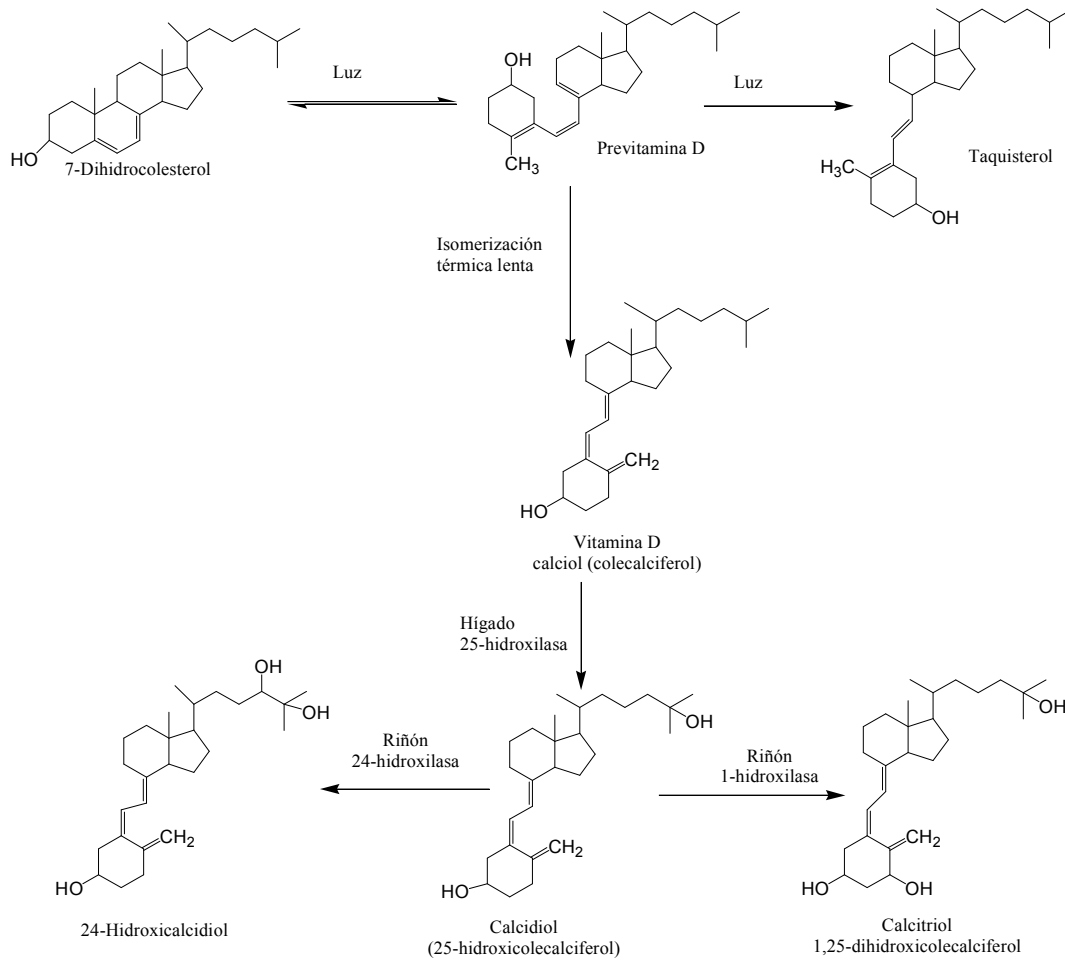


Fig. 1. Síntesis y metabolismo de la vitamina D (Gibney *et al.*, 2009).

Aunque la carne proporciona insignificantes cantidades de vitamina D, puede ser una importante fuente, del metabolito calcitriol que es más potente que el colecalfiferol (Gibney *et al.*, 2009).

El empleo de esta vitamina en animales de abasto ha generado cierta controversia en comprobar si ayuda a mejorar ciertos parámetros de calidad en la carne. Investigaciones realizadas para estudiar la actividad antioxidante y el mecanismo de la vitamina D₃ ha mostrado que tiene actividad para inhibir la acción de hierro dependiente de la peroxidación de lípidos (Navid *et al.*, 2011).



1.4 Parámetros de calidad en la carne

La carne posee una de las estructuras más complejas de todos los alimentos y cada uno de sus componentes estructurales influye significativamente sobre su calidad. La cual está definida por un conjunto de características que determina el consumidor, entre las cuales encontramos la textura, sabor, color, implicaciones en la salud (composición de grasas poli-insaturadas Vs. saturadas) y microbiológicos. Estos factores se ven influenciados por agentes ambientales, alimentación, manejo de los animales durante su crecimiento, manipulación antes y después del sacrificio.

Las características de calidad de la carne, como lo son la textura, ternura, jugosidad, así como su comportamiento ante los diversos sistemas de cocción o conservación, están ligados a la estructura del sistema proteico muscular, así mismo como a las reacciones químicas que en él se realizan (Hui *et al.*, 2010).

1.4.1 pH

El pH es uno de los parámetros más importantes y comunes a medirse en la carne, el cual está determinado por la cantidad de ácido láctico producido a partir del glucógeno durante la glucólisis anaerobia. Como se puede ver en la Fig. 2a. la caída de este parámetro en el músculo se da de forma gradual desde valores aproximados a 7, que corresponde al que se presenta en el animal vivo, hasta 5.6-5.7 después de que han transcurrido de 6-8 horas del sacrificio para alcanzar a las 24 horas un pH final de 5.3-5.7 (Lawrie, 1998).

Este parámetro determina en gran medida la aceptación por parte del consumidor debido a que influye sobre el color, textura, sabor, capacidad de retención de agua, entre otros. El pH de la carne depende de varios factores, entre los que destacan, las condiciones pre y *post-mortem* del animal, e incluyen el acondicionamiento y condiciones durante y después del sacrificio (Quintero, 2001).

Uno de los problemas de calidad más importantes en la industria porcina es la producción de carnes PSE por sus siglas en inglés “pale, soft and exudative” (Fig. 2b), las cuales se caracterizan por el color pálido, una textura suave y una baja capacidad de retención agua. Este tipo de carne está relacionada con cambios rápidos en el pH, desintegración celular y un incremento del líquido extracelular (Nollet y Toldrá, 2009).

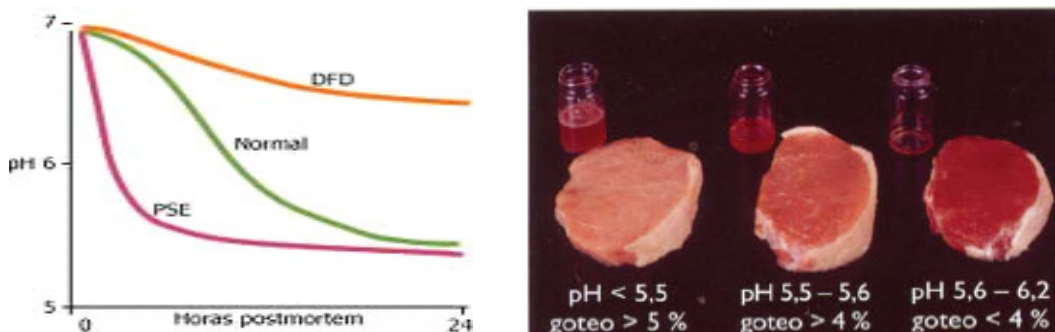


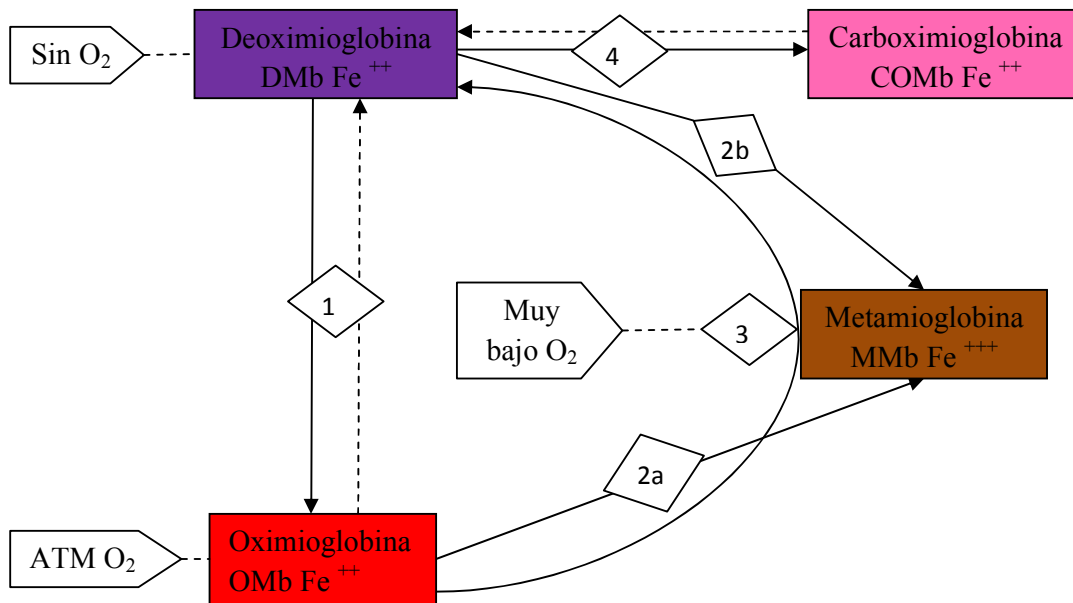
Fig. 2 a) Evaluación del pH post-mortem

b) Diferencia entre carne PSE, normal y DFD.

1.4.2 Color

La primera impresión que el consumidor recibe de un alimento se establece mediante el sentido de la vista y entre las propiedades que observa destacan el color, la forma y las características de la superficie. El color de la carne es uno de los parámetros de calidad que más influye en la selección del consumidor, por lo cual tiene una gran importancia en la comercialización de ésta (Hui *et al.*, 2010).

El color también depende de la concentración de los pigmentos en la carne, esencialmente del estado químico de la mioglobina (Fig. 3); la reducción de la mioglobina genera deoximioglobina (DMb) la cual es un pigmento púrpura en el músculo profundo, presente en la carne envasada al vacío; si la mioglobina es oxigenada produce oximioglobina (MbO_2) la cual es un rojo cereza brillante y es considerada por el consumidor como carne fresca, la mioglobina oxidada forma metamioglobina (MetMb) la cual es gris-café siendo asociada por el consumidor como productos no frescos los cuales son indeseables. (Rosenvold y Andersen, 2003).



Rx 1 (Oxigenación): $\text{DMb} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{OMb}$

Rx 2a (Oxidación): $\text{OMb} + [\text{consumo de oxígeno o baja presión parcial O}_2] - e^- \rightarrow \text{MMb}$

Rx 2b (Oxidación): $[\text{DMb} - \text{ion hidroxil} - \text{ion hidrógeno complejo}] + \text{O}_2 \rightarrow \text{MMb} + \text{O}_2^-$

Rx 3 (Reducción): $\text{MMb} + \text{consumo de oxígeno} + \text{reducción de metamioglobina} \rightarrow \text{DMb}$

Rx 4 (CarboxiMb): $\text{DMb} + \text{monóxido de carbono} \rightarrow \text{COMb}$

Fig. 3. Pigmentos de la carne (Mancini y Hunt, 2005).

Tanto la mioglobina reducida, oximioglobina y metamioglobina están presentes en la carne fresca. En el centro de un trozo de carne no hay oxígeno por lo cual la mioglobina se encuentra reducida. En la superficie de una pieza de carne existe un buen suministro de oxígeno y se forma la oximioglobina. Entre estas dos zonas existe una región de baja concentración de oxígeno, lo que favorece la oxidación del pigmento a metamioglobina (Ranken, 2000).

1.4.2.1 Medida del color

Existen métodos ópticos que tienen la ventaja de no ser destructivos, rápidos y baratos. Por otro lado, algunas metodologías para medir objetivamente el color de los alimentos dependen de la extracción de los pigmentos, seguido por la determinación espectrofotométrica; sin embargo, tales técnicas consumen



mucho tiempo. Por lo cual se ha desarrollado el colorímetro que permite reducir el tiempo en la determinación del color, a continuación se muestra en la Fig. 4 un diagrama con el funcionamiento de los equipos de medición de color.

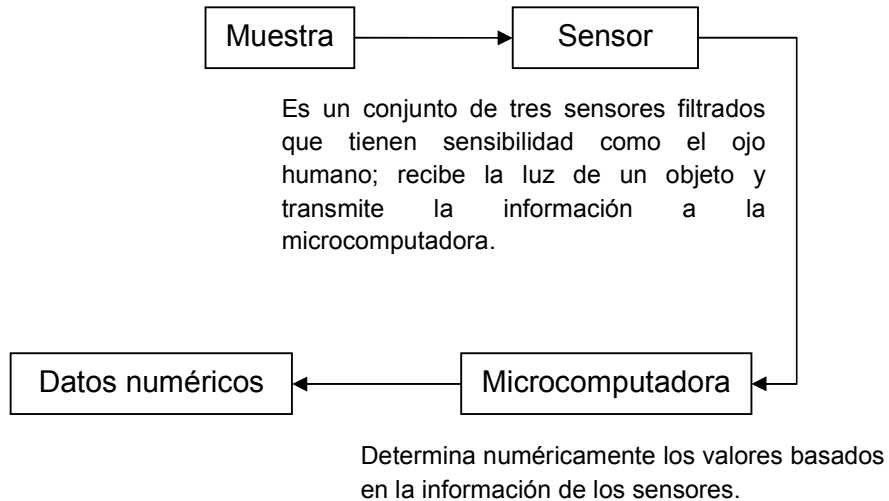


Fig. 4. Funcionamiento del colorímetro (Fernández, 2007).

El colorímetro permite una medida objetiva del color, a través de la cuantificación de la luz reflejada por la muestra (Fernández, 2007). La coordenada L^* recibe el nombre de claridad o luminosidad y puede tomar valores entre 0 (toda la luz se absorbe) y 100 (toda la luz se refleja). Las coordenadas colorimétricas a^* y b^* forman un plano perpendicular a la luminosidad (Fig.5). La coordenada a^* define la desviación del punto acromático correspondiente a la luminosidad, hacia el rojo si a^* es positiva (+ 60) y hacia el verde si a^* es negativa (- 60). Análogamente, la coordenada b^* define la desviación hacia el amarillo si b^* es positiva (+ 60) y hacia el azul (- 60) si b^* es negativa (Hope *et al.* 2012).

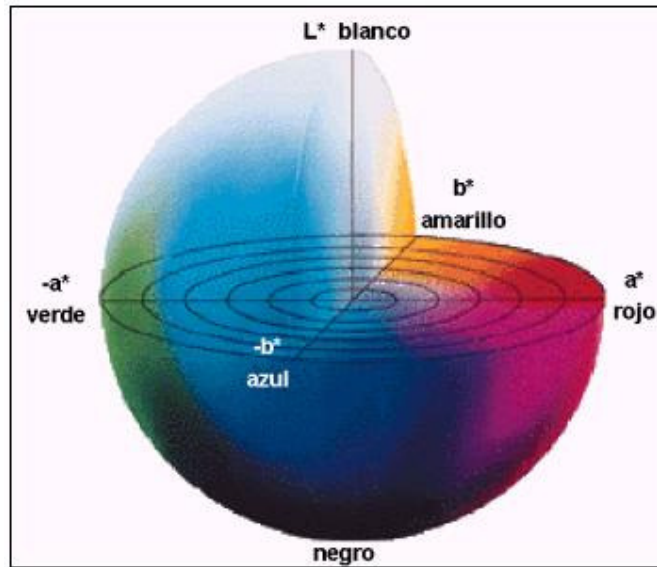


Fig. 5. Espacio espectral.

1.5 Cambios durante la descomposición de la carne

Los cambios fisicoquímicos que sufre la carne pueden alterar su calidad hasta el grado de hacerla inaceptable para el consumo humano, estos cambios se deben principalmente a la actividad metabólica de la microflora bacteriana y a modificaciones debidas a la oxidación de lípidos seguida de oxidación de proteínas.

1.5.1 Microbiología de la carne

El músculo postmortem ofrece un ambiente altamente nutritivo a la microflora contaminante, logrando satisfacer sus necesidades de desarrollo (Signorini y Guerrero, 2009). La flora inicial de las canales proviene fundamentalmente de los organismos del suelo y de origen fecal, presentes en el cuero. La mayoría de estos organismos son Gram positivos mesófilos, por ejemplo *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium* spp., *Lactobacillus* ssp., *Leuconostoc* spp. y *Weissella* spp (Hui et al., 2010).g

El crecimiento de microorganismos en la carne se debe al aprovechamiento de compuestos de bajo peso molecular como fuente de energía, por ejemplo:



glucosa, glucosa-6-fosfato, ribosa, glicerol, aminoácidos y lactato, siendo la alteración el resultado de cambios en el olor, sabor y aspecto (Hui *et al.*, 2010).

Los microorganismos pueden causar las siguientes características de alteración en la carne:

- Mucosidad en la superficie: la temperatura y la humedad disponible influyen en el tipo de microorganismo que la produce.
- Cambios en el color de los pigmentos de la carne: el color rojo puede cambiar a manchas verdes, marrón o gris como resultado de los compuestos oxidados.
- Fosforescencia: es poco común y es causada por bacterias fosforescentes o luminosas.
- Sabores y olores desagradables: es el resultado del crecimiento de microorganismos sobre la superficie y la producción de compuestos volátiles, una superficie viscosa y pegajosa, con la posterior decoloración de la carne (Hui *et al.*, 2010).

Los principales compuestos responsables de los malos olores en la carne son los compuestos sulfurados, ésteres, aldehídos, ácidos orgánicos y las aminas biogénicas (Quintero, 2001).

1.5.2 Aminas biogénicas

La descarboxilación de aminoácidos por parte de ciertos géneros de bacterias alterantes en la carne, genera compuestos básicos nitrogenados denominados aminas biogénicas, las cuales presentan un bajo peso molecular (Signorini y Guerrero, 2009). Por ende, la calidad microbiológica inicial de la carne es un factor determinante en el control de la concentración de aminas biogénicas durante el almacenamiento.

De acuerdo a su estructura química, las aminas biogénicas comúnmente encontradas en los alimentos son agrupadas como (Fig. 6):

- Monoaminas aromáticas: tiramina y feniletilamina
- Aminas heterocíclicas: histamina y triptamina



- Diaminas alifáticas: cadaverina y putrescina
- Poliaminas alifáticas: agmatina, espermidina y espermina

La tiramina, la histamina, triptamina, la cadaverina y putrescina se originan a partir de la descarboxilación de tirosina, histidina, triptófano, lisina y ornitina respectivamente (Nollet y Toldrá, 2009)^a.

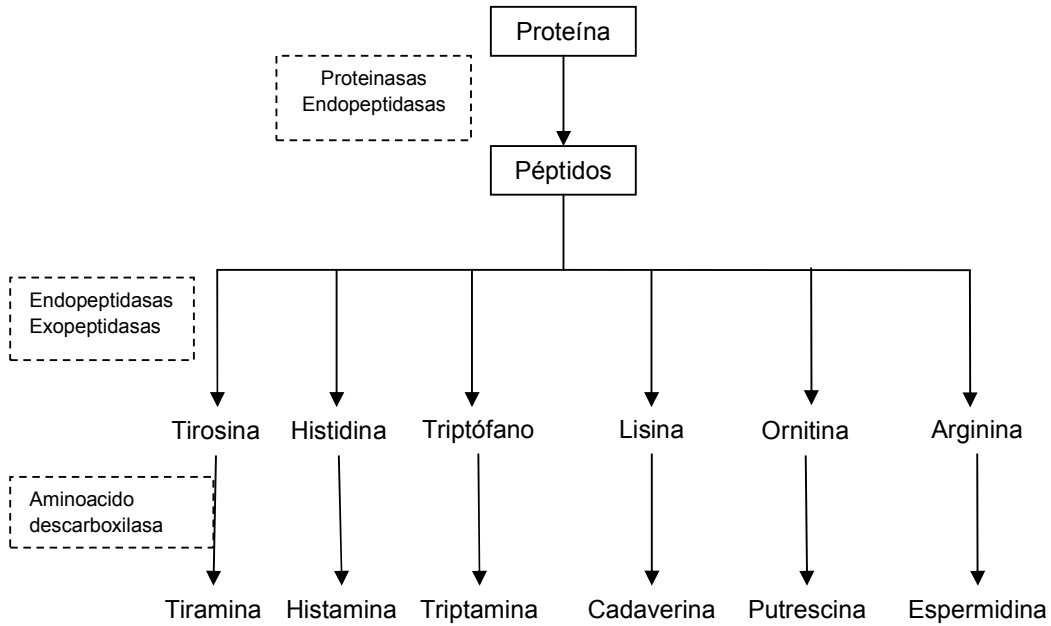


Fig. 6. Formación de aminas biogénicas (Ruiz, 2004).

La producción de aminas biogénicas en alimentos (Fig. 7) puede verse afectada por factores tales como temperatura, concentración de sales, presencia de carbohidratos fermentables, oxígeno, potencial redox y pH (Signorini y Guerrero, 2009).

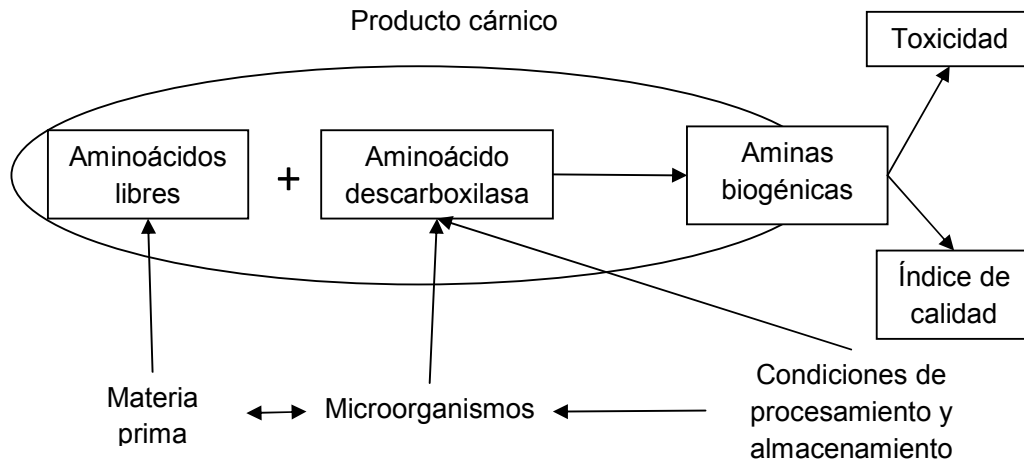


Fig. 7. Factores que influyen en la formación de aminas biogénicas (Ruiz, 2004).

1.5.2.1 Funciones e importancia

Son sustancias con actividad biológica, siendo importantes fuentes de nitrógeno, precursores en la síntesis de hormonas, alcaloides y además como componentes del aroma de los alimentos. La putrescina, espermidina y cadaverina son componentes de las células vivas y están implicadas en la síntesis de ADN, ARN y proteínas y en la estabilización de las membranas (Hernández *et al.*, 1996). En el hombre las monoamino oxidasas y las diamino oxidasas juegan un papel importante en la degradación de aminas en el cuerpo (Halász *et al.*, 1994).

El deterioro de los alimentos con un alto contenido de proteínas como es el caso de la carne, puede estar acompañado por un incremento en la producción de descarboxilasa; por lo tanto, la determinación de aminas biogénicas en alimentos es importante por dos razones: 1) la ingesta de alimentos (carne, productos curados y productos lácteos) con alto contenido de aminas biogénicas puede presentar un peligro para la salud a través del efecto tóxico directo de estos compuestos y 2) porque pueden utilizarse como indicadores del grado de alteración de los alimentos (Ruiz y Jiménez, 2004).



1.5.2.2 Microorganismos productores

Los microorganismos de los géneros *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Photobacterium* y bacterias lácticas de los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Streptococcus*, son capaces de descarboxilar a más de un aminoácido (Silla, 1996).

Las *Pseudomonas* producen principalmente putrescina mientras que las enterobacterias forman cadaverina. Con respecto a las carnes empacadas al vacío a bajas temperaturas, las enterobacterias juegan un papel importante en la acumulación de aminas (Halász *et al.*, 1994).

El consumo de alimentos con grandes cantidades de aminas constituye un riesgo potencial para la salud de los humanos, sobre todo cuando existen al mismo tiempo otros factores de riesgo tales como los inhibidores de la monoaminaoxidasa, alcoholismo y las enfermedades gastrointestinales (Quintero, 2001).

La Unión Europea ha establecido normas para los niveles de histamina, por debajo de 100 mg/ kg en el pescado crudo y por debajo de 200 mg/kg en el pescado salado (Karovicova y Kohajdova, 2003).

Se ha observado, que en carne fresca, los contenidos de putrescina y cadaverina se incrementan durante el almacenamiento, tanto a temperatura ambiente como a bajas temperaturas (Silla, 1996). Por lo tanto, la cantidad de estas aminas podría permitir evaluar la frescura de la carne. Así, valores por debajo de los 5 mg/kg podrían sugerir que se trata de una carne de alta calidad higiénica, entre 5 y 20 mg/kg para carne aceptable, con signos de deterioro inicial, entre 20 y 50 mg/kg para carne de baja calidad y por último mayor a 50 mg/kg para la carne en mal estado (Ruiz y Jiménez, 2004). No obstante, hay que tener en cuenta que la presencia de aminas en alimentos no está necesariamente correlacionado con el crecimiento de microorganismos causantes de deterioro, debido a que no todos son descarboxilasa positivos (Quintero, 2001).



1.5.3 Oxidación lipídica

La oxidación de lípidos es una de las causas principales del deterioro de los alimentos, produciendo pérdidas económicas en la industria alimentaria, debido a la aparición de sabores y olores anómalos, generalmente a “rancio”, en los alimentos que contienen grasas. Las reacciones oxidantes, además de reducir la calidad nutritiva del alimento generan productos tóxicos (Fennema, 1998).

En carne y productos cárnicos se mide la oxidación lipídica por medida de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y cambios de color en la carne fresca o almacenada. Los tejidos de mayor susceptibilidad al daño oxidativo son aquellos que contienen ácidos grasos poliinsaturados. Los productos de oxidación primarios formados durante la auto-oxidación de lípidos insaturados son los hidroperóxidos y tienen un impacto directo sobre el olor y el sabor del producto alimenticio. Sin embargo, los hidroperóxidos se descomponen fácilmente a los productos secundarios de oxidación, de los cuales algunos son volátiles con umbrales sensoriales muy bajos (Nollet y Toldrá, 2009)^a.

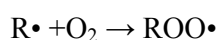
La susceptibilidad del tejido muscular a la oxidación depende de una serie de factores, siendo el más importante el nivel de ácidos grasos poliinsaturados presentes en el músculo, en particular los fosfolípidos presentes en las membranas subcelulares (mitocondrias) que son altos en ácidos grasos poliinsaturados. Se cree que los fosfolípidos membranales son responsables del desarrollo inicial de sabores rancios en la carne cruda y cocida (Monahan *et al*, 1992).

La auto-oxidación es un proceso natural que tiene lugar entre el oxígeno molecular y ácidos grasos insaturados, el cual se lleva a cabo mediante mecanismos en los que participan radicales libres, para producir compuestos primarios y secundarios que afecten la calidad del producto alimenticio. Este proceso consiste en las siguientes etapas, iniciación, propagación y terminación (Fig. 8). La iniciación comienza con la substracción de un átomo de hidrógeno junto a un doble enlace en un ácido graso, esto puede ser catalizado por la luz, el calor o iones metálicos para formar un radical libre y dar como

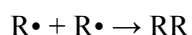


resultado un radical alquilo (R^\bullet) el cual reacciona con el oxígeno molecular para formar un peróxido inestable, que a su vez puede abstraer un átomo de hidrógeno a partir de otros ácidos grasos insaturados para formar un hidroperóxido ($ROOH$) y un nuevo radical alquilo. Este último contribuye a la reacción en cadena (propagación), la cual podrá ser terminada por la formación de productos no radicales como resultado de la combinación de dos especies radicales (Akoh y Min 2008).

Iniciación:



Propagación: $ROO^\bullet + RH \rightarrow ROOH + R^\bullet$



Terminación: $R^\bullet + ROO^\bullet \rightarrow ROOR$

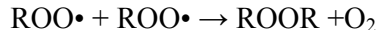


Fig. 8. Etapas de la autoxidación (Akoh, 2008).

1.5.3.1 Técnicas para medir la oxidación de los lípidos

Puesto que la descomposición por oxidación, presenta una gran importancia desde el punto de vista de aceptabilidad, así como en la calidad nutritiva, se ha hecho un notable esfuerzo para identificar los productos de oxidación lipídica y las condiciones que influyen en su aparición así como los mecanismos implicados en el proceso. Por lo cual, la medición de los productos de oxidación secundaria es más apropiado, debido a que estos presentan olor, mientras que los productos de oxidación primaria son incoloros y sin sabor. Los productos de oxidación secundaria incluyen aldehídos, cetonas, hidrocarburos y alcoholes, entre otros (Akoh y Min, 2008).



El análisis de sustancias reactivas al ácido 2- tiobarbitúrico es una de las técnicas más empleadas para evaluar el progreso de la oxidación, en esta técnica se cuantifica principalmente malonaldehído (MDA), que es un producto derivado de los aldehídos insaturados que resultan del rompimiento de los hidroperóxidos. El grado de oxidación de los lípidos se presenta como valor de TBA y se expresa en mg de malonaldehído (MDA) equivalentes por kilogramo de muestra o como μmol equivalentes de MDA por gramo de muestra ($\mu\text{moleq/g}$). El MDA es un producto relativamente menor de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados que reacciona con el TBA para producir un complejo de color rosa (Fig. 9) con un máximo de absorción a 530-532 nm (Akoh y Min, 2008).

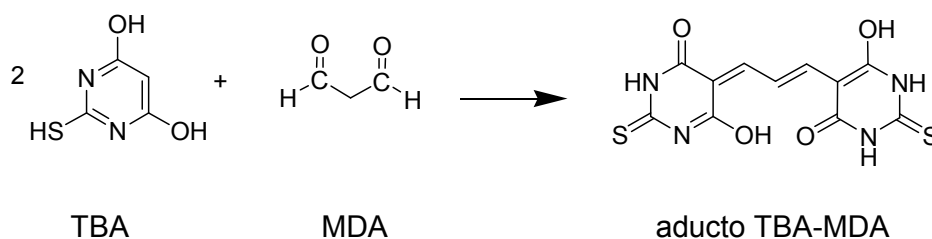


Fig. 9. Reacción del ácido 2- tiobarbitúrico (Nollet y Toldrá, 2009).

Sin embargo, no siempre se encuentra malonaldehído en los sistemas oxidados; algunos alcanales, alquenes y 2,4-dienales producen un pigmento amarillo con el TBA, pero sólo los dienales producen un pigmento rojo (Fennema, 1998).

La oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados se acompaña de un aumento en la absorción ultravioleta del producto. Los lípidos que contienen metileno, dienos o polienos muestran un cambio en la posición de su doble enlace durante la oxidación debido a la isomerización y la formación de dienos conjugados. Los dienos conjugados resultantes muestran una absorción a 234 nm, de manera similar a los trienos conjugados que absorben a 268 nm. La formación de dienos conjugados (DC) ocurre durante las primeras fases de la oxidación lipídica. La evaluación del contenido de DC es un buen parámetro para la valoración del deterioro oxidante y a la vez indica la efectividad del antioxidante (Gaviria *et al.*, 2009). Farmer y Sutton (1946) indicaron que el



aumento de la absorción debido a la formación de dienos y trienos conjugados es proporcional a la absorción de oxígeno y la formación de peróxidos durante las primeras etapas de la oxidación.

La determinación de dienos conjugados llega a un máximo durante el progreso de oxidación y disminuyen cuando la tasa de descomposición de hidroperóxidos es más alto que la tasa a la cual se forman. Es un método sensible para seguir las etapas iniciales de la oxidación de los lípidos, es más rápido que la determinación de índice de peróxidos (PV) (Nollet y Toldrá, 2009).

1.5.4 Oxidación proteica

Además de su importancia nutritiva, las proteínas desempeñan la función de emulsionar grasas, ligar agua y proporcionar color, sabor y textura (Schmidt, 1984). Las proteínas son el componente orgánico más abundante de los músculos y juega un papel relevante en la carne, como lo son los puntos sensoriales, nutricionales y tecnológicos. La degradación oxidativa de las proteínas tiene graves consecuencias sobre la funcionalidad de las proteínas y la calidad de la carne (Lund *et al.*, 2008).

La iniciación de la oxidación de proteínas puede verse afectada por la presencia de productos de oxidación lipídica primaria y secundaria, principalmente hidroperóxidos y aldehídos. Los ROS por sus siglas en inglés (Reactive Oxygen Species), comúnmente se encuentran en los sistemas musculares, como: $\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2\cdot$, $\text{ROO}\cdot$, así como cationes metálicos (hierro, cobre) que pueden catalizar la extracción del hidrógeno de un aminoácido susceptible, lo cual conduce a la generación de una proteína radical. La oxidación de las proteínas se manifiesta como una reacción en cadena de radicales libres similar a los lípidos. La abstracción de un átomo de hidrógeno conduce a la generación de un radical de proteína ($\text{p}\cdot$) el cual es convertido al radical peroxilo ($\text{POO}\cdot$) en presencia de oxígeno y un peróxido de alquilo (POOH) por abstracción de un átomo de hidrógeno de otra molécula (Nollet y Toldrá, 2009).



Los aminoácidos heterocíclicos y los que contienen cadenas laterales reactivas (sulfidrilo, tioéter, imidazol y los anillos de indol) son los blancos comunes para ROS debido a la presencia de OH⁻, S- o N-. Estudios recientes han informado que la susceptibilidad de los aminoácidos a la degradación oxidante depende del sistema oxidante y de ROS. Según estos estudios, los aminoácidos que contienen azufre, en particular cisteína y metionina son los más susceptibles entre las proteínas del músculo (Nollet y Toldrá, 2009)^a.

Como consecuencia directa del daño oxidante a las proteínas musculares, las cadenas de aminoácidos laterales son modificadas. Estos cambios incluyen destrucción de aminoácidos, disminución de la solubilidad de la proteína, debido a la polimerización de esta, pérdida de actividad enzimática y formación de derivados de aminoácidos incluyendo carbonilos (Marianne *et al.*, 2007).

Una de las consecuencias de la oxidación de proteínas, es la formación de agregados a través de enlaces no covalentes y enlaces covalentes intermoleculares. El entrecruzamiento proteína-proteína puede ocurrir por varias reacciones, entre las cuales se incluye oxidación del grupo tiol de la cisteína formando enlaces disulfuro, formación de ditirosina y reacción entre el grupo carbonilo de una proteína con el grupo ϵ -amino de la lisina (Marianne *et al.*, 2007).

La oxidación de proteínas y aminoácidos se ve afectada por ciertos factores ambientales tales como, pH, temperatura, actividad de agua y la presencia de catalizadores. Así como, la estructura tridimensional de las proteínas y su composición influyen en la susceptibilidad de las proteínas a sufrir reacciones oxidativas (Nollet y Toldrá, 2009)^b.

1.5.4.1 Técnicas para medir oxidación proteica

En los sistemas oxidados, la cisteína se degrada en disulfuro de cisteína y ácido sulfónico, mientras que la metionina es fácilmente oxidada a sulfóxido de metionina. La pérdida de grupos tiol (SH) libres en las proteínas musculares se



usa comúnmente como un indicador de oxidación de proteínas (Nollet y Toldrá, 2009)^b.

El método original para determinar pérdida de grupo tiol utiliza el reactivo de Ellman o 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoato) (DTNB), que forma rápidamente un enlace disulfuro con grupos tiol libres y libera un ion tiolato (TNB dianión), que es colorido y tiene una absorción máxima a 412 nm (Fig. 10). Tomando en consideración que la estequiometría de tiol proteína a TNB formado es de 1:1, la formación de TNB se puede utilizar para evaluar el número de tioles presentes.

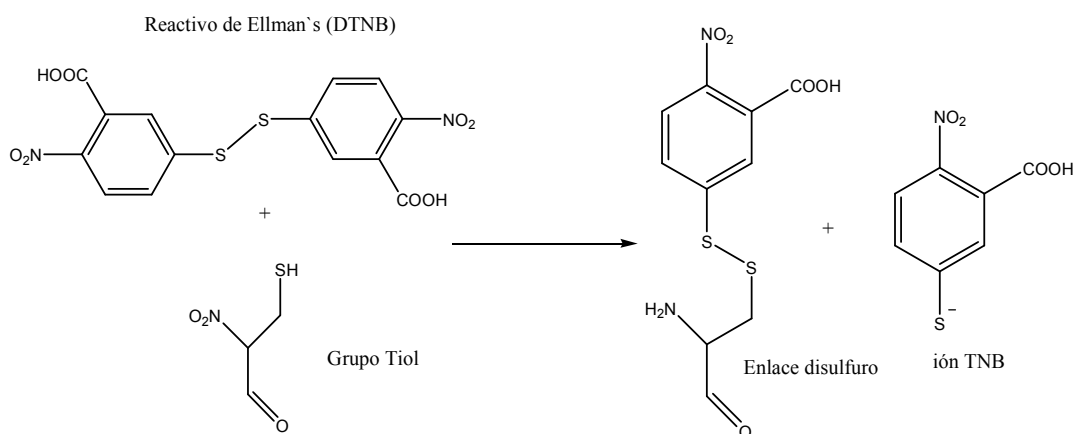


Fig. 10. Detección de grupos tiol usando el reactivo de Ellman's (Nollet y Toldrá, 2009)^b.

1.6 Métodos de conservación de la carne

El uso de métodos combinados de conservación durante el almacenamiento, como refrigeración y el empacado al vacío, pueden controlar la proliferación de microorganismos degradantes, así como controlar la actividad enzimática. Sin embargo, algunas proteasas son activas a bajas temperaturas, como es el caso de las producidas por microorganismos psicrótrofos (García, 2007).

En el empaque al vacío se elimina completamente el aire del interior del paquete, siendo el método más común por la industria cárnica para modificar el



ambiente interno del envase; observándose que en la carne empacada al vacío alarga su vida de anaquel (Leisner *et al*, 1995).

En el empaque al vacío, la microflora que originalmente se encontraba en la carne fresca se modifica en proporción y tipo. El crecimiento de *Pseudomonas* es inhibido, mientras que predominan algunas especies de *Lactobacillus*, frecuentemente se encuentran otras bacterias lácticas como *Carnobacterium* y *Leuconostoc* sp (Leisner *et al.*, 1995) y *Brochothrix* (Dainty y Mackey, 1992).

Sin embargo, por óptimas que sean las condiciones en la que se lleva a cabo el vacío, no es posible eliminar en su totalidad el O₂ y una pequeña proporción residual de aire (menos del 1%) queda en el interior del envase (Sánchez *et al*, 2008).

Otros beneficios del envasado al vacío importantes son:

- Evitar pérdida de peso por pérdida de líquidos o de grasa.
- Evita que los productos se humedezcan o pierdan humedad.
- Evita contaminaciones posteriores a la elaboración, conservando la higiene desde la elaboración hasta el consumidor.
- Evita el “quemado” (daño por frío) por congelación.

No obstante, hay factores que favorecen o demeritan las ventajas del empaque al vacío, uno de ellos es el pH alto ya que este descompone rápidamente la carne, debido a la actividad de enterobacterias y microorganismos anaerobios facultativos como *Alteromonas putrefaciens* y *Brochothrix thermosphacta* (García, 2007).



CAPÍTULO II: HIPÓTESIS

La carne de cerdo es rica en proteínas y lípidos por lo que su calidad se ve afectada por varios factores durante su almacenamiento y obtención, por ello si se adicionan vitaminas con posible efecto antioxidante a la dieta de los porcinos entonces se esperaría que por lo menos algún tratamiento mejore la estabilidad oxidante de la carne durante el almacenamiento y por ende se obtenga un producto de mejor calidad.



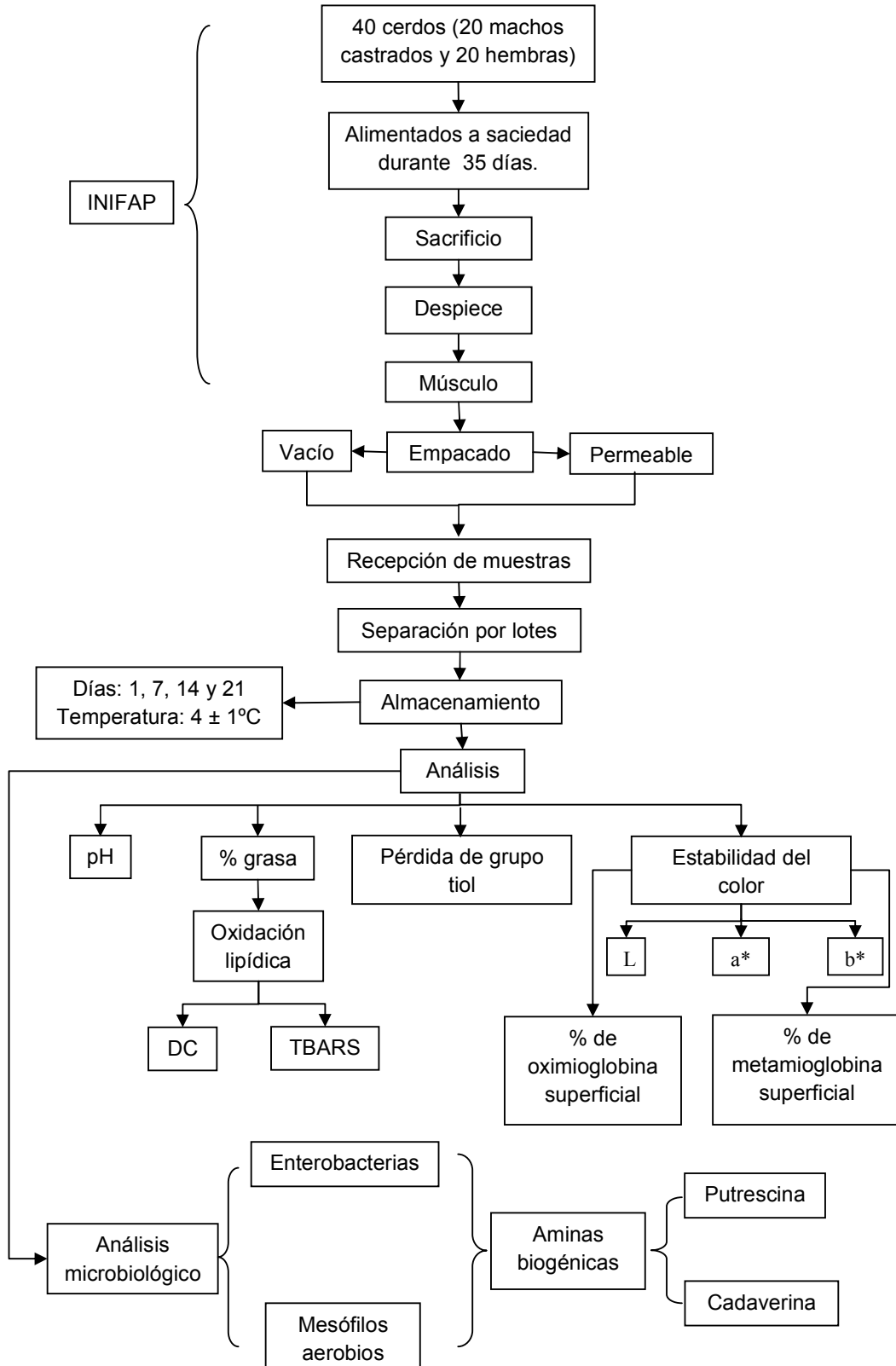
CAPÍTULO III: OBJETIVOS

3.1 Objetivo General:

Evaluar el efecto de la suplementación de las vitaminas D₃ y 25-OHD₃ sobre la estabilidad oxidativa de la carne de cerdo durante el almacenamiento.

3.2 Objetivos particulares:

- Determinar la oxidación lipídica por medio de las técnicas de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y dienos conjugados (DC) en carne de cerdo suplementado con dos fuentes de vitamina D.
- Cuantificar la pérdida de grupo tiol en la oxidación proteica de carne de cerdo suplementada con dos fuentes de vitamina D.
- Evaluar los cambios en el color como indicador de calidad de carne de cerdo suplementada con dos fuentes de vitamina D.
- Determinar la calidad microbiológica y generación de aminas biogénicas en carne.





CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

El estudio se realizó en los M. *Longissimus dorsi* obtenido de 40 cerdos (20 machos castrados y 20 hembras) progenie Fertilis x G-Performer, con un peso inicial de 85 ± 5 kg. Los animales se aleatorizaron con base en su peso y sexo para ser asignados a uno de los 10 tratamientos, obteniéndose 4 réplicas por tratamiento. Los tratamientos propuestos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 5. Concentración de vitamina D₃ o 25-OH colecalciferol para cada tratamiento (INIFAP)

Tratamiento	Vitamina D ₃ (IU/Kg)	25-OH colecalciferol µg/Kg
1	<i>Control</i>	
2	500	----
3	2000	----
4	20000	----
5	40000	----
6	----	12.5
7	----	50
8	----	500
9	----	1000
10	Control positivo (vitamina E, selenio, astaxantina y 2000 IU de vitamina D ₃ a partir de 25-OHD ₃)	

Los cerdos fueron alimentados a saciedad durante los 35 días que duró el experimento en granja con dos comidas diarias (07:00 y 19:00), al día 36 fueron sacrificados en el rastro TIF (Querétaro # 412, Chichimequillas km 8.5 San José el Alto Querétaro, Qro). Posteriormente, las canales fueron trasladadas a la planta de despiece, donde a las 24 horas post mortem fueron despiezadas. Se tomó el músculo *Longísimo dorsal* izquierdo de cada cerdo, se identificó y posteriormente fue cortado en chuletas (partiendo del centro del lomo hacia los extremos) de 2 cm de grosor, cada corte fue empacado en dos sistemas (película permeable al oxígeno y al vacío), siendo transportadas en hieleras a las instalaciones de la UAM-Iztapalapa, donde se almacenaron a $4 \pm 1^\circ\text{C}$, durante un periodo de 21 días, el muestreo se realizó en los días 1, 7, 14 y 21.



Para llevar a cabo las determinaciones se empleó:

- Balanza Scout™ Pro Ohaus (NJ, USA).
- Centrifuga 5810R Eppendorff (Hamburgo, Alemania).
- Homogenizador IKA T18 basic Ultra-Turrax (Staufen, Alemania).
- Lector de placas Biotek Synergy HT (Vermont, USA).
- Espectrofotómetro Spectro Varian 50 Bio UV-Visible Spectrophotometer (Nueva Jersey, USA).
- Colorímetro Hunter-Lab ColorFlex® modelo D25 –PC2 (Hunter- Lab, Inc. Virginia, USA).
- Potenciómetro digital HANNA Instruments HI2550 (Rhode Island, USA).
- Rotavapor (IKA-HEIZBAD HB-250, Staufen Alemania).
- HPLC (Agilent Technologies 1260 Infinity, California E.U.A) de bomba cuaternaria con detector UV, con una columna de fase reversa Agilent Poroshell 120 EC-C18 de 4.6 x 50 mm y 2,7 µm y software Open LAB CDS Workstation Auth Code H88B29784E.

Se empleó cloruro de sodio, hidróxido de sodio, éter, metanol, isopropanol, cloroformo, hexano, sulfato de sodio anhídrido, ácido tricloroacético y ácido 2-tiobarbitúrico, grado reactivo y agua y metanol grado HPLC por J.T. Baker Chemical Co. (NJ., E.U.A). Así como: tris (hidroximetil) amino metano, DTNB (5,5'-ditiobis(ácido 2-nitrobenzoico), BSA (Bovine Serum Albumin), L-cisteína, cloruro de benzoilo al 99%, 1,7 diaminoheptano, dihidrocloruro de cadaverina, dihidrocloruro de putrescina de Sigma- Aldrich Co (Alemania) y SDS (Dodecil Sulfato de Sodio) de Bio Rad (E.U.A).

Los resultados se sometieron a análisis discriminante (AD); donde se evaluaron los grupos (tratamientos). Posteriormente se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) en las variables significativas o de mayor peso en el AD, además de un análisis de comparación de medias empleando la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$), mediante el paquete estadístico xLSTAT 2011 v.4.02 (Addinsoft SARL, New York, USA). Por otro lado también se llevó a cabo un análisis de varianza para evaluar los dos tipos de empaque empleados en este estudio.



4.1 Determinación de pH

Previo a la evaluación de pH, el potenciómetro fue calibrado con soluciones de referencia pH 4 y 7. Se homogenizaron 10 g de carne con 90 mL de agua destilada en un homogenizador durante 1 minuto y se determinó el pH (Guerrero *et al.*, 2002).

4.2 Determinación de grasa

Se realizó de acuerdo a la metodología de Pérez *et al.* (2008) con algunas modificaciones. Se tomaron 5.0 g de muestra y se adicionaron 15 mL de una mezcla de cloroformo: metanol (2:1), se homogeneizó durante 1 min. Posteriormente, se centrifugó durante 10 min, a 3000 rpm, se filtró (F1), al sobrenadante se le adicionó 5.0 mL de cloroformo, se homogenizó y se volvió a centrifugar con las mismas condiciones (F2). Ambos filtrados se juntaron adicionándose 5.0 mL de agua destilada, se centrifugó nuevamente a las mismas condiciones, se filtró colocando una cama de sulfato de sodio anhidrido, se evaporó el solvente y finalmente la determinación se realizó gravimétricamente.

4.3 Determinación de dienos conjugados

Se determinó según lo descrito por Sirinivasan *et al.* (1996) con algunas modificaciones. Se pesaron 0.5 g de las muestras de carne suspendiéndose en 5.0 mL de agua destilada y se homogenizó durante 1 min. Posteriormente, se tomó una alícuota de 0.5 mL de esta suspensión y se adicionaron 5.0 mL de solución de extracción 3:1 (hexano: isopropanol). Finalmente se centrifugó a 2000 rpm por 5 min y la absorbancia del sobrenadante se leyó a 233 nm en un espectrofotómetro. La concentración de dienos conjugados (DC) se calculó utilizando el coeficiente de extinción molar de $\epsilon = 25000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ expresándose los resultados como $\mu\text{mol DC/ mg}$ de carne.

4.4 Determinación de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)

La determinación se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Raharjo *et al.* (1992) con algunas modificaciones. Se emplearon 5.0 g de carne a los



cuales se adicionaron 20 mL de TCA (5% p/v), posteriormente se homogenizó durante 1 min, se centrifugó a 10000 rpm durante 15 min a 4 °C. Posteriormente, el sobrenadante se filtró a través de papel Whatman No. 4.

Se tomaron porciones iguales del extracto y TBA [80 mM]; la reacción de TBA se llevó a cabo aplicando un tratamiento térmico a 94 °C durante 30 min, se dejó enfriar y posteriormente se leyó su absorbancia a 530 nm en un lector de placas. Los resultados se reportaron en mg de malonaldehído (MDA)/kg de carne, utilizando el coeficiente de extinción molar de $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

4.5 Determinación de pérdida de grupo tiol

La determinación se realizó de acuerdo a Hansen *et al.* (2012). Se pesó 1.0 g de carne y se homogenizó con 25 mL de SDS al 5 % en 0.10 M de buffer tris (pH 8), luego se calentó a 80 °C durante 30 minutos, transcurrido el tiempo se filtró en papel Whatman No. 4. Al filtrado se le leyó la absorbancia a 280 nm ajustando la concentración de proteína a 1.5 mg/g de proteína empleando una curva patrón de albúmina (Ellman, 1959) cuya concentración abarcó de 0 a 6 mg/mL.

Finalmente, en un tubo se adicionó 0.50 mL del extracto diluido, 2.0 mL de buffer tris 0.10 M (pH 8.0) y 0.50 mL de DTNB [10 mM] en 0.10 tris (pH 8.0); la reacción se llevó a cabo durante 30 min, se leyó la absorbancia a 412 nm, además se realizó una curva patrón de L- cisteína (Moller *et al.*, 1998) con una concentración de 0 a 100 μg de tiol/ mg de proteína.

4.6 Determinación de color

La lectura se realizó con las muestras dentro del empaque con un observador patrón a 10°, iluminante D₆₅ y una apertura de 1.25" previamente calibrado. Cada lectura se realizó por duplicado obteniéndose las variables: luminosidad (L*), índice de rojo (a*) e índice de amarillo (b*). Además se calculó el porcentaje de metamiglobina y oximioglobina superficial a partir de los datos de reflectancia (Hunt y Mancini, 2010).



4.7 Determinación de mesófilos aerobios y enterobacterias

La muestra se tomó superficialmente en un área de 10 cm², con un hisopo estéril y se diluyó en solución salina estéril (dilución 10⁻¹) de la cual se obtuvieron las diluciones necesarias. De cada dilución se tomó 1 mL y se esparció en placas de medios selectivos (Rida[®]Count para mesófilos y enterobacterias). Finalmente, se incubaron a 37°C durante 24 o 48 horas; los resultados se reportaron como UFC/cm² de carne.

4.8 Determinación de aminas biogénicas

La extracción se realizó homogenizando 5.0 g de muestra con 25 mL de ácido tricloroacético 5% durante 1 minuto; posteriormente se centrifugó a 10000 rpm por 15 min a 4°C. El sobrenadante se filtró a través de papel Whatman No. 1, el filtrado se transfirió a un matraz aforado de 25 mL con ácido tricloroacético.

La derivatización consistió en tomar 2.0 mL del filtrado y 50 µL del estándar interno 1,7 diaminoheptano, más 1 mL de NaOH 2 M y 10 µL de cloruro de benzoilo, se dejó reaccionar por 20 min; transcurrido el tiempo se adicionaron 2 mL de NaCl 5 M y 3 mL de éter. La fase orgánica se transfirió a un matraz bola para evaporar el disolvente mediante un rotavapor. El residuo concentrado se disolvió en 500 µL de una mezcla metanol: agua (50:50) para después ser filtrada a través de una membrana de 0.45 µm.

Se inyectaron 40 µL de muestra y estándares: dihidrocloruro de cadaverina y dihidrocloruro de putrescina; la concentración de las curvas patrón de los estándares estuvo en el intervalo de 0.005 a 0.8 mg/mL y 0.02 a 0.4 mg/mL, respectivamente. El flujo de la fase móvil fue de 0.5 mL/min, el gradiente de elución se presenta en la tabla 6. Los cromatogramas se obtuvieron a una longitud de onda de 256 nm.

**Tabla 6.** Gradientes de metanol empleados en la elución de aminas biogénicas

Tiempo (min)	Metanol 100%	Metanol 55%
0	0	100
8	0	100
10	50	50
15	56	44
18	100	0
20	0	100

CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Discriminante

Los resultados obtenidos durante el muestreo, tanto para empaque al vacío como para película permeable al oxígeno, fueron sometidos a un análisis discriminante (AD) utilizando el programa estadístico xLSTAT 2012 v.4.02 (Addinsoft SARL, New York, USA) empleando como criterio de clasificación el tipo de fuente de vitamina D (grupo 1: control negativo, grupo 2: vitamina D₃, grupo 3: 25-OHD₃ y grupo 4: control positivo) suministrada a las dietas de cerdos.

5.2 Empaque permeable al oxígeno

Al realizar el AD se encontró que la prueba de Lambda de Wilks (Tabla 7. ver anexo) para las muestras empacadas en película permeable al oxígeno, no fue significativa, por lo tanto, no existe separación de los tratamientos (Fig. 11) y no se llevó a cabo el análisis de varianza correspondiente.

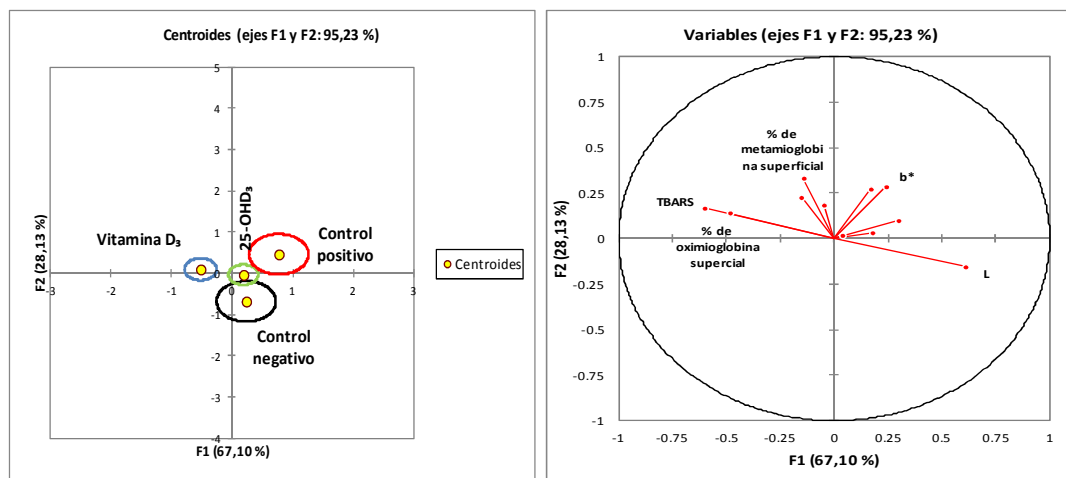


Fig. 11. Gráficas de centroides para muestras de carne de cerdo empacadas en película permeable al oxígeno.



5.3 Empaque al vacío

De igual manera se realizó el AD y la prueba de la lambda de Wilks para el empaque al vacío (Tabla 8. ver anexo) siendo significativa ($p < 0.0001$), lo cual indica que existe diferencia entre los vectores medios de las fuentes de vitamina D evaluadas; por lo tanto, hubo una separación de grupos. En la Fig. 12 se muestran las gráficas de centroides por fuente (grupos) y de vectores de las variables de respuesta, observándose que cada una de las fuentes evaluadas se separó en cada uno de los cuadrantes.

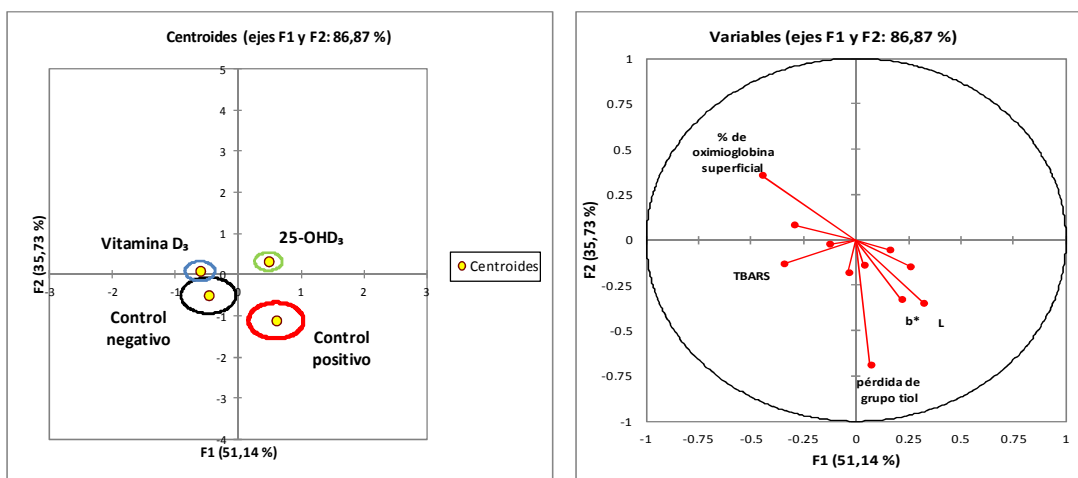


Fig.12. Gráficas de centroides para muestras de carne de cerdo empacadas al vacío.

Para la construcción de las gráficas de centroides (Fig. 12, izquierda) se utilizó la función 1 (F1) y 2 (F2), ambas funciones en conjunto explicaron el 86.87% del comportamiento de los tratamientos. Donde, la F1 interpretó un 51.14%, mientras que la función 2 describió el 35.73%.

En la (Fig. 12, derecha) se observa que el porcentaje de oximioglobina superficial, explicó la mayor variabilidad negativa en la F1 donde el tratamiento con fuente de vitamina D₃ tiene la mayor correlación negativa de esta variable (-0.449). Con respecto a la variable TBARS, existió una correlación negativa en la F1 con respecto al control negativo (-0.345).

La variable que explica la mayor variabilidad en la F2 positivamente fue porcentaje de oximioglobina superficial 0.356, la cual tiene estrecha correlación



con la fuente de vitamina D₃. Por el contrario, las variables que presentaron la mayor variabilidad negativa con respecto a la F2 fueron pérdida de grupo tiol, luminosidad (L) e índice de amarillo (b*) con las correlaciones -0.690, -0.350 y -0.328, respectivamente.

Por lo tanto, las fuentes aplicadas tuvieron un efecto significativo sobre la variación en la oxidación lipídica (TBARS) y proteica (pérdida de grupo tiol), así como en la estabilidad del color: índice de amarillo (b*), luminosidad (L) y porcentaje de oximioglobina superficial. Una vez identificadas las variables con mayor respuesta de correlación con respecto a las funciones discriminantes se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables que fueron significativas.

El análisis de varianza realizado para evaluar el tipo de empaque (vacío y permeable), presentó diferencias significativas entre las variables pH, porcentaje de grasa, TBARS, índice de rojo, índice de amarillo, oximioglobina superficial, metamioglobina superficial, enterobacterias y la amina putrescina.

5.4 pH

El valor del pH es un factor relevante en la calidad de la carne de cualquier especie, ya que de éste depende la conformación de las proteínas, pero también del desarrollo de microorganismos alterantes con las subsecuentes reacciones que éstos provocan (García, 2007).

Normalmente, el pH del músculo disminuye de 7.2 a 5.8-5.5 durante las 24 h posteriores al sacrificio. Si el pH final es muy alto (por encima de 6.1-6.2) o muy bajo (<5.4), las características de calidad de la canal, incluyendo la capacidad de retención de agua y el color son alteradas (Brewer *et al.*, 2001).

Con respecto al análisis discriminante realizado, esta variable no mostró tener algún efecto significativo ($p \leq 0.05$) por las fuentes de vitamina D estudiadas, esto concuerda con lo reportado por Lahucky *et al.* (2007), quienes mencionan que la suplementación con vitamina D₃ (500 000 IU/kg) por 5 días previos al sacrificio de los cerdos no afectó el pH después de 24 h, obteniéndose un pH de 5.52 cuyo valor es menor a lo obtenido en el presente estudio (5.81 ± 0.21



para vitamina D₃ y 5.74 ± 0.15 para 25-OHD₃). Esta diferencia radica en la concentración de las vitaminas y tiempo de suministro.

Por otro lado, Swigert *et al.* (2004) encontraron diferencias en el pH de la carne de cerdo, entre el grupo control (sin vitamina D₃) y el tratamiento que contenía vitamina D₃, siendo este último el que presentó un mayor valor de pH a las 24 h; en este estudio también se analizó un tratamiento con la mezcla de vitamina D₃ y E, encontrándose diferencias en cuanto al pH con el control negativo pero no con el tratamiento de vitamina D₃.

En la Fig. 13, se observa que el control positivo al inicio del muestreo presentó un pH similar al de la 25-OHD₃ (5.73 ± 0.14 y 5.74 ± 0.15 respectivamente). El control negativo presentó la mayor reducción de pH alcanzando valores de 5.62 ± 0.06 al día 14 de almacenamiento. Sin embargo, ambas fuentes de vitamina D₃ mostraron una tendencia similar durante el tiempo de almacenamiento, manteniendo el pH desde el día 7 hasta el día 21 con ligeras variaciones, lo cual coincide con lo reportado por Wiegand *et al.* (2002), aunque el pH obtenido para los días de muestreo fueron menores a los obtenidos por ellos. Esta diferencia podría radicar en la cantidad de vitamina D que le fue administrada al animal y el tiempo de suministro, además se puede deber al estrés que pudo tener el animal durante el traslado y sacrificio.

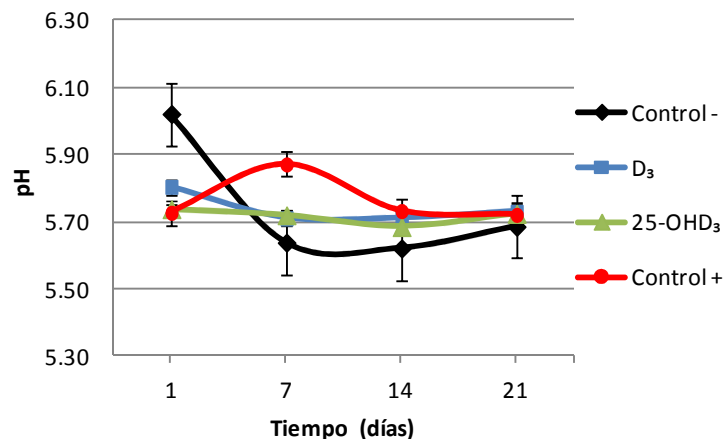


Fig. 13. Variación del pH con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.



En la Fig. 14. se observa una mayor variación en los valores de pH con respecto al empaque al vacío. Observándose que el control negativo fue el tratamiento que mayor decremento presentó, llegando a un valor de 5.61 ± 0.24 al día 7 de almacenamiento. Se observa que por efecto de empaque existió una gran variabilidad en las determinaciones de pH, siendo al día 7 los mayores valores de pH, posteriormente al día 21 se observa nuevamente un incremento. Solo el control negativo se mantuvo sin incrementos hasta el día 14. Los incrementos posiblemente se deban al desarrollo bacteriano o bien a las prácticas de manufactura que no fueron las adecuadas a pesar de todos los controles de higiene que se tomaron en cuenta para el empaquetado de la carne.

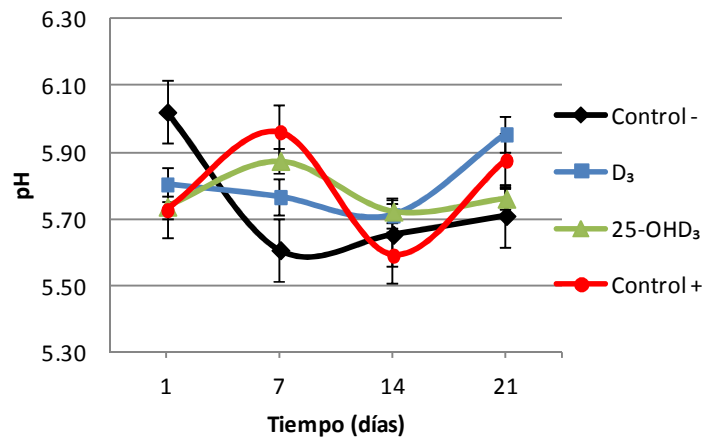


Fig. 14. Variación del pH con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.

En el análisis de varianza se encontraron diferencias significativas para el tipo de empaque (Tabla 9. ver anexo) donde, el empaque al vacío presentó un pH menor (5.73 ± 0.18) con respecto al empaque permeable de (5.79 ± 0.23). A pesar de estas diferencias en el pH de la carne (Tabla 10. ver anexo), ambos casos se encuentran dentro de lo establecido por la bibliografía que es de 5.6-5.7.



5.5 Porcentaje de grasa

La grasa es importante desde el punto de vista sensorial ya que contribuye de manera decisiva en la textura y jugosidad, también juega un papel fundamental en la estabilidad de moléculas oxidables de la carne, que a su vez afecta el sabor y color de la carne.

Como se puede observar en la Fig. 15 y 16, la suplementación con las dos fuentes de vitamina D presentaron un mayor contenido de grasa con respecto a los dos controles y de estos el control negativo obtuvo menor contenido graso. Estos resultados coinciden con lo reportado por Lahucky *et al.*, 2007 quienes reportaron un porcentaje de grasa para el grupo suplementado con vitamina D₃ de 3.13% de grasa y en comparación a lo obtenido en el presente estudio fue de 3.12 ± 0.35 % de grasa; para el grupo suplementado con vitamina D₃ y E obtuvieron 2.52% de grasa y el control negativo presentó 2.50% de grasa, mientras que lo obtenido en este trabajo fue de 2.70 ± 0.14 y 2.50 ± 0.14 respectivamente.

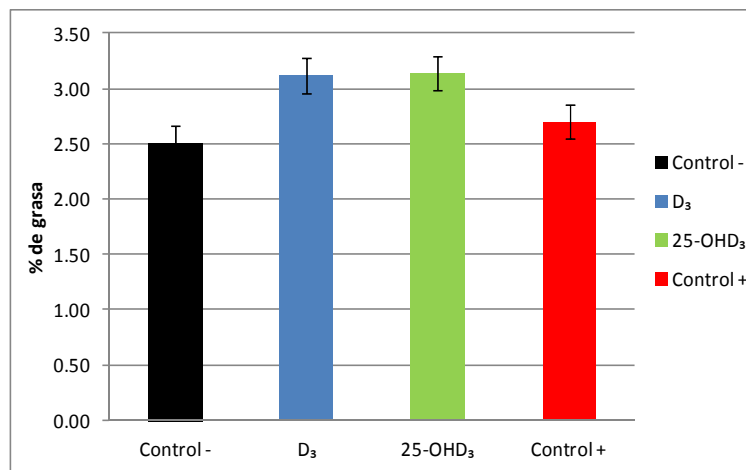


Fig. 15. Porcentaje de grasa en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.

La cantidad de grasa presente en cada uno de los tratamientos evaluados se puede ver alterado vía hidrolítica la cual consiste en una liberación de los ácidos grasos por acción de las lipasas y fosfolipasas, principalmente de los



microorganismos y por las enzimas propias de la carne en menor escala (Carballo, 1991). Lo cual explicaría las variaciones de la grasa presentada en los tratamientos, ya que la hidrólisis de las grasas se caracteriza por el aumento de ácidos grasos libres originando defectos de ablandamiento acompañado de exudación de un líquido oleoso compuesto por ácidos grasos libres, monoglicéridos, diglicéridos y glicerina (Prandl, 1994).

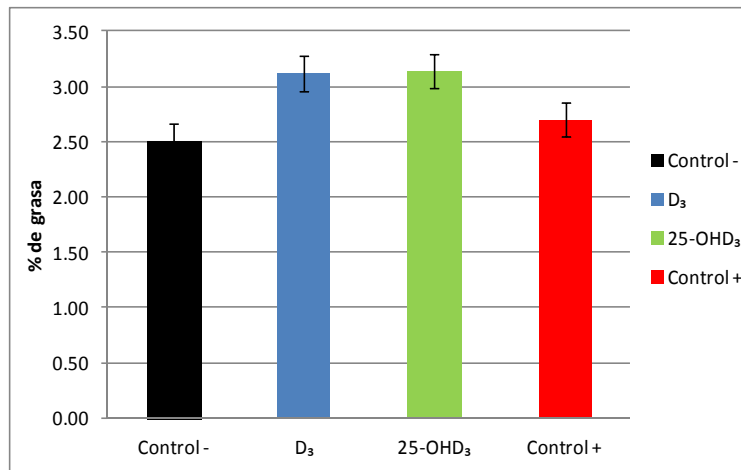


Fig. 16. Porcentaje de grasa en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.

Se ha demostrado que la vitamina D₃ se puede depositar en el tejido graso y estar disponible en el organismo para ser usada (Rungby *et al.*, 1993). Lo cual podría explicar la mayor cantidad de contenido graso presentado por los tratamientos con vitamina D con respecto a los controles experimentales.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que parte de la grasa de la dieta se incorpora directamente en los tejidos corporales de los animales monogástricos; pero la distribución de la grasa no es uniforme por lo cual, la cantidad de grasa puede variar de chuleta en chuleta (Corino *et al.*, 2002).

5.6 Dienos conjugados

Esta variable no fue significativa para el análisis discriminante; es decir, los tratamientos evaluados no tuvieron efecto sobre esta. En la Fig. 17, se observa



que las dos fuentes de vitamina D₃ a partir del día 14 presentan un comportamiento ligeramente constante. De manera general los tratamientos analizados tendieron a disminuir conforme el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, el control positivo mostró un pequeño aumento al día 14.

Al empezarse a oxidar los dobles enlaces de los ácidos grasos presentes en la carne cambian para crear sistemas conjugados que después se pueden medir espectrofotométricamente. Su formación presenta un máximo seguido de una disminución como resultado de los hidroperóxidos conjugados que se dividen en productos secundarios de la oxidación de lípidos (Teets y Were, 2008).

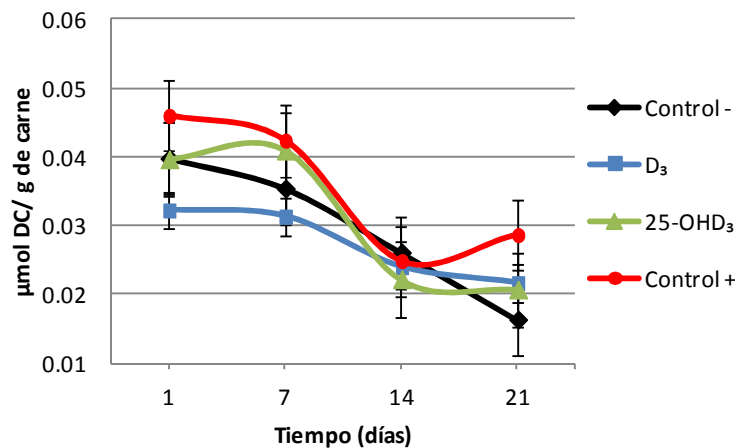


Fig. 17. Oxidación lipídica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío por el método de dienos conjugados.

El comportamiento que presentaron las muestras de carne empacadas en película permeable (Fig.18) fue una disminución acorde al tiempo de almacenamiento, manifestando el control positivo un ligero aumento a partir del día 14; siendo este el que obtuvo una mayor cantidad de dienos conjugados (DC) al final del muestreo ($0.026 \pm 0.004 \mu\text{mol}/\text{mg}$ carne), mientras que el resto de los tratamientos mostraron cantidades similares.

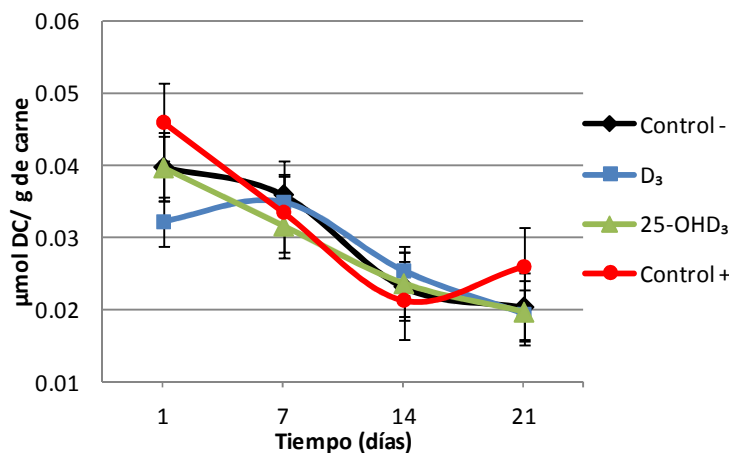


Fig. 18. Oxidación lipídica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno por el método de dienos conjugados.

La disminución presentada en ambos sistemas de empaque coincide con lo reportado por la bibliografía; este declive ocurre a medida que la reacción avanza, ya que la absorbancia disminuye, ocasionado por el paso de los dienos conjugados a productos secundarios de oxidación, los cuales presentan una baja absorción a 233 nm (Navarro *et al.*, 2004).

Por otro lado, el ligero aumento presentado por el control positivo, no se encuentra reportado debido a que el análisis de esta variable solo se ha realizado hasta los primeros 14 días de almacenamiento; sin embargo, pudo haberse debido al tipo de grasa contenida en las muestras, ya que si era en mayor proporción grasa insaturada generaría mayor cantidad de dienos conjugados.

Juntachote *et al.* (2006) empleando cortes provenientes del vientre de cerdo, reportaron en condiciones de vacío una cantidad de DC para el día 1 de 0.647 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ carne, para el día 7 de 0.663 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ carne y para el día 14 de 0.570 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ carne. Por otro lado, Lee *et al.* (2010) emplearon *M. biceps femoris* de cerdo en condiciones anaeróbicas reportaron al día 1 una cantidad de DC de 0.406 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ carne, en el día 7 de 0.570 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ carne y para el 14 de 0.506 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ carne; en ambos casos los resultados encontrados fueron mayores a los obtenidos en el presente trabajo, esta diferencia radica en el tipo



de corte empleado, ya que el vientre contiene mayor cantidad de grasa que el lomo; lo que lo hace más susceptible a la oxidación.

En el análisis de varianza para tipo de empaque utilizado (vacío y permeable) no fue significativa (Tabla 15. ver anexo); lo cual podría deberse a la inestabilidad de los dienos conjugados. Encontrándose la misma cantidad tanto en vacío como en permeable (0.03 ± 0.02 y 0.03 ± 0.01 $\mu\text{mol/ g}$ de carne, respectivamente).

5.7 Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) son una medida de productos de oxidación secundarios, principalmente aldehídos, carbonilos o hidrocarburos, que contribuyen a los aromas y sabores en la carne.

En la Fig. 19 se observa que todos los tratamientos tuvieron un incremento en la cantidad de TBARS en el día 7 de almacenamiento, seguido de una disminución, lo cual se debe a la producción de diversos compuestos complejos que son generados durante el almacenamiento; dentro de los cuales, los carbonilos provenientes de la oxidación de las proteínas son los más importante, los cuales obstruyen la interacción con el TBA para generar una disminución en la concentración de MDA (Badui, 2006).

Por otro lado, el tratamiento con 25-OHD₃ presentó un comportamiento similar al control positivo, siendo menores las cantidades mostradas por dicho tratamiento con respecto al control positivo (0.74 ± 0.08 mg de MDA/ kg de carne y 0.82 ± 0.08 mg de MDA/ kg de carne respectivamente). El tratamiento con vitamina D₃ fue el que presentó una mayor cantidad de TBARS al inicio del muestreo (0.83 ± 0.21 mg de MDA/ kg de carne) y al final de este generó una cantidad muy similar a las del control negativo, que fue el que generó la mayor cantidad de TBARS (0.86 ± 0.32 mg de MDA/ kg de carne).

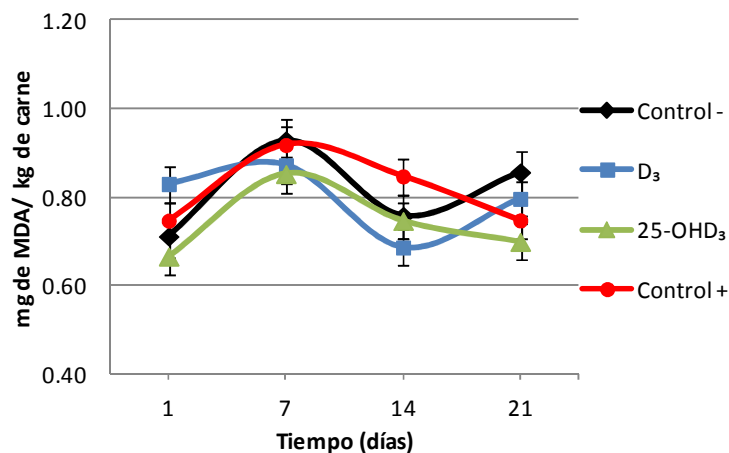


Fig. 19. Oxidación lipídica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío por el método de TBARS.

De acuerdo al análisis discriminante, este parámetro presentó diferencias significativas con base a los tratamientos utilizados (Tabla 16. ver anexo) observándose que el tratamiento con 2000 IU/kg de vitamina D₃ presentó diferencias significativas con respecto al tratamiento de 500 µg/ kg de 25-OHD₃ (Tabla 17. ver anexo), siendo el tratamiento con vitamina D₃ el que mayor cantidad de especies reactivas generó (0.92 ± 0.31 mg de MDA/ kg de carne). Por el contrario, el tratamiento con 25-OHD₃ generó una menor cantidad de TBARS (0.71 ± 0.11 mg de MDA/ kg de carne) claro indicio de la actividad antioxidante por parte de esta vitamina.

En la Fig. 20, se observa que el tratamiento de vitamina D₃ generó la mayor cantidad de TBARS durante todo el almacenamiento, mientras que la 25-OHD₃ mostró un comportamiento creciente durante el muestreo, indicándonos que en presencia de oxígeno ambas fuentes de vitamina D tienen un efecto.

Con respecto a los controles experimentales se observa que el control negativo tendió a aumentar a partir del día 7; por otra parte, el control positivo se mantuvo ligeramente constante hasta el día 14 de almacenamiento, siendo claro ejemplo de su efecto antioxidante debido a todos los componentes presentes y no solo por 25-OHD₃ hasta los catorce días.

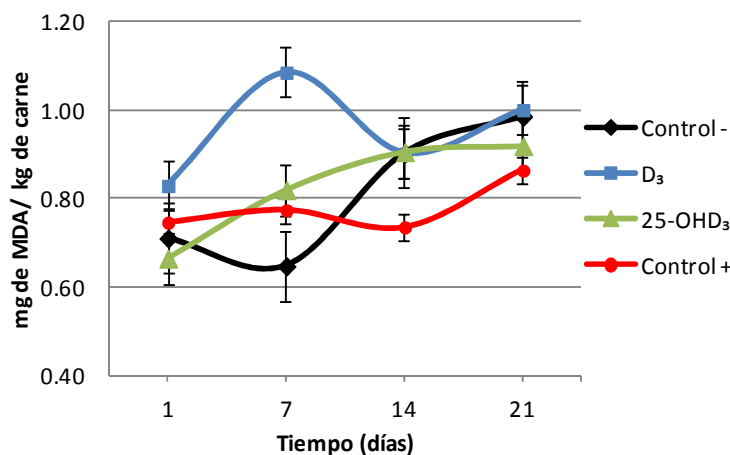


Fig. 20. Oxidación lipídica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno por el método de TBARS.

Mason *et al.* (2005) reportaron un contenido de TBARS en *M. Longissimus dorsi* para el día uno de 0.13 mg MDA/kg de muestra y para el día siete de 0.12 mg MDA/kg en carne de cerdos de la raza Landrace en condiciones aeróbicas y para raza Duroc al día uno se obtuvo 0.09 mg MDA/kg de muestra y para el día siete se generaron 0.12 mg MDA/kg de muestra. En este trabajo, los resultados encontrados fueron mayores a pesar que el corte es de la misma porción anatómica; esto podría deberse al tipo de raza empleado en el estudio, ya que este es un factor relevante en la cantidad de grasa que pueda tener y sea susceptible a la oxidación lipídica.

Lee *et al.* (2010) reportaron un contenido de MDA para *M. biceps femoris* en condiciones anaeróbicas para el día uno de 0.17 mg MDA/kg de muestra, para el día 7 de almacenamiento de 0.42 mg MDA/kg de muestra y para el día 14 de 0.56 mg MDA/kg de carne; en el presente trabajo se encontraron cantidades mayores. Sin embargo, Juntachote *et al.* (2006) emplearon cortes provenientes del vientre y reportaron un contenido de MDA en condiciones de vacío para el día uno de 2.40 mg MDA/kg de muestra, para el día siete de 3.49 mg MDA/kg de muestra y para el día catorce de 4.56 mg MDA/kg de muestra, en este caso los resultados obtenidos fueron menores a los obtenidos por este proyecto de investigación. Esta diferencia entre los resultados radica en el corte con el cual se realizó el estudio, debido a que los cortes empleados fueron diferentes a los



utilizados en este trabajo y por otro lado, la posición anatómica (vientre) tiene mayor depósito de grasa con respecto al lomo haciéndolo más susceptible a la oxidación lipídica.

Para el tipo de empaque empleado (vacío y permeable) se observaron diferencias significativas en el análisis de varianza realizado (Tabla 18. ver anexo), obteniéndose menores cantidades de TBARS en las muestras almacenadas al vacío en comparación a la película permeable al oxígeno (0.78 ± 0.23 mg de MDA/ kg de carne y 0.87 ± 0.28 mg de MDA/ kg de carne respectivamente), lo cual era de esperarse ya que el oxígeno es uno de los factores que pueden dar inicio a la oxidación lipídica (Tabla 19. ver anexo). De manera general, se observa que la incorporación de las vitaminas, principalmente 25-OHD₃ a las dietas de cerdo en finalización ejerce un efecto protector de oxidación en la carne obtenida y almacenada bajo dos diferentes sistemas de empaque.

5.8 Pérdida de grupo tiol

Los hidroperóxidos reaccionan con los aminoácidos; provocando desnaturalización, agregación, fragmentación y polimerización de las proteínas, lo que se refleja en modificaciones de las propiedades funcionales en la carne (Badui, 2006).

Los tratamientos con 25-OHD₃ en empaque al vacío (Fig. 21) mostraron un bajo nivel de pérdida de grupo tiol durante el tiempo de almacenamiento (del día 7 al 14) comparada con los tratamientos de vitamina D₃ y control negativo.

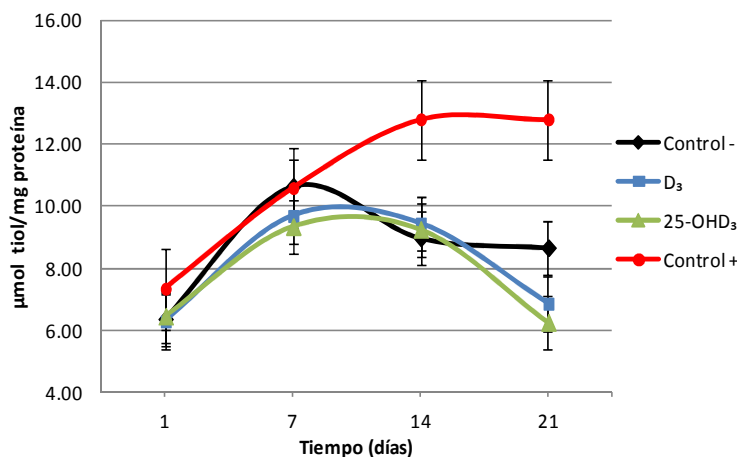


Fig. 21. Oxidación proteica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío por el método de pérdida de grupo tiol.

De acuerdo al análisis discriminante realizado, esta variable influyó estadísticamente entre los tratamientos de vitaminas probados para aquellas muestras que fueron empacadas al vacío (Tabla 20. ver anexo). El tratamiento que mostró una mayor cantidad de pérdida de grupo tiol (Tabla 21. ver anexo) fue el control positivo (9.71 ± 3.44 μmol de tiol / mg de proteína) que a su vez mostró diferencia significativa con el resto de los tratamientos a excepción del tratamiento con la mayor dosis de vitamina D₃. Posiblemente, el efecto protector de este control en cuanto a la porción lipídica es diferente del efecto protector sobre la porción proteica. Por otro lado, el tratamiento 7 de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de 25-OHD₃, presentó la menor pérdida de grupo tiol (7.00 ± 1.27 μmol de tiol/mg de proteína); lo que comprueba nuevamente el efecto antioxidante tanto en fracción lipídica y proteica de este metabolito de la vitamina D₃ en la carne de cerdo.

Para las muestras empacadas en película permeable al oxígeno (Fig. 22) del día 7 al 14 el tratamiento que mostró tener el menor nivel de pérdida de grupo tiol fue el control negativo con respecto a los demás tratamientos, lo que confirma que el animal al no recibir vitamina D exógena tiene la capacidad de generar su propia vitamina D₃ y demás metabolitos de esta, con el fin de cubrir sus necesidad y que dichos compuestos tienen mejor y mayor actividad que los incluidos por la dieta.



Las muestras empacadas en película permeable (Fig. 22) mostraron un incremento de la pérdida de grupo tiol al día 7 de almacenamiento, observándose que el descenso en la pérdida de grupo tiol fue notorio después del día 7, en donde el control negativo mostró el menor descenso y el control positivo presentó una mayor oxidación posiblemente debida a que al tener compuestos con actividad antioxidante en las dietas estos probablemente al estar en elevadas concentraciones funcionaron como prooxidantes, comparado con el resto de los tratamientos analizados.

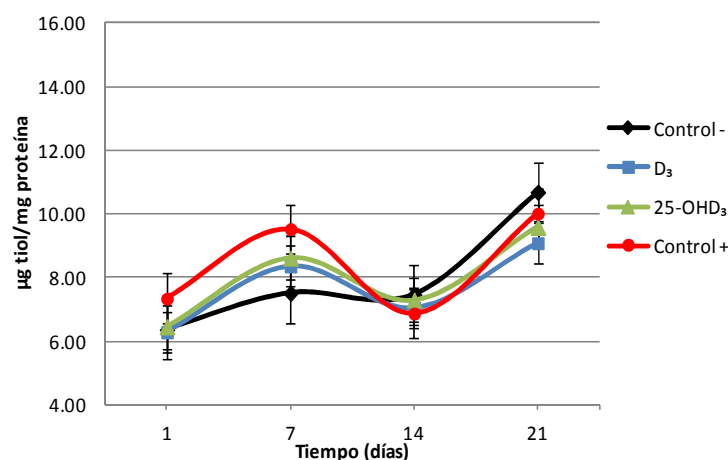


Fig. 22. Oxidación proteica de los cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno por el método de pérdida de grupo tiol.

La mayor pérdida de grupo tiol al día 7 de almacenamiento para ambos tipos de empaques, podría deberse a que en ese día también hubo un aumento en la oxidación lipídica, alterando a la membrana por los aldehídos generados como el malonaldehído, el cual puede dañar a las proteínas (Vargas *et al.*, 2007). Con respecto al tipo de empaque empleado, este no influyó en los resultados obtenidos (Tabla 22. ver anexo).



5.9 Luminosidad (L^*)

De manera general los tratamientos con vitamina D (Fig. 23), presentaron un menor valor de luminosidad con ciertas variaciones durante el tiempo de almacenamiento, ya que al tener menores pérdidas de grupo tiol nos indica que la matriz proteica no se dañó gravemente logrando así una menor dispersión de la luz. El control positivo tuvo un incremento de luminosidad a partir del día 14 alcanzando un valor similar al obtenido por el control negativo al día 21 de almacenamiento. Este aumento se encuentra relacionado con la pérdida de grupo tiol presentada por el control positivo en ese día, cuya oxidación generó un daño en la estructura del músculo, afectando la dispersión de la luz desde la superficie de la carne y por tanto la palidez superficial que se pueda percibir (Warris, 2003).

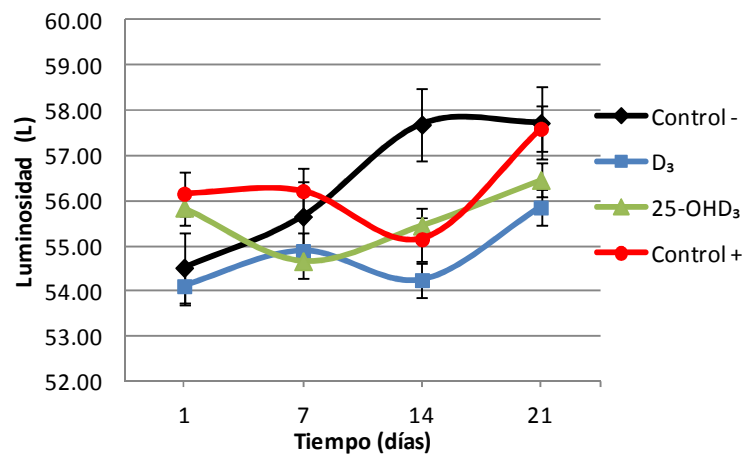


Fig. 23. Variación de la luminosidad (L^*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D_3 y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.

De acuerdo al análisis discriminante, la luminosidad (L^*) presentó diferencias significativas por efecto de los tratamientos evaluados (Tabla 23. ver anexo), siendo el control positivo el que mostró una mayor luminosidad ($56.88 \pm 1.61 L^*$) y por el contrario el tratamiento con mayor concentración de vitamina D_3 (40000 IU/kg) mostró una menor luminosidad ($53.40 \pm 1.91 L^*$), este último mostró diferencias significativas con el control negativo y las tres últimas dosis de 25-OHD₃ (Tabla 24. ver anexo).



En la Fig. 24, se observa que ambos controles mostraron un comportamiento similar, teniendo un aumento de la luminosidad al día 7, lo cual se relaciona con la mayor cantidad de TBARS generadas y la mayor pérdida de grupo tiol en ese día. Mientras que el tratamiento con vitamina D₃ reflejó un comportamiento ascendente en el valor de la luminosidad indicando que conforme aumenta la oxidación de lípidos y proteínas el valor de la luminosidad también lo hace, debido a la desintegración del disco Z, que permite que la luz difunda en mayor cantidad haciéndola más clara (Oliete *et al.*, 2006). Para el tratamiento con 25-OHD₃ los primeros 14 días presentaron un comportamiento con ligeros aumentos seguidos de una disminución; lo cual demostraría que esta vitamina presenta un efecto antioxidante al no dañarse gravemente la matriz proteica.

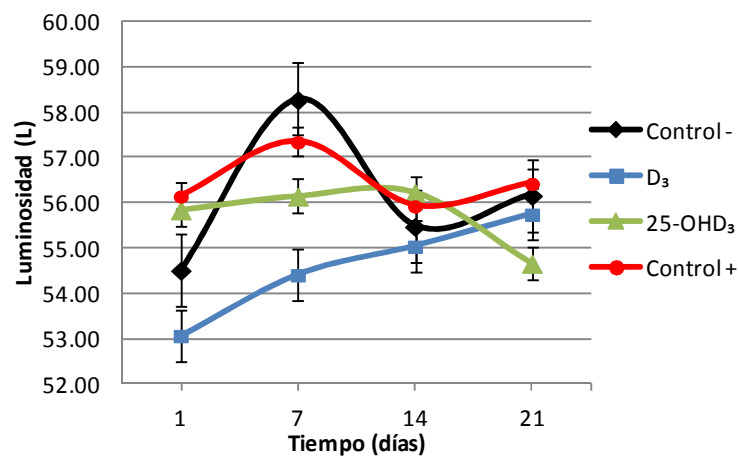


Fig. 24. Variación de la luminosidad (L*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.

Los valores de L* en el empaque permeable presentaron un máximo al día 7 y 14, el empaque al vacío lo presentó al día 21, lo cual era de esperarse porque en el primer empaque se cuenta con la presencia de oxígeno el cual es un factor clave para modificar el color de la carne y por ende la luminosidad.

Wiegand *et al.* (2002) reportaron valores bajos de L* para la carne de cerdos alimentados durante tres días con 500 000 IU de vitamina D₃ y empacada al



vacío, se obtuvieron valores de L^* (control negativo) al día 14 de $39.6 L^*$, el cual comparado con el obtenido en este trabajo de $57.68 \pm 1.59 L^*$ fue menor. Por otro lado, para el tratamiento con vitamina D_3 para ese mismo día se reportó un valor de $38.4 L^*$ y el encontrado en este experimento fue de $54.25 \pm 2.90 L^*$.

Los valores reportados por Wilborn *et al.* (2004) en carne empacada al vacío obtenida de una suplementación de 40 000 IU de vitamina D_3 en cerdos, coinciden con los encontrados en este trabajo, tanto para el control negativo como para los tratamientos con vitamina D_3 , en el primer caso se encontró un valor de $55.50 \pm 0.81 L^*$ a las 24 h post-mortem en comparación con el obtenido de $54.52 \pm 0.85 L^*$, para la vitamina D_3 reportaron un valor de $53.20 \pm 0.81 L^*$ y el resultado obtenido en este caso fue de $54.11 \pm 2.60 L^*$. Cabe señalar, que en ninguno de los dos trabajos citados encontraron un efecto significativo sobre este parámetro con la suplementación de vitamina D_3 . El análisis de varianza para esta prueba no arrojó diferencias significativas entre los dos tipos de empaques empleados (Tabla 25. ver anexo).

5.10 Índice de rojo (a^*)

El AD no arrojó diferencias significativas hacia los tratamientos estudiados para esta variable. En la Fig. 25, se observa que tanto los controles experimentales (negativo y positivo) así como los dos tratamientos con vitamina D (D_3 y 25-OHD_3) presentaron una tendencia similar; siendo el tratamiento con vitamina D_3 el que presentó un mayor índice numérico de rojo durante el tiempo de almacenamiento. La mayoría de los tratamientos a excepción del control negativo mantuvieron constante el color rojo durante los últimos días de almacenamiento, lo cual es idóneo para tener la atención del consumidor.

La estabilidad del color rojo podría ser explicado por una pérdida parcial de la actividad de las enzimas inherentes al músculo que utilizan oxígeno, como resultado de la desnaturalización térmica debido a una temperatura elevada en los músculos antes del sacrificio, resultando en una mayor disponibilidad del oxígeno.

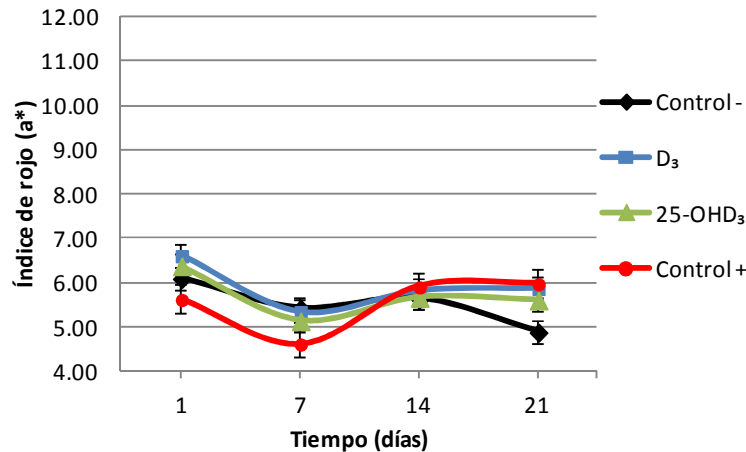


Fig. 25. Variación del índice de rojo (a^*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D_3 y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.

En las muestras empacadas en película permeable al oxígeno (Fig. 26), se puede observar que en la carne de todos los tratamientos se observa un incremento en el índice de rojo durante los primeros 7 días de almacenamiento a excepción del control positivo que mantiene el incremento hasta el día 14; esto se debe al contenido de antioxidantes que se encuentran presentes en el control, los cuales ayudan a retardar la oxidación de la mioglobina (Sánchez *et al.*, 2008).

Comparando los tratamientos con el control negativo, ambos tratamientos de vitamina D mostraron una estabilidad en el color hasta el día 14, lo cual es apropiado para una carne almacenada en película permeable al oxígeno. Sin embargo, con el control positivo solo se presentó mayor color rojo durante los primeros 7 días.

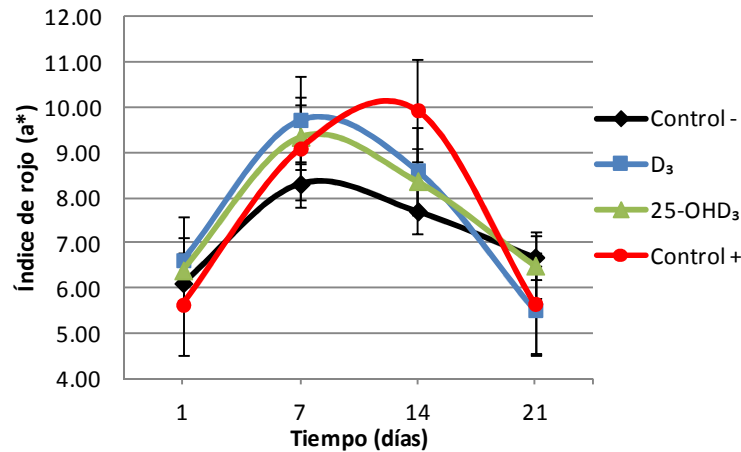


Fig. 26. Variación del índice de rojo (a^*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D_3 y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.

Los resultados obtenidos de índice de rojo se asemejan con lo reportado por Wilborn *et al.* (2004), utilizando una concentración igual de vitamina D y un tiempo de 44 días previo al sacrificio, para el control negativo reportan un valor de $5.80 \pm 0.41 a^*$ y el obtenido en este trabajo fue de $6.11 \pm 1.88 a^*$; para el tratamiento con vitamina D_3 fue de $6.70 \pm 0.41 a^*$ y $6.62 \pm 0.91 a^*$, respectivamente.

Sin embargo, el estudio realizado por Wiegand *et al.* (2002) muestran valores más altos a los obtenidos en este trabajo, para el día 21 se reportó un valor de $13.8 a^*$ en el control negativo y el obtenido en este trabajo fue de $4.90 \pm 1.63 a^*$; por otro lado, para el tratamiento de vitamina D_3 fue de $14.3 a^*$ en comparación con el valor obtenido de $5.89 \pm 1.18 a^*$, la posible respuesta a esta diferencia de resultados podría ser la cantidad de vitamina que se le adicionó al animal (500 000 IU), la cual es superior a las dosis utilizadas en la presente experimentación, así como el tiempo de suplementación (3 días previos al sacrificio), el pH que haya presentado la carne durante el tiempo de almacenamiento, el desarrollo microbiológico y las características del empaque.

El análisis de varianza (Tabla 26. ver anexo) para tipo de empaque (vacío y permeable) mostró diferencias significativas entre ellos (Tabla 27. ver anexo),



obteniendo un menor a^* para las muestras empacadas al vacío ($5.74 \pm 1.17 a^*$) con respecto a las muestras almacenadas en película permeable al oxígeno ($7.60 \pm 2.13 a^*$), esto sucede ya que al haber una reducción del oxígeno el color característico de la carne no se desarrolla de igual manera que en las muestras almacenadas en película permeable al oxígeno, debido a que el oxígeno es un factor clave para el desarrollo de las reacciones químicas del color, las cuales generan el color rojo brillante característico de la carne (Sánchez *et al.*, 2008).

5.11 Índice de amarillo (b^*)

En la Fig. 27, se observa que el mayor índice de amarillo es para el control negativo. Mientras que el tratamiento con 25-OHD₃ presentó un máximo del índice de amarillo al día 14 de almacenamiento; mientras que para el control positivo y el tratamiento con vitamina D₃ fue al día 21; al final del análisis el control positivo mostró el mayor valor ($14.91 \pm 1.49 b^*$), seguido del control negativo que obtuvo $14.08 \pm 2.06 b^*$, mientras que los tratamientos con vitamina D₃ y 25-OHD₃ fueron los que presentaron menores cantidades de índice de amarillo (13.73 ± 1.22 y 13.73 ± 1.50 , respectivamente).

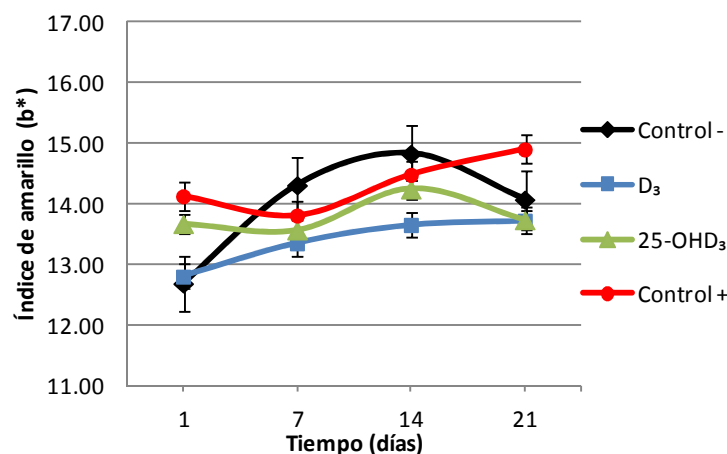


Fig.27. Variación del índice de amarillo (b^*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.



En el análisis discriminante realizado (Tabla 28. ver anexo), se observó que para esta variable hay diferencias entre los tratamientos en empaque al vacío. Donde, el tratamiento correspondiente a la mayor dosis de vitamina D₃ (40000 IU/kg) obtuvo el menor índice de amarillo (13.34 ± 0.85 b*) mostrando diferencias significativas con el control positivo (14.56 ± 0.64 b*) y con el tratamiento de mayor dosis de 25-OHD₃ (1000 µg/kg, 14.44 ± 0.83 b*); siendo estos últimos tratamientos iguales entre sí (Tabla 29. ver anexo).

En la Fig. 28, el mayor índice de amarillo se observó al día 7 a excepción del control positivo que presentó un máximo hasta el día 14 de almacenamiento, seguido de un descenso; lo cual, se puede deber a la hidrólisis de la grasa que influye en este parámetro debido a los componentes amarillos por parte de la grasa. Al final del almacenamiento, el control negativo y el tratamiento con 25-OHD₃ presentaron el menor índice de amarillo (14.28 ± 1.86 y 14.35 ± 1.57 , respectivamente), mientras que el tratamiento con vitamina D₃ se mantuvo constante. Por otro lado, el tratamiento con vitamina D₃ tuvo ligeros aumentos durante los últimos días de almacenamiento, obteniéndose un valor de 15.10 ± 1.29 b* para el día 21.

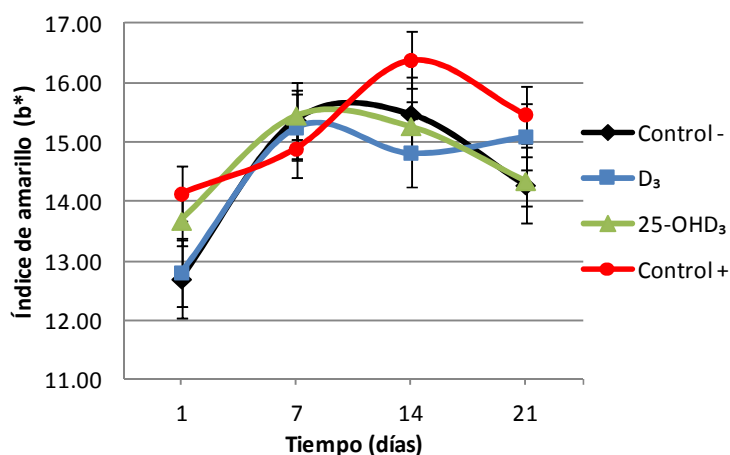


Fig. 28. Variación del índice de amarillo (b*) con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.



Wilborn *et al.* (2004) no encontraron un efecto significativo a las 24 h post mortem en el valor de b^* para carne de cerdo con una suplementación de 40 000 IU de vitamina D_3 durante 44 días previos al sacrificio empacada al vacío, lo cual difiere de lo obtenido en el presente trabajo, ya que justo esta dosis si se encontraron diferencias significativas. Además, se obtuvieron cantidades menores a las reportadas por el autor, encontrándose para el control negativo un índice de amarillo de 14.8 ± 0.35 y para el tratamiento con vitamina D_3 de 14.9 ± 0.35 b^* con respecto a lo encontrado en el presente trabajo con valores de índice de amarillo de 12.70 ± 1.34 y 12.81 ± 1.13 , respectivamente.

Wiegand *et al.* (2002) no reportaron diferencias en el valor de b^* en carne de cerdo con una suplementación de 500000 IU de vitamina D_3 en empaque al vacío, pero encontraron que el índice de amarillo disminuyó hasta el día 21, reportándose para el control negativo valores en el índice de amarillo de 7.1 y para el tratamiento con vitamina D_3 de 6.9; en el presente trabajo se obtuvieron cantidades mayores de este índice de amarillo (14.08 ± 2.06 y 13.73 ± 1.23 b^*) respectivamente. Las diferencias podrían radicar en la cantidad de vitamina suplementada así como el manejo post-mortem. El análisis de varianza (Tabla 30. ver anexo) arrojó diferencias ($P \leq 0.05$) en el tipo de empaque (vacío y permeable), el empaque al vacío dio como resultado (Tabla 31. ver anexo) un menor índice de amarillo (13.74 ± 1.31) en comparación con las muestras almacenadas en película permeable al oxígeno (14.72 ± 1.76 b^*), este resultado se debe a que el empaque al vacío evita la pérdida de grasa, la cual es relevante en el color y en este caso en el índice de amarillo (Sánchez *et al.*, 2008).

5.12 Porcentaje de oximioglobina superficial

La mioglobina (Mb) es la molécula principal responsable del color en la carne; cuando el oxígeno ocupa el sexto sitio de unión del hierro, se denomina oximioglobina produciendo el color rojo brillante deseable en la carne fresca (Sánchez *et al.*, 2008).



En la Fig. 29, se puede observar que el comportamiento mostrado por el control negativo desde el principio fue en descenso conforme transcurría el tiempo de almacenamiento; esto también ocurrió para el tratamiento con 25-OHD₃, pero a partir del día 7 el control positivo se mantuvo constante, seguido de un incremento para después alcanzar al día 21 valores similares a los obtenidos por los tratamientos antes mencionados. Con respecto a los tratamientos con vitamina D₃, fueron los que presentaron los mayores valores durante todo el almacenamiento, observando el mismo comportamiento del control positivo a partir del día 7.

La disminución del porcentaje de oximioglobina superficial del control negativo podría deberse a que se presentó un pH más bajo con respecto a los demás tratamientos, lo que pudo haber generado un daño en la proteína que a su vez se traduce en una mayor difusión de pigmentos, mayor exudación y por lo tanto colores más pálidos (Oyagüe, 2007).

El descenso de la oximioglobina superficial que presentaron al final del análisis las muestras de carne se podría deber a una reducción de la cantidad de oxígeno en la superficie de la carne por el metabolismo bacteriano aerobio.

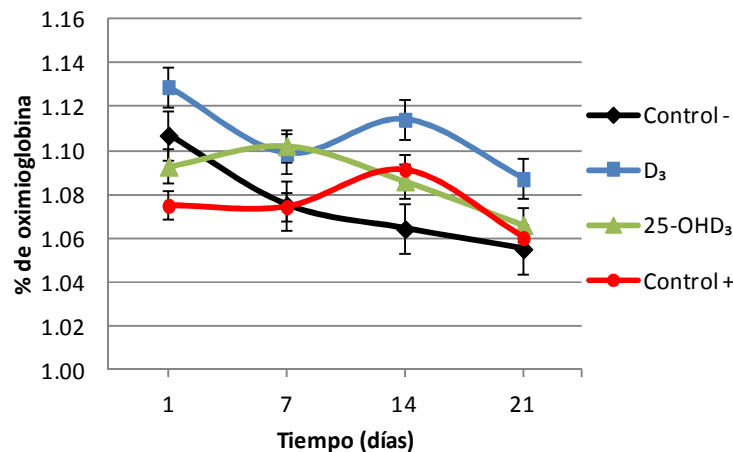


Fig. 29. Variación del porcentaje de oximioglobina superficial con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.

El AD encontró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) para los tratamientos analizados (Tabla 32. ver anexo). Donde, el tratamiento con la mayor dosis de



vitamina D₃ (40000IU/kg) fue diferente con respecto a los dos controles experimentales y la última dosis de 25-OHD₃ (1000 µg/kg); siendo iguales entre sí estos tres últimos (Tabla 33. ver anexo).

El tratamiento que mostró un mayor valor de oximioglobina superficial fue el que contenía la mayor dosis de vitamina D₃ (1.12 ± 0.03 % de oximioglobina superficial) y por el contrario el control positivo presentó el menor valor de oximioglobina superficial (1.07 ± 0.01% de oximioglobina superficial), lo cual se atribuye a que este control contenía vitamina E, la cual puede retardar la formación de este pigmento (Sánchez *et al.*, 2008).

En la Fig. 30, se puede observar que ambos controles experimentales tuvieron un aumento después del día 7, donde el control negativo obtuvo un máximo de hasta un 1.11 ± 0.06 % de oximioglobina superficial. Mientras que el tratamiento con vitamina D₃ presentó un descenso conforme el tiempo, siendo el tratamiento que menor cantidad presentó al final del muestreo (1.10 ± 0.07 % de oximioglobina superficial).

El tratamiento con 25-OHD₃ mantuvo un comportamiento constante durante los primeros 14 días de almacenamiento, presentando un aumento a partir de ese día, llegando a un valor de 1.12 ± 0.07 % de oximioglobina superficial similar al del control positivo (1.13 ± 0.07 % de oximioglobina superficial).

La disminución presentada por el control negativo se puede deber a que se presentó un mayor descenso del pH dentro de los primeros siete días ocasionando un daño en las proteínas y por ende en el color; el descenso presentado por el control positivo pudo ser ocasionado por el crecimiento bacteriano ya que su metabolismo aerobio reduce la cantidad de oxígeno disponible para la generación del color rojo brillante (Sánchez *et al.*, 2008).

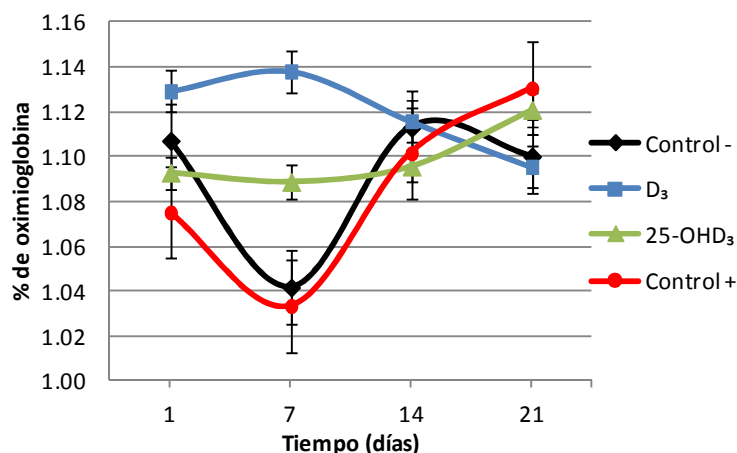


Fig. 30. Variación del porcentaje de oximioglobina superficial con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados en película permeable al oxígeno.

El análisis de varianza realizado (Tabla 34. ver anexo) para el tipo de empaque empleado (vacío y permeable) mostró diferencias significativas (Tabla 35. ver anexo) entre las muestras almacenadas al vacío con menores valores de oximioglobina superficial (1.09 ± 0.04 %) con respecto a las analizadas en película permeable al oxígeno (1.10 ± 0.06 %).

5.13 Porcentaje de metamioglobina superficial

Cuando el metal hierro en la molécula de mioglobina se oxida de Fe (II) a Fe (III) da lugar a la forma conocida como metamioglobina, la cual tiene una coloración parda. La metamioglobina es incapaz de unirse al oxígeno y es fisiológicamente inactiva; sin embargo, puede ser convertida de nuevo a una forma activa por el proceso llamado reducción, el cual es facilitado por las enzimas metamioglobina reductasas (Sánchez *et al.*, 2008).

En el AD no se encontraron diferencias significativas para los tratamientos de vitamina D evaluados. En la Fig. 31, se observa que todos los tratamientos a excepción del control negativo tuvieron el mismo comportamiento, los cuales presentaron un aumento a partir del día 7 de almacenamiento que coincide con



lo reportado por Filgueras *et al.* (2010) quienes reportaron un aumento en este parámetro durante el tiempo de almacenamiento de la carne al vacío; siendo el control positivo el que generó el mayor porcentaje de metamioglobina (0.99 ± 0.02 %) al día 21. Por el contrario, el tratamiento con vitamina D₃ propició la generación de un menor porcentaje de metamioglobina durante el tiempo de almacenamiento (0.98 ± 0.02 %).

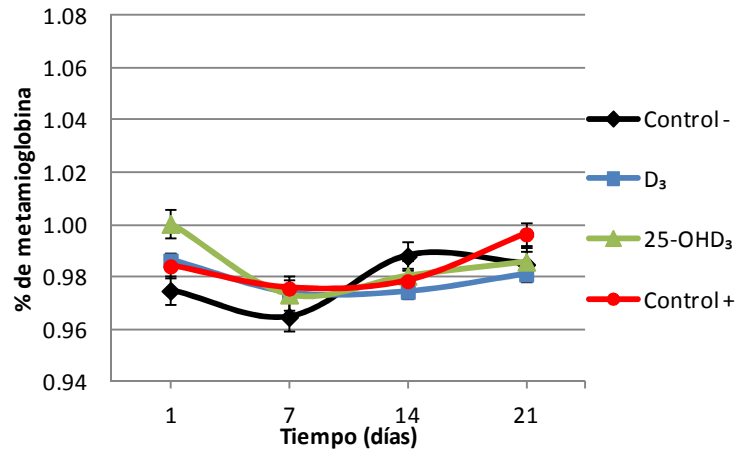


Fig. 31. Variación del porcentaje de metamioglobina superficial con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.

Para las muestras almacenadas en película permeable al oxígeno, en la Fig. 32 se logró observar un comportamiento similar entre ellas; es decir, los controles experimentales presentaron un descenso en el día 14 mientras que los tratamientos con vitamina D₃ y 25-OHD₃ lo presentaron al día 7.

La metamioglobina no puede tomar oxígeno pero las enzimas presentes en la carne fresca son capaces de reducir la metamioglobina a mioglobina reducida, que puede tomar así oxígeno para formar oximioglobina. Con la maduración de la carne, el sustrato para estas enzimas es gastado gradualmente; la metamioglobina no puede ser reducida más y la capa de metamioglobina se hace más amplia hasta que finalmente llega a ser visible una capa de oximioglobina (Ranken, 2000).



Sin embargo, al final del muestreo se llegaron a obtener porcentajes similares de metamioglobina que abarcan de 1.01 a 1.03 % de metamioglobina superficial. La disminución de metamioglobina superficial, podría deberse al crecimiento bacteriano reduciendo la presión parcial de O_2 , lo cual está relacionado con lo reportado por Bekhit y Faustman (2005) indicando que la reducción de la metamioglobina es debido al aumento del pH, debido a que incrementa con el desarrollo bacteriano.

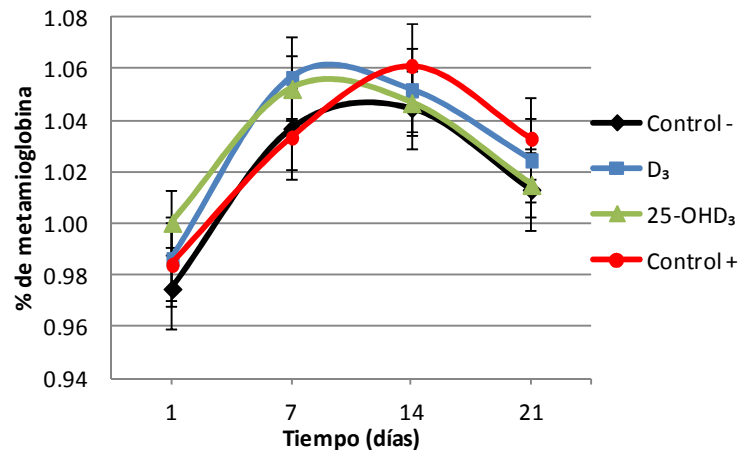


Fig. 32. Variación del porcentaje de metamioglobina superficial con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdos suplementados con vitamina D_3 y 25-OH colecalciferol empacados en película permeable al oxígeno.

El aumento de metamioglobina presentado en ambos tipos de empaque se debe a que cuando la oximioglobina se oxida a metamioglobina, se produce H_2O_2 , lo que aumentaría la actividad catalítica de metamioglobina. El H_2O_2 daña a la membrana ejerciendo un efecto pro-oxidante en los alrededores de los lípidos (Chan et al., 1997).

El análisis de varianza arrojó diferencias significativas por efecto del tipo de empaque empleado, ya sea al vacío o permeable al oxígeno (Tabla 36. ver anexo), encontrándose que el empaque al vacío (Tabla 37. ver anexo) propició la generación de una menor cantidad de metamioglobina superficial (0.98 ± 0.02 %) con respecto a la película permeable al oxígeno (1.03 ± 0.04 %), claro ejemplo que el empaque prolonga la estabilidad del color en la carne. Estas



cantidades tan cercanas, se podrían deber a que en carne empacada al vacío se tienen pequeñas cantidades de oxígeno, así como un ambiente reductor generado por la disminución del pH de la carne, favoreciendo la formación de la metamioglobina (Pérez, 1999).

Análisis Microbiológico

5.14 Mesófilos aerobios

La carne posee propiedades de importancia microbiológica que la hacen un excelente medio para el desarrollo de microorganismos. El potencial óxido-reducción tiene gran relevancia, ya que después de la muerte del animal, el potencial redox baja paulatinamente, lo que trae como consecuencia que solo en la superficie de la carne se desarrolle flora aeróbica y en el interior sólo se desarrollen microorganismos anaerobios o facultativos. Como consecuencia del desarrollo microbiano se puede producir deterioro del alimento y riesgo para la salud del consumidor debido a la posible presencia de microorganismos patógenos (Dainty y Mackey, 1992).

Después del faenado, las canales suelen llevar entre 10^2 y 10^4 bacterias/cm²; la flora inicial es muy diversa, aunque principalmente encontramos mesófilos, *Staphylococcus*, *Bacillus* spp. *Enterobacterias*, *Pseudomonas* y bacterias ácido lácticas (Dainty y Mackey, 1992).

Las fuentes de vitamina D estudiadas en este trabajo no tienen efecto sobre los parámetros microbiológicos; en este caso sólo se emplearon las técnicas microbiológicas como indicadores de buenas prácticas de manufactura de acuerdo a los niveles permitidos de la NOM-034-SSA1-1993; tanto el empaque al vacío como la película permeable al oxígeno se encuentran por debajo de los límites máximos establecidos en la norma antes mencionada de 6.69 UFC/cm².

En la Fig. 33, se puede observar que el control positivo y el tratamiento con 25-OHD₃ presentaron un menor desarrollo tanto al inicio y final del muestreo. El desarrollo de los microorganismos aerobios se fue incrementando conforme el



tiempo de almacenamiento, siendo al día 7 el mayor aumento de la carga bacteriana.

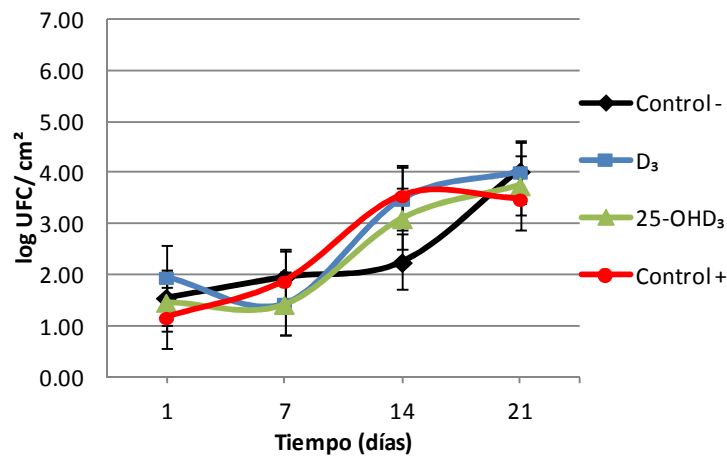


Fig. 33. Variación del crecimiento de mesófilos aerobios con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.

En la Fig. 34, se muestra el comportamiento de la flora bacteriana en empaques permeables al oxígeno, de igual manera se observa que el desarrollo de estos microorganismos va conforme al tiempo de almacenamiento. El control positivo y el tratamiento con 25-OHD₃ obtuvieron la mayor cantidad de mesófilos aerobios al final del muestreo, lo cual fue lo contrario para empaque al vacío. En el análisis de varianza (Tabla 38. ver anexo) para los dos tipos de empaque utilizados no se observó efecto significativo para cuenta de mesófilos aerobios.

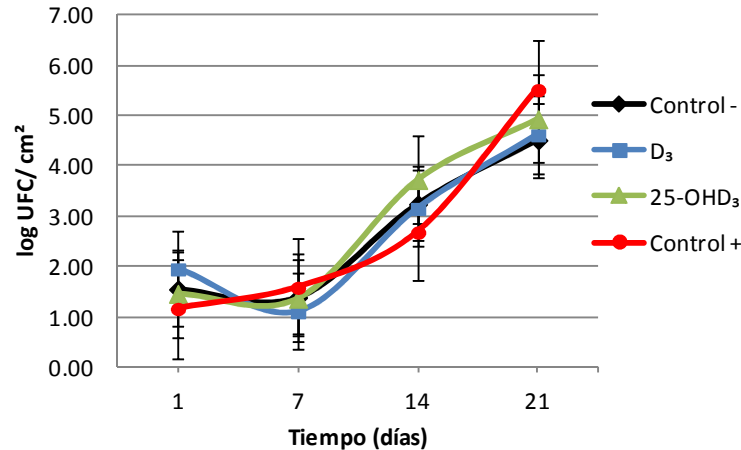


Fig. 34. Variación del crecimiento de mesófilos aerobios con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalfierol empacados con película permeable al oxígeno.

5.15 Enterobacterias

En el proceso de descomposición de la carne almacenada bajo condiciones aerobias, las bacterias del género *Pseudomonas* sp. llegan a constituir más del 90% de la flora de la carne refrigerada. Sin embargo, en carne envasada al vacío su potencial de descomposición es bajo y predominan en la descomposición bacterias del género *Enterobacteriaceae*.

De acuerdo con la NOM-194-SSA1-2004 se establece un límite máximo de 3 UFC/cm², por lo cual las muestras en empaque al vacío cumplen con lo establecido; mientras que en las muestras en empaque permeable al oxígeno a partir del día 14 de almacenamiento, el crecimiento de las enterobacterias comienza a superar lo establecido por la norma antes mencionada.

Como ya se había mencionado, las fuentes de vitamina D evaluadas no tienen un efecto antimicrobiano; aunque, se puede observar en la Fig. 35, que el control negativo presentó la menor cantidad de enterobacterias durante casi todo el tiempo de almacenamiento y por el contrario el control positivo presentó una mayor cantidad de UFC como enterobacterias.

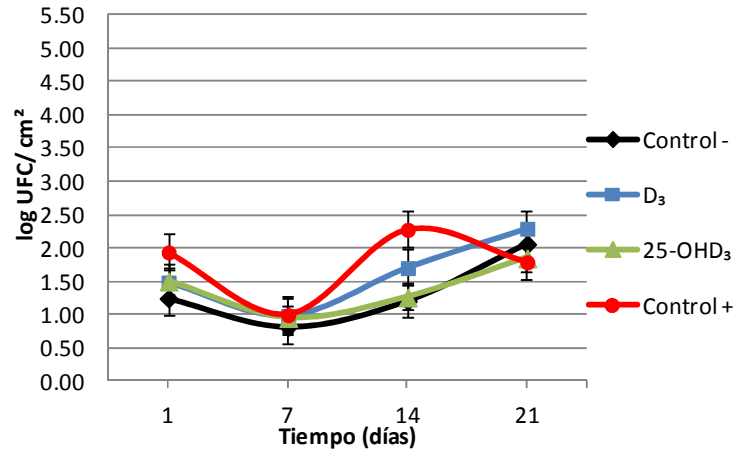


Fig. 35. Variación del crecimiento de enterobacterias con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalfierol empacados al vacío.

En la Fig. 36, se observó un comportamiento similar por parte de los dos tipos de fuentes de vitamina D empleadas; de manera general todos los tratamientos tuvieron el mismo comportamiento, siendo el control positivo el que mostró la mayor cantidad de UFC de enterobacterias.

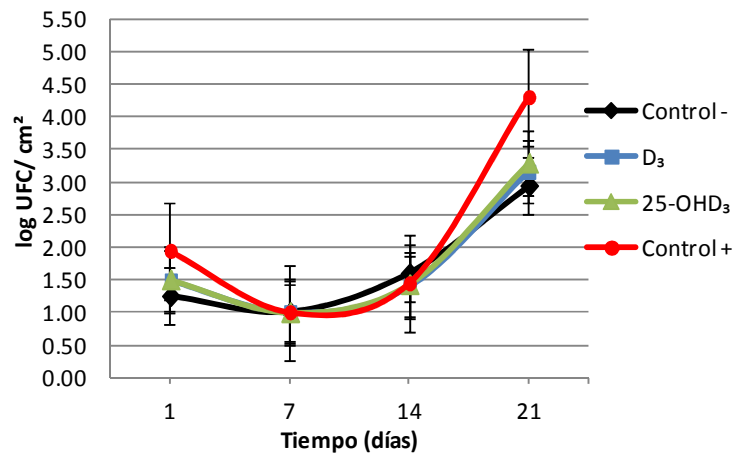


Fig.36. Variación del crecimiento de enterobacterias con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalfierol empacados con película permeable al oxígeno.



En el análisis de varianza (Tabla 39. ver anexo) se observó diferencias significativas por efecto del tipo de empaque empleado (vacío y permeable). Encontrándose menor cantidad de enterobacterias (Tabla 40. ver anexo) en aquellas muestras almacenadas al vacío (1.51 ± 1.00 UFC/cm²), con respecto a las empacadas en película permeable al oxígeno (1.82 ± 1.21 UFC/cm²).

Ansorena *et al*, (2002) indican que las enterobacterias pueden estar involucradas en la producción de putrescina, histamina y cadaverina, que pertenecen al grupo de aminas biogénicas.

Aminas biogénicas

La determinación de aminas biogénicas en alimentos es importante, no solo desde el punto de vista toxicológico, sino también porque estos compuestos pueden utilizarse como indicadores del grado de descomposición de los alimentos (Signorini y Guerrero, 2009).

5.16 Putrescina

En la Fig. 37, se puede observar el comportamiento de los cuatro tratamientos experimentales, los cuales presentaron un comportamiento similar hasta el día 14. Posteriormente, los dos tratamientos con vitamina D mostraron un marcado incremento en la generación de putrescina, mientras que el aumento de los controles negativo y positivo fue menor significativamente

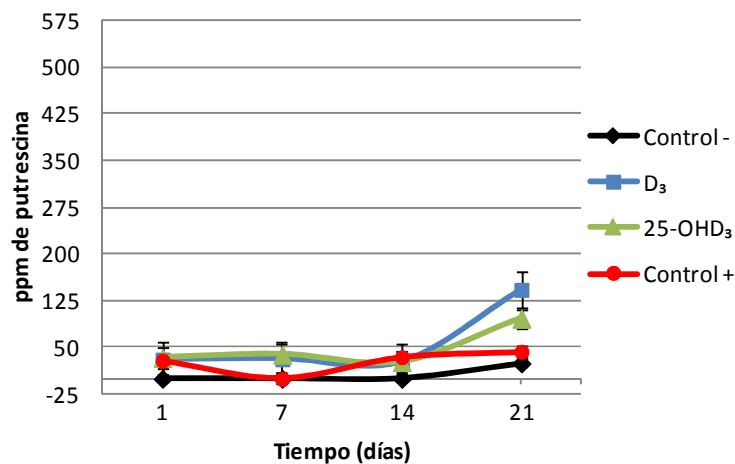


Fig. 37. Partes por millón de putrescina con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.



En la Fig. 38, se muestra el comportamiento de las muestras empacadas en película permeable al oxígeno, observándose el aumento de la cantidad de putrescina después del día 14; sin embargo, este aumento fue más notorio que en muestras almacenadas al vacío. Siendo el tratamiento con vitamina D₃ el que mayor cantidad de putrescina presentó al final del muestreo 364.03 ± 56.15 ppm de putrescina y por el contrario el control positivo obtuvo la menor cantidad 148.79 ± 5.65 ppm. La evolución de putrescina en el tratamiento con vitamina D₃ coincide con lo obtenido en ese día en el desarrollo de mesófilos aerobios y enterobacterias, ya que ciertos autores relacionan las concentraciones de estas bacterias con los recuentos de la amina biogénica (Signorini y Guerrero, 2009).

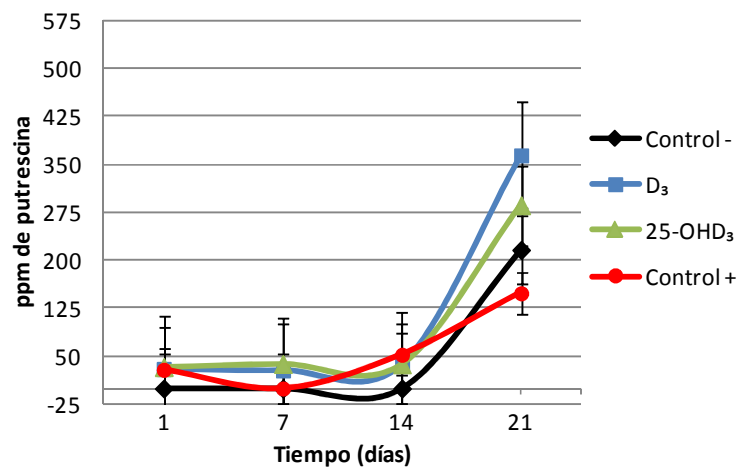


Fig. 38. Partes por millón de putrescina con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.

De acuerdo al análisis de varianza para el tipo de empaque se encontraron diferencias significativas (Tabla 41. ver anexo), encontrándose una mayor cantidad de esta amina en el empaque permeable de 94.99 ± 36.52 ppm de putrescina en comparación con el empaque al vacío que presentó una cantidad de 37.46 ± 12.81 ppm de putrescina (Tabla 42. ver anexo).



5.17 Cadaverina

En la Fig. 39, se observa que durante el almacenamiento, la concentración de cadaverina se incrementó, siendo el aumento más grande a partir del día 14, lo cual coincide con lo reportado por Signorini y Guerrero (2009). Al final del muestreo, el control negativo tuvo la menor generación de cadaverina (71.69 ± 0.00 ppm de cadaverina) y el resto de los tratamientos presentaron cantidades similares. Este comportamiento fue muy parecido al mostrado al final del muestreo de enterobacterias.

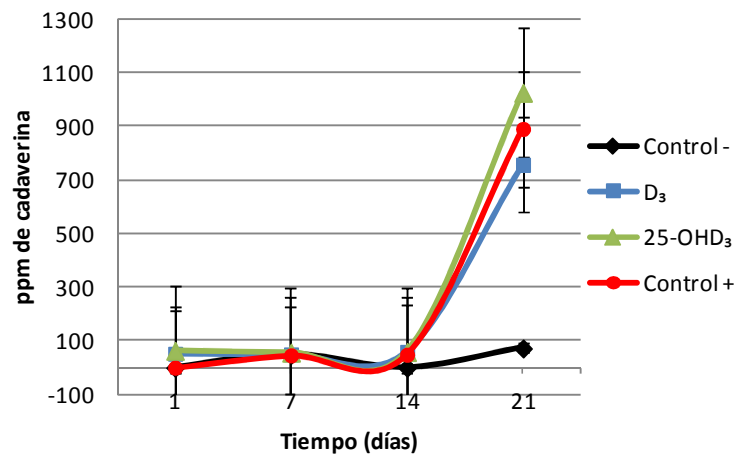


Fig. 39. Partes por millón de cadaverina con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados al vacío.

En la Fig. 40, se observa que las muestras de carne de los tratamientos empacados en película permeable al oxígeno fue muy similar entre sí, teniendo un incremento en la producción de cadaverina al día 14 de almacenamiento. Por otro lado, el control positivo fue el que menor cantidad generó (446.59 ppm de cadaverina). El resto de los tratamientos evaluados presentaron una misma tendencia pero cantidades diferentes al final del muestreo, coincidiendo con lo observado al día 21 de almacenamiento en película permeable al oxígeno para el crecimiento de enterobacterias.

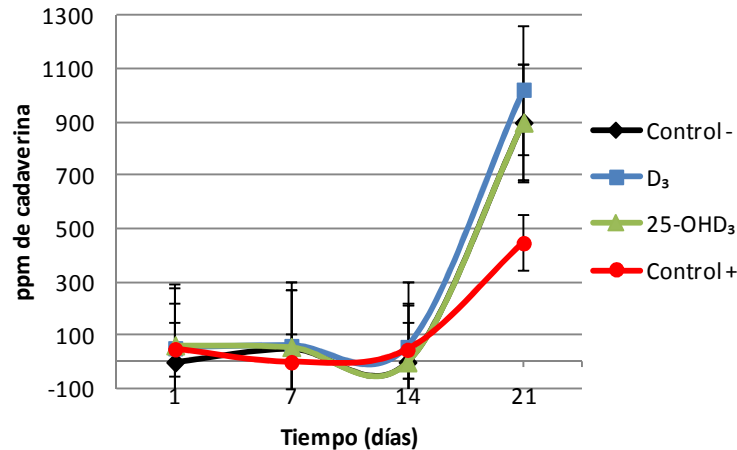


Fig. 40. Partes por millón de cadaverina con respecto al tiempo de almacenamiento en cortes de cerdo suplementados con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol empacados con película permeable al oxígeno.

Ruiz y Jiménez (2004) mencionan que las concentraciones de algunas aminas biogénicas como son: tiramina, putrescina y cadaverina normalmente aumentan durante el procesamiento y el almacenamiento de carne y productos cárnicos, lo cual coincidió con lo obtenido en el presente estudio; mientras que otras aminas, tales como: espermidina y espermina disminuyen o permanecen constantes en estos productos. Además, estos mismos autores sugieren una combinación de putrescina y cadaverina como índice de aceptabilidad de carne fresca, debido a que sus concentraciones aumentan antes del deterioro y se correlacionan bien con la carga microbiana.

El análisis de varianza realizado indica que no existen diferencias significativas entre los dos tipos de empaques empleados sobre la generación de cadaverina (Tabla 43. ver anexo). La producción de aminas biogénicas en alimentos puede verse afectada por factores tales como temperatura, concentración de sales, presencia de carbohidratos fermentables y pH. Sin embargo, las dos aminas biogénicas evaluadas en este experimento probablemente también se vieron afectadas por la aminación y transaminación de aldehídos y cetonas producidos por la oxidación lipídica (Karovicova y Zohajdova, 2003).



CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

La suplementación de vitamina D₃ y 25-OHD₃ tuvo un efecto significativo ($P \leq 0.05$) sobre el porcentaje de grasa, la oxidación lipídica por TBARS, pérdida de grupo tiol, luminosidad (L), índice de amarillo (b*) y porcentaje de oximioglobina superficial, siendo más evidente en los cortes empacados al vacío, como sigue:

- El suministro de 500 µg/kg de 25-OHD₃ en las dietas de cerdo retardó la oxidación lipídica en la carne.
- La menor oxidación proteica como pérdida de grupo tiol (7.00 ± 1.27 µg de tiol/mg de proteína) se encontró en la carne obtenida de cerdos alimentados con 50 µg/kg de 25-OHD₃.
- El tratamiento con 12.5 y 50 µg/kg de 25-OHD₃ propició mayores valores de luminosidad, obteniendo valores de 56.15 ± 0.97 y 55.70 ± 1.22 L*, respectivamente.
- Para el índice de amarillo, el tratamiento con 40000 IU/kg de vitamina D₃ obtuvo el menor valor de 13.34 ± 0.85 b*.
- La mayor dosis de vitamina D₃ mostró un mayor valor de oximioglobina superficial (1.12 ± 0.03 % de oximioglobina superficial) y por el contrario el control positivo (1.07 ± 0.01 % de oximioglobina superficial).

Los cambios en la población microbiana varió en función del tipo de empaque, encontrando una mayor carga microbiana en las muestras empacadas en película permeable al oxígeno. Se observó una alta correlación entre el incremento de enterobacteras y el contenido de putrescina y cadaverina.

En general, el suministro de la vitamina (25-OHD₃) presentó un mayor efecto protector y se recomienda su uso como parte de la etapa de finalización de cerdos, porque ayuda a retardar la oxidación lipídica y proteica.



REFERENCIAS

Akoh, C. and Min, D. (2008) Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology. 3ª edición, CRC Press, The United States of America. pp: 323,394.

Ansorena, D., Montel, M., Rokka, M., Talon, R., Eerola, S., Rizzo, A., Raemaekers, M. and Demeyer, D. (2002) Analysis of biogenic amines in northern and southern European sausages and role of flora in amine production. Meat Science. 61: 141-147.

Badui, S. (2006) Química de los alimentos. 2ª reimpresión. Editorial Alhambra Mexicana., México D. F. Pág 258

Bekhit, A. and Faustman. (2005) Metmyoglobin reducing activity. Meat Science. 71: 407-439.

Brewer, M., Zhu, L., Bidner, B., Meisinger, D. and McKeith, F. (2001) Measuring pork color: effects of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters. Meat Science. 57: 169-176.

Carballo, B. y López, T. (1991). Manual de bioquímica y tecnología de la carne, A Madrid Vicente Ediciones, Madrid. pp:64-65.

Chan, W., Faustman, C., Yin, M. and Decker, E. (1997) Lipid oxidation induced by oxymyoglobin and metmyoglobin with involvement of H₂O₂ and superoxide anion. Meat Science. 46: 181-190.

Clausen, I., Jakobsen, J., Leth, T. and Ovesen, L. (2003) Vitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₃ in raw and cooked pork cuts. Journal of Food Composition and Analysis, 16: 575–585.

Corino, C., Magni, S., Pagliarini, R., Rossi, R., Pastorelli, G. and Chiesa, L. (2002) Effects of dietary fats on meat quality and sensory characteristics of heavy pig loins. Meat Science 60: 1-8.



Dainty, R. y Mackey, B. (1992) The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology*, 73(S) 103–114.

Durlu-Ozkaya, F., Ayhan, K. and Vural, N. (2001) Biogenic amines produced by *Enterobacteriaceae* isolated from meat products. *Meat Science*, 58, 163-166.

Ellman, G. (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of biochemistry and biophysics*. 82: 70-77.

Escamilla, L. (1991) El cerdo, su cría y explotación, 22^a reimpresión, Compañía Editorial Continental, México. Pág 7.

Farmer and Sutton. (1946) Peroxidation in relation to olefinic structure. *Trans Faraday Soc.* 42:228-232.

Fennema, R. (1998) Química de los alimentos. Editorial ACRIBIA S.A., Zaragoza España. pp: 305, 331.

Fernández, A. (2007) Evaluación de los cambios físicos de carne de bovino congelada-descongelada y almacenada en refrigeración. (Tesis de Licenciatura) Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Filgueras, R., Gatellier, P., Aubry, L., Thomas, A., Bauchart, D., Durand, D., Zambiasi, R. and Santé, V. (2010) Colour, lipid and protein stability of *Rhea americana* meat during air- and vacuum-packaged storage: influence of muscle on oxidative processes. *Meat Science*. 86: 665-673.

García, R. (2007) Efecto de enzimas proteolíticas endógenas y una bacteriana en formación de emulsiones modelo a partir de músculo estriado de cazón (*Rhizopriondon terraenovae*) y cerdo. (Tesis de Doctorado) Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Gavira, C., Ochoa, C. y Sánchez, N. (2009) Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale SW*). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8 (6), 519 – 528.



Geral, F. and Combs, Jr. (2008) The vitamins Fundamental aspects in nutrition and health. 3ª edición, AP, the United States of American. pp 146, 148.

Gibney, M., Lanham, S., Cassidy, A. and Vorster, H. (2009) Introduction Human Nutrition, 2ª edición, Wiley-Blackwell, British. pp. 141,157.

Guerrero, I., Perez, M. y Ponce, E. (2002) Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Halász, A., Baráth, Á., Simon, L. and Holzapfel, W. (1994) Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends in Food Science and Technology. 45: 42-49.

Hansen, S., Frylinck, L. and Strydom, P. (2012) The effect of vitamin D₃ supplementation on texture and oxidative stability of beef loins from steers treated with zilpaterol hydrochloride. Meat Science. 90:145-151.

Hernandez, I. (2011) Determinación de la capacidad antioxidante en la carne de abasto. (Tesis de Licenciatura) Facultad de Química.

Hernández, J., Pulido, M., Veciana, T. and Vidal, M. (1996) Biogenic amines sources in cooked cured shoulder pork. Journal Agriculture Food Chemistry. 44, 3097-3110.

Hui, Y. H., Guerrero, I. y Rosmini, M. (2010) Ciencia y tecnología de carnes, Limusa, México. pp. 89, 111, 161, 322, 339-344.

Hope, M., Strydom, P., Frylinck, L. and Webb, E. (2012) Effect of dietary beta-agonist treatment, vitamin D₃ supplementation and electrical stimulation of carcasses on colour and drip loss of steaks from feedlot steers. Meat Science. 90: 607-612.

Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S. and Bauer, F. (2006) The antioxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. Meat science. 72: 446-456.

Karovicova, J. and Kohajdova, Z. (2003) Biogenic amines in food Review. Department of food Technology, Faculty of Chemical and Food Technology.



Kerry, J. and Ledward, D. (2002) Meat processing Improving quality, CRC Press, Great Britain. pp. 84,85.

Lahucky, R., Bahelka, I., Kuechenmeister, U., Vasickova, K., Nuernberg, K., Ender, K. and Nuernberg, G. (2007) Effects of dietary supplementation of vitamins D₃ and E on quality characteristics of pigs and *longissimus* muscle antioxidative capacity. Meat science. 77: 264-268.

Lawrie. R. (1998) Ciencia de la carne. 6ª edición. Technomic publishing, the United Kingdom. Pág. 76

Lee, M., Choi, J., Han, D., Kim, H., Shim, S. and Chung, H. (2010) The antioxidative properties of mustard leaf (*Bassica juncea*) kimchi extracts on refrigerated raw ground pork meat against lipid oxidation. Meat Science. 84: 498-504.

Leisner, J., Greer, G., Dilts, B. and Stiles, M. (1995) Effect of growth selected lactic acid bacteria on storage life of beef stores under vacuum and in air. International Journal Food Microbiology 26: 231-243.

Lewis, J. and Lee, L. (2001) Swine nutrition, 2ª edición, CRC Press, the United States of America. pp. 80, 110.

Lindahl, G., Henckel, P., Karlsson, A. and Andersen, H. (2006) Significance of early postmortem temperature and pH decline on colour characteristics of pork loin from didderent crossbreeds. Meat Science, 72 (4), 613-623.

Lund, M., Hviid, M., Magnussen, C. and Skibsted, L. (2008) Effects of dietary oil on lipid and protein oxidation in pork patties during chill storage. Meat science, 79: 727-733.

Mancini, R. and Hunt, M. (2005) Current research in meat color. Meat Science. 71: 100-121.

Marianne, N., Lametsch, R., Hviid, M., Jensen, O. and Skibsted, L. (2007) High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine *longissimus dorsi* during chill storage. Meat Science, 77, 295-303.



Mason, L., Hogan, S., Lynch, A., O'Sullivan, K., Lawlor, P. and Kerry, J. (2005) Effects of restricted feeding and antioxidant supplementation on pig performance and quality characteristics of longissimus dorsi muscle from Landrace and Duroc pigs. *Meat Science* 70:307-317.

McDowell, L. (2000) *Vitamins in animal and human nutrition*, 2^a edition, Iowa State University press/Ames, the United States of America. pp. 94,95, 99.

Moller, R., Stapelfeldt, H. and Skibsted, L. (1998) Thiol reactivity in pressure unfolded β -lactoglobulin antioxidative properties and thermal refolding. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 46: 425-430.

Monahan, F., Buckley, D., Morrissey, P., Lynch, P. and Gray, J. (1992) Influence of dietary fat and α -tocopherol supplementation on lipid oxidation in pork. *Meat Science*, 31:229-241.

Navarro, G., Bringas, L. y Pacheco, R. (2004) Nuevas herramientas para el estudio de la oxidación y de los ácidos grasos, una de las causas fundamentales de la pérdida de calidad de los alimentos para la acuicultura. *Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 480-503.

Navid, S., Sheikhlar, A. and Kaveh, K. (2011) Evaluation of the combination of vitamin D3 and papaya leaf on muscle antioxidant activity of spent chicken. *Agricultural Journal*, 6(5): 285-287.

^a Nolle, L. and Toldrá, F. (2009) *Handbook of processed meats and poultry analysis*. CRC Press Taylor & Francis Group. The United States of American. pp. 23,24, 82, 144, 152, 666

^b Nolle, L. and Toldrá, F. (2009) *Handbook of muscle food analysis*. CRC Press Taylor & Francis Group. The United States of American. pp. 229-233.

Norma Oficial Mexicana NOM-009-Z00-1994, Proceso sanitario de la carne.

Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la carne, carne molida y carne molida moldeada envasadas.



Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio.

Oliete, B., Moreno, T., Carballo, J., Monserrat, L. y Sánchez, L. (2006) Estudio de la calidad de la carne de ternera de raza rubia gallega a lo largo de la maduración al vacío. *Redalyc* 209 (5) 3-14.

Oyagüe, J. (2007) Estabilidad del color de la carne fresca. *NACAMEH* 1 (1): 67-74.

Pardavé, P. (2009) Evaluación de los niveles de colesterol en la carne de cerdo y pollo (Tesis de Licenciatura) Facultad de Estudios Superiores Cuatitlán.

Pérez, H. (1999) Cambios en parámetros fisicoquímicos relacionados con la calidad de la carne de cerdo sometida a fermentación láctica como método de bioconservación. (Tesis de Maestría) Universidad Nacional Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Pérez, T., Ruiz, J., Martín, D., Muriel, E. and Antequera, T. (2008) Comparison of different methods of total lipid quantification in meat and meat products. *Food Chemistry* 110: 1025-1029.

Prandl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T. y Sinell, H. (1994) *Tecnología e higiene de la carne*, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Price, J. and Schweigert, B. (1994) *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. 2ª edición, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España. pp. 261,268, 269.

Quintero, B. (2001) Empleo de cultivos bioprotectores y nisina sobre la calidad microbiológica y fisicoquímica de carne de pollo almacenada en condiciones de abuso de temperatura. (Tesis de Maestría) Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Quarterman, J., Dalgarno, A., Adams, A., Fell, B. and Boyne, R. (1964) The distribution of vitamin D between the blood and the liver in the pig, and observations on the pathology of vitamin D toxicity, *Br. J. Nutr.*, 18:65.



Raharjo, S., Sofos, J. and Schmidt, G. (1992) Improved speed, specificity and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid C-18 method for measuring lipid peroxidation in beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40:2182-2485.

Ramírez, J. (2009) Estudio para evaluar el efecto de la congelación sobre la reactividad y conformación de las fracciones proteicas de diferentes músculos de bovino a través de Calorimetría de Barrido Diferencial (Tesis de Maestría). Facultad de Química UNAM.

Ranken, M. (2000) *Handbook of meat product technology*. Blackwell Science Ltd, Paris, France. pp 61-62.

Ruiz, C. and Jiménez, F. (2004) Biogenic amines in meat and meat products. *Food Science and Nutrition*, 44:489-499.

Rungby, J., Mortensen, L., Jakobsen, K., Brock, A. and Mosekilde, L. (1993) Distribution of hydroxylated vitamin D metabolites [25-OHD₃ and 1,25(OH)₂D₃] domestic pigs: evidence that 1,25(OH)₂D₃ is stored outside the blood circulation. *Comp. Biochem. Physiol.* 104: 483-484.

Rosenvold, K. and Andersen, H. (2003) The significance of pre-slaughter stress and diet on colour and colour stability of pork. *Meat science*, 63, 199-209.

SAGARPA (2009) Estudio para determinar opciones de negocio para el sistema producto de la carne de cerdo en la República de Corea.

Sánchez, A.,Torrescano, G.,Camou, J., Gonzalez, N. y Hernandez, G. (2008) Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *NACAMEH Vol.2, No 2*, 124-159.

Schmidt, H. (1984) *Carne y productos cárnicos su tecnología y análisis*, Fundación Chile, Editorial Universitaria, Chile. pp. 10,29.

Signorini, M. y Guerrero, I. (2009) Producción de aminas biogénicas en carne de bovino conservada con ácido láctico de origen químico y bacteriano. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 8, No. 1, 41-49.



Silla, M. (1996) Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 29:213-231.

Sirinivisan, S., Xiong, Y. and Decker, A. (1996) Inhibition of protein and lipid oxidation in beef heart surimi-like material by antioxidants and combinations of pH, NaCl and buffer type in the washing media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44:119-125.

Solis, J. (2005) Manual de prácticas tecnología de carnes, Universidad Nacional del centro de Perú Facultad de ingeniería en industrias alimentarias. Pág. 32

Swigert, K., McKeith, F., Carr, T., Brewer, M. and Culbertson, M. (2004) Effects of dietary vitamin D₃, vitamin E and magnesium supplementation on pork quality. *Meat Science*. 67: 81-86.

Teets, A. and Were, L. (2008) Inhibition of lipid oxidation in refrigerated and frozen salted raw minced chicken breasts with electron beam irradiated almond skin powder. *Meat Science*. 80:1326-1332.

Vargas, F., Rivas, C., Nursamaa, A. y Zoltan, T. (2007) Reacciones de radicales libres con relevancia biológica. *Avances en Química* 2(2): 3-15.

Warris, P. (2003) *Ciencia de la carne*, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Wiegand, B., Sparks, J., Beitz, D., Parrish, F., Horst, R., Trenkle, A. and Ewan, R. (2002) Short-term feeding of vitamin D₃ improves color but does not change tenderness of pork-loin chops. *Journal of Animal Science*. 80: 2116-2121.

Wilborn, B., Kerth, C., Owsley, W., Jones, W. and Frobish, L. (2004) Improving pork quality by feeding supranutritional concentrations of vitamin D₃. *Journal of Animal Science*. 82: 218-224.



Curvas patrón

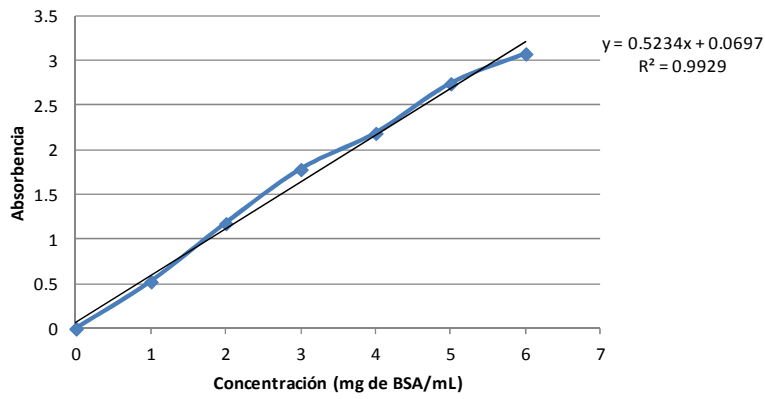


Fig. 41. Curva patrón de albumina serica bovina.

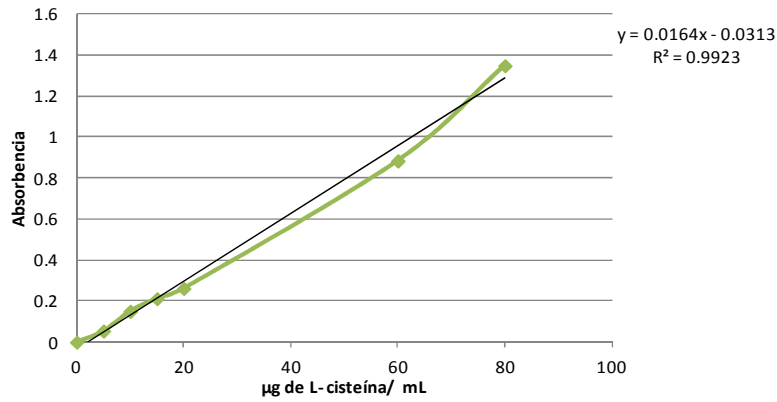


Fig. 42. Curva patrón de L- cisteína.

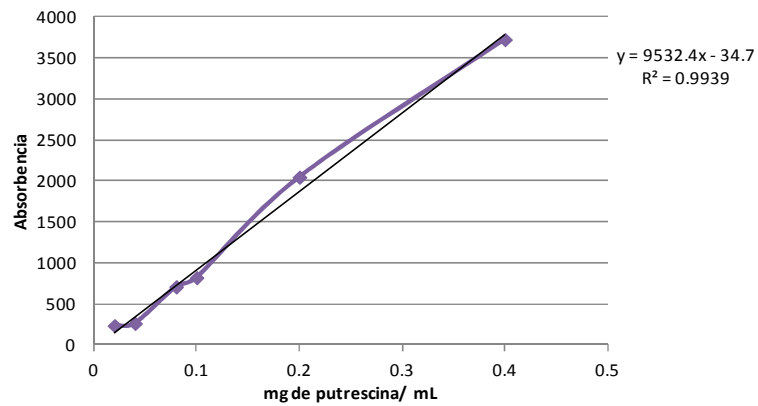


Fig. 43. Curva patrón de putrescina.

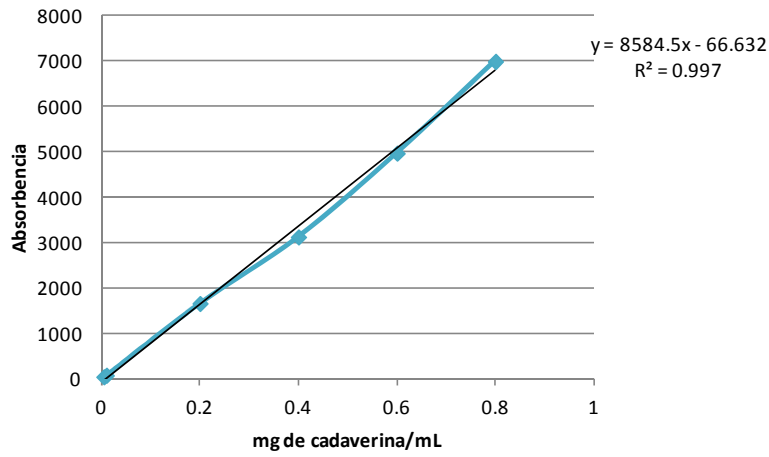


Fig.44. Curva patrón de cadaverina.

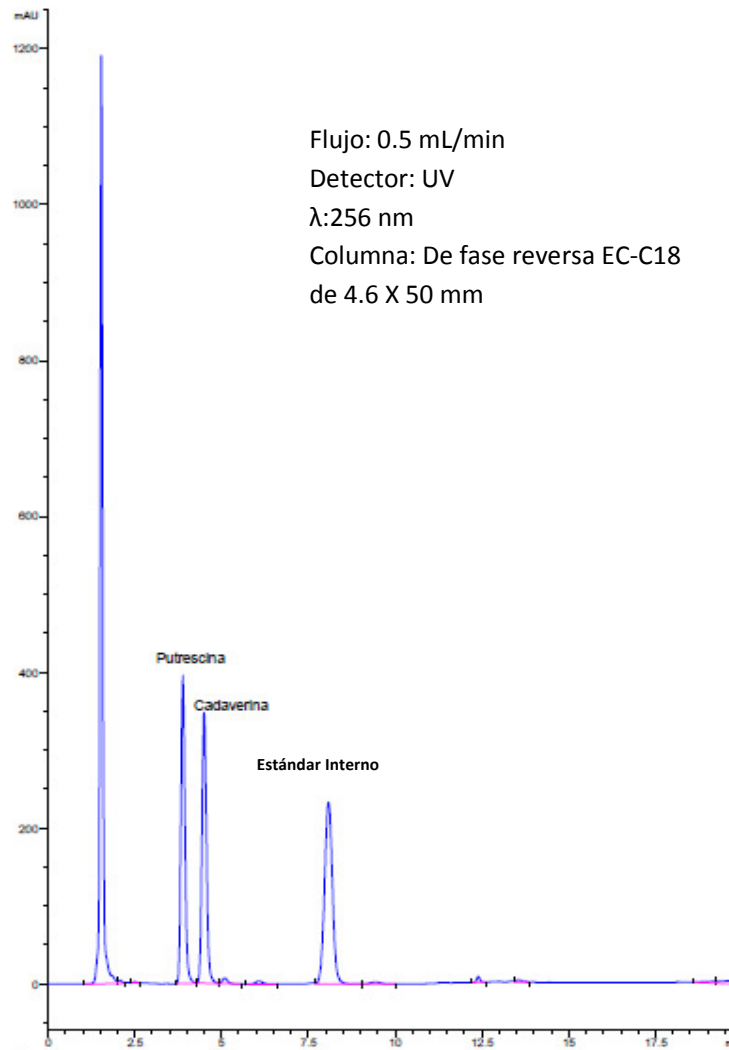


Fig. 45. Cromatograma a 256 nm de la separación de aminas biogénicas.



Análisis estadístico

- **Pruebas de Wilks para empaque**

Tabla 7. Prueba de Lambda de Wilks para muestras empacadas en película permeable al oxígeno (aproximación de Rao).

Lambda	0.771
F (Valor observado)	1.020
F (Valor crítico)	1.447
GDL1	36
GDL2	400
p-valor	0.441
alfa	0.05

Tabla 8. Prueba de Lambda de Wilks para muestras empacadas al vacío (aproximación de Rao)

Lambda	0.629
F (Valor observado)	2.412
F (Valor crítico)	1.440
GDL1	36
GDL2	512
p-valor	< 0.0001
alfa	0.05

- **Análisis de varianza para pH**

Tabla 9. ANOVA de pH en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	0.223	0.223	5.235	0.023
Error	298	12.681	0.043		
Total corregido	299	12.904			

Parámetros del modelo (Variable pH):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	5.731	0.017	340.276	< 0,0001	5.698	5.765
Permeable	0.054	0.024	2.288	0.023	0.008	0.101
Vacío	0.000	0.000				



Tabla 10. Comparación de medias de la variable pH en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).

Empaque	Media estimada
Permeable	5.79±1.64 ^a
Vacío	5.73±0.18 ^b

- **Análisis de varianza para porcentaje de grasa**

Tabla 11. ANOVA de porcentaje de grasa en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	9	16.519	1.835	17.378	< 0,0001
Error	178	18.800	0.106		
Total corregido	187	35.318			

Parámetros del modelo (Variable % grasa):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	3.081	0.073	42.399	< 0,0001	2.938	3.224
Tratamiento-1	-0.558	0.103	-5.431	< 0,0001	-0.761	-0.355
Tratamiento-10	-0.250	0.103	-2.432	0.016	-0.453	-0.047
Tratamiento-2	-0.277	0.103	-2.691	0.008	-0.479	-0.074
Tratamiento-3	-0.084	0.103	-0.814	0.417	-0.286	0.119
Tratamiento-4	-1.294	0.136	-9.515	< 0,0001	-1.562	-1.025
Tratamiento-5	-0.391	0.103	-3.808	0.000	-0.594	-0.189
Tratamiento-6	-0.260	0.103	-2.533	0.012	-0.463	-0.058
Tratamiento-7	0.178	0.103	1.729	0.086	-0.025	0.380
Tratamiento-8	-0.210	0.103	-2.048	0.042	-0.413	-0.008
Tratamiento-9	0.000	0.000				

Ecuación del modelo (Variable % grasa):

% de grasa = 3.08 – 0.56* Tratamiento 1 – 0.25* Tratamiento 10 – 0.28* Tratamiento 2 – 8.36E-02* Tratamiento 3- 1.30* Tratamiento 4- 0.40* Tratamiento 5 – 0.26* Tratamiento 6 + 0.18 * Tratamiento 7 -0.21 *Tratamiento 8



Tabla 12. Comparación de medias de la variable porcentaje de grasa en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Dosis	Media estimada
Tratamiento 1	Control negativo	2.52±0.14 ^e
Tratamiento 2	500 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	2.80±0.11 ^{cd}
Tratamiento 3	2000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	3.00±0.43 ^{bc}
Tratamiento 4	20000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	1.79±0.42 ^f
Tratamiento 5	40000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	2.69±0.35 ^{de}
Tratamiento 6	12.5 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	2.82±0.12 ^{cd}
Tratamiento 7	50 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	3.26±0.22 ^a
Tratamiento 8	500 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	2.87±0.18 ^{bcd}
Tratamiento 9	1000 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	3.08±0.42 ^{ab}
Tratamiento 10	Control positivo	2.83±0.10 ^{cd}

Tabla 13. ANOVA de porcentaje de grasa en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	7.619	7.619	27.265	< 0,0001
Error	298	83.272	0.279		
Total corregido	299	90.891			

Parámetros del modelo (Variable % grasa):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	2.846	0.043	65.929	< 0,0001	2.761	2.931
Permeable	-0.319	0.061	-5.222	< 0,0001	-0.439	-0.199
Vacío	0.000	0.000				

Tabla 14. Comparación de medias de la variable porcentaje de grasa en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Media estimada
Vacío	2.85±0.43 ^a
Permeable	2.53±0.61 ^b

- **Análisis de varianza para dienos conjugados**

Tabla 15. ANOVA de dienos conjugados en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	0.000	0.000	0.359	0.550
Error	298	0.067	0.000		
Total corregido	299	0.067			



Parámetros del modelo (Variable Dienos conjugados):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	0.030	0.001	24.367	< 0,0001	0.027	0.032
Permeable	-0.001	0.002	-0.599	0.550	-0.004	0.002
Vacío	0.000	0.000				

- **Análisis de varianza para TBARS**

Tabla 16. ANOVA de TBARS en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	9	0.769		0.085	1.178
Error	178	12.905		0.073	0.311
Total corregido	187	13.674			

Parámetros del modelo (Variable TBARS):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	0.752	0.060	12.495	< 0,0001	0.633	0.871
Tratamiento-1	0.086	0.085	1.013	0.313	-0.082	0.254
Tratamiento-10	0.075	0.085	0.875	0.382	-0.093	0.243
Tratamiento-2	0.085	0.085	0.999	0.319	-0.083	0.253
Tratamiento-3	0.164	0.085	1.930	0.055	-0.004	0.332
Tratamiento-4	0.132	0.113	1.173	0.242	-0.090	0.354
Tratamiento-5	0.136	0.085	1.600	0.111	-0.032	0.304
Tratamiento-6	0.107	0.085	1.251	0.213	-0.062	0.275
Tratamiento-7	0.003	0.085	0.040	0.968	-0.165	0.171
Tratamiento-8	-0.042	0.085	-0.488	0.626	-0.210	0.126
Tratamiento-9	0.000	0.000				

Ecuación del modelo (Variable TBARS):

TBARS = 0.75+ 8.62E-02* Tratamiento 1 + 7.45E-02* Tratamiento 10 + 8.15E-02* Tratamiento 2 + 0.16* Tratamiento3 + 0.13* Tratamiento 4 + 0.14* Tratamiento 5 + 0.11* Tratamiento 6 + 3.37E-03* Tratamiento 7 – 4.16* Tratamiento 8



Tabla 17. Comparación de medias de la variable TBARS en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Dosis	Media estimada
Tratamiento 1	Control negativo	0.84±0.10 ^{ab}
Tratamiento 2	500 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	0.84±0.11 ^{ab}
Tratamiento 3	2000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	0.92±0.31 ^a
Tratamiento 4	20000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	0.88±0.27 ^{ab}
Tratamiento 5	40000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	0.89±0.23 ^{ab}
Tratamiento 6	12.5 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	0.86±0.11 ^{ab}
Tratamiento 7	50 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	0.76±0.12 ^{ab}
Tratamiento 8	500 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	0.71±0.11 ^{ab}
Tratamiento 9	1000 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	0.75±0.14 ^{ab}
Tratamiento 10	Control positivo	0.83±0.08 ^{ab}

Tabla 18. ANOVA de TBARS en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	0.645	0.645	9.503	0.002
Error	298	20.243	0.068		
Total corregido	299	20.888			

Parámetros del modelo (Variable TBARS):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	0.776	0.021	36.456	< 0,0001	0.734	0.818
Permeable	0.093	0.030	3.083	0.002	0.034	0.152
Vacío	0.000	0.000				

Tabla 19. Comparación de medias de la variable TBARS en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Media estimada
Permeable	0.87±0.28 ^a
Vacío	0.78±0.23 ^b

- **Análisis de varianza para pérdida de grupo tiol**

Tabla 20. ANOVA de pérdida de grupo tiol en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	9	113.371	12.597	2.671	0.006
Error	178	839.578	4.717		
Total corregido	187	952.949			



Parámetros del modelo:

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	7.222	0.486	14.870	< 0.0001	6.263	8.180
Tratamiento-1	0.963	0.687	1.403	0.162	-0.392	2.319
Tratamiento-10	2.489	0.687	3.625	0.000	1.134	3.845
Tratamiento-2	0.581	0.687	0.846	0.399	-0.774	1.936
Tratamiento-3	-0.041	0.687	-0.059	0.953	-1.396	1.315
Tratamiento-4	0.438	0.909	0.482	0.630	-1.355	2.231
Tratamiento-5	1.159	0.687	1.687	0.093	-0.197	2.514
Tratamiento-6	0.945	0.687	1.375	0.171	-0.411	2.300
Tratamiento-7	-0.222	0.687	-0.324	0.746	-1.578	1.133
Tratamiento-8	0.248	0.687	0.361	0.718	-1.107	1.603
Tratamiento-9	0.000	0.000				

Ecuación del modelo (Variable pérdida de grupo tiol):

Pérdida de grupo tiol = 7.22 + 0.96* Tratamiento1 + 2.49*Tratamiento10 + 0.58* Tratamiento 2 - 4,07E-02* Tratamiento 3 + 0.44* Tratamiento 4 + 1.16* Tratamiento 5 + 0.94* Tratamiento6 -0,22* Tratamiento 7 + 0.25* Tratamiento 8

Tabla 21. Comparación de medias de la variable pérdida de grupo tiol en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Dosis	Media estimada
Tratamiento 1	Control negativo	8.18±1.86 ^b
Tratamiento 2	500 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	7.80±1.98 ^b
Tratamiento 3	2000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	7.18±1.34 ^b
Tratamiento 4	20000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	7.66±1.11 ^b
Tratamiento 5	40000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	8.38±3.20 ^{ab}
Tratamiento 6	12.5 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	8.17±2.46 ^b
Tratamiento 7	50 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	7.00±1.27 ^b
Tratamiento 8	500 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	7.47±2.28 ^b
Tratamiento 9	1000 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	7.22±1.82 ^b
Tratamiento 10	Control positivo	9.71±3.44 ^a

Tabla 22. ANOVA de pérdida de grupo tiol en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	12.027	12.027	3.060	0.081
Error	298	1171.085	3.930		
Total corregido	299	1183.112			



Parámetros del modelo:

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	8.350	0.162	51.589	< 0.0001	8.032	8.669
Permeable	-0.400	0.229	-1.749	0.081	-0.851	0.050
Vacío	0.000	0.000				

- **Análisis de varianza para luminosidad (L)**

Tabla 23. ANOVA de luminosidad en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	9	192.456	21.384	2.622	0.007
Error	178	1451.792	8.156		
Total corregido	187	1644.247			

Parámetros del modelo (Variable L):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	56.537	0.639	88.532	< 0,0001	55.276	57.797
Tratamiento-1	-0.178	0.903	-0.197	0.844	-1.960	1.604
Tratamiento-10	0.344	0.903	0.381	0.704	-1.438	2.126
Tratamiento-2	-1.567	0.903	-1.735	0.084	-3.349	0.215
Tratamiento-3	-0.664	0.903	-0.736	0.463	-2.447	1.118
Tratamiento-4	-1.125	1.195	-0.942	0.348	-3.483	1.232
Tratamiento-5	-3.134	0.903	-3.470	0.001	-4.916	-1.351
Tratamiento-6	-0.383	0.903	-0.425	0.672	-2.166	1.399
Tratamiento-7	-0.834	0.903	-0.923	0.357	-2.616	0.948
Tratamiento-8	-1.887	0.903	-2.089	0.038	-3.669	-0.104
Tratamiento-9	0.000	0.000				

Ecuación del modelo (Variable L):

Luminosidad = 56.54 - 0,18* Tratamiento 1 + 0.34* Tratamiento 10 - 1.57* Tratamiento 2 - 0.66* Tratamiento 3 - 1.13* Tratamiento 4 - 3.13* Tratamiento 5 - 0.38* Tratamiento 6 - 0.84* Tratamiento 7 - 1.89* Tratamiento 8



Tabla 24. Comparación de medias de la variable luminosidad en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Dosis	Media estimada
Tratamiento 1	Control negativo	56.36±1.37 ^{ab}
Tratamiento 2	500 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	54.97±1.58 ^{abc}
Tratamiento 3	2000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	55.87±1.06 ^{ab}
Tratamiento 4	20000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	55.41±2.12 ^{abc}
Tratamiento 5	40000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	53.40±1.91 ^c
Tratamiento 6	12.5 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	56.15±0.97 ^{ab}
Tratamiento 7	50 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	55.70±1.22 ^{ab}
Tratamiento 8	500 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	54.65±1.37 ^{bc}
Tratamiento 9	1000 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	56.54±1.14 ^{ab}
Tratamiento 10	Control positivo	56.88±1.61 ^a

Tabla 25. ANOVA de luminosidad en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	0.313	0.313	0.038	0.845
Error	298	2443.094	8.198		
Total corregido	299	2443.407			

Parámetros del modelo (Variable L):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	55.387	0.234	236.915	< 0,0001	54.927	55.847
Permeable	0.065	0.331	0.195	0.845	-0.586	0.715
Vacío	0.000	0.000				

- **Análisis de varianza para índice de rojo (a*)**

Tabla 26. ANOVA de índice de rojo en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	258.392	258.392	87.236	< 0,0001
Error	298	882.675	2.962		
Total corregido	299	1141.068			

Parámetros del modelo (Variable a):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	5.744	0.141	40.877	< 0,0001	5.468	6.021
Permeable	1.856	0.199	9.340	< 0,0001	1.465	2.247
Vacío	0.000	0.000				



Tabla 27. Comparación de medias de la variable índice de rojo en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).

Categoría	Media estimada
Permeable	7.60±2.13 ^a
Vacío	5.74±1.17 ^b

- **Análisis de varianza de índice de amarillo (b*)**

Tabla 28. ANOVA de índice de amarillo en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	9	23.779	2.642	1.410	0.187
Error	178	333.435	1.873		
Total corregido	187	357.214			

Parámetros del modelo (Variable b*):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	14.443	0.306	47.193	< 0,0001	13.839	15.047
Tratamiento-1	-0.200	0.433	-0.462	0.645	-1.054	0.654
Tratamiento-10	0.113	0.433	0.260	0.795	-0.742	0.967
Tratamiento-2	-0.656	0.433	-1.516	0.131	-1.510	0.198
Tratamiento-3	-0.515	0.433	-1.190	0.236	-1.369	0.339
Tratamiento-4	-0.128	0.573	-0.224	0.823	-1.258	1.002
Tratamiento-5	-1.100	0.433	-2.540	0.012	-1.954	-0.245
Tratamiento-6	-0.403	0.433	-0.931	0.353	-1.257	0.451
Tratamiento-7	-0.662	0.433	-1.530	0.128	-1.516	0.192
Tratamiento-8	-0.676	0.433	-1.562	0.120	-1.530	0.178
Tratamiento-9	0.000	0.000				

Ecuación del modelo (Variable b*):

b* = 14.44 - 0.19* Tratamiento 1 + 0.11* Tratamiento 10 - 0.66* Tratamiento 2 - 0.51* Tratamiento 3 - 0.13* Tratamiento 4 - 1.11* Tratamiento 5 - 0.40* Tratamiento 6 - 0.66* Tratamiento 7 - 0.68* Tratamiento 8



Tabla 29. Comparación de medias de la variable índice de amarillo en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Dosis	Media estimada
Tratamiento 1	Control negativo	14.24±0.98 ^{ab}
Tratamiento 2	500 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	13.79±0.68 ^{ab}
Tratamiento 3	2000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	13.93±0.85 ^{ab}
Tratamiento 4	20000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	14.32±1.33 ^{ab}
Tratamiento 5	40000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	13.34±0.85 ^b
Tratamiento 6	12.5 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	14.04±0.32 ^{ab}
Tratamiento 7	50 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	13.78±0.73 ^{ab}
Tratamiento 8	500 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	13.77±0.68 ^{ab}
Tratamiento 9	1000 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	14.44±0.83 ^a
Tratamiento 10	Control positivo	14.56±0.64 ^a

Tabla 30. ANOVA de índice de amarillo en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	71.926	71.926	29.885	< 0,0001
Error	298	717.202	2.407		
Total corregido	299	789.128			

Parámetros del modelo (Variable b*):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	13.741	0.127	108.478	< 0,0001	13.491	13.990
Permeable	0.979	0.179	5.467	< 0,0001	0.627	1.332
Vacío	0.000	0.000				

Tabla 31. Comparación de medias de la variable índice de amarillo en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Media estimada
Permeable	14.72±1.76 ^a
Vacío	13.74±1.31 ^b

- **Análisis de varianza para porcentaje de oximioglobina superficial**

Tabla 32. ANOVA de porcentaje de oximioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol almacenada al vacío.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	9	0.044	0.005	3.035	0.002
Error	178	0.284	0.002		
Total corregido	187	0.328			



Parámetros del modelo (Variable porcentaje de oximioglobina superficial):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	1.075	0.009	120.366	< 0,0001	1.058	1.093
Tratamiento-1	0.000	0.013	0.030	0.976	-0.025	0.025
Tratamiento-10	-0.004	0.013	-0.338	0.735	-0.029	0.021
Tratamiento-2	0.031	0.013	2.444	0.016	0.006	0.056
Tratamiento-3	0.016	0.013	1.234	0.219	-0.009	0.041
Tratamiento-4	0.026	0.017	1.578	0.116	-0.007	0.059
Tratamiento-5	0.045	0.013	3.547	0.000	0.020	0.070
Tratamiento-6	0.010	0.013	0.760	0.448	-0.015	0.035
Tratamiento-7	0.006	0.013	0.458	0.647	-0.019	0.031
Tratamiento-8	0.023	0.013	1.825	0.070	-0.002	0.048
Tratamiento-9	0.000	0.000				

Ecuación del modelo (Variable porcentaje de oximioglobina superficial):

Porcentaje de oximioglobina superficial = 1.07 + 3.73E-04* Tratamiento 1 - 4.28E-03* Tratamiento 10 + 3.09E-02* Tratamiento 2 + 1.56E-02* Tratamiento 3 + 2.64E-02* Tratamiento 4 + 4.48E-02* Tratamiento 5 + 9.61E-03* Tratamiento 6 + 5.80E-03* Tratamiento 7 + 2.31E-02* Tratamiento 8

Tabla 33. Comparación de medias de la variable porcentaje de oximioglobina superficial en carne de cerdo respecto al tipo suplementación (Prueba de Duncan, $P \leq 0.05$).

Categoría	Dosis	Media estimada
Tratamiento 1	Control negativo	1.08±0.02 ^c
Tratamiento 2	500 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	1.11±0.03 ^{ab}
Tratamiento 3	2000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	1.09±0.01 ^{bc}
Tratamiento 4	20000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	1.10±0.03 ^{abc}
Tratamiento 5	40000 Vitamina D ₃ (IU/Kg)	1.12±0.03 ^a
Tratamiento 6	12.5 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	1.09±0.02 ^{bc}
Tratamiento 7	50 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	1.08±0.02 ^{bc}
Tratamiento 8	500 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	1.10±0.02 ^{abc}
Tratamiento 9	1000 (25-OH colecalciferol µg/Kg)	1.08±0.02 ^c
Tratamiento 10	Control positivo	1.07±0.01 ^c

Tabla 34. ANOVA de porcentaje de oximioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	0.012	0.012	4.220	0.041
Error	298	0.839	0.003		
Total corregido	299	0.851			



Parámetros del modelo (Variable oximioglobina):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	1.092	0.004	252.000	< 0,0001	1.083	1.100
Permeable	0.013	0.006	2.054	0.041	0.001	0.025
Vacío	0.000	0.000				

Tabla 35. Comparación de medias de la variable porcentaje de oximioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).

Categoría	Media estimada
Permeable	1.10±0.06 ^a
Vacío	1.09±0.04 ^b

• **Análisis de varianza para el porcentaje de metamioglobina superficial**

Tabla 36. ANOVA de porcentaje de metamioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	0.162	0.162	204.612	< 0,0001
Error	298	0.236	0.001		
Total corregido	299	0.398			

Parámetros del modelo (Variable porcentaje de metamioglobina superficial):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	0.982	0.002	427.551	< 0,0001	0.977	0.986
Permeable	0.046	0.003	14.304	< 0,0001	0.040	0.053
Vacío	0.000	0.000				

Tabla 37. Comparación de medias de la variable porcentaje de metamioglobina superficial en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).

Categoría	Media estimada
Permeable	1.03±0.04 ^a
Vacío	0.98±0.02 ^b



- **Análisis de varianza para mesófilos aeróbios**

Tabla 38. ANOVA de mesófilos aeróbios en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	3.895	3.895	1.763	0.185
Error	298	658.594	2.210		
Total corregido	299	662.489			

Parámetros del modelo (Variable mesófilos aeróbios):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	2.567	0.121	21.146	< 0,0001	2.328	2.806
Permeable	0.228	0.172	1.328	0.185	-0.110	0.566
Vacío	0.000	0.000				

- **Análisis de varianza para enterobacterias**

Tabla 39. ANOVA de enterobacterias en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	7.271	7.271	5.880	0.016
Error	298	368.532	1.237		
Total corregido	299	375.804			

Parámetros del modelo (Variable enterobacterias):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	1.509	0.091	16.616	< 0,0001	1.330	1.687
Permeable	0.311	0.128	2.425	0.016	0.059	0.564
Vacío	0.000	0.000				

Tabla 40. Comparación de medias de la variable enterobacterias en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).

Categoría	Media estimada
Permeable	1.82±1.21 ^a
Vacío	1.51±1.00 ^b



- **Análisis de varianza para putrescina**

Tabla 41. ANOVA de putrescina en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	63701.173	63701.173	3.984	0.050
Error	75	1199145.118	15988.602		
Total corregido	76	1262846.291			

Parámetros del modelo (Variable ppm (putrescina)):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	37.461	20.248	1.850	0.068	-2.874	77.797
Permeable	57.530	28.822	1.996	0.050	0.113	114.947
Vacío	0.000	0.000				

Tabla 42. Comparación de medias de la variable putrescina en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol respecto al tipo de empaque utilizado (Prueba de Duncan, P≤0.05).

Categoría	Media estimada
Permeable	94.99± 36.52 ^a
Vacío	37.46±12.81 ^b

- **Análisis de varianza para cadaverina**

Tabla 43. ANOVA de cadaverina en carne de cerdo suplementada con vitamina D₃ y 25-OH colecalciferol por tipo de empaque.

Fuente	GDL	Suma de los cuadrados	Media de los cuadrados	F	Pr > F
Modelo	1	11255.944	11255.944	0.040	0.842
Error	75	21042142.974	280561.906		
Total corregido	76	21053398.919			

Parámetros del modelo (Variable ppm (cadaverina)):

Fuente	Valor	Desviación típica	t	Pr > t	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)
Intersección	232.444	84.817	2.741	0.008	63.480	401.408
Empaque-P	24.183	120.736	0.200	0.842	-216.335	264.701
Empaque-V	0.000	0.000				