



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“DETECCIÓN DE ADULTERACIONES CON *FELIS
SILVESTRIS CATUS, RATTUS Y BOS TAURUS*
MEDIANTE PCR EN PRODUCTOS PROCESADOS A
BASE DE POLLO”

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ALEJANDRO BARRERA FLORES

ASESOR: DR. JOSÉ FRANCISCO MONTIEL SOSA
COASESORA: M. EN C. ANA ELVIA SÁNCHEZ MENDOZA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

"En medio de la dificultad yace la oportunidad"

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Alejandro Barrera Martínez y Sandra Aurora Flores López por su continuo apoyo a lo largo de mi vida. Agradezco cada una de sus enseñanzas y sabios consejos, ya que sin ellos esto no sería posible. Me enorgullezco de ser su hijo y los amo.

A mis hermanas Betty y Sandy, por ser ese impulso que toda persona necesita durante su vida. Gracias por ayudarme a tomar decisiones, por escucharme y por creer en mí, en otras palabras, gracias por acompañarme en este viaje.

A mis amigos, aquellos que se tomaron un momento de sus vidas para brindarme su apoyo e incondicional ayuda para la realización de esta tesis; también para aquellos que me motivaron a no rendirme y seguir adelante, finalmente a todos aquellos que no me dejaron solo en los momentos más difíciles de mi vida.

AGRADECIMIENTOS TÉCNICOS

Al Dr. Francisco Montiel por cada una de sus enseñanzas, así como por su amable atención a lo largo de este proyecto.

A la M. en C. Ana Elvia Sánchez Mendoza por su paciencia y completa asesoría durante el proceso experimental.

A la I. A. Vaely Coronel Flores por ayudarme con el desarrollo de ideas para el contenido de esta tesis.

A la M. en C. Josefina Moreno Lara por su amable apoyo durante el proceso experimental.

Agradezco a la máxima casa de estudios, a sus directivos y profesores por haberme brindado todas las herramientas y conocimientos que me ayudaron a convertirme en el profesionalista que nuestra sociedad necesita. Gracias UNAM-FESC.

Contenido

Índice de figuras	7
Índice de tablas	8
Resumen.....	10
Introducción	11
Capítulo 1. Importancia y generalidades del pollo.....	12
Aves de corral.....	12
Selección y manejo de las aves	12
Descripción del pollo	12
Taxonomía.....	13
Partes comestibles del pollo de engorde.....	13
Características del pollo asociadas con su calidad.....	15
Características organolépticas	15
Composición química y valor nutricional	15
Proteínas	15
Grasa	16
Vitaminas.....	16
Minerales.....	17
Importancia económica.....	17
Consumo del pollo en el mundo	17
Consumo del pollo en México.....	21
Tendencias Avícolas Mundiales 2014: Baja la participación de América en la producción mundial de pollo.....	25
Productos industrializados a base de pollo.....	29
Productos congelados	29
Alimento húmedo para mascota.....	32
Franquicias de comida.....	34
Capítulo 2. Adulteraciones en pollo	36
Adulteración de productos.....	36
Formas de detectar adulteraciones	37
Productos adulterados de pollo	38
Productos congelados	38
Franquicias de comida rápida y comida china	38

Alimento para mascotas.....	39
Normatividad	41
Capítulo 3. Generalidades de la PCR para la autenticación de especies.....	44
Importancia de la autenticación de alimentos por PCR.....	44
Capítulo 4.	50
Metodología Experimental.....	50
Descripción del cuadro Metodológico	51
Materiales y métodos	52
Material biológico	52
Capítulo 5. Resultados y discusión	59
Objetivo particular 1	59
Objetivo particular 2	61
Objetivo particular 3	64
• Actividad 1.....	64
• Actividad 2.....	65
Perspectivas	72
Normas como la NOM-122-SSA1-1994 de bienes y servicios.(Productos de la carne. Productos cárnicos curados y cocidos, y curados emulsionados y cocidos. Especificaciones sanitarias) o la NOM-194-SSA1-2004 de Productos y servicios. (Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos) deben garantizar la calidad del producto, ya que de no ser así, se infringen leyes y las sanciones pueden ser severas, por lo tanto, la biotecnología nos permite garantizar el cumplimiento de estas normas.	72
Conclusiones	73
Referencias bibliográficas	74
Anexos.....	79
Anexo 1. Metodología para la selección de Primers.....	79

Índice de figuras

Figura 1. Aves de corral (ámbito.com, 2016).	12
Figura 2. Selección de gallinas (ámbito.com, 2016).	13
Figura 3. Partes comestibles del pollo de engorde (blogspot.mx, 2015).	14
Figura 4. Principales Países Consumidores de Pollo (ElSitioAvícola, 2014).	19
Figura 5. Producción de Pollo al 2015 (ElSitioAvicola)	20
Figura 6. Producción Avícola (ElSitioAvicola, 2014).	22
Figura 7. Principales Estados Productores de Pollo (ElSitioAvícola, 2014).	24
Figura 8. Producción mundial de carne de pollo ha superado lo que América había logrado (millones de toneladas).....	26
Figura 9. Crecimiento de la producción de pollos de engorde en los cuatro mayores países productores en América (millones de toneladas) (ElSitioAvicola)	28
Figura 10. Nuggets de pollo (vix.com, 2015).	29
Figura 11. Cordon Bleu (diariodepalenque.com.mx, 2017).	30
Figura 12. Flautas de Pollo (i.ytimg.com, 2015).	31
Figura 13. Medallones de Pollo (revistalabarra.com, 2016).	32
Figura 14. Ingredientes Pedigree® Cachorro Pollo en filetes.....	34
Figura 15. Comida china (china-family-adventure.com, 2015).	35
Figura 16. Condiciones programadas en el termociclador para <i>Felis silvestris catus</i>	60
Figura 17. Condiciones programadas en el termociclador para <i>Rattus Rattus</i>	60
Figura 18. Condiciones programadas en el termociclador para <i>Gallus gallus domesticus</i> y <i>Bos taurus</i>	61
Figura 19. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, amplificado del control positivo de rata.....	62
Figura 20. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, amplificado de los controles positivos para gato.	63
Figura 21. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, amplificado de los controles positivos para pollo y bovino.	63
Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, amplificado de los controles positivos para pollo.....	64
Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, PCR con la especie <i>Rattus rattus</i> para las muestras comerciales.	66
Figura 24. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, PCR con la especie <i>Rattus rattus</i> para las muestras comerciales.	66
Figura 25. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, PCR con la especie <i>Felis silvestris catus</i> para las muestras comerciales.	67
Figura 26. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, PCR con la especie <i>Felis silvestris catus</i> para las muestras comerciales. MP (Marcador de Peso 100pb), Bla (blanco), C+1 (control positivo 1 de la especie gato), C+2 (control positivo 2 de la especie gato), D (Dog Chow), P (Pedigree), W (Whiskas), T (tacos) y K (King de Pollo).	68
Figura 27. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, PCR con la especie <i>Bos taurus</i> para las muestras comerciales.	69

Figura 28. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, PCR con la especie <i>Bos taurus</i> para las muestras comerciales.	69
Figura 29. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, PCR con la especie <i>Gallus gallus</i> para las muestras comerciales.	70
Figura 30. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, PCR con la especie <i>Gallus gallus</i> para las muestras comerciales.	71

Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía <i>Gallus gallus</i> (Linnaeus, 1758).....	13
Tabla 2. Porcentaje de grasa abdominal en el pollo con respecto al sexo (SAGARPA-CONACYT, 2013)	16
Tabla 3. Aportes de la carne de pollo y recomendaciones nutricionales (cincap).....	17
Tabla 4. Panorama del mercado mundial de la carne.....	18
Tabla 5. Producción de carne de pollo a nivel mundial (millones de toneladas).....	25
Tabla 6. Producción de carne de pollo en América ('000 toneladas de peso eviscerado).....	27
Tabla 7. Principales productores de carne de pollo de engorde en América ('000 toneladas peso eviscerado) (ElSitioAvícola, 2014).	28
Tabla 8. Información Nutricional Nuggets de pollo marca Tyson®	30
Tabla 9. Información Nutricional Cordon Bleu Marca Tyson®.	31
Tabla 10. Información Nutricional Medallones de Pollo.....	32
Tabla 11. Información Nutricional Whiskas® Fillets Pollo.....	33
Tabla 12. Composición química del alimento húmedo para perro Purina® Dog Chow®	34
Tabla 13. Información Nutricional King de Pollo™	36
Tabla 14. Información Nutricional Mc Pollo®	36
Tabla 15. Criterios Principales.....	47
Tabla 16. Tabla de material biológico	52
Tabla 17. Componentes de la PCR	57
Tabla 18. Primers evaluados de las especies <i>Felis silvestris catus</i> , <i>Rattus rattus</i> , <i>Gallus gallus domesticus</i> y <i>Bos taurus</i>	59
Tabla 19. Resultados obtenidos de la extracción y cuantificación de ADN de las especies <i>Gallus gallus</i> , <i>Rattus Rattus</i> , <i>Bos Taurus</i> y <i>Felis silvestris catus</i>	61
Tabla 20. Resultados obtenidos de la extracción y cuantificación de ADN de los productos propuestos	65

Resumen

En esta investigación se analizaron diez productos elaborados a base de pollo, que van desde los congelados, como los nuggets o el cordon bleu; hasta los alimentos para mascotas; así como también aquellos que se venden en franquicias de comida rápida, como las hamburguesas y comida china.

Este análisis se llevó a cabo mediante la Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR), con la finalidad de detectar adulteraciones con carne de rata, bovino y gato; utilizando el método de Sambrook. Todos los productos de PCR fueron identificados mediante electroforesis y capturas fotográficas de los geles.

Se comprobó que los primers seleccionados amplifican con su respectiva especie tal y como sucede en el artículo de Matsunaga T., "A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay" del cual se obtuvo la secuencia de ADN (primers) para las especies pollo y bovino.

De las diez muestras comerciales analizadas, no se encontró adulteración con ninguna de las especies propuestas, sin embargo se comprobó que todas ellas contienen carne de pollo en su composición.

Introducción

Aunque la carne de pollo es altamente consumida, existen una serie de mitos alrededor de su crianza en la granja comercial, así como en los productos derivados de éste; lo cual ha incrementado la desinformación acerca de esta producción pecuaria (SAGARPA, 2013).

Algunas de las preguntas más recurrentes en la actualidad, con respecto a este alimento, van directamente relacionadas con la adición de hormonas para la producción de pollo de engorda, de manera que la eficiencia en la producción sea beneficiada (Bowell-Benjamin, 2003).

Existen una gran variedad de productos en el mercado elaborados a base de pollo de engorda, la exportación e importación permite el tránsito monetario entre diversos países mediante la transacción de diferentes materias primas, en este caso, el pollo (Friedmann & Weil, 2010).

Debido a las diferentes normatividades de cada país, la adulteración en estos productos es posible, como se mencionó anteriormente, la finalidad de las grandes empresas es disminuir costos, y muchas veces, esto implica sustituir o adulterar el producto con sustancias químicas o procedentes de otra especie (Vapnek & Spreij, 2005).

Es en este punto, que la autenticación de especies nos permite conocer mediante técnicas científicas muy efectivas, la procedencia y composición real de los alimentos, tanto procesados, como orgánicos. Lo cual es un parámetro de calidad sumamente viable (Aranguren-Méndez, J., et al., 2009).

Capítulo 1. Importancia y generalidades del pollo

Aves de corral

Las aves de corral (Fig. 1) son aves domésticas utilizadas con fines alimenticios. La carne, huevos y huesos son los principales bienes que se pueden obtener de las aves de corral. La crianza de aves, especialmente de gallinas, es una actividad importante en los sistemas de producción familiar de las zonas rurales (Manual para el manejo y control sanitario de aves de corral. CAMADDS A.C, 2012).

La carne de ave es económica, fácil y rápida de preparar, así como de servir. Además cuenta con agradables propiedades organolépticas, es decir aquellas características que se pueden captar por medio de los sentidos, y un apropiado contenido nutricional (Castañeda et. al, 2013).



Figura 1. Aves de corral (ámbito.com, 2016).

Selección y manejo de las aves

Se propone, para el mejoramiento de la cría de aves, el mejoramiento de las aves criollas a través de un proceso de selección de las características deseables en una gallina (Fig.2), esto es ir seleccionando las gallinas que son más robustas, sanas y mejores ponedoras para ser las que tengan pollos (Castañeda et. al, 2013).

Descripción del pollo

Es el ave de género y especie *Gallus gallus*, seleccionada genéticamente y sometida a un régimen de manejo intensivo (Fig. 2) que permite obtener una conversión alimento/peso para su procesamiento (NMX-FF-080-SCFI-2006).



Figura 2. Selección de gallinas (ámbito.com, 2016).

Taxonomía

<i>Taxonomía:</i>	
Dominio	Eukaryota
Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Aves
Orden	Galliformes
Familia	Phasianidae
Género	Gallus
Especie	Gallus Gallus
Subespecie	Gallus Gallus Domesticus

Tabla 1. Taxonomía Gallus gallus (Linnaeus, 1758).

Partes comestibles del pollo de engorde

- Pechuga de pollo.- La pechuga de pollo está disponible con hueso, sin hueso, con piel y sin piel.
- Alas de pollo.-Las alas de pollo o alitas de pollo constan de tres secciones o falanges:
 1. La primera falange del ala de pollo que es la más cercana al cuerpo y parece un muslo pequeño.
 2. La segunda falange del ala de pollo no contiene mucha carne, pero es generalmente más jugosa que el resto del ala.

3. La punta del ala de pollo o tercera falange del ala de pollo no contiene mucha carne y es muchas veces desechada. Se puede utilizar en el caldo para darle sabor.
 - Muslos de pollo.-Los muslos del pollo se componen de dos partes, que son el contramuslo y el jamoncito.
 - Contramuslos de pollo.-Los contramuslos del pollo están formados por parte superior de la pata por encima de la articulación de la rodilla que está conectado al cuerpo de la gallina.
 - Jamoncitos de pollo.-Los jamoncitos del pollo son parte inferior de la pata por debajo de la articulación de la rodilla.
 - Cuartos delanteros de pollo.-En general los cuartos delanteros del pollo incluyen un poco más de una cuarta parte de la carne en el pollo. El corte incluye la mitad de una pechuga, un ala, y parte de la espalda.
 - Cuartos traseros de pollo.-En general los cuartos traseros del pollo incluyen un poco menos de una cuarta parte de la carne sobre el pollo. El corte incluye un muslo, una pata y parte de la espalda.
 - Menudos de pollo.-Consiste en el cuello, el hígado, el corazón y la molleja del pollo.

(Contreras, 2015)



Figura 3. Partes comestibles del pollo de engorde (blogspot.mx, 2015).

Características del pollo asociadas con su calidad

La conformación corporal de un buen ejemplar, requiere las siguientes características:

- Cresta y barbillas bien desarrolladas, rojas, calientes y de textura suave.
- Cabeza redondeada.
- Pechuga saliente y con abundante carne.
- Buena distribución de la carne, sin estar gorda.
- Temperamento tranquilo que permite su fácil captura

(MANUAL PARA EL MANEJO Y CONTROL SANITARIO DE AVES DE CORRAL. CAMADDS A.C, 2012).

Características organolépticas

Entre las carnes procedentes de animales de corral, destaca la carne de pollo. Por sus características organolépticas existe una clara diferencia entre el pollo de granja y el de corral o rural, puesto que el segundo posee una carne con menos grasa y mas sabrosa, debido a su alimentación. No obstante, en ambos casos la grasa se acumula en la piel y puede ser eliminada con facilidad para la alimentación humana. La calidad de sus propiedades sensoriales depende tanto del sexo como de la edad de los pollos en el momento del sacrificio, aunque siempre debe corresponder a un cuerpo rollizo, con pechuga ancha y muslos cortos con mucha musculatura. En cambio la carne de gallina suele ser mas dura (Ángel Gil, 2010).

Composición química y valor nutricional

La carne de pollo contiene aproximadamente 65g de agua por 100g de porción comestible, lo que es común en todas las carnes (Tabla 3). A continuación se muestran las principales características nutrimentales de la carne de pollo (CONACYT, 2013).

Proteínas

Las proteínas son necesarias para construir y mantener los tejidos corporales, además de que también contribuyen en muchos procesos necesarios para el organismo.

La carne de pollo contiene aproximadamente entre 16 y 19 g de proteína por cada 100 g de porción comestible, la cual es además de excelente calidad. Los seres vivos requieren 20 diferentes aminoácidos para formar proteínas, sin embargo el ser humano solo es capaz de sintetizar (producir) 10 de estos, por lo tanto los restantes los debe obtener por medio de su alimentación, a estos últimos se les denomina “aminoácidos esenciales”. La

carne de ave contiene proteína de alta calidad, la cual es fácilmente digestible y contiene todos los aminoácidos esenciales que deben estar presentes en nuestra alimentación (SAGARPA, 2013).

Grasa

La cantidad de grasa en el pollo entero varía con la edad y sexo. La deposición de grasa abdominal es mayor en las etapas tempranas del crecimiento. Posteriormente, conforme madura el animal, aumenta la deposición de grasa, primero en la piel y luego a nivel intermuscular, la cual aumenta a la par del peso corporal. Una ventaja de la carne de pollo es que la mayor parte de la grasa corporal se encuentra en la piel, por lo tanto al retirarla, se reduce el consumo de grasa de origen animal.

Normalmente, las gallinas tienden a crecer más despacio y a depositar más grasa que los machos (Tabla 2) (SAGARPA, 2013).

Edad	Sexo	Peso corporal (kg)	Grasa abdominal (%)	Grasa en la canal (%)
42 días	Hembra	1.8	3.1	41
42 días	Macho	2.1	1.7	40

Tabla 2. Porcentaje de grasa abdominal en el pollo con respecto al sexo (SAGARPA-CONACYT, 2013)

En la grasa se depositan los pigmentos de origen vegetal que se suministran al ave por medio del alimento y gracias a esto, la piel toma un color amarillo, color que los consumidores mexicanos demandan (SAGARPA, 2013).

La mayoría de los consumidores, debido a falta o mal información, desconoce que nuestra dieta requiere el consumo de grasa y que se debe tener en cuenta el tipo de grasa que forma parte del alimento, es decir si se trata de grasa saturada e insaturada. La grasa saturada representa un mayor riesgo para la salud de los consumidores, lo ideal es que la gente consuma mayor proporción de ácidos grasos omega 3. En el pollo de engorda, los aceites que predominan son los omega 9 (oleico) y el omega 6 (linoleico) (COFUPRO, 2013).

Vitaminas

Las vitaminas son nutrimentos indispensables para la salud; sin embargo, la única vitamina que nuestro organismo es capaz de sintetizar es la vitamina D, por lo que el resto de las vitaminas deben ser suministradas por la dieta. Las vitaminas se clasifican en dos grupos:

- Vitaminas liposolubles: A, D, E y K.
- Vitaminas hidrosolubles: C, B1, B2, B6, B12, niacina, ácido pantoténico y biotina.

La carne de ave es una buena fuente de niacina y una fuente moderada de riboflavina, tiamina y ácido ascórbico.

También el hígado contiene importantes cantidades de vitaminas, 100 g de hígado de pollo crudo contienen 0.5 Unidades Internacionales (UI) de vitamina A. (SAGARPA, 2013).

Minerales

La carne de pollo es una buena fuente de varios minerales como calcio, hierro, zinc, sodio, potasio, magnesio, fósforo, azufre, cloro y yodo (cincap, 2002).

	Pechuga (100 g) (1) (a)		Pata muslo (100 g) (1) (a)		1 Porción de carne de pollo (150 g) (b)	Metas	% del Valor Diario Recomendado (d)
	Sin piel	Con piel	Sin piel	Con piel	Sin piel		
Energía	107 kcal	161 kcal	127 kcal	200 kcal	176 kcal	2000 kcal (c)	9
Proteínas	23,7 g	20,2 g	19,9 g	17,0 g	32,7 g	10-15% de la ET (2)	62,5 g (e)
Grasas	1,4 gr	8,9 g	5,3 g	14,7 g	5,0 g	20-35% de la ET (3)	61,1 g (e)
Sodio	47 mg		74 mg		91 mg	2000 mg (2)	5
Potasio	355 mg		307 mg		496 mg	4700 mg (4)	11
Fósforo	235 mg		195 mg		323 mg	700 mg (5)	46
Hierro	0,3 mg		0,6 mg		0,7 mg	8 mg (hombre) (6) 18 mg (mujer) (6)	9 (hombre) 4 (mujer)

Tabla 3. Aportes de la carne de pollo y recomendaciones nutricionales (cincap)

Fuentes:

- (1) Estudio sobre la determinación de la composición nutricional de la carne de pollo argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria -INTA- (Concepción del Uruguay y Castellar), Instituto Nacional de Tecnología Industrial -INTI- (Entre Ríos) y Centro de Empresas Procesadoras Avícolas (CEPA). En proceso de publicación. 2015;
- (2) FAO/OMS — Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases. WHO Technical Report Series 916 Geneva, 2003;
- (3) FAO (2008). Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation. FAO Food and Nutrition Paper No. 91. Ginebra;
- (4) Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. National Academy of Sciences. Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate (2005);
- (5) Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. National Academy of Sciences. Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride (1997);
- (6) Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy of Sciences. Dietary reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc (2001)

Referencias:

- (a) Peso neto crudo, sin hueso.
- (b) Promedio pechuga y pata muslo sin piel en base a datos del Estudio INTA – INTI – CEPA. Peso neto crudo (sin hueso).
- (c) Valor energético diario a modo de ejemplo. Los requerimientos energéticos pueden ser diferentes de acuerdo a las necesidades de cada persona.
- (d) El Valor Diario Recomendado (VDR) es la cantidad diaria recomendada de un nutriente para mantener una alimentación saludable en una dieta de 2000 kcal (valor energético diario a modo de ejemplo. Los requerimientos pueden ser diferentes de acuerdo a las necesidades de cada persona). El porcentaje (%) indica en qué proporción una porción de carne de pollo sin piel de 150 g cubre con la cantidad recomendada de ese nutriente.
- (e) Cantidad promedio en base a una Energía Total de 2000 kcal

Para la evidencia disponible, el pollo provee principalmente proteínas de alto valor biológico. El mismo permite la remoción de la mayor parte de sus grasas, resultando así en una carne magra y una fuente variada de vitaminas y minerales. (ElSitioAvicola, 2014).

Importancia económica

Consumo del pollo en el mundo

La creciente demanda de alimentos encuentra fuerte al sector avícola, que parece estar preparado para satisfacer las necesidades mundiales, en materia de alimentación humana y animal. Estudios de la FAO indican que ninguna otra industria pecuaria aplicó los avances tecnológicos tan rápida o eficazmente como la industria avícola comercial (Tabla 4). Según ese organismo internacional, las aves de corral responden bien a los cambios tecnológicos debido a su alta tasa de reproducción y sus cortos intervalos generacionales (ONCCA).

Se estima que en el mundo más de 2 000 millones de personas sufren carencias de vitaminas y minerales fundamentales, en particular vitamina A, yodo, hierro y zinc. Dichas carencias se producen cuando las personas tienen un acceso limitado a alimentos ricos en micronutrientes como carne, pescado, frutas y hortalizas. La mayor parte de las personas con carencias de micronutrientes viven en países de bajos ingresos y generalmente presentan carencias de más de un micronutriente. Las comunidades infectadas por el VIH/SIDA y las mujeres y niños tienen especial necesidad de alimentos altamente nutritivos como la carne (Producción y Sanidad Animal, FAO).

Panorama del mercado mundial de la carne (FAO: Perspectivas alimentarias-Análisis del mercado mundial 2014)				
	2012	2013 <i>estim.</i>	2014 <i>pronóst</i>	Variación: de 2014 a 2013
	<i>millones de toneladas</i>			<i>%</i>
BALANZA MUNDIAL				
Producción	304.2	308.5	311.8	1.1
Carne de bovino	67.0	67.7	68.0	0.5
Carne de ave	105.4	107.0	108.7	1.6
Carne de cerdo	112.4	114.3	115.5	1.1
Carne de ovino	13.7	13.9	14.0	0.5
Comercio	29.7	30.9	31.3	1.4
Carne de bovino	8.0	9.1	9.4	3.5
Carne de ave	13.0	13.2	13.5	2.4
Carne de cerdo	7.5	7.4	7.2	-2.1
Carne de ovino	0.8	1.0	1.0	-3.7
INDICADORES DE LA OFERTA Y LA DEMANDA				
Consumo humano per cápita: (kg/year):				
Mundial	42.9	42.9	42.9	-0.1
Desarrollados	76.2	75.9	76.1	0.3
En desarrollo	33.5	33.7	33.7	0.0

Tabla 4. Panorama del mercado mundial de la carne

De acuerdo a las proyecciones de FAO-OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos), el consumo mundial de carnes durante la próxima década debería presentar incrementos del orden de 6% en relación con el período de referencia, que corresponde a los años 2010-2012 (ElSitioAvicola, 2014).

La demanda por carnes se mantendría firme, principalmente por el aumento de los ingresos y el crecimiento de la población, sobre todo en las economías emergentes, como Brasil, Rusia, India, China y Sudáfrica (BRICS) y, de forma más general, en muchos otros países en desarrollo (Fig. 4). Más específicamente, FAO y OCDE proyectan para la próxima década un aumento de 2,6 kilos en el consumo per cápita anual de carnes en los países en desarrollo, de lo cual 60% correspondería a carne de aves (ElSitioAvicola, 2014).

En la práctica, el crecimiento de la demanda por carne de aves reduciría su velocidad en los próximos años; sin embargo, continuará liderando el aumento en el consumo de carnes, debido a su estatus como la fuente más barata y más accesible de proteínas de origen animal (ElSitoAvicola, 2014).

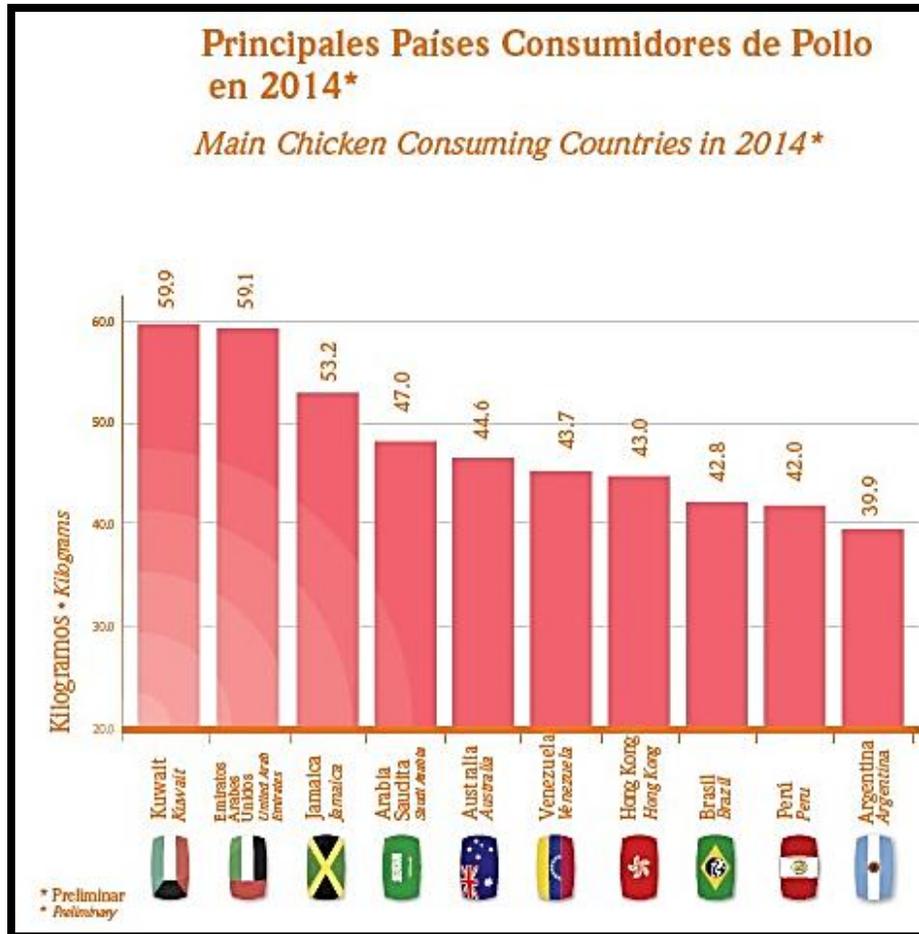


Figura 4. Principales Países Consumidores de Pollo (ElSitoAvicola, 2014)

PRODUCCIÓN

De acuerdo con estimaciones realizadas por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la producción mundial de carnes en 2013 habría alcanzado a 308,3 millones de toneladas, lo que implicaría un aumento de 1,4% respecto a la producción de 2012 (ElSitoAvicola, 2014).

De acuerdo a las estimaciones del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), que analiza el comportamiento de los principales países productores, exportadores e importadores de carnes, en 2014 se espera que la producción mundial de carne de aves alcance un nuevo récord, creciendo en total 15% en sólo cinco años. Esto sería consecuencia de la tendencia de baja en los costos de alimentación y el menor

precio de la carne de aves frente a otras fuentes proteicas de origen animal (EISitioAvicola, 2014).

En particular, en 2014 se espera un incremento de 1,8% en la producción de carne aviar de Estados Unidos, que llegaría a un máximo histórico de 17,3 millones de toneladas. El Rabobank postula que la baja en la oferta de carne porcina, por los problemas de diarrea epidémica porcina, y la baja en la producción de carne bovina, por la sequía de 2012, constituyen una tremenda oportunidad para el sector productor de carne de aves, ya que los consumidores la verán como una buena alternativa.

Por su parte China, que es el segundo productor mundial y se espera que supere a Estados Unidos en los próximos años, enfrenta brotes de influenza aviar, que han requerido sacrificar animales y han dificultado la comercialización de animales vivos, además de generar una pérdida de confianza de los consumidores, por lo que la producción disminuyó 2,6% en 2013 y posiblemente en 2014 caiga más profundamente, alcanzando niveles cercanos a 12,7 millones de toneladas, semejantes a la producción de 2010.

En el caso de Brasil, el USDA revisó su proyección a la baja en 2013, con una caída de 2,7%, y prevé un crecimiento del orden de 3% para la producción de pollo en 2014, que alcanzaría 12,7 millones de toneladas (Fig. 5). Este crecimiento se debería a una amplia oferta de insumos alimenticios. Sin embargo, el consumo interno se ha contraído, debido a la incertidumbre económica, el aumento de la inflación y la fuerte competencia del cerdo y el vacuno (EISitioAvicola, 2014).

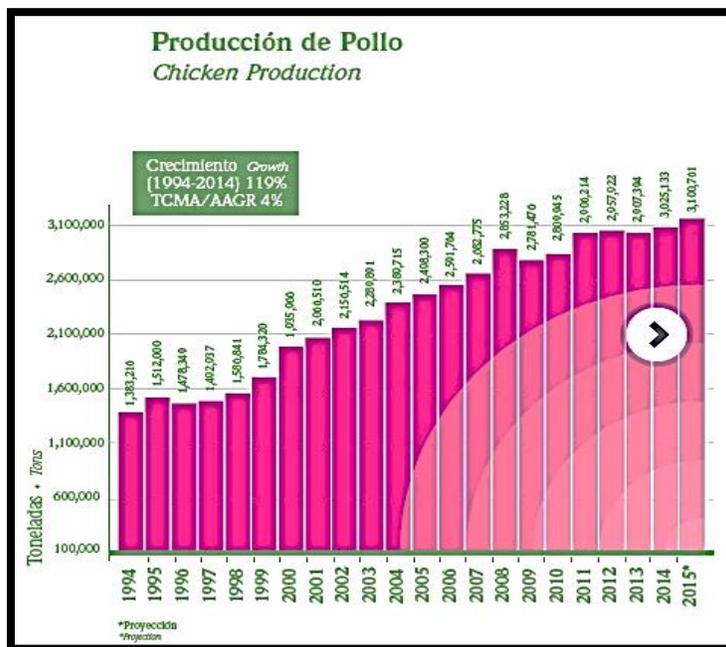


Figura 5. Producción de Pollo al 2015 (EISitioAvicola)

COMERCIO

Según estimaciones del USDA, las exportaciones de carne de pollo a nivel mundial crecerán en 2 por ciento durante el año 2013, llegando a un total de 10,3 millones de toneladas. Este crecimiento se producirá gracias al aumento en la demanda de África Oriental y del continente asiático, y será liderado por los mayores envíos de Estados Unidos, Turquía y Ucrania.

Los exportadores que seguirán dominando el mercado de carne de aves serán Brasil, Estados Unidos y la Unión Europea. Por otro lado, proveedores más pequeños, como Tailandia, Turquía y Argentina, lograrán aumentar los volúmenes de exportación a mercados nuevos y en vías de desarrollo.

Se estima que el mayor exportador a nivel mundial, Brasil, aumentará sus envíos en 2,8 por ciento, llegando a un total exportado de 3,6 millones de toneladas. Esta alza estará impulsada por el aumento en la demanda de Asia Oriental (fuertemente en China y Hong Kong) y Medio Oriente (Irak y Egipto). La buena situación económica del Medio Oriente ha permitido que Brasil realice envíos de aves enteras con certificación Halal, aumentando los volúmenes transados.

Las exportaciones de carne de ave de los Estados Unidos disminuirían en 1 por ciento en el año 2013, llegando a un total de 3,2 millones de toneladas. Lo anterior podría explicarse por la disminución en los suministros internos, que llevarán a que un mayor porcentaje de la producción se quede en el país, y por la disminución en la demanda de Rusia y Hong Kong, que son dos agentes relevantes dentro de su comercio.

En general, las exportaciones estadounidenses se han mantenido relativamente constantes durante los últimos años: al mismo tiempo que ha ido disminuyendo el comercio con algunos mercados importantes, han logrado compensarlo gracias a la diversificación de pequeños mercados.

Se estima que las exportaciones de carne de pollo de la Unión Europea decrecerán en 2,7 por ciento durante el año 2013, llegando a 1,06 millones de toneladas. Esta baja sería consecuencia de la quiebra de la empresa Duox, el mayor exportador de Europa.

Otro país cuyas exportaciones se han ido desarrollando en los últimos años ha sido Tailandia, para el cual se proyecta un crecimiento de 7 por ciento en 2013 respecto al año 2012, pudiendo llegar a un total de 580.000 toneladas exportadas. Esto se producirá gracias al aumento en los envíos al sudeste de Asia, Corea del Sur y los Emiratos Árabes Unidos (El Sitio Avícola, 2013).

Consumo del pollo en México

COMERCIO

La avicultura mexicana en 2012, aportó el 0.77% en el PIB total, el 19.7% en el PIB agropecuario y el 40.9% en el PIB pecuario. El sector avícola mexicano participa con el 63% de la producción pecuaria; 34.6% aporta la producción de pollo, 27.9% la producción de huevo y 0.10% la producción de pavo (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

De 1994 al 2012 el consumo de insumos agrícolas, ha crecido a un ritmo anual de 2.8%, y cabe destacar que la avicultura es la principal industria transformadora de proteína vegetal en proteína animal (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

Para el 2013, se proyecta que la avicultura generará 1 millón 188mil empleos, en 2012 la avicultura generó 1 millón 167mil empleos. Cabe mencionar que el 60 % de los empleos los genera la rama avícola de pollo, el 38% la de huevo y solo un 2% la de pavo (Fig. 6) (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

La parvada nacional avícola en México decreció 2.45% en 2012, respecto al crecimiento obtenido en 2011, por lo tanto la parvada es la siguiente: 466 millones de aves, 137 millones de gallinas ponedoras, 270 millones de pollos al ciclo y 512 mil pavos al ciclo. (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

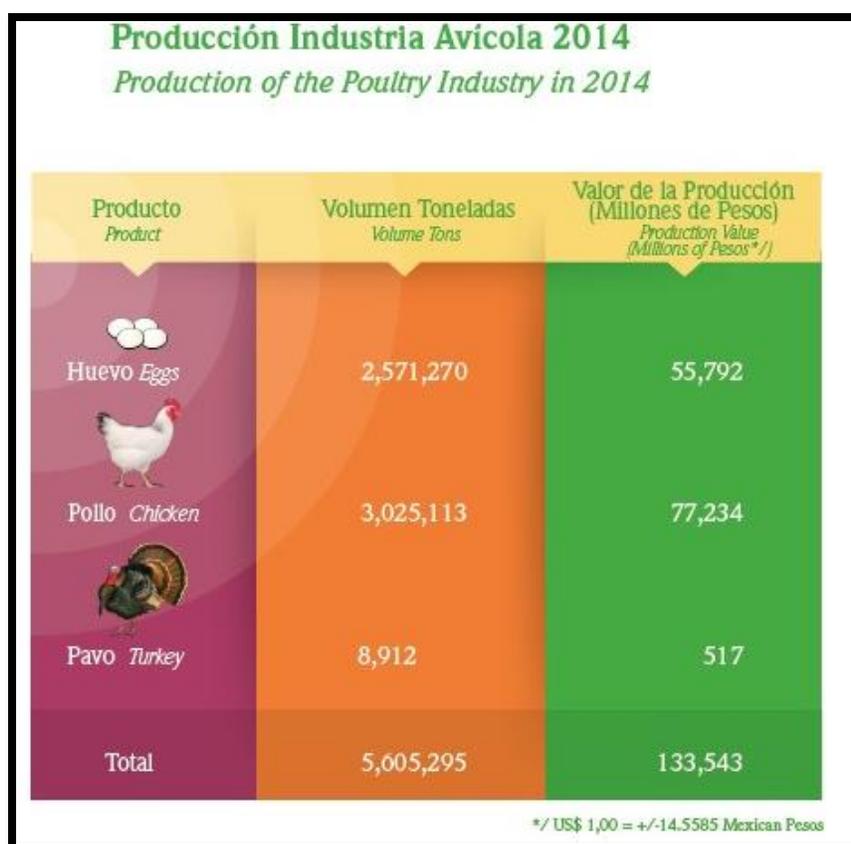


Figura 6. Producción Avícola (ElSitioAvicola, 2014).

Producción

En el 2012 se produjeron 3.002 millones de toneladas de carne de pollo. La producción de pollo en México, durante el periodo de 1994 a 2012 ha aumentado a un ritmo de crecimiento anual del 4.3 por ciento. (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

Durante el 2012, el 94% de la producción de carne de pollo en México se concentró en los siguientes estados y regiones de la República Mexicana: La Laguna, Veracruz, Querétaro, Jalisco, Aguascalientes, Nuevo León, Puebla, Chiapas, San Luis Potosí, Michoacán, Yucatán, Estado de México, Sinaloa, Guanajuato y Morelos (Fig. 7) (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

Las importaciones mexicanas de carne de ave, se han incrementado gradualmente (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

En 2012 se importó 14.2% más que el año anterior, pero lo doble de los últimos 15 años, lo que significa que la Tasa de Crecimiento Anual de 1996 al 2010 es de 10.2 por ciento (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

La comercialización de pollo en México se lleva cabo de la siguiente manera: Vivo 33%, roscicero 26%, mercado público 19%, supermercado 15%, piezas 6% y productos de valor agregado 4 por ciento. Por lo que se refiere a la producción de huevo, de 1994 a 2012 creció a un ritmo anual de 2.8%, lo que significa que en dicho lapso, su crecimiento fue de 63% (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

En los últimos años, los precios del huevo han estado por debajo de los índices de inflación. El 90% de la producción de carne de pavo en México se localiza en 8 estados: Chihuahua (24%), Yucatán (21%), Estado de México (12%), Puebla (11%), Tabasco (6%), Guerrero (5%), Veracruz (5%), Hidalgo (5%) y en otros estados tan solo el 11%. La producción de pavo fue de 8,190 toneladas anuales en 2012, con una tasa media de crecimiento anual de 1994-2010 del 0.9%. (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

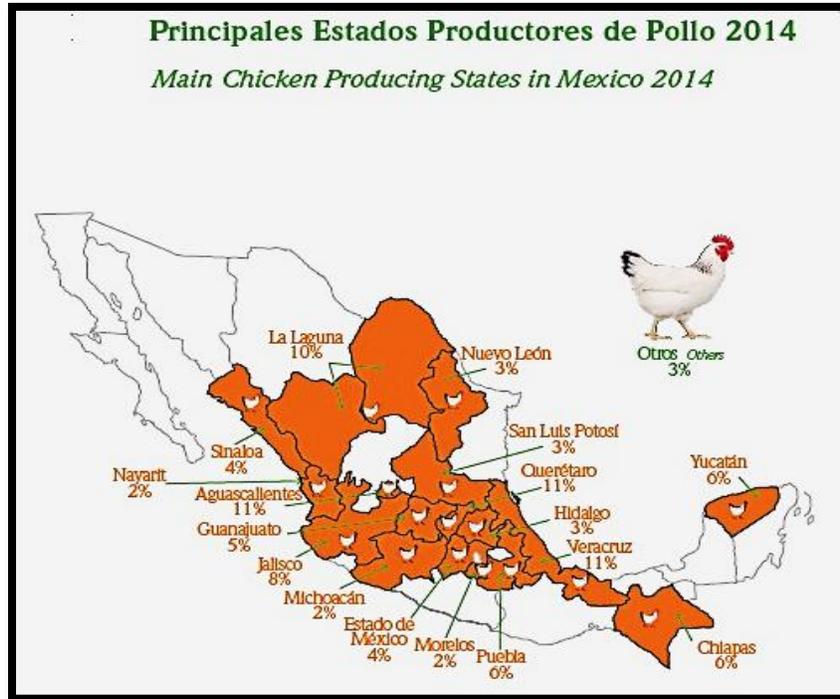


Figura 7. Principales Estados Productores de Pollo (ElSitioAvícola, 2014).

Consumo

En la alimentación del mexicano, el sector avícola juega un papel importante, ya que 6 de cada 10 personas incluyen en su dieta productos avícolas (huevo y pollo), esto se debe, en parte, a que los precios de huevo y pollo se han reducido en términos reales en la última década, y también a que ambos son alimentos nutritivos y versátiles en su preparación (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

En México el consumo per-cápita de pollo ha aumentado de 15.83 Kg. en 1994 a 25.8 kg. Durante 2012, para el 2013, se estima que el consumo de pollo alcance los 25.9 kg. Existen diversos factores que favorecen el consumo de carne de pollo en nuestro país:

- Más puntos de venta más cerca del consumidor.
- Confianza en la calidad de los productos (frescura).
- Incremento de restaurantes de comida rápida.
- Producto de alta calidad a precios accesibles.
- Tendencia de consumo hacia carnes con bajo contenido de grasa.
- Carne que permite diferentes variedades de preparación.

(Unión Nacional de Avicultores, 2012).

Tendencias Avícolas Mundiales 2014: Baja la participación de América en la producción mundial de pollo

La producción de carne de pollo (Tabla 5) en el mundo durante el 2015 (aves de mesa más gallinas ponedoras de descarte) parece excederá 97 millones de toneladas, subiendo un escalón de 2.0 por ciento respecto al año anterior. En términos generales, la carne de pollo representa alrededor de 88 por ciento de la producción total de carne avícola (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

Las previsiones para 2023 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) y la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) señalan que la producción de carne de aves crecerá 2.3 por ciento, a lo que la producción incremente de 107 millones de toneladas en 2013 a alrededor 134.5 millones de toneladas en 2023, que para ese entonces la producción de pollo será de unas 118 millones de toneladas (Unión Nacional de Avicultores, 2012).

Un problema importante en el pronóstico de producción de carne de pollo durante los últimos años ha sido llegar a estimar la producción en China. La FAO considera que la producción de carne de ave en China se redujo en demanda de pollo y disponibilidad de aves vivas para el consumo directo, casi 5 por ciento en 2014, por el efecto de la influenza aviar, por lo tanto la producción de carne de pollo parece haber declinado a unas 12.5 millones de toneladas. (ElSitioAvícola, 2014)

Región	2000	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014E	2015P
Producción de carne de pollo												
África	2.8	3.3	3.4	3.7	4.0	4.2	4.5	4.6	4.6	4.8	4.9	4.9
América	27.1	32.7	33.8	35.1	37.5	36.9	38.6	39.8	40.1	40.5	41.3	42.4
Asia	18.6	22.4	23.5	25.0	26.2	28.0	29.2	29.9	31.4	31.6	31.4	31.8
Europa	9.3	10.9	10.8	11.6	12.1	13.3	13.9	14.6	15.4	15.9	16.3	16.7
Oceanía	0.7	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.1	1.2	1.2	1.3	1.4	1.4
MUNDO	58.5	70.3	72.4	76.3	80.7	83.4	87.3	90.1	92.7	94.1	95.3	97.2
Producción de carne de pollo de engorde												
MUNDO					72.8	73.7	78.4	81.4	83.4	84.5	86.1	87.4

Tabla 5..Producción de carne de pollo a nivel mundial (millones de toneladas).

Aunque América es la región de mayor producción de carne de pollo (Fig. 8), así como la producción ha aumentado de 27 millones de toneladas en 2000 a un estimado de 42.4 millones de toneladas para este año, esta región parece haber disminuido de 46.3 a 43.6 por ciento del total mundial. Mientras tanto, Asia ha ampliado su participación en

alrededor de un punto porcentual de 31.8 por ciento a 32.7 por ciento, mientras que la contribución de Europa ha incrementado desde casi debajo del 16 por ciento a más del 17 por ciento. (ElSitioAvícola, 2015)

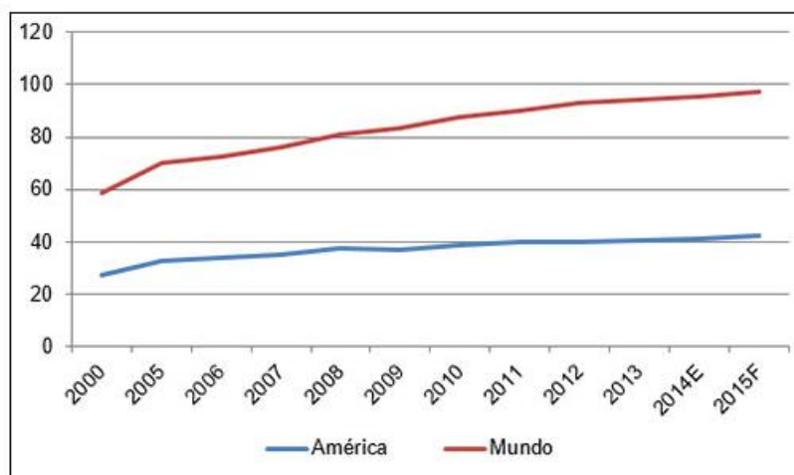


Figura 8. Producción mundial de carne de pollo ha superado lo que América había logrado (millones de toneladas)

(ElSitioAvícola, 2014)

El USDA estima que la producción mundial de pollos de engorde en países seleccionados ha subido en total de casi 73 millones de toneladas en el año 2008 a un estimado de 87.4 millones de toneladas para este año (Tabla 6).

El número de pollos sacrificados en 2012 fue casi 60,000 millones, de los cuales casi 21,000 millones fueron beneficiados en el continente americano, o sólo 35 por ciento. Sin embargo, el peso eviscerado promedio por ave en esta región fue más de 1.9 kg en comparación con la cifra global de 1.6 kg, es por esto que representó el 43 por ciento del total mundial. (ElSitioAvícola, 2015)

En América el peso promedio eviscerado varió ampliamente, desde tan bajo como 0.9 kg en Haití, donde se beneficiaron menos de 9 millones de aves, hasta más de 2.4 kg en Argentina donde se sacrificaron 685 millones en el año 2012. (ElSitioAvícola, 2015)

País	2000	2005	2008	2009	2010	2011	2012
Antillas Holandesas	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Argentina	957.0	1,008.9	1,399.1	1,500.2	1,597.4	1,648.2	1,664.2
Bahamas	4.5	5.8	5.8	6.1	6.2	6.3	6.4
Barbados	11.4	16.0	15.1	15.1	14.7	15.0	15.3
Belize	8.5	13.7	12.5	12.8	13.5	13.5	14.0
Bermuda	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Bolivia	133.9	183.0	301.9	318.9	381.7	374.3	372.2
Brasil	5,990.6	7,890.1	10,244.0	9,968.9	10,733.0	11,476.3	11,588.1
Canadá	900.0	998.0	1,013.0	1,009.0	1,021.0	1,033.0	1,042.0
Chile	380.4	457.4	510.2	513.8	503.7	561.2	571.1
Colombia	506.6	764.0	1,016.6	1,026.8	1,067.4	1,075.9	1,113.0
Costa Rica	72.8	98.7	108.7	112.8	112.2	107.0	110.7
Cuba	73.4	29.5	33.1	33.2	33.6	35.4	35.0
Dominica	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Ecuador	191.0	205.3	324.4	304.6	334.1	325.0	325.0
El Salvador	85.5	110.3	113.2	109.4	118.9	125.8	126.9
EUA	13,947.0	16,046.3	16,998.0	16,338.1	16,974.0	17,114.0	17,038.0
Granada	0.3	0.4	0.4	0.5	0.5	0.4	0.4
Guadalupe	1.3	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Guatemala	133.4	137.2	163.8	170.9	161.4	157.4	159.4
Guayana	11.8	22.7	23.2	27.1	24.8	25.5	30.3
Guayana Francesa	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Haití	7.9	7.7	7.9	7.8	7.4	7.6	7.6
Honduras	74.0	139.0	139.6	143.6	149.7	157.6	158.9
Islas Vírgenes EUA	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Jamaica	76.8	99.8	106.3	104.2	102.2	100.7	101.4
Martinica	1.1	0.7	1.0	1.1	1.2	1.3	1.3
México	1,819.4	2,432.0	2,576.4	2,632.4	2,675.8	2,758.0	2,789.5

Tabla 6. Producción de carne de pollo en América ('000 toneladas de peso eviscerado)

La Figura 9 muestra el desarrollo de las industrias de pollos de engorde en los cuatro principales países productores en esta región, desde 1990 hasta el 2015. Mientras que la producción en los EUA se ha duplicado, la industria de México ha registrado un aumento triple. Sin embargo, los acontecimientos más dramáticos han ocurrido en Brasil y Argentina, países que han logrado respectivos avances en producción de cinco y siete veces más que el nivel de 2000. (EISitioAvícola, 2015)

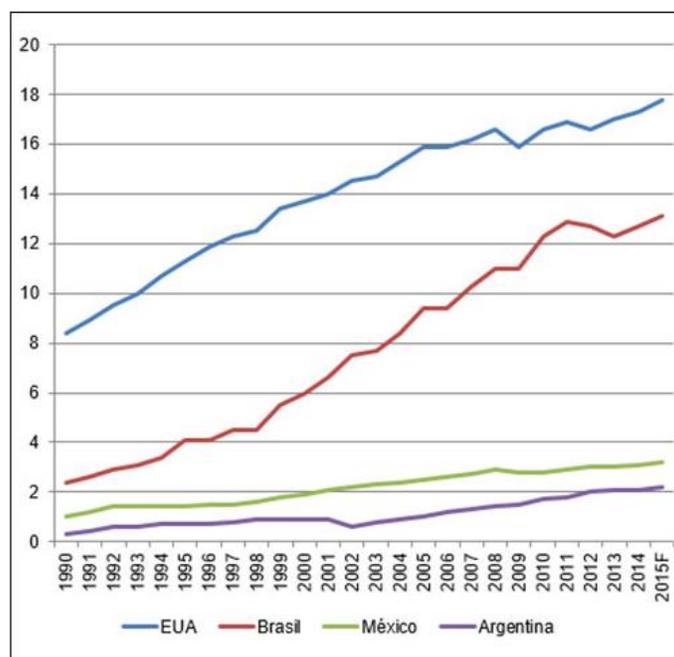


Figura 9. Crecimiento de la producción de pollos de engorde en los cuatro mayores países productores en América (millones de toneladas) (ElSitioAvícola)

En el año 2000, Canadá fue el cuarto mayor productor de América, pero en 2005 este país fue superado por Argentina y en 2009 también por Colombia (Tabla 6 y 7).

País	2000	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014P	2015P
EUA	13,703	15,870	15,930	16,226	16,561	15,935	16,563	16,694	16,621	16,976	17,254	17,752
Brasil	5,980	9,350	9,355	10,305	11,033	11,023	12,312	12,863	12,645	12,308	12,680	13,115
México	1,936	2,498	2,592	2,683	2,853	2,781	2,822	2,906	2,958	3,002	3,060	3,150
Argentina	870	1,030	1,200	1,320	1,435	1,500	1,680	1,770	2,014	2,060	2,100	2,160
Perú	541	657	712	771	879	966	1,021	1,085	1,172	-	-	-
Colombia	606	763	850	925	1,011	1,020	1,067	1,075	1,112	1,127	1,160	-
Canadá	877	977	972	1,006	1,017	1,011	1,023	1,027	1,038	1,057	1,080	1,100
Venezuela	693	739	707	740	695	680	650	625	655	660	675	-

Tabla 7. Principales productores de carne de pollo de engorde en América ('000 toneladas peso eviscerado) (ElSitioAvícola, 2014).

Según un Análisis Internacional de Huevos y Aves del USDA, la consolidación continúa junto con una mejor bioseguridad, y las crecientes inversiones de la industria podrían ampliar este año la producción de pollos de engorde en México a un récord de 3.2 millones de toneladas (ElSitioAvícola, 2015).

Productos industrializados a base de pollo

Productos congelados

Nuggets

El *nugget* de pollo (Fig. 10) fue inventado en la década de 1950 por Robert C. Baker, un profesor de tecnología de los alimentos en la Universidad Cornell, que lo publicó como trabajo académico sin patente («Obituario en la Universidad de Cornell» 2006).

Los nuggets de pollo fueron introducidos en el mercado como piezas sólidas de carne de pechuga, que se troceaba en forma de triángulo y, tras el empanizado, eran sometidas a fritura. Sin embargo, este proceso original ha derivado actualmente en otras formas de elaboración; la creciente demanda ha provocado una necesidad continua de emplear nuevas materias primas y usar tecnologías que permitan mejorar su aspecto y también sus rendimientos. Como resultado, la cantidad de pollo en ellos ha disminuido y no se compone necesariamente de la pechuga: algunas marcas también suelen utilizar pierna, muslo, carne deshuesada de otras partes del pollo, pasta de pollo e, incluso, piel. Además, se adicionan otros ingredientes como agua, aceite vegetal, harinas, almidones, sal, saborizantes, especias y proteína de soya. Hoy llamamos a esta extraña composición nugget («Obituario en la Universidad de Cornell» 2006).

A diferencia de sólo ingerir principalmente proteínas y grasa al comer pollo, cuando comemos nuggets estamos adicionando a la dieta carbohidratos: entre 13.8% y 27.1% (dependiendo de la marca, en el caso de Tyson®, en la Tabla 8 se muestra dicha información), que provienen de los otros ingredientes (PROFECO. Marzo, 2009).



Figura 10. Nuggets de pollo (vix.com, 2015).



PORCIONES	16.9	TAMAÑO DE PORCIÓN	4pzs (80g)
COMPOSICIÓN MEDIA	CANTIDAD POR PORCIÓN	COMPOSICIÓN MEDIA	CANTIDAD POR PORCIÓN
Contenido energético Kj	758KJ	Polisaturadas	1.4g
Kcal	181.6Kcal	Grasas Trans	0.0g
Carbohidratos Totales	12g	Colesterol	124mg
Proteínas	10g	Sodio	0.3g
Grasas Totales	10.4g	Niacina (Vit. B3)	4mg
Saturadas	4.2g	Fosforo	
Monosaturadas	4.8g		

Tabla 8. Información Nutricional Nuggets de pollo marca Tyson®

Cordon Bleu

El término *Cordon Bleu* (Fig. 11) sugiere el uso de queso Gruyere y jamón. Inicialmente, se preparaba la pechuga Cordon Bleu sólo con jamón, y no fue hasta el siglo XX que se le añadió el queso a dicho platillo (Advance Food de México. 4 de enero, 2012).

Debido a la versatilidad de su carne, el pollo fue tomando lugar en la gastronomía hasta el punto de que muchos chef famosos lo tomaron para preparar exquisitos platos que han llegado a recibir reconocidos premios mundiales como el pollo “Le Cordon Bleu”, esta es una distinción otorgada por la mayor escuela para cocineros que fue fundada en la ciudad cosmopolita de París hace más de 100 años, con una reconocida historia y experiencia en la enseñanza culinaria (Advance Food de México. 4 de enero, 2012).

A medida que se fue popularizando la receta, aparecieron nuevas versiones con pollo y pescado, teniendo gran acogida la elaborada con la pechuga del ave mencionada, por ser más económica y tener agradable sabor (Advance Food de México. 4 de enero, 2012).

A fines del siglo XIX, exactamente en 1895, la periodista francesa Marthe Distel popularizó el término *cordón bleu* al crear la revista de cocina *La Cuisiniere Cordon Bleu*. Tal fue su acogida que al año siguiente de su lanzamiento decidieron ofrecer clases gratuitas a sus suscriptores en forma de agradecimiento (Advance Food de México. 4 de enero, 2012).

También se le conoce como *escalope cordon bleu*, término francés que hace referencia a la carne delgada, empanada y frita (Advance Food de México. 4 de enero, 2012).



Figura 11. Cordon Bleu (diariodepalenque.com.mx, 2017).

Su nombre –que traducido al castellano significa ‘cordón azul’- hace referencia a la denominación más exclusiva de la caballería francesa creada por Enrique III en 1578, ya que esta orden se caracterizaba por llevar una cruz de oro sobre una faja o cinta azul. Otra versión dice que se debe a que los cocineros de la realeza francesa ataban sus delantales con Cintas azules (Advance Food de México. 4 de enero, 2012).

En la Tabla 9 se muestra la información nutrimental de este producto de la marca Tyson®

PORCIONES		TAMAÑO DE PORCIÓN	
4 piezas		200g	
COMPOSICIÓN MEDIA	CANTIDAD POR PORCIÓN	COMPOSICIÓN MEDIA	CANTIDAD POR PORCIÓN
Contenido energético Kj	1472kJ	Polisaturadas	1.5g
Kcal	347kcal	Grasas Trans	0.0g
Carbohidratos Totales	23g	Colesterol	68mg
Proteínas	35g	Sodio	0.6g
Grasas Totales	12.8g	Niacina (Vit. B3)	65mg
Saturadas	5.3g	Fosforo	357mg
Monosaturadas	6.0g		

Tabla 9. Información Nutrimental Cordon Bleu Marca Tyson®.

Flautas de Pollo

Las flautas (Fig. 12) son un platillo de la gastronomía mexicana, originarios de Sinaloa («Antojitos mexicanos». 1 de noviembre de 2015), que consisten en una tortilla de maíz enrollada, rellena con diferentes ingredientes, principalmente carne deshebrada de pollo o res, aunque puede ir rellena de queso o papa, para posteriormente freírla en aceite de modo que quede crujiente. Se sirve acompañada de salsa verde, guacamole y crema (Griffith, James S. 14 de abril de 1997).

Para su elaboración se utilizan tortillas (recién hechas de preferencia), carne de pollo o res, deshebrada (también puede ser mixto), papa o queso, salsa verde o roja, crema ácida y guacamole. Primero se enrolla la tortilla con el relleno dentro, después se fríe hasta quedar crujiente, se sirven típicamente cubiertas con el guacamole, la crema y la salsa roja o verde (Griffith, James S. 14 de abril de 1997).



Figura 12. Flautas de Pollo (i.ytimg.com, 2015).

Medallones de pollo

El medallón (Fig 13) se define como un trozo de carne pequeño y redondo, generalmente tierno y magro, que necesita un tiempo de cocción muy corto (Hispavista, 2015).

La información nutrimental de este producto se muestra en la Tabla 10.



Figura 13. Medallones de Pollo (revistalabarra.com, 2016).

▶ INFORMACIÓN NUTRIMENTAL:	
Tamaño de porción:	100 g
Contenido energético:	767 kJ (185 kcal)
Proteínas:	12,57 g
Grasas (lípidos):	14,82 g de las cuales
Grasa saturada:	0,28 g
Carbohidratos:	0,32 g de los cuales
Azúcares:	0 g
Fibra dietética:	0 g
Sodio:	860 mg

Tabla 10. Información Nutrimental Medallones de Pollo

Alimento húmedo para mascota

Las latas, o dieta húmeda, suelen ser atractivas para los perros. Pero también conllevan algunos problemas. Cuando el perro lleva una vida sedentaria, hay que evitar que la alimentación de nuestro animal esté compuesta en exclusiva de latas, ya que es probable que desarrolle algún tipo de obesidad si no se controlan bien las cantidades. Este tipo de alimentos enlatado tiene una densidad calórica mayor. La calidad es otro elemento a tener en cuenta a la hora de elegir una lata. Los productos de bajo precio tienen el riesgo de que estar fabricados con ingredientes de mala calidad. "No será raro que en una lata de

bajo precio os encontréis plumas de aves o trozos de hueso", afirma el veterinario José Enrique Zaldívar, autor del blog blogveterinario.com (Zaldívar, 2012).

Whiskas® Fillets Pollo

Ingredientes:

Agua Suficiente para el Proceso, Carne y/o subproductos (menudencias) de Ave y/o Res y/o Cerdo y/o Pescado, Derivados de Cereales, Carne y/o subproductos (menudencias) de Pollo, Sal Yodatada, Taurina, Sabores Naturales, Antioxidantes, Colorantes Naturales y/o Artificiales, Espesantes y/o Gelificantes y/o Estabilizantes. MINERALES: Sales u Óxidos de Calcio, Potasio, Fósforo, Magnesio, Zinc, Manganeso, Cobre, Yodo. VITAMINAS: Suplementos de Vitaminas E, Colina, Tiamina (B1), Menadiona (K), D (<https://www.whiskas.mx>).

La información nutricional de este producto se muestra en la Tabla 11.



Análisis Garantizado (%):	
Humedad	(máx) 82,0%
Proteína Cruda	(mín) 8,0%
Grasa Cruda	(mín) 3,0%
Fibra Cruda	(máx) 2,0%
Cenizas	(máx) 3,0%
Calcio	(mín. - máx.) 0,2 - 0,5%
Fósforo	(mín) 0,2 - 0,8%
Taurina	(mín) 0.05%

Tabla 11. Información Nutricional Whiskas® Fillets Pollo

Purina® Dog Chow® Alimento húmedo para perro:

Ingredientes:

Agua suficiente para proceso, carne de pollo, carne de pavo, vísceras de cerdo, gluten de trigo, harina de soya, almidón de maíz modificado, tocino (preservado con nitrito de sodio), sal, cloruro de potasio, colorantes (caramelo, dióxido de titanio), fosfato de calcio, cloruro de colina, carbonato de calcio, sulfato de zinc, suplemento de vitamina E, sulfato ferroso, niacina, sulfato de cobre, mononitrato de tiamina, sulfato de manganeso, pantotenato de calcio, hidrocloreuro de piridoxina, suplemento de vitamina B-12, suplemento de riboflavina, suplemento de vitamina A, ioduro de potasio, ácido fólico, suplemento de vitamina D-3, biotina, selenito de sodio (Ver Tabla 12).(<https://www.purinalatam.com/mx/dogchow/home-page.aspx>)



ANÁLISIS GARANTIZADO	
Proteína Cruda (min)	9,5%
Grasa Cruda (min)	3,0%
Fibra Cruda (máx.)	1,5%
Humedad (máx.)	80,0%
Cenizas (máx.)	3,5%

Tabla 12. Composición química del alimento húmedo para perro Purina®Dog Chow®

PEDIGREE® Cachorro Pollo en filetes

Son nutritivos trocitos de carne que no alteran la calidad de las heces y que proporcionan una alimentación tan completa y balanceada como el alimento seco que ya conoces. Puedes servirse solo o combinado con alimento seco. <https://www.pedigree.com.mx/productos/283-cachorro-pollo-en-filetes>

INGREDIENTES	ANÁLISIS GARANTIZADO	GUÍA DE ALIMENTACIÓN
		<p>Agua Suficiente para el Proceso, Carne y/o subproductos (menudencias) de Ave y/o Res y/o Cerdo y/o Pescado, Derivados de Cereales, Carne y/o subproductos (menudencias) de Pollo, Concentrados Proteicos Vegetales, Espesantes y/o Gelificantes y/o Estabilizante, Fibras Naturales, Aceite Vegetal (Fuente Natural de Ácido Linoleico), Sal Yodatada, Colorantes Naturales y/o Artificiales, Antioxidantes. MINERALES: Sales u Óxidos de Calcio, Potasio, Fósforo, Zinc, Cobre, Yodo. VITAMINAS: Suplementos de Vitaminas E, Colina, Menadiona (K), D.</p>

Figura 14. Ingredientes Pedigree®Cachorro Pollo en filetes

Franquicias de comida

Comida china

La Gastronomía de China (Fig. 15) es una de las más ricas debido a la antigua tradición culinaria del país, y está muy ampliamente representada en el mundo. Se puede decir que originariamente procede de diferentes regiones de China y que se ha expandido a otras

partes del mundo — desde el sureste de Asia pasando por el continente americano hasta toda Europa. La cocina china está íntimamente relacionada no sólo con la sociedad, sino también con la filosofía y la medicina china. Distingue entre el *cai* (verduras cocinadas y por extensión todo lo que acompaña los cereales) y los cereales en sí, el *fan*. Los alimentos *yin* (femeninos) son alimentos tiernos y ricos en agua como las frutas y las verduras, y tienen un efecto refrescante. Los alimentos *yang* (masculinos) incluyen los platos fritos, especiados y a base de carnes, y sirven para recalentar. Si toda comida tiene que armonizar los sabores, las comidas chinas tienen también que buscar un equilibrio entre lo frío y lo caliente, los colores y la consistencia de los diversos alimentos. Por ello las técnicas culinarias chinas son numerosas y particularmente variadas (Gimenez, 2005).

La sucesión de platos tal y como se conoce en los países occidentales es sustituida por la búsqueda del equilibrio entre los cinco sabores básicos (dulce, salado, ácido, amargo y picante). Por ello, los platos con sabor exclusivamente dulce sólo se ofrecen al final de los festines dados con motivo de grandes celebraciones. La vista también juega un papel importante en la presentación de los platos. Algunos platos se sirven con fines esencialmente terapéuticos, como los nidos de golondrinas o las aletas de tiburones que son ingredientes insípidos. El concepto de la complementariedad entre lo frío y lo caliente, heredado de la medicina china, se toma particularmente en cuenta en la gastronomía del sur de este país (Gimenez, 2005).



Figura 15. Comida china (china-family-adventure.com, 2015).

King de Pollo™

Información del producto: El *King de Pollo*™ se prepara con pollo empanizado con dos rebanadas de queso amarillo y combinación de lechugas y mayonesa cremosa sobre un pan suave alargado con ajonjolí (<http://www.burgerking.com.mx>).

La información nutrimental de la *King de Pollo*™ se muestra en la tabla 13.

Calorias	630	Azúcares	4g	Grasas Trans	2.5g
Proteínas	25g	Grasas Totales	36g	Fibra	90mg
Carbohidratos	53g	Grasa Saturada	7g	Sodio	1230mg

Tabla 13. Información Nutricional King de Pollo TM

McPollo [®]

Información del producto: Crujiente pollo con mayonesa y lechuga, en pan con semilla de sésamo (<http://www.mcdonalds.com.mx>).

La información nutricional de la hamburguesa McPollo se muestra en la Tabla 14.

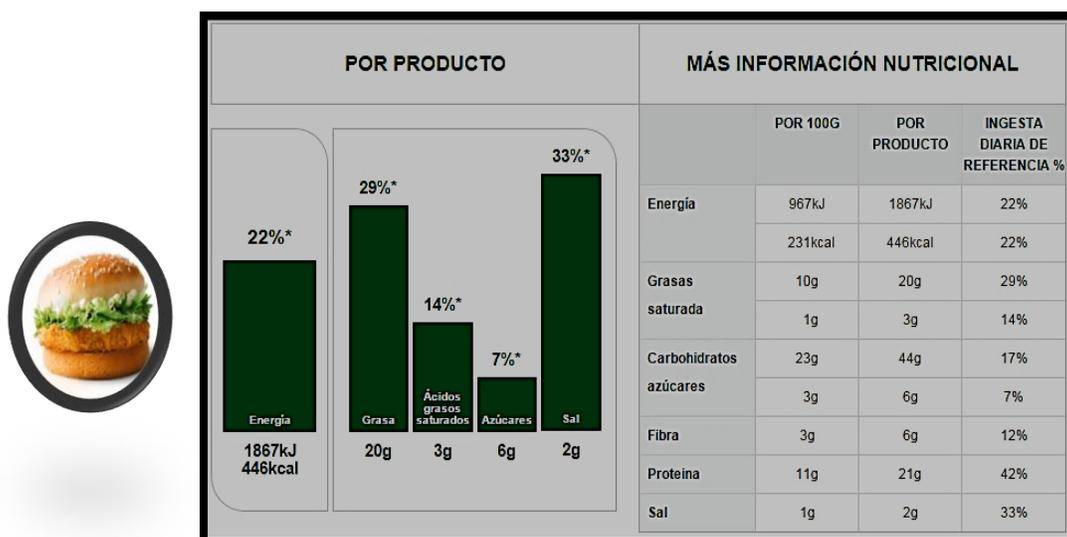


Tabla 14. Información Nutricional Mc Pollo [®]

Capítulo 2. Adulteraciones en pollo

Adulteración de productos

La adulteración de los alimentos consiste en la desnaturalización de los mismos al añadir una sustancia extraña, sustituir un componente natural por otros de naturaleza similar pero de menor precio (sustitución de la grasa de la leche por grasas vegetales), adicionar agua (aguado de la leche) o añadir en exceso una sustancia que por la presentación del producto ya debe contener (exceso de azúcar en el café torrefacto) (M. Hernández, 1999).

El estado legal de la adulteración es mayormente un asunto de estatuto, que varía con cada cuerpo gubernamental que ataca el problema. Un alimento se declara adulterado si se le ha añadido una substancia que lo deprecia o lo afecta nocivamente; si se sustituye completamente o en parte con substancias más baratas o inferiores; si se le ha quitado del todo o en parte un constituyente valioso o necesario; si es una imitación; si es coloreado o tratado de otra forma para mejorar su apariencia; si contiene cualquier substancia dañina para la salud. Estos son ejemplos de provisiones estatuidas. Consideraciones políticas, tales como el deseo de proteger a los productores de alimentos de un país, pueden afectar la legislación. Así la adulteración puede ser definida para incluir productos extranjeros, los cuales de otro modo podrían ser tratados como no objetables (Hassell, 1876).

El dicho "que no te den gato por liebre" podría resumir una de las preocupaciones más recurrentes tanto para el consumidor como para las administraciones, pero también para los fabricantes y productores del sector alimentario, que deben ser muy estrictos cuando verifican la pureza de las materias primas que utilizan. Además de constituir un fraude económico, las adulteraciones suponen un grave riesgo para la salud de los consumidores, dado que el alimento puede contener sustancias nocivas o generarlas al comportarse de manera inesperada. También los elementos alergénicos no declarados en un alimento adulterado ponen en peligro al consumidor sensible (Pelayo, 2011).

Formas de detectar adulteraciones

Por todas estas razones, la detección de adulteraciones en todos los niveles de la cadena es uno de los ámbitos en los que la seguridad alimentaria está siempre alerta y trabaja de manera activa. Uno de los alimentos adulterados con mayor frecuencia ha sido el aceite de oliva. Su elevado precio provoca que, en ocasiones, pueda someterse a mezclas con otros aceites, como el de semilla, no permitidas de forma legal y que abaratan su coste, pero con posibles consecuencias negativas para la salud. Los métodos de análisis rutinarios en aceites para evaluar su calidad y determinar su grado de pureza o posible adulteración se basan en técnicas analíticas instrumentales de gran precisión, como espectrofotometría y cromatografía, tanto de gases como líquida, que aportan una especie de huella dactilar del alimento, comparada con la almacenada como patrón. Otro de los sistemas de investigación de posibles adulteraciones consiste en la búsqueda de marcadores específicos de un alimento, sustancias químicas exclusivas que puedan detectarse de manera rápida y segura, aunque esto no es siempre posible. Los análisis de DNA, el material genético, suponen una excelente manera de conocer de forma fiable la verdadera identidad de un alimento. El continuo trabajo de investigación en este campo hace que día tras día se disponga de métodos y herramientas cada vez más sofisticados para su detección (Pelayo, 2011).

Productos adulterados de pollo

Productos congelados

El 17 de noviembre del 2015 en Washington un establecimiento localizado en Pine Bluff, Ark. retiró del mercado aproximadamente 52,486 libras de varios productos de pollo debido a que pueden haber sido adulterados ya que despiden un mal olor, anunció el Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos del Departamento de Agricultura (U.S. Department of Agriculture's Food Safety and Inspection Service - FSIS por sus siglas en inglés) (G. N. Johnston, 2015).

El problema fue descubierto cuando Tysons Food Inc. recibió una notificación por parte de un consumidor indicando que el producto dentro del empaque despedía mal olor. El consumidor también indicó que se enfermó por el consumo de dicho producto. Luego de recibir esta notificación, Tysons Food Inc. notificó a FSIS de lo sucedido (G. N. Johnston, 2015).

FSIS conduce rutinariamente cotejos de efectividad para asegurarse que la compañía notifique a sus clientes acerca de la retirada y esté tomando los pasos necesarios para que el producto ya no esté disponible a los consumidores (G. N. Johnston, 2015).

Franquicias de comida rápida y comida china

China vuelve a marcar un nuevo récord en escándalos alimentarios, según AsiaInspection. La empresa de control destaca que un 50% de los productos de alimentación con origen en el gigante asiático no llegan a ser aprobados en los estados de destino (Breteau, 2014).

En el informe se destacan algunos de los casos de los últimos meses como la incautación de 30.000 toneladas de muslos de pollo empapadas en peróxido de hidrógeno, la venta de carne caducada o la puesta en circulación de más de 90 millones de cápsulas de gelatina tóxicas (Breteau, 2014).

La ley china de seguridad alimentaria está siendo revisada con un consecuente aumento de las sanciones. A partir de ahora, destacan desde AsiaInspection, los controles recaerán sobre el fabricante, quien tendrá que demostrar que el alimento cumple con los estándares exigidos (Breteau, 2014).

En el caso de la venta de carne caducada se vieron implicadas multinacionales como McDonalds o KFC. A partir de entonces, la normativa en la ciudad china de Shanghái establece que cinco cadenas de restaurantes internacionales deban informar del origen de los ingredientes que usan en los platos que ofrecen (Breteau, 2014).

El año pasado se registraron otros escándalos como el de hierbas medicinales con arsénico en Suecia, el de pescado chino con formaldehído en supermercados de Estados

Unidos, toneladas de carne falsa incautadas en China, pollo caducado desde hacía casi medio siglo o la venta de carne de rata y zorro como si fuera de cordero (Breteau, 2014).

Alimento para mascotas

Se cree que las campañas publicitarias y de comercialización de marcas como Nutrecan, Dog Chow, Pedigree y Purina Pro-Plan son fantásticas ya que nos muestran aquellos bellos ejemplares, fieles amigos del hombre, mientras que hablan de los “¡Extraordinarios! Beneficios” que uno u otro alimento tiene en comparación de los demás, y que éste y aquél se diferencian en los ingredientes de una y otra forma ya que mientras uno tiene ingredientes de carne y leche el otro tiene entre sus componentes principales pollo como fuente principal de proteína, y un sinfín de cosas más (PET FOOD Colombia, 2008).

Animales de compañía procedentes de clínicas, perreras y protectoras pueden y son reciclados y usados como fuentes de proteína en los alimentos para mascotas. Las operaciones de retirada del ganado muerto juegan un papel muy importante en la industria alimentaria para mascotas. Animales muertos, atropellados en las carreteras que no se pueden enterrar a un lado y en algunos casos animales de zoológicos son recogidos en estas operaciones del ganado muerto. Cuando un animal muere en el monte o es sacrificado por una enfermedad o incapacidad, los operadores del ganado muerto los recogen y los transportan a la planta de recogida. Ahí el animal muerto es preparado para carne o, dependiendo en el estado de descomposición, llevado a la planta de procesamiento. En las plantas de recogida, los animales de valor son desollados y desviscerados. Las pieles de vacuno se venden para cuero. La carne utilizable se separa del cadáver y se recubre con carbón para prevenir que se utilice para consumo humano. Entonces la carne se congela y vende para alimentación animal, lo que incluye a los alimentos para mascotas (PET FOOD Colombia, 2008).

Los paquetes de esta carne congelada deben marcarse claramente como "no apto para consumo humano". El resto del cadáver y productos de peor calidad como las vísceras, grasa, etc. se envían a las instalaciones de reciclado. Las plantas de reciclado son ollas en ebullición para todo tipo de desechos. Grasa y basura de restaurantes; carnes y productos cocidos más que caducados de los supermercados (bandejas de corcho y films de plástico incluidos); las entrañas de las operaciones de retirada del ganado muerto y el material contaminado decomisado en los mataderos. Todo esto se procesa (PET FOOD Colombia, 2008).

Los mataderos donde los ganados vacuno, porcino, caprino, ovino, aviar, etc. encuentran su destino final, proveen más combustible para el procesamiento. Tras el sacrificio, se separan las cabezas, pezuñas, piel, uñas, pelo, pluma, menudillos y corvejones y las glándulas mamarias. Este material se envía para procesamiento. Los animales que han muerto de camino al matadero se procesan. Los tejidos cancerosos o tumores y los órganos infestados de gusanos se procesan. Zonas de inyecciones, coágulos de sangre, esquirlas óseas u otra materia ajena se procesan. La sangre contaminada se procesa. Estómagos e intestinos se procesan. Material contaminado que contiene o ha sido tratado

con sustancias no permitidas por o en cantidades que exceden los límites marcados por el Acto de Alimentos y Drogas o el Acto de Protección Ambiental. En otras palabras, si un cadáver contiene altos niveles de drogas o pesticidas este material se procesa (PET FOOD Colombia, 2008).

Antes del procesamiento, este material de los mataderos se "desnaturaliza", lo que significa que el material del matadero se recubre con una sustancia particular para prevenir que vuelva a la cadena de alimentación humana. En Estados Unidos las sustancias utilizadas para desnaturalizar incluyen: ácido carbónico crudo, aceite de combustible o citronella. En Canadá el agente desnaturalizante es Birkolene B. Cuando pregunté, el Ministerio de Agricultura no divulgaba la composición del Birkolene B, alegando que sus ingredientes son un secreto de marca (PET FOOD Colombia, 2008).

En la planta de procesamiento el material de mataderos, los desechos de restaurantes y supermercados, el ganado muerto, los animales atropellados y los animales de compañía eutanasiados se echan en unos contenedores gigantes. Una máquina va picando despacio toda la porquería. Tras ser desmenuzada, se cocina a temperaturas de entre 220 y 270 grados F. (104.4 a 132.2 grados C.) durante veinte minutos a una hora. La grasa sube a la superficie, donde se retira de la mezcla. Esta es la fuente de grasa animal en la mayoría de los alimentos para mascotas. El material restante, el crudo, se pone entonces en una prensa donde se extrae la humedad. Lo que tenemos ahora es harina de carne y hueso (PET FOOD Colombia, 2008).

La Asociación de Oficiales de Control Alimentario Americanos en sus "Definiciones de Ingredientes" describe la harina de carne como el producto obtenido por procesamiento de tejido de mamíferos exclusivo de contenido de sangre, pelo, pezuña, piel, recortes, estiércol, estómago y rumen (el primer preestómago o panza de un rumiante) excepto en tales cantidades como puedan ocurrir inevitablemente en buenas prácticas de procesado. En un artículo escrito por David C. Cooke, "Animal Disposal: Fact and Fiction", Cooke anotaba, "¿Se puede imaginar el intentar separar el pelo y los contenidos gástricos de 600,000 toneladas de perros y gatos antes de cocinarlos?" Parece que o bien la definición de harina de carne o de harina de carne y hueso debiera redefinirse o necesite una mejor descripción de las "buenas prácticas de fábrica" (PET FOOD Colombia, 2008).

Cuando los animales se recogen y envían a estas instalaciones de procesamiento, puedes estar seguro que los contenidos gástricos no se quitan. La sangre no se drena ni se quitan cuernos ni pezuñas. La única porción del animal que puede que se quite es la piel y alguna carne que se pueda preparar y no excesivamente enferma para ser vendida como alimento crudo para mascotas o alimento del ganado. El Ministro de Agricultura en Quebec dejó claro que los animales de compañía se procesan enteros (PET FOOD Colombia, 2008).

La revista Pet Food Industry dice que un fabricante de alimento para mascotas puede rechazar el material procesado por varias razones, incluida la presencia de material extraño (metales, pelo, plástico, goma, cristal), mal olor, demasiadas plumas, pelo o

cerdas, pedazos de huesos, moho, análisis químico que se sale de lo especificado, añadido de sangre, plumas o carbonato cálcico, metales pesados, contaminación por pesticidas, picado o densidad bruta no adecuados e infestación por insectos (PET FOOD Colombia, 2008).

Si la etiqueta en el alimento para mascotas que compras dice que contiene harina de carne o harina de carne y hueso es más que probable que esté compuesto por todos los materiales expuestos arriba (PET FOOD Colombia, 2008).

La carne como la define la Asociación de Oficiales de Control Alimentario Americanos (AAFCO), es la carne limpia derivada de mamíferos sacrificados en mataderos y se limita a la parte del músculo estriado que es esquelética o que se encuentra en la lengua, diafragma, corazón o esófago; con o sin la grasa que la recubre y acompaña y las porciones de piel, sinovia, nervios y vasos sanguíneos que normalmente acompañan a la carne. Cuando en una etiqueta de alimento para mascotas lees que el producto contiene "carne de verdad", te están dando vasos sanguíneos, sinovia, etc., apenas la carne sabrosa que la industria nos quiere hacer creer que está poniendo en el alimento (PET FOOD Colombia, 2008).

Los subproductos cárnicos son las partes limpias no recicladas distintas a la carne derivadas de mamíferos sacrificados en mataderos. Incluye, pero no está limitado a, pulmones, bazo, riñones, sesos, hígado, sangre, hueso, tejido graso parcialmente desengrasado a bajas temperaturas y estómagos e intestinos liberados de su contenido. De nuevo, ten por seguro que si se pudieran usar para consumo humano, tal como los riñones y los hígados, no irían al alimento para mascotas. Si un hígado está infestado por parásitos, si los pulmones están llenitos de neumonía, estos pueden convertirse en alimento para mascotas. Sin embargo, en Canadá, los intestinos libres de enfermedad se pueden todavía usar para embutido para humanos en lugar de alimento para mascotas (PET FOOD Colombia, 2008).

Normatividad

La industria alimentaria no es ajena a la gestión de riesgos. En la batalla por obtener la preferencia de compra de los consumidores, el retiro de productos alimenticios de los anaqueles por contaminación o adulteración puede ser catastrófico. Las repercusiones a la salud pública, de negocio, las consecuencias jurídicas y morales resultantes de fallas en la inocuidad alimentaria y en la calidad son cuestiones prioritarias para todos los fabricantes. Importantes recursos se dedican a minimizar estos riesgos, generalmente a través de una variedad de sistemas específicos de inocuidad industrial y sistemas de aseguramiento de la calidad (QA). El continuo aumento de la demanda, ha iniciado una carrera meteórica de crecimiento del abastecimiento global de alimentos y la creación de

sedes multinacionales manufactureras, haciendo de la gestión de riesgos una tarea de alta complejidad y desafiando a los sistemas de calidad e inocuidad a adaptarse constantemente (Mejía, 2013).

La contaminación y la adulteración son amenazas distintas. Mientras que ambas implican la presencia de algo que no debería estar en un producto alimenticio, la contaminación es accidental y generalmente predecible (los fabricantes son conscientes de los riesgos potenciales y de cómo deben ser controlados, sin embargo existe un evidente lapsus de calidad en un evento de contaminación). La adulteración motivada por beneficios económicos, sin embargo, implica la sustitución deliberada e intencional de la sustancia alimenticia prevista por una más barata, incluyendo la simple dilución de la sustancia esperada con un disolvente como el agua. Un elemento importante es que dicha sustitución o dilución se produce sin el conocimiento del vendedor. Por lo tanto, esto crea una singularidad en el sistema de inocuidad alimentaria, en el que nadie (aparte del autor) es capaz de evaluar las consecuencias a la salud de los consumidores debido a la exposición al adulterante. Además, para garantizar acuerdos comerciales futuros, la adulteración con motivos económicos fraudulentos es a menudo ideada para evitar la detección mediante los sistemas de análisis estándar de aseguramiento de la calidad (pruebasQA / QC).

La adulteración como un problema de inocuidad alimentaria no ha captado aún la atención de la opinión pública. La contaminación, especialmente la microbiana, tiende a generar la mayoría de los titulares y, de hecho, presenta consecuencias potencialmente serias para la salud de los consumidores. Por otro lado, la adulteración intencional puede ser un problema igualmente importante y no suele ser reportado. A pesar de que ha existido durante cientos (quizá miles) de años, la adulteración intencional sólo ha ganado popularidad recientemente con la publicación de un informe de la Oficina de Responsabilidad Gubernamental de Estados Unidos (GAO, en inglés), que en noviembre de 2011 evaluó la capacidad de La Administración de Medicamentos y Alimentos de E.E.U.U. (U.S. FDA, en inglés) para detectar la adulteración en los alimentos y los medicamentos, además de los desafíos que enfrenta la agencia (en su mayoría derivados de la globalización) y las opciones posibles para prevenir esta amenaza (Mejía, 2013).

En dicho informe se indica cuánto trabajo hace falta todavía para hacer frente a este problema. Por supuesto, los gobiernos y la industria han tomado medidas en los últimos años, sobre todo como consecuencia de la aparición de algunos episodios de adulteración de alto perfil. La primera reunión pública donde la FDA trató el tema de la adulteración por motivos económicos se llevó a cabo en el año 2009. En 2010, la principal asociación comercial, representante de las empresas de alimentos, bebidas y productos de consumo más grandes del mundo, "The Grocery Manufacturers Association", dio a conocer un informe que había encargado sobre el tema. Entre otras conclusiones, el informe indica que el costo de un incidente de adulteración de producto está entre el 2 y el 15 por ciento de los ingresos anuales de una empresa. El informe también presentó una serie de estrategias de disuasión, incluyendo el desarrollo de especificaciones de los ingredientes alimenticios (Mejía, 2013).

Hoy en día, hablar de adulteración o falsificación de los alimentos, es hablar de un problema que ha acompañado a la industrialización de los mismos desde tiempos ancestrales, siendo los consumidores los principales afectados. De igual manera, se daña severamente al sector productivo, ya que la elaboración de productos de dudosa calidad u origen, permiten que este sector adquiera materias primas de inferior calidad, las transforme y haga pasar como materias de buena calidad (Hernández, 2010).

La adulteración de los alimentos cárnicos, no sólo es cada día más difícil de detectar para erradicar esta práctica, sino que es difícil de legislar. La información que obtiene el consumidor por las empresas procesadoras de alimentos, ya sea por medio de la promoción publicitaria o el etiquetado de sus productos, no es garantía de que el alimento contiene lo estipulado por ellos (Hernández, 2010).

A nivel global, cada día se está haciendo más estricta la legislación para determinar la adulteración en los alimentos. En México existen normatividades que están enfocadas a la determinación de especificaciones sanitarias y fisicoquímicas más no a la determinación de la adulteración de los mismos. En este sentido, la tendencia del consumidor actual además de demandar alimentos saludables e inocuos, el adquirir un producto genuino y sin duda de su origen, satisficará sus necesidades (Hernández, 2010).

La determinación de la autenticidad alimentaria es del interés de los consumidores para que se garantice su origen, ya que depende totalmente de la veracidad de la lista de ingredientes en el etiquetado, por lo que es necesario el desarrollo de sistemas analíticos que determinen el origen de cada uno de los componentes alimentarios, identificando los fraudes que se puedan cometer. Considerando la poca o nula información de la sociedad en general sobre los tipos de adulteración de productos cárnicos, investigadores del Dpto. de Ciencias Agronómicas y Veterinarias desarrollan metodologías analíticas que ayuden a detectar estas prácticas fraudulentas (Hernández, 2010).

Capítulo 3. Generalidades de la PCR para la autenticación de especies

Importancia de la autenticación de alimentos por PCR

La introducción de métodos sin la utilización de células para multiplicar fragmentos de DNA de origen definido a partir de una mezcla compleja, facilitó en gran medida el análisis molecular de genes. El método llamado reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que cumple con estas características, fue desarrollado en 1985 (Passarge, Genética).

Principios de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

Definición.- Es un método que no utiliza células, rápido y sensible, aplicado para multiplicar fragmentos de DNA, que puede llevarse a cabo multiplicando una máquina automatizada (denominada termocicladora) (Passarge, Genética).

La PCR estándar es un procedimiento *in vitro* que permite amplificar secuencias de DNA definidas a partir de pequeñas cantidades de DNA de diferentes orígenes. Esta amplificación selectiva requiere alguna información previa acerca de las secuencias que flanquean en DNA blanco. Sobre la base de esta información se diseñan dos oligonucleótidos cebadores (primers) de alrededor de 15 a 25 pares de bases de longitud. Los cebadores son complementarios de las secuencias por fuera de los extremos 3' del sitio blanco y se unen a ellas en forma específica (Passarge, Genética).

Durante la PCR las moléculas de DNA de cadena doble se desnaturalizan, cada cadena simple sirve como molde para la síntesis de una nueva cadena, y luego se renaturalizan con una cadena complementaria en condiciones controladas. La PCR es una reacción en cadena de 25 a 35 ciclos (Passarge, Genética).

Componentes de la reacción

Sabemos que el objetivo de la reacción en cadena de la polimerasa es obtener muchas copias de un fragmento de DNA, para después poder visualizar este fragmento y utilizarlo en otras aplicaciones si es necesario. Para alcanzar este resultado, es necesario añadir a la reacción lo siguiente:

1. El DNA a partir del cual queremos obtener una copia de un fragmento, es decir, el DNA que queremos amplificar. Este DNA se conoce como DNA molde.
2. Una enzima capaz de generar una copia de DNA a partir del DNA molde: una DNA polimerasa. La reacción se lleva a cabo en un tampón apropiado para el funcionamiento de la enzima polimerasa. Además, como cofactores de la polimerasa se añaden cationes divalentes, generalmente en forma de cloruro de magnesio ($MgCl_2$).
3. Iniciadores de la reacción: Las enzimas DNA polimerasas únicamente son capaces de añadir nucleótidos al extremo 3' libre de una doble cadena de DNA. Son necesarios por tanto moléculas cortas (entre 10 y 30 bases) de DNA de cadena sencilla. Estas moléculas son los cebadores o primers de la reacción.
4. Nucleótidos libres: las enzimas DNA polimerasas van a crear una cadena complementaria a la cadena molde mediante la incorporación de nucleótidos al extremo 3' libre del cebador que se ha unido a la cadena molde. Los nucleótidos se añaden en forma de desoxirribonucleósidos trifosfato (dNTPs).

Estos cuatro componentes son los elementos básicos que es necesario incorporar a la reacción para que se complete una PCR (Simpson, C.G.; Sinibaldi, R.; Brown, J.W.S. 1992).

Etapas de la PCR

Desnaturalización: Para que pueda iniciarse la reacción es preciso que las moléculas de ADN molde se encuentren en forma de cadena simple. Esto se consigue calentando a temperatura de 90 a 95°C para que produzca la rotura de los enlaces puente de hidrogeno intercatenarios y la separación de ambas cadenas, para asegurar la completa separación de la doble cadena del ADN esta temperatura debe mantenerse unos minutos. Si el ADN solo se desnaturaliza parcialmente éste tenderá a renaturalizarse muy rápidamente dificultando con esto el proceso de hibridación.

Hibridación: Una vez que el ADN está desnaturalizado se disminuye la temperatura de la reacción hasta un rango comprendido entre los 40 y los 60°C para que se pueda producir la hibridación específica de los cebadores a las secuencias flanqueantes del fragmento que se desea amplificar, la temperatura a la que se realiza esta etapa debe establecerse para cada reacción en función de la longitud de los cebadores y su secuencia (Temperaturas inferiores a la óptima nos producirán hibridaciones inespecíficas de los cebadores y temperaturas superiores nos dificultarán la eficiencia de la misma.

Extensión: Durante esta etapa la ADN polimerasa termoresistente incorpora nucleótidos en el extremo 3' del cebador utilizado como molde la cadena de ADN previamente desnaturalizada.

La temperatura a la que se realiza esta etapa de la reacción suele ser de 72°C ya que es la temperatura a la que la "Taq polimerasa" alcanza su máxima actividad. Normalmente una extensión de 20 segundos es suficiente para fragmentos menores de 500 pares de bases, y 40 segundos para fragmentos por encima de 1.2Kb. Al finalizar cada uno de los ciclos el número de copias obtenidas se duplica y después de 20 ciclos ya tenemos aproximadamente 1 millón de copias de cada una de las moléculas molde iniciales ADN. (Revista alimentaría, 2007)

Aplicaciones de la PCR

- Simplifica muchos experimentos de I.G.
- Permite muchos estudios de expresión genética
- Secuenciación directa de secuencias amplificadas
- Detección de mutaciones
- Seguimiento de la efectividad de tratamiento de enfermedades
- Diagnósticos de enfermedades genéticas e infecciosas
- En ciencia forense: identificación de restos biológicos, determinación de paternidad, pruebas periciales en criminalística
- En arqueología y paleontología

Aplicaciones especiales de la PCR

Durante los últimos años, la PCR se ha convertido en una herramienta importante para analizar el genoma humano. Además de generar cantidades grandes de templado para secuenciar, la PCR se ha utilizado para el mapeo de cromosomas y para analizar cambios grandes y pequeños en estructura cromosómica. Por ejemplo, la PCR lo ha hecho posible:

- Usar las secuencias repetidas en el genoma como marcadores genéticos.
- Genere sondas de hibridación específicas para cromosoma.
- Estudiar la evolución de las secuencias de un gen y los efectos de variabilidad de la secuencia en la función del cromosoma.
- Amplificar e identificar las secuencias blanco in situ.

(Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J., 1990)

Consideraciones para el diseño de Primers

Los oligonucleótidos iniciadores o primers son fragmentos complementarios que se van a unir a cada una de las dos cadenas separadas del templado de ADN. La selección de oligonucleótidos iniciadores es muy importante en la reacción en cadena de la polimerasa. De este paso depende el éxito en el laboratorio. En la tabla 15 se muestran los criterios principales a considerar para la selección adecuada de los primers (Passarge, Genética).

Tamaño	Tamaño ideal: 20-25 nucleótidos de longitud generalmente: 18-30 nucleótidos de longitud
Base en el extremo 3'	Debe ser una G o una C
Temperaturas de fusión (T_m)	50-65 °C
contenido GC	40-60%
auto-complementariedad	Debe ser evitada Para minimizar la formación de estructuras secundarias y los dímeros de primer
Similaridad	Debe tener un 100% de apareamiento con el molde

Tabla 15. Criterios Principales.

Cuando el objetivo a amplificar es un locus, la posición de los iniciadores debe ser relativa a los codones de inicio y terminación. Es recomendable que el cebador "forward" se encuentre mas o menos a 35 pb del inicio de la secuencia que codifica, de la misma forma el cebador "reverse" debe localizarse 35 pb despues de la región que codifica. Las concentraciones óptimas de los primers son generalmente entre 0.1 y 0.5 μ M. Altas concentraciones de primer pueden promover "mispriming" y acumulación de producto no específico y puede incrementar la probabilidad de generar un templado independiente llamado dímero de primer. Los productos no específicos y los dímeros de primers son por si mismos sustratos para PCR y compiten con el producto deseado por la enzima, dNTPs y primers, resultando en un bajo rendimiento del producto deseado. Los primers pueden contener extensiones en el extremo 5' o "mismatches" para incorporar sitios de enzimas de restricción, un codón de inicio ATG, o secuencias promotoras en la secuencia blanco. Pueden ser usados primers degenerados para extraer genes nuevos en base a su similitud o su secuencia de aminoácidos. 6 Una razón menos obvia por la que los primers fallan es la presencia de estructuras secundarias en el templado de DNA. En este caso la substitución de dGTP por 7-deazo-2'- deoxiGTP ha sido muy usada (Griffin H. G., Griffin A., 1994).

Electroforesis en gel

La electroforesis en gel es un grupo de técnicas empleadas por los científicos para separar moléculas basándose en propiedades como el tamaño, la forma o el punto isoeléctrico. La electroforesis en gel se utiliza generalmente con propósitos analíticos, pero puede ser una técnica preparativa para purificar moléculas parcialmente antes de aplicar espectrometría de masas, PCR, clonación o secuenciación de ADN (Bandow J, Baker JD, Berth M, Painter C 2008).

La segunda parte del núcleo, *gel* se refiere a la matriz usada para separar las moléculas. En muchos casos un gel es un polímero entrelazado de porosidad controlable. Cuando la separación es de proteínas, ADN o ácidos nucleicos pequeños (ADN, ARN oribonucleótidos), el gel está compuesto por diferentes concentraciones de acrilamida/bis-acrilamida y un iniciador de la polimerización, para producir redes de poli(acrilamida) de diferentes tamaños. Para separar ácidos nucleicos grandes (más de unos centenares de bases), la matriz empleada es agarosa purificada. En ambos casos, el gel forma una matriz sólida pero porosa. La acrilamida, en contraste con la poli(acrilamida), es una neurotoxina y debe ser manipulada con precaución (Passarge, Genética).

La primera parte del nombre, *electroforesis*, se refiere a la fuerza electromotriz que es empleada para desplazar las moléculas a través del gel. Al situar las moléculas en el gel y aplicar una diferencia de potencial eléctrico, las moléculas se mueven a diferentes velocidades, hacia el cátodo, si están cargadas positivamente, y hacia el ánodo, si están cargadas negativamente (en una electroforesis, los electrodos se comportan igual que en una cubeta electrolítica) (Berth M, Moser FM, Kolbe M, 2007).

En los ácidos nucleicos la dirección de migración es del electrodo negativo al positivo, y esto es debido a la carga negativa presente en el esqueleto azúcar-fosfato. En los fragmentos de ADN dobles (con estructura de doble hélice) la velocidad de migración es inversamente proporcional a su tamaño. En fragmentos simples de ADN y ARN (una sola cadena), dichas moléculas tienden a plegarse de forma compleja y a migrar de forma más complicada, según la estructura terciaria formada tras el plegamiento. Sin embargo, compuestos que puedan romper los enlaces de puente de hidrógeno, como el hidróxido de sodio o la formamida, son empleados para 'desplegar' las moléculas plegadas y permitir que la velocidad de migración dependa únicamente y exclusivamente del tamaño y no de la estructura formada tras el plegamiento (Bandow J, Baker JD, Berth M, Painter C 2008).

Visualización de los productos de PCR en gel de electroforesis

Cuando se ha completado la electroforesis, las moléculas más pequeñas han llegado al ánodo. Entonces se pueden 'revelar' mediante la adición de un colorante específico para hacerlas visibles. Se emplean compuestos como el bromuro de etidio, para los ácidos nucleicos, o tinción de plata, azul de coomassie o tinción fluorescente, para las proteínas. Asimismo se emplean otros métodos para visualizar la separación de la mezcla en el gel.

Si el reactivo es fluorescente bajo la luz UV, se puede simplemente hacer una fotografía de la placa bajo dicha luz. También, si las moléculas contienen átomos radiactivos se puede efectuar una autorradiografía (Passarge, Genética).

Si se han inyectado varias mezclas una junto a otra en la placa, se producirán separaciones paralelas (carriles). Cada carril mostrará distintas bandas correspondientes a cada componente de la mezcla. Si dos componentes poseen la misma masa las separaciones serán incompletas, por lo cual ambas bandas se verán solapadas (Passarge, Genética).

Las bandas en diferentes carriles que se encuentran a la misma altura contienen moléculas que han atravesado el gel a la misma velocidad. Existen marcadores especiales que contienen una mezcla de moléculas de tamaño conocido. Si se hace una electroforesis de una mezcla desconocida y se agrega un carril con un determinado marcador, las bandas observadas en el marcador pueden ser comparadas con las obtenidas en la mezcla desconocida para determinar su tamaño o punto isoeléctrico. Sabiendo que el desplazamiento de las moléculas es proporcional al logaritmo de la masa, se puede estimar el peso molecular de una molécula de interés comparándola con el patrón de migración de los marcadores. Esto se realiza construyendo una curva con los valores del marcador, donde el eje (y) representa el logaritmo del peso molecular y el eje (x) representa el R_f de cada banda. Luego, se calcula el R_f de la molécula incógnita y se extrapola en la curva el logaritmo del peso molecular. Aplicando el antilogaritmo se obtiene el peso molecular de la proteína incógnita (Centers for Disease Control and Prevention, 2013).

Capítulo 4.

Metodología Experimental

“DETECCIÓN DE ADULTERACIONES CON
FELIS SILVESTRIS CATUS,
RATTUS Y *BOS TAURUS*
MEDIANTE PCR EN PRODUCTOS PROCESADOS A
BASE DE POLLO”

Objetivo General: Establecer la metodología para identificar *gato (Felis silvestris catus)*, *rata (Rattus)*, *pollo (Gallus gallus domesticus)* y *bovino (Bos taurus)* mediante PCR para detectar adulteraciones en productos procesados que declaran estar elaborados con pollo.

Objetivo Particular 1: Seleccionar la secuencia de DNA de cada una de las especies de estudio por medio de programas bioinformáticos y/o bibliográficos para la selección de primers que permitan identificar estas especies en productos procesados a base de pollo.

Actividad 1.- Evaluar la zona de amplificación y primers propuestos en trabajos previos con programas informáticos que permitan utilizarlos o modificarlos en la presente experimentación.

Actividad 2.- Definir los programas de PCR que se emplearan en la experimentación

Objetivo Particular 2: Evaluar los primers de *gato (Felis silvestris catus)*, *rata (Rattus)*, *pollo (Gallus gallus domesticus)* y *bovino (Bos Taurus)* mediante un control positivo y la técnica de PCR para evaluar su especificidad.

Actividad 1.- Extracción del ADN de las muestras de *gato (Felis silvestris catus)*, *rata (Rattus)*, *pollo (Gallus gallus domesticus)*, *bovino (Bos Taurus)*.

Actividad 2.- Aplicación de PCR y electroforesis en las muestras de estudio.

Objetivo Particular 3: Evaluar las muestras de productos procesados de pollo aplicando PCR y electroforesis para detectar la presencia de posibles adulteraciones con las especies *Felis silvestris catus*, *Rattus*, y *Bos Taurus*.

Actividad 1 .- Extracción y cuantificación de ADN de nuggets, cordon bleu, flautas de pollo, medallones, sobres Pedigree, Dog Chow, Whiskas, King de Pollo, McPollo, comida china.

Actividad 2.- Aplicación de PCR y electroforesis en las muestras de estudio, con los primers de pollo, gato, rata y bovino.

Resultados y discusión

Conclusiones

Descripción del cuadro Metodológico

Objetivo General

Establecer la metodología para identificar *gato (Felis silvestris catus)*, *rata (Rattus)*, *pollo (Gallus gallus domesticus)* y *bovino (Bos Taurus)* mediante PCR para detectar adulteraciones en productos procesados que declaran estar elaborados con pollo.

Objetivo Particular 1

Seleccionar la secuencia de DNA de cada una de las especies en estudio por medio de programas bioinformáticos y/o bibliográficos para la selección de primers que permitan identificar estas especies en productos procesados con pollo.

Actividad 1

Evaluar la zona de amplificación y primers propuestos en trabajos previos con programas informáticos que permitan utilizarlos o modificarlos en la presente experimentación.

Actividad 2

Definir los programas de PCR que se emplearan en la experimentación

Objetivo Particular 2

Evaluar los primers de *gato (Felis silvestris catus)*, *rata (Rattus)*, *pollo (Gallus gallus domesticus)* y *bovino (Bos Taurus)* mediante un control positivo y la técnica de PCR para evaluar su especificidad

Actividad 1

Extracción del ADN de las muestras de *gato (Felis silvestris catus)*, *rata (Rattus)*, *pollo (Gallus gallus domesticus)*, *bovino (Bos Taurus)*

Actividad 2

Aplicación de PCR y electroforesis en las muestras de estudio

Objetivo Particular 3

Evaluar las muestras de productos procesados de pollo aplicando PCR y electroforesis para detectar la presencia de posibles adulteraciones con las especies *Felis silvestris catus*, *Rattus*, y *Bos Taurus*

Actividad 1

Extracción y cuantificación de ADN de Nuggets, Cordon bleu, flauta de pollo El Cazo, medallones, sobres Pedigree, Dog Chow, Whiskas, King de Pollo, McPollo, comida china.

Actividad 2

Aplicación de PCR y electroforesis en las muestras de estudio, con los primers de pollo, gato, rata y bovino.

Materiales y métodos

Material biológico

Para la elaboración de este proyecto se eligieron 10 productos comercializados elaborados a base de pollo, la mayoría de estos, de marcas comerciales que fueron obtenidas en tiendas de autoservicio o establecimientos de comida rápida.

En la tabla 16 se muestran las generalidades de las muestras:

N°	Muestra	Código	Marca	Cont. Net.	Precio (\$)	Lote y Caducidad
1	Nuggets	N	Bachoco®	500 g	53.00	1985 16/03/17
2	Cordon Bleu	CB	Tyson®	750 g	129.00	3135 DCI 0108 31/OCT/16
3	Tacos de Pollo	T	ElCazo	720 g	65.00	ADDC0601 ENE/17
4	Medallones	<u>M</u>	Bachoco	1200 g	61.50	A26412 30/SEP
5	Alimento para gato (Filetes de pollo)	<u>W</u>	Whiskas®	85 g	6.20	Abril/2018 615G1GDL15
6	Alimento húmedo para perro (Pollo)	D	PURINA DOG CHOW®	100 g	8.50	01/Octubre/2017 52771157 L31925
7	Alimento húmedo para perro (Pollo)	Ped	Pedigree®	100 g	9.50	OCT/17 CDC001
8	Hamburguesa King de Pollo	K	Burguer King®	185 g	35.00	-
9	Hamburguesa McPollo	Mc	McDonalds®	169 g	35.00	-
10	Comida china	Ch	-	-	4.00(pza)	-

Tabla 16. Tabla de material biológico

Extracción de DNA

MATERIAL BIOLÓGICO

- Nuggets
- Cordon Bleu
- Tacos de pollo
- Medallones
- Alimento para gato
- Alimento húmedo para perro
- Comida china
- Hamburguesa
- Colado de verduras con pollo y pasta

MATERIAL DE LABORATORIO

- Tubos eppendorff esterilizados
- Kit de micropipetas de 5 – 1 000 μ L
- Puntas para micropipetas
- Espátulas
- Guantes
- Marcadores para etiquetar tubos
- Bata de laboratorio
- Toallas de papel
- Contenedores de desechos líquidos
- Contenedores de puntas utilizadas

REACTIVOS

- Agua libre de nucleasas con pH de 7
- Solución de lisis (Tris base 0.05 M, p H =8, EDTA 0.1M, SDS 0.5%)
- Enzima proteinasa K
- Mezcla de Fenol-Cloroformo-Alcohol isoamílico
- Etanol frío

EQUIPO

- Balanza analítica electrónica, VELAR VE-300
- Vortex Mixer, Apollo CLP S0100
- Termoblok, Thermomixer compact Eppendorff
- Microcentrífuga

- METODOLOGÍA DE PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN LISIS

1. Disolver tris base en 50 mL de agua y ajustar pH a 8 añadiendo ácido acético o NaOH.
2. Añadir SDS y EDTA a la solución y mantener el pH en 8. Posteriormente aforar a 100 mL.
3. Verter la solución lisis en un frasco y etiquetarlo.
Para preparar 100 mL de solución lisis se requieren las siguientes cantidades de reactivos, 0.6055 g de tris base, 0.5 g de SDS y 3.7225 g de EDTA.

- METODOLOGÍA DE EXTRACCIÓN DE ADN

Disgregación del tejido

1. Moler la muestra
2. Pesar 0.125g de muestra en un tubo eppendorff.
3. Agregar 1 250 μ L de solución de lisis.
4. Adicionar 7 μ L de proteinasa K.
5. Incubar los tubos a 50°C en termoblok por 2 horas.
6. Elevar la temperatura de incubación a 60 °C por 1 hora, para desactivar la enzima.

Extracción de proteína y polisacáridos de ADN

1. Agregar 250 μ L de mezcla fenol-cloroformo-álcohol isoamílico a cada tubo con muestra.
2. Centrifugar a 10 000 rpm por 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Recuperar la fase acuosa superior que contiene el ADN. Evitar recuperar cualquier otra de las fases.

Precipitación de ADN

1. Añadir 150 μ L de etanol frío a cada tubo.
2. Centrifugar a 10 000 rpm por 10 minutos.
3. Decantar el etanol y dejar secar el ADN en la incubadora a 37 °C durante 1 hora.
4. Adicionar 50 μ L de agua desionizada para re suspender el DNA.
5. Cuantificar el ADN por medio de absorbancia.

Cuantificación de DNA por medio de absorbancia

Este método se emplea para preparaciones de ácidos nucleicos altamente puras ya que detecta cualquier compuesto que absorbe la luz significativamente a 260 nm, tales como ADN, ARN, EDTA y fenol. La relación de absorbancia 260 nm se utiliza como prueba de contaminación de una preparación de ADN y ARN con proteína, puesto que los aminoácidos aromáticos absorben la luz a 280 nm. En este caso, sólo un nivel significativo de proteína en la preparación puede causar un cambio significativo en la relación de absorbancia de ambas longitudes de onda (Sambrook J. & Russell D., 2001).

Para cuantificar la cantidad de DNA, las lecturas se toman a 260 y 280 nm. Una unidad de densidad óptica corresponde a aproximadamente 60 ng/μL de ADN de doble hebra. La relación entre las lecturas a 260 y 280 nm proporciona un estimado de la pureza de los ácidos nucleicos. Las preparaciones puras de ADN, generalmente tienen valores de 1.8, mientras que valores de 2, muestran la existencia de preparaciones puras de ARN. Si existe contaminación significativa con fenol o proteínas, la relación 260/280 será menor de 1.8 (Sambrook J. & Russell D., 2001).

MATERIAL DE LABORATORIO

- Micropipetas
- Puntas para micropipetas

REACTIVOS

- Soluciones de ADN
- Agua libre de nucleasas

EQUIPO

- Nanoespectrofotómetro, Accesolab Nano Drop ND-100

METODOLOGÍA:

1. Encender el nanoespectrofotómetro, el cual debe hallarse conectado a una computadora.
2. Abrir el software "Nanodrop" desde la computadora.

3. Colocar 2 μL de agua libre de nucleasas para iniciar el equipo seleccionando .
4. Limpiar el sensor con un pañuelo y poner 2 μL de agua libre de nucleasas en el sensor, que servirá como blanco, "blank".
5. Cuando el equipo de los valores del blanco, proceder a limpiarlo con ayuda de un pañuelo.
6. Colocar 2 μL de muestra que se desea cuantificar y seleccionar la opción "measure"
7. Los valores que deben registrarse son la relación 260/280 que idealmente debe de ser 1.8 y la concentración expresada en $\text{ng}/\mu\text{L}$ que debe ser de 60. En caso de que no sea así, se deberá realizar la dilución correspondiente.

PCR

MATERIAL BIOLÓGICO

- Muestras de ADN de nuggets, cordon bleu, tacos de pollo, medallones, alimento para mascota, comida china, hamburguesa y, colado de verduras con pollo y pasta
- Primer frontal y reverso

MATERIAL DE LABORATORIO

- Tubos eppendorff esterilizados
- Kit de micropipetas de 0.2 μL -1 000 μL
- Puntas para micropipetas esterilizadas

EQUIPO

- Microcentrífuga Minispin plus eppendorff 14 000 RPM
- Termociclador ATC 4011 Apollo Instrumentation

REACTIVOS

- Agua libre de nucleasas
- Kit de PCR Master Mix

METODOLOGÍA:

1. Agregar los componentes del Kit de PCR.
2. Poner a cada tubo la muestra que le corresponda.

Componente	Proporción por muestra (μL)
Kit Master Mix [®]	12.5
Primer F	.5
Primer R	.5
ADN	2
Agua libre de nucleasas	10.5

Tabla 17. Componentes de la PCR

3. Colocar los tubos en la microcentrífuga 5 segundos aproximadamente.
4. Colocar los tubos dentro del termociclador y programarlo a las diferentes condiciones del programa de la PCR.
5. Programar los ciclos que indique el programa de PCR.

Electroforesis

MATERIAL BIOLÓGICO

- Muestras amplificadas en PCR

MATERIAL DE LABORATORIO

- Puntas para micropipetas
- Gradilla
- Matraz Erlenmeyer de 200 mL
- Parafilm
- Bromuro de etidio en concentración de 10 mg/mL
- Tinte cargador Blue/orange 6X Promega
- Marcador de peso molecular Invitrogen 100 bp DNA Ladder
- TAE 1X

REACTIVOS

- Agua libre de nucleasas
- Agarosa Gibco ERL

EQUIPO

- Balanza analítica electrónica, VELAR VE-300
- Micricentífuga Minispin plus eppendorf L 4 000 RPM
- Fuente de poder Bio-Rad-Powerpac 200
- Cámara y cassette de electroforesis Apollo 75.10
- Transluminador de luz UV

METODOLOGÍA

Preparación del gel de agarosa al 3%

1. Pesar 1.5 g de agarosa en la balanza electrónica.
2. Disolver en 50 mL de solución TAE 1X como solución búfer.
3. Calentar la solución en horno de microondas durante 1 minuto en periodos de 20 segundos y dejar enfriar a temperatura ambiente.
4. Añadir 1 gota de Bromuro de etilo (BrEt) y homogeneizar.
5. Cerrar las aperturas laterales del soporte del gel.
6. Verter la mezcla en el soporte cuidando que no se formen burbujas, colocar los peines
7. Esperar a que la solución gelifique.
8. Retirar los peines y colocar el soporte con gel en la cámara de electroforesis.
9. Agregar TAE 1X a la cámara de modo que el gel quede cubierto.

Carga y corrida del gel

1. Colocar sobre un trozo de parafilm, 3 μ L de BrEt, 3 μ L de colorante blue/orange y 5 μ L de la muestra resultante de la PCR, o 1 μ L de marcador de peso molecular.
2. Activar el campo eléctrico a 60 V. El cátodo se conecta en el extremo cercano a los pocillos de modo que la molécula migre hacia el ánodo.
3. La corrida dura hasta que el colorante se visualice cerca del extremo opuesto.

Visualización de fragmentos

1. Colocar el gel dentro del transluminador.
2. Centrar el gel y encender el equipo.
3. Encender la cámara y fotografiar el gel.

Capítulo 5. Resultados y discusión

Objetivo particular 1

“Seleccionar la secuencia de DNA de cada una de las especies de estudio por medio de programas bioinformáticos y/o bibliográficos para la selección de primers que permitan identificar estas especies en productos procesados a base de pollo.”

La selección de los primers empleados para evaluar la posible adulteración en productos procesados a base de pollo se fundamenta en el artículo “Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods” (Eaqub Ali, Abdur Razzak., et. al., 2014)” para el caso de gato.

Para las especies bovino y pollo se utilizó la secuencia de primers propuesta en el artículo de Matsunaga “A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay (1999)” en la cual se diseñó un primer frontal (SIM) que reconoce ambas especies.

La metodología empleada para la evaluación de cada primer seleccionado se describe en el Anexo 1. Los primers seleccionados para la detección de pollo, gato, rata y bovino; se muestran en la tabla 18.

Especie		Secuencia de primers (5´-3´)	Amplificado (pb)
<i>Felis silvestris catus</i>	Frontal	GGA ATA ATG TTT CGA CCA CTA AGC	172
	Reverso	TGC CTG AGA TGG GTA TTA GGA T	
<i>Rattus rattus</i>	Frontal	AAC GCC TTA TTA GCA ACC GC	99
	Reverso	AGG TTC GTC CTT TTG GTG TAT G	
<i>Gallus gallus domesticus</i>	Frontal SIM	GAC CTC CCA GCT CCA TCA AAC ATC TCA TCT TGA TGA AA	227
	Reverso	AAG ATA CAG ATG AAG AAG AAT GAG GCG	
<i>Bos taurus</i>	Frontal SIM	GAC CTC CCA GCT CCA TCA AAC ATC TCA TCT TGA TGA AA	274
	Reverso	CTA GAA AAG TGT AAG ACC CGT AAT ATA AG	

Tabla 18. Primers evaluados de las especies *Felis silvestris catus*, *Rattus rattus*, *Gallus gallus domesticus* y *Bos taurus*.

Después de haber seleccionado los primers, se realizó el programa de PCR correspondiente para cada especie.

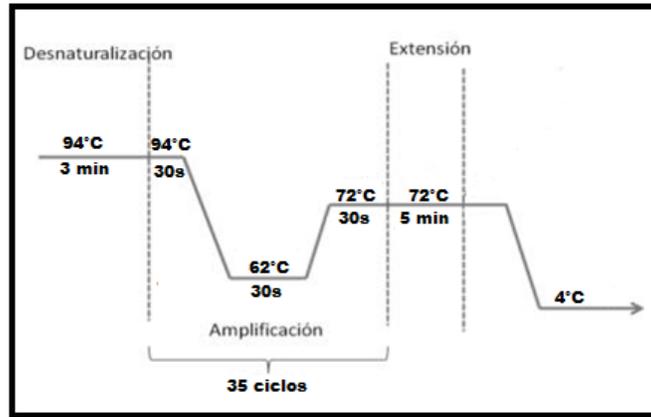


Figura 16. Condiciones programadas en el termociclador para *Felis silvestris catus*

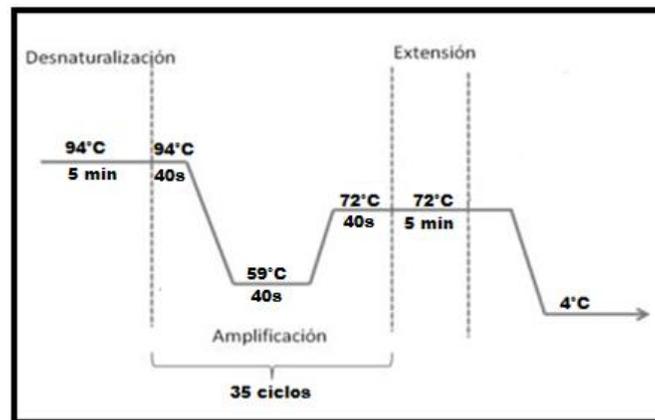


Figura 17. Condiciones programadas en el termociclador para *Rattus Rattus*

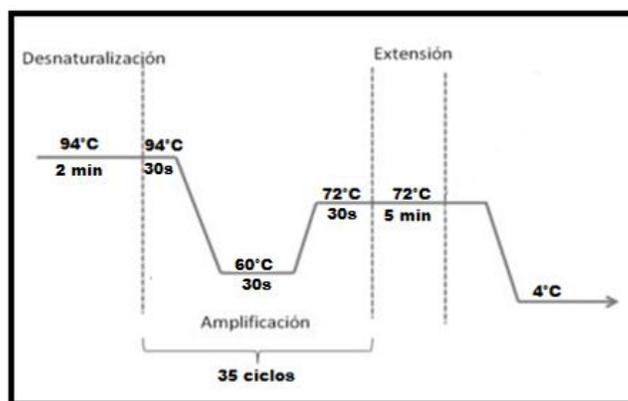


Figura 18. Condiciones programadas en el termociclador para *Gallus gallus domesticus* y *Bos taurus*

Objetivo particular 2

“Evaluar los primers de gato (*Felis silvestris catus*), rata (*Rattus*), pollo (*Gallus gallus domesticus*) y bovino (*Bos Taurus*) mediante un control positivo y la técnica de PCR para evaluar su especificidad.”

Se realizó la extracción del ADN a las 5 especies mencionadas utilizando el protocolo detallado anteriormente, obteniendo los siguientes resultados (Tabla 19).

Muestra	Relación 260/280	ng/μL
Pollo	1.90	82.3
Rata	1.83	81.2
Bovino	1.81	78.9
Gato	1.89	66.5

Tabla 19. Resultados obtenidos de la extracción y cuantificación de ADN de las especies *Gallus gallus*, *Rattus Rattus*, *Bos Taurus* y *Felis silvestris catus*.

Posteriormente se llevó a cabo la PCR de cada especie con las condiciones del programa seleccionado para cada uno, con la finalidad de verificar que los primers propuestos amplifiquen con su respectiva especie.

Para visualizar que, en efecto, los primers corresponden a la especie determinada, se llevó a cabo la electroforesis a 60 V en un gel de agarosa al 2%, para el caso de rata y gato.

La primera columna (MP) es el marcador de peso, cada franja indica 100 pares de bases (pb) como se muestra en la imagen.

También se utilizó una columna para el “Blanco”, el cual no contiene ADN y sirve de indicador en caso de contaminación durante la experimentación. Posteriormente se coloca el control positivo (C+) perteneciente al ADN de la especie en cuestión, en este caso, rata.

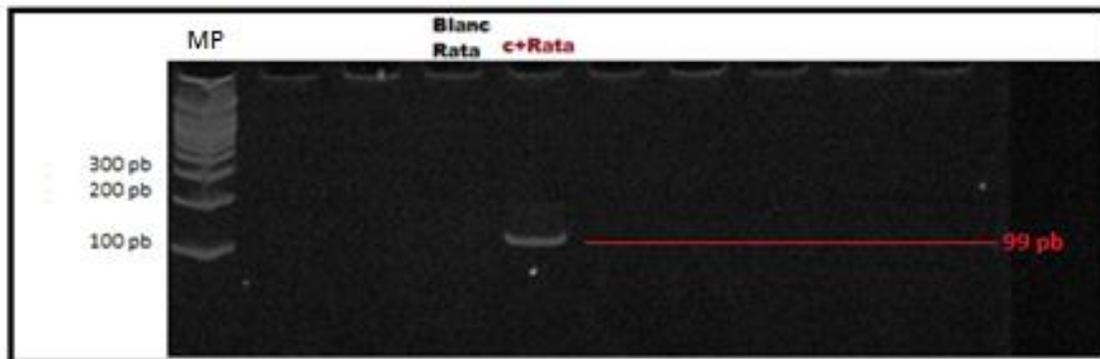


Figura 19. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, amplificado del control positivo de rata.

MP (Marcador de Peso 100 pb), Blanc Rata (blanco para la especie rata), c+ (control positivo de rata).

Como se puede observar, el amplificado se encuentra casi a la misma distancia que la primera línea del marcador de peso (MP) la cual corresponde a 100 pares de bases (pb), ya que el amplificado de los primers seleccionados para rata es de 99 pb.

Lo mismo sucede en la Fig. 20, donde se utilizaron 3 muestras diferentes para control positivo (Gato c/dil, Dil Gato 1 y Dil Gato 2), con la diferencia de que el amplificado seleccionado para gato es de 172 pb.

La primera columna es el marcador de peso de 100 pb. La segunda columna es el blanco, el cual (como se explicó anteriormente) indica contaminación durante el experimento en caso de que se visualizara alguna franja, por lo tanto, esta columna debe aparecer vacía.

Las siguientes 3 columnas a la derecha son las muestras de control positivo utilizadas.

Estas muestras de control positivo aparecen más cercanas a la segunda línea del marcador de peso (200 pb) que a la primera (100 pb), debido al amplificado seleccionado para gato el cual es de 172 pb.

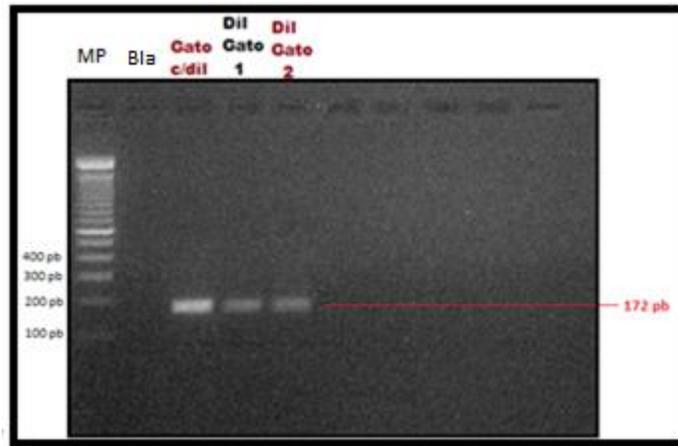


Figura 20. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, amplificado de los controles positivos para gato.

MP (marcador de peso 100 pb), Bla (Blanco para la especie gato), Gato c/dil (primer control positivo de la especie gato), Dil Gato 1 (segundo control positivo de la especie gato), Dil Gato 2 (tercer control positivo de la especie gato).

En la prueba para gato, cada control positivo se encuentra a diferente dilución, pero, como se observa en la fig. 20, todos amplificaron.

Para la especie *Bos Taurus*, se llevó a cabo la electroforesis en un gel de agarosa al 1.5% a 80V.

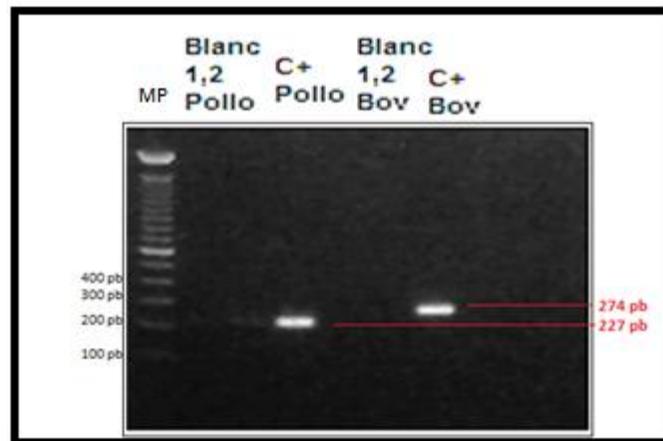


Figura 21. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, amplificado de los controles positivos para pollo y bovino.

MP (Marcador de peso 100 pb), Blanc 1,2 Pollo (Blanco 1 y 2 para la especie pollo), C+ Pollo (control positivo de pollo), Blanc 1,2 Bov (Blanco 1 y 2 para la especie bovino), C+ Bov (control positivo de bovino).

Los amplificadores para ambas especies coinciden con las pares de bases de cada primer seleccionado de *Bos Taurus* y *Gallus gallus*. Debido a que se visualiza una ligera línea, en el blanco de pollo, se realizó la prueba nuevamente para dicha especie.

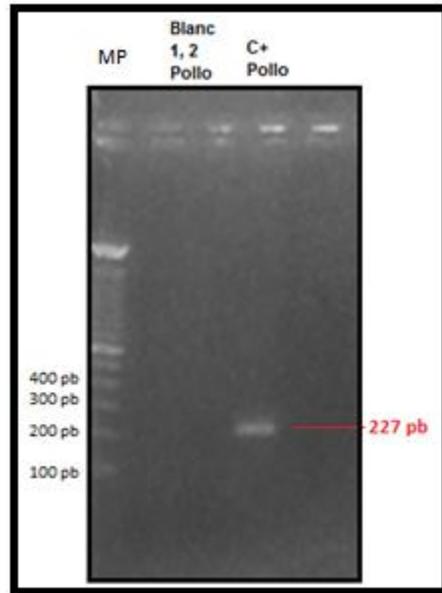


Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, amplificado de los controles positivos para pollo.

MP (Marcador de peso 100 pb), Blanc 1,2 Pollo (Blanco 1 y 2 para la especie pollo), C+ Pollo (control positivo de pollo).

En esta repetición se utilizaron dos blancos (Blanc 1, 2 Pollo), los cuales no muestran signos de contaminación. Así mismo, el amplificado coincide con los 227 pb seleccionados para la especie *Gallus gallus*.

Objetivo particular 3

“Evaluar las muestras de productos procesados de pollo aplicando PCR y electroforesis para detectar la presencia de posibles adulteraciones con las especies *Felis silvestris catus*, *Rattus*, y *Bos taurus*.”

- **Actividad 1** .-Extracción y cuantificación de ADN de nuggets, cordon bleu, flautas de pollo, medallones, sobres Pedigree, Whiskas, DogChow, King de Pollo, McPollo, comida china.

Muestra	Relación 260/280	ng/μL
N	1.89	142.5
T	1.88	67.7
M	1.84	64.3
K	1.92	90.3
Mc	1.76	69.5
CH	1.85	74.7
Ped	1.71	123.3
W	1.72	76.2
D	1.70	110.3
CB	1.96	98.1

Tabla 20. Resultados obtenidos de la extracción y cuantificación de ADN de los productos propuestos

- **Actividad 2** .-Aplicación de PCR y electroforesis en las muestras de estudio, con los primers de pollo, gato, rata y bovino.

Para esta etapa del experimento, se llevó a cabo PCR con los productos seleccionados con cada una de las especies propuestas, para identificar la presencia o ausencia de éstas en cada alimento.

En la electroforesis, la primera columna contenía el marcador de peso (MP), posteriormente el blanco y después el control positivo. Las columnas siguientes corresponden a los productos a base de pollo.

Las siguientes imágenes (Fig. 23 y 24) corresponden a las pruebas de PCR con los primers de rata para los productos comerciales propuestos.

La electroforesis se llevó a cabo en un gel de agarosa al 2% a 60V

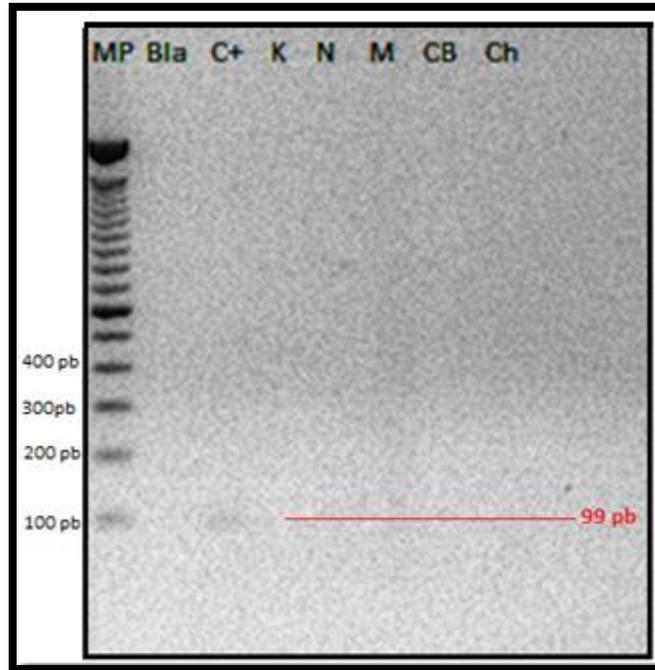


Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, PCR con la especie *Rattus rattus* para las muestras comerciales.

MP (Marcador de peso 100pb), Bla (Blanco), C+ (control positivo de rata), K (King de Pollo), N (Nuggets), M (Medallones), CB (Cordon Bleu) y Ch (Comida china).

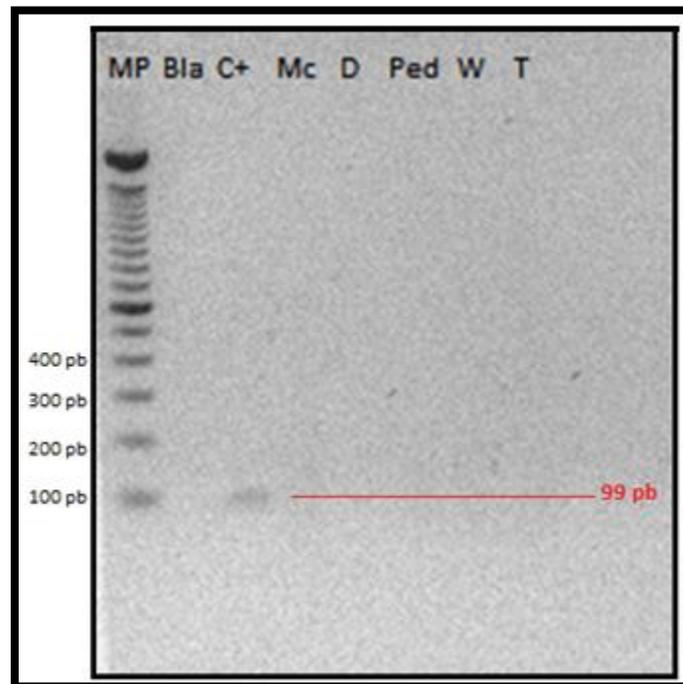


Figura 24. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, PCR con la especie *Rattus rattus* para las muestras comerciales.

MP (Marcador de peso 100pb), Bla (blanco), C+ (control positivo de rata), Mc (McPollo), D (Dog Chow), P (Pedigree), W (Whiskas) y T (tacos).

Como se puede observar, ninguno de los alimentos amplificó para estos primers, lo que indica la ausencia de rata en los productos analizados.

Para la PCR de gato, se utilizaron dos muestras de control positivo. La electroforesis se corrió a 80 V en un gel de agarosa al 2%.

Al igual que en el caso anterior, ningún producto amplificó para esta especie, lo cual implica que los productos están libres de carne de gato.

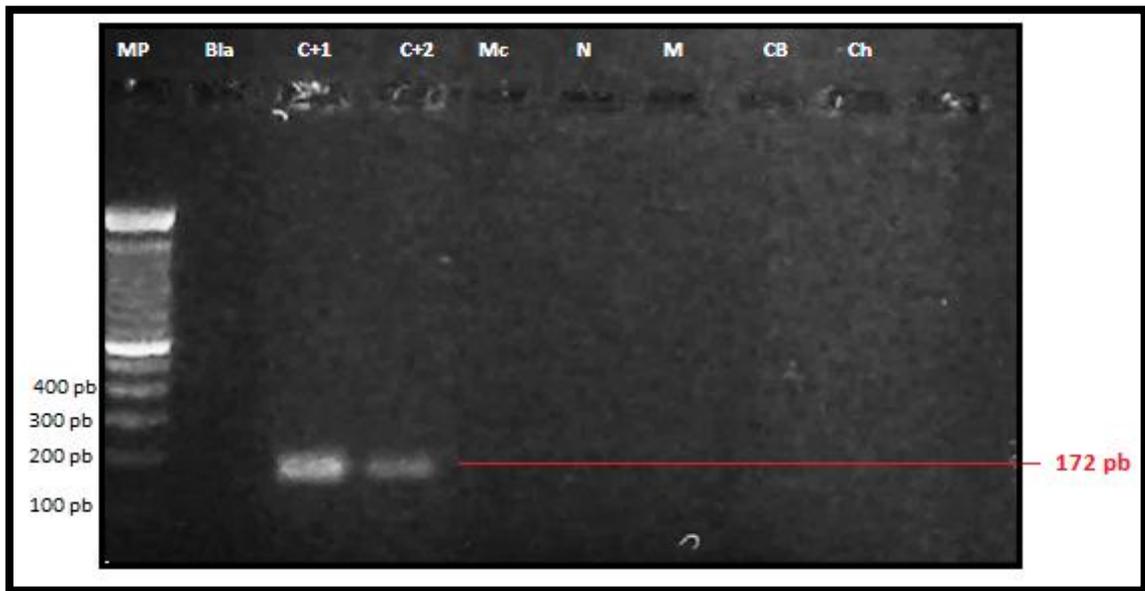


Figura 25. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, PCR con la especie *Felis silvestris catus* para las muestras comerciales.

MP (Marcador de peso 100pb), Bla (blanco), C+1 (control positivo 1 de la especie gato), C+2 (control positivo 2 de la especie gato), Mc (McPollo), N (nuggets), M (medallón), CB (Cordon bleu) y Ch (comida china).

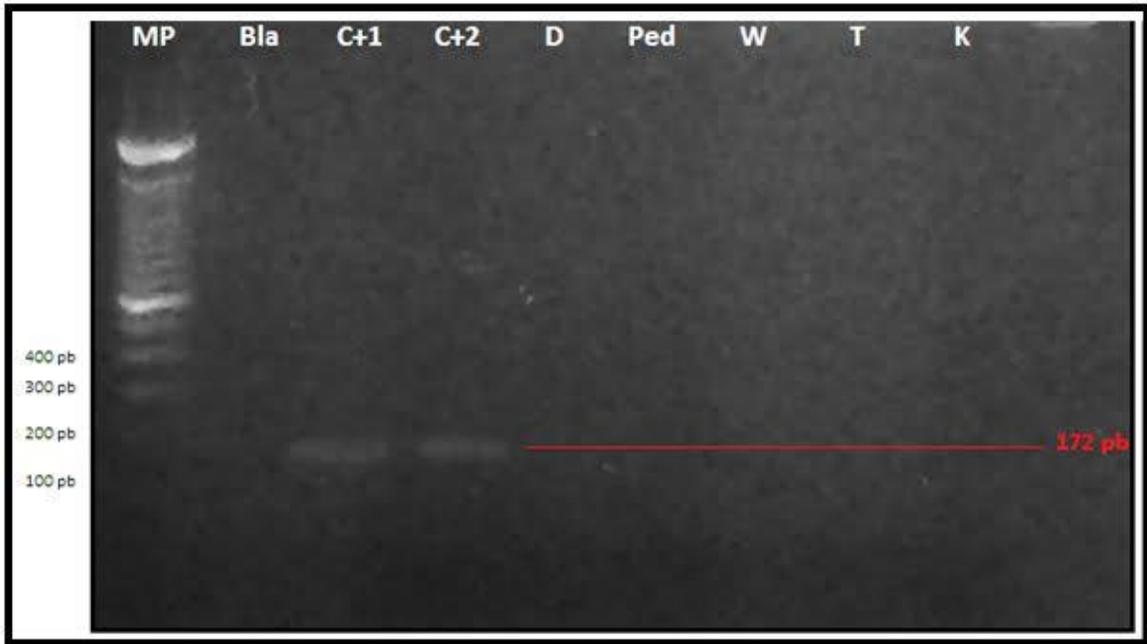


Figura 26. Electroforesis en gel de agarosa al 2%, PCR con la especie *Felis silvestris catus* para las muestras comerciales. MP (Marcador de Peso 100pb), Bla (blanco), C+1 (control positivo 1 de la especie gato), C+2 (control positivo 2 de la especie gato), D (Dog Chow), P (Pedigree), W (Whiskas), T (tacos) y K (King de Pollo).

La tercera posible adulteración es carne de bovino. Para ésta electroforesis el gel de agarosa se preparó al 1.5% de concentración y se corrió a 80 V.

De acuerdo a la investigación realizada, los alimentos para mascota eran los más probables de presentar adulteración con carne de bovino, ya que los residuos de éstos pueden mezclarse con los procedentes de pollo durante la producción del alimento; pero como se puede observar en los siguientes resultados (fig. 27 y fig.28), ninguno de los productos presenta ésta adulteración.

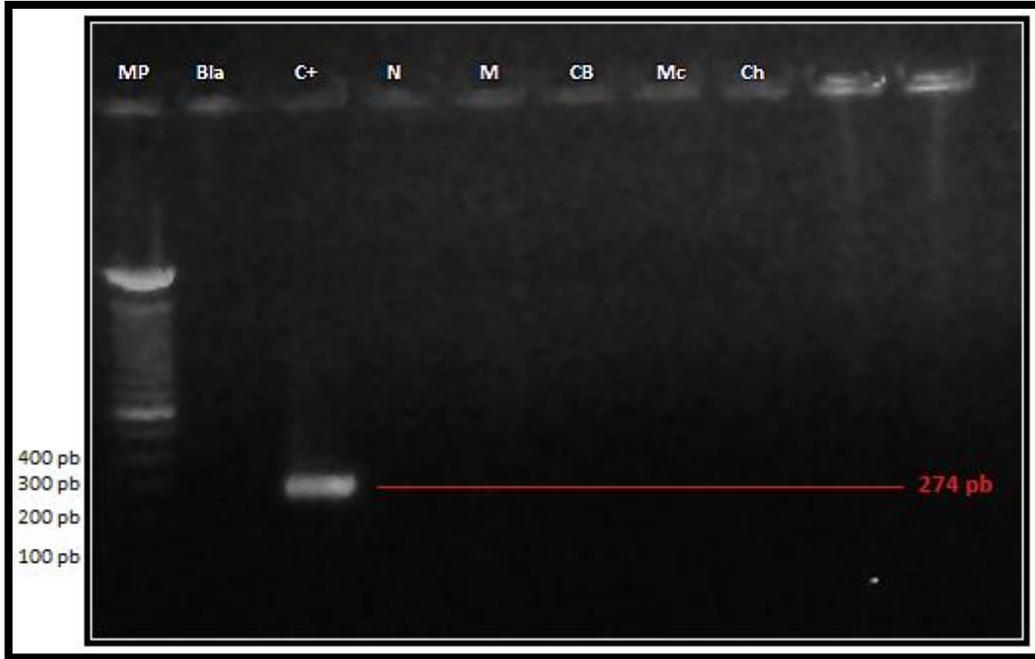


Figura 27. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, PCR con la especie *Bos taurus* para las muestras comerciales.

MP (Marcador de peso 100pb), Bla (blanco), C+ (control positivo de bovino), N (Nuggets), M (medallón), CB (Cordon bleu), Mc (McPollo), Ch (comida china).



Figura 28. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, PCR con la especie *Bos taurus* para las muestras comerciales.

MP (Marcador de Peso 100pb), Bla (blanco), C+ (control positivo de bovino), T (Tacos), W (Whiskas), D (Dog Chow), P (Pedigree) y K (King de Pollo).

Finalmente, se llevó a cabo la PCR con los primers de pollo para verificar que, en efecto, los productos están elaborados a base de este animal, ya que aunque la adulteración con las especies propuestas fue nula, cabe la posibilidad de que estén adulteradas con alguna otra; por lo cual, esta podría ser la más importantes de las pruebas, ya que indica la ausencia o presencia de la especie en cuestión (*Gallus gallus*).

La electroforesis donde se muestran los siguientes resultados, se llevó a cabo en gel de agarosa al 1.5% a 80 V.

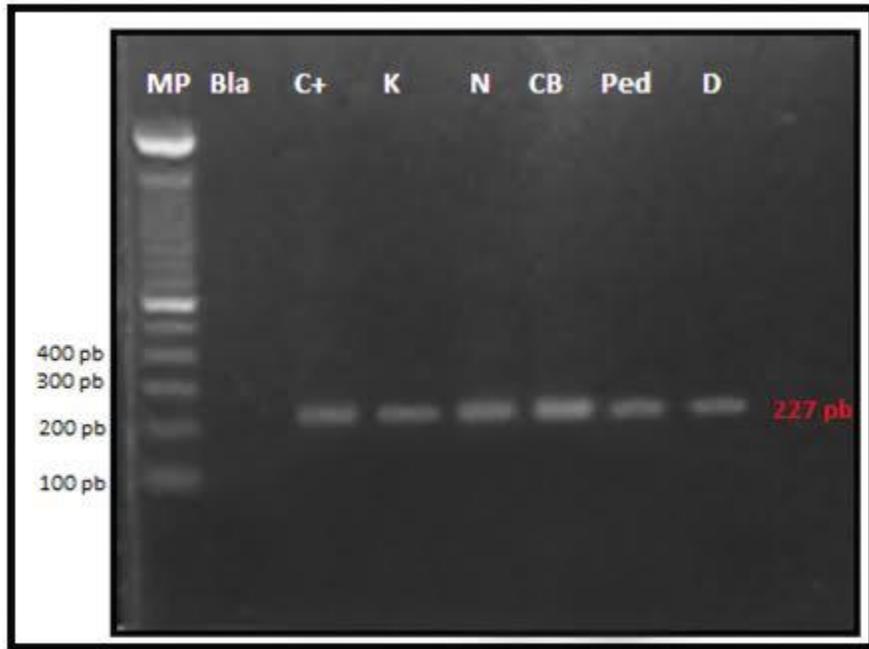


Figura 29. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, PCR con la especie *Gallus gallus* para las muestras comerciales.

MP (Marcador de peso 100pb), Bla (blanco), C+ (control positivo de pollo), K (King de Pollo), N (nuggets), CB (Cordon Bleu), P (Pedigree) y D (Dog Chow).

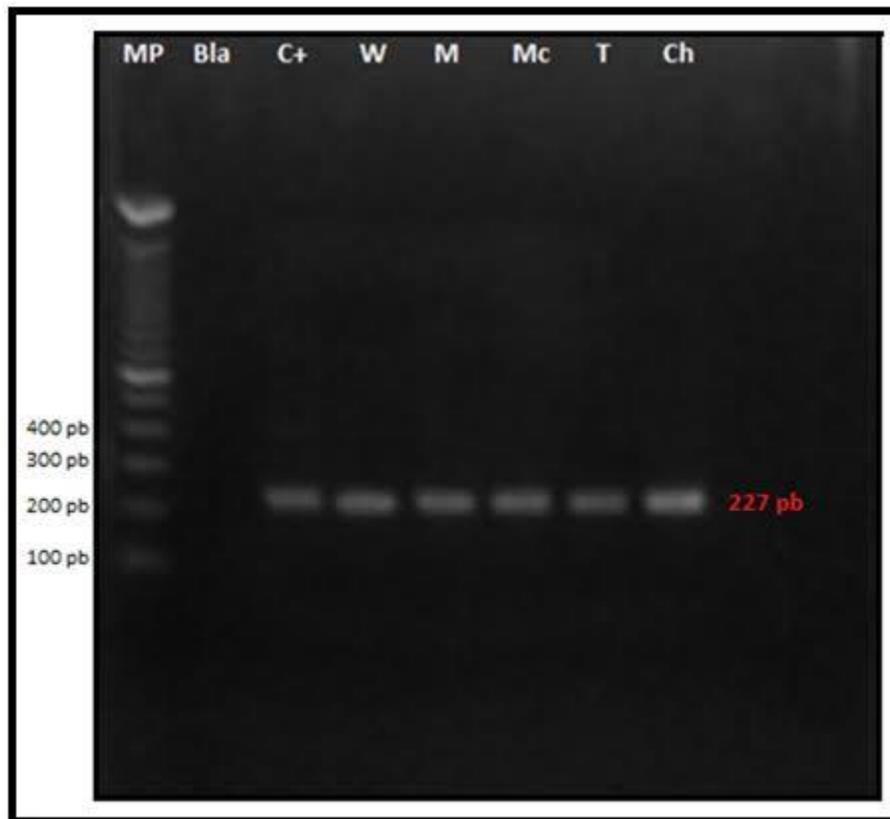


Figura 30. Electroóresis en gel de agarosa al 1.5%, PCR con la especie *Gallus gallus* para las muestras comerciales.

MP (Marcador de peso 100pb), Bla (blanco), C+ (control positivo de pollo), W (Whiskas), M (medallón), Mc (McPollo), T (tacos), Ch (comida china).

Los resultados obtenidos demuestran que los 10 productos seleccionados contienen pollo, ya que, como se muestra en las figuras 29 y 30, amplifican para la especie *Gallus gallus*.

Algunas de las franjas se visualizan más que otras debido a diversos factores entre los que destacan: la composición del alimento, vida de anaquel, elaboración, condiciones de almacenamiento, etcétera. Particularmente los alimentos húmedos para mascotas presentan franjas menos visibles, en comparación con los otros.

Perspectivas

En la actualidad, la industria alimenticia es altamente exigida en base a estándares de calidad que garanticen la satisfacción del consumidor, de manera que, factores como la inocuidad, salubridad y adulteraciones (entre otros), son considerados puntos críticos importantes que deben detectarse durante la manufactura de un alimento. Éste último punto puede resultar problemático si no se lleva a cabo bajo una técnica o metodología correcta.

Normas como la NOM-122-SSA1-1994 de bienes y servicios (Productos de la carne. Productos cárnicos curados y cocidos, y curados emulsionados y cocidos. Especificaciones sanitarias) o la NOM-194-SSA1-2004 de Productos y servicios. (Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos) deben garantizar la calidad del producto, ya que de no ser así, se infringen leyes y las sanciones pueden ser severas, por lo tanto, la biotecnología nos permite garantizar el cumplimiento de estas normas.

En base al trabajo realizado se propone ampliar las fuentes de las cuales se comercialice el alimento, es decir, obtener muestras de más de un establecimiento (por ejemplo de comida china o hamburguesas). Ya que limitarse a uno solo, no garantiza la inocuidad en el resto de establecimientos.

Además se propone detectar más especies como posibles adulterantes. No limitarse únicamente a la especie animal, también puede existir adulteración con especies de origen vegetal, como es el caso de la soya, ya que muchos productos pueden contenerlo, reduciendo así la cantidad de pollo en el producto.

Conclusiones

De acuerdo a los objetivos planteados para la detección de adulteraciones en productos comerciales a base de pollo, se estableció la metodología que permite llevar a cabo el proceso de autenticación de especies.

Inicialmente se eligió la secuencia de ADN para cada especie (primers) que permite detectar la presencia de ADN en los productos de estudio.

Cabe destacar, que los programas para el termociclador también fueron efectivos durante la PCR, por lo cual las temperaturas de hibridación propuestas permiten que el experimento se lleve a cabo de manera correcta.

Se realizó PCR con la especie *Gallus gallus* (pollo) en cada uno de los productos comerciales, para demostrar que, en efecto, cada uno de ellos contiene pollo en su composición.

Debido a que todos los alimentos amplifican para la especie *Gallus gallus* se concluye que no existe adulteración con las especies propuestas y que realmente están elaboradas a base de carne de pollo.

La técnica de PCR ha demostrado resolver este conflicto, al igual que muchos otros, ya que, al ser una técnica genética, permite detectar de manera certera la presencia de ADN de una especie determinada (animal o planta) en productos alimenticios, garantizando que, en realidad estamos consumiendo lo que la etiqueta declara.

Cabe destacar que debido al elevado consumo de carne de pollo en nuestro país, este alimento es altamente recomendable en la dieta de aquellas personas con problemas de salud, por lo cual, la adulteración de productos elaborados a base de pollo se vuelve un problema aún más crítico; ya que en lugar de resultar beneficioso, puede agravar la salud de la persona en cuestión.

Este trabajo de tesis nos permite conocer los alcances que tiene la técnica de PCR para la autenticación de especies, ya que, aunque la gran mayoría de industrias de alimentos cumplen con estrictas normas de calidad, existe la posibilidad de encontrar adulteraciones en otros productos, principalmente aquellos procedentes de puestos clandestinos o restaurantes que laboran sin contar con las licencias legales necesarias que garanticen la calidad de los alimentos, como en el caso de la comida china.

Referencias bibliográficas

1. Castañeda, S. M., Braña, V. D., Martínez, V. W. (2013). Carne de Pollo Mexicana. SAGARPA-CONACYT, 109127(26).
2. Howell-Benjamin, A. C., Guinard, J-X. (2003). *Novel approaches and applications of contemporary sensory evaluation practices in iron fortification programs.. Crit Rev Food Sci Nutr.* Recuperado de http://www.alimentacionynutricion.org/es/index.php?mod=content_detail&id=101
3. Friedmann, A., Weil, B., & Sciscioli A. (Eds.). (2010). *Producción Avícola: Negocio en Crecimiento.* USAID, Programa: Paraguay Vende. Recuperado de https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/produccion_avicola.pdf
4. Vapnek, J. & Spreij M. (2005). *Directrices en materia de legislación alimentaria (nuevo modelo de ley de alimentos para países de tradición jurídica romano-germánica),* FAO "Legislative studies", N°87.
5. Aranguren-Méndez, J., Portillo, M., Ruiz, J., Villasmil-Ontiveros, Y., Yáñez, L., Borjas, L. & Zabala, W. (2009). Identificación de especies en productos de origen animal mediante PCR. *Revista Científica, vol. XIX, núm. 2, pp. 159-164.*
6. Oliva, R., & Vidal, J. M. (2006). *Genoma humano: Nuevos avances en investigación, diagnóstico y tratamiento.* Barcelona, España: Publicaciones y Ediciones de la Universidad de Barcelona.
7. Sambrook, J., & Russell, D. (2001). *Molecular Cloning a laboratory manual* (3° ed.). E. U. A.: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
8. Herranz Sorribes C. (2007). La Biotecnología en la Industria Alimentaria. *Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET)*, 3.3.
9. Morcillo G., Cortés E. & García, J. L. (2005). *Biotecnología y alimentación.* Cuadernos de la UNED. UNED-ediciones.
10. Ángel Gil Hernández, Tratado de nutrición. Tomo II. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Editorial Médica panamericana. 2da edición. Madrid, 2010. P 34
11. «Antojitos mexicanos». Recuperado de Degustar.com.mx. Archivado desde el original el 1 de noviembre de 2015. Consultado el 8 de agosto de 2016.
12. Griffith, James S. (14 de abril de 1997). «La Comida Mexicana en Tucson». University of Arizona.
13. «Receta de flautas de pollo». Recuperado de [El gran chef.com](http://Elgranchef.com).
14. Archivado desde el original el 1 de noviembre de 2015. Consultado el 8 de agosto de 2016.
15. Eberhard Passarge. (2007). *Genética. Texto y Atlas.* New York, USA: Editorial Médica panamericana.
16. Food and Nutrition Board (2001). *Dietary reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc.* Institute of Medicine, National Academy of Sciences.
17. Fermentas. Catálogo de marcadores de pesos moleculares para electroforesis de DNA: Lambda DNA markers. Recuperado de <http://www.fermentas.com/en/products/all/dna-electrophoresis/lambda-dnamarkers/sm010-lambda-dna-hindiii>
18. Higuchi, R.; Fockler, C.; Dollinger, G.; Watson, R. (1993). *Kinetic PCR analysis: realtime monitoring of DNA amplification reactions.* Bio/Technology 11: 1026-1030.

19. Simpson, C.G.; Sinibaldi, R.; Brown, J.W.S. (1992). *Rapid analysis of plant gene expression by a novel reverse transcriptase-PCR method*. *Plant Journal* 2: 835-836.
20. Mullis, K.B. (1993). Conferencia con motivo de la recepción del Premio Nobel. Recuperado de http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1993/mullislecture.html
21. McGraw Hill. (2000) Animación del proceso de PCR. Recuperado de <http://highered.mcgraw-hill.com/olc/dl/120078/micro15.swf>
22. McPherson, M.J.; Quirke, P.; Taylor G.R. (1991). *PCR: A practical approach*. Oxford University Press, Estados Unidos.
23. Michael W. Pfaff, Ales Tichopad, Christian Prgomet and Tanja P. Neuvians (2005). *Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper – Excel-based tool using pair-wise correlations*. *Biotechnology Letters* 26:509-515
24. Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F (2002) *Accurate normalisation of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes*. *Gen. Biol.* 3: 1–12.
25. Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L. (2002). *Relative Expression Software Tool (REST®) for group wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR*. *Nucl. Acids Res.* 30: e36.
26. Bandow J, Baker JD, Berth M, Painter C, et al. (2008). *Improved image analysis workflow for 2-D gels enables large-scale 2-D gel-based proteomics studies - COPD biomarker discovery study*. *Proteomics*
27. Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. (1990) *PCR Protocols*. Academic Press Inc. Estados Unidos.
28. *Términos culinarios*. Recuperado de <http://closet.galeon.com/cvtae1426929.html>
29. TM Marcas de Mars, Incorporated y sus afiliados. (2016). *Whiskas® Pollo y leche*. Recuperado de <https://www.whiskas.mx/producto/seco/whiskas-pollo-y-leche>
30. Watson, J. D.; Baker, T. A.; Bell, S. P.; Gann, A.; Levine, M. et Losick, R (2004). *Molecular Biology of the Gene* (Fifth edition edición). San Francisco: Benjamin Cummings
31. Rychlik W, Spencer WJ, Rhoads RE (1990). *Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro*. *Nucl Acids Res* 18: 6409–6412.
32. Griffin H. G., Griffin A. M. (1994). *PCR Technology: Current Innovations*. CRC Press Inc. Estados Unidos.
33. Joseph Sambrook and David W. Russel (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3rd ed. edición). Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN 0-87969-576-5.
34. Zipper, H. et al. (2004). *Investigations on DNA intercalation and surface binding by SYBR Green I, its structure determination and methodological implications*. *Nucleic Acids Res.* 32, e103.
35. Bustin S. A. (2000). *Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays*. *Journal of Molecular Endocrinology.* 25,169-193.
36. Scribd. (2014). *Mercado avícola. Situación actual y perspectivas del sector*. ONCCA Observatorio Internacional de mercados agroalimentarios. Recuperado de <http://es.scribd.com/doc/47458431/Mercado-avicola-situacion-actual-y-perspectivas-del-sector#scribd>
37. FAO. (2014). *Consumo de carne*. Departamento de Agricultura y Protección del Consumidor. Producción y Sanidad Animal. Recuperado de <http://www.fao.org/aq/againfo/themes/es/meat/background.htm>

38. El Sitio Avícola. (2014). *Situación mundial de carne de aves*. Recuperado de <http://www.elsitioavicola.com/articulos/2567/situacion-mundial-de-carne-de-aves-2014/>
39. El Sitio Avícola. (2013). *Situación mundial de producción y comercio avícola en 2013*. Recuperado de <http://www.elsitioavicola.com/articulos/2393/situacion-mundial-de-produccion-y-comercio-avicola-en-2013/>
40. Quesada C. (2014). *Situación de la avicultura mexicana*. UNA Unión Nacional de Avicultores. Recuperado de <http://www.una.org.mx/index.php/panorama/la-afeccion-de-la-influenza-aviar-h7n3-en-las-exportaciones-avicolas/15-panorama/3-avicultura>
41. Scanelis (2005). Animación del proceso de PCR. Recuperado de: <http://www.scanelis.com/webpages.aspx?rID=679>
42. Thehealthnews.org© (2017) *Polymerase Chain Reaction*. The Health News. Animación del proceso de PCR. Recuperado de: <http://www.thehealthnews.org/news/06/08/02/pcr.html>
43. Berth M, Moser FM, Kolbe M, et al. (2007). *The state of the art in the analysis of two-dimensional gel electrophoresis images*. Appl Microbiol Biotechnol. 76(6):1223–43
44. Saunders N.A. and Lee M. A. (2013). *Real-Time PCR. Advanced Technologies and Applications*. Caister Academic Press. The PCR Encyclopedia. Recuperado de <http://www.pcr-encyclopedia.com/>
45. Manuel Hernández Rodríguez. (1999). *Tratado de Nutrición*. Madrid: Diaz de Santos.
46. (2007). *Revista alimentaría*. IDIBAM. Instituto de Investigaciones Biomédicas. N°383 mayo 2007 páginas 90 a 91
47. (2006) *Centro de Ciencias Genómicas/UNAM, México 2006-7*
48. Perris C. (2003) *Enciclopedia de las aves*. Nueva York: Libros Firefly©
49. Centers for Disease Control and Prevention (2013). *Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE)*
50. Hernández J. F. (2010). *Adulteración Alimentaria: un problema añejo*. Mayo 10, 2016, de foroactivo.com Recuperado de <http://boletininformativo.foroactivo.com/t13-adulteracion-alimentaria-un-problema-anejo>
51. Mejía, C.. (2013). *Obstáculos en la seguridad alimentaria*. Mayo 10, 2016, de enfasis.com Recuperado de: <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/65872-obstaculos-la-seguridad-alimentaria->
52. Maite Pelayo. (2011). *Avances en la detección de adulteraciones alimentarias*. Mayo 10, 2016, de consumer.es Recuperado de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2011/05/19/200706.php>
53. HASSELL. (1876). *Alimentos: su adulteración y Métodos para Detectarla*. Londres.
54. BLYTH. (1896). *Alimentos, su composición y análisis*. Londres.
55. Johnston, G. N.. (2015). *Tyson's Food Inc Retira Productos De Pollo Debido A Posible Adulteración*. febrero 04, 2016, de usda.gov Recuperado de http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/recalls-and-public-health-alerts/recall-case-archive/archive/2016/!ut/p/a1/jY_RCoJAE EW_pQ-QmVURfbQFS8tdJLJtX2IR0wVTMfGhr08JAIoPmZcZOPdeLkqQIGs16EL1uqlV_Nf3SuWCCDvEoRjzwAwyzFaQu2xDkzqicZ4BHJiBN-I5SdJn1p35hfPylj_4IMLuYxqXIVvWloetrA6LLM1VVRqbuaaG6rNRDDuJ9mEgc_OIGceyMZd_Q-2NuIWcjtT-BL-Rew3K69HcVjv_ZC7a-eMxG-

- [Qg!!/?1dmy#t=true&urile=wcm%3Apath%3A%2Fsis-content%2Finternet%2Finformational%2Fen-espanol%2Fnoticiasysucesos%2Favisos-de-alerta-sobre-salud-publica%2Farchive%2F2015%2Frc-141-2015-sp](http://www.abc.es/economia/20141023/abci-china-escandalos-alimentarios-201410221152.html)
56. Contreras S.. (2015). *Pollos de engorde*. Mayo 16, 2016, de blogspot.mx Recuperado de <http://propollos5c.blogspot.mx/2015/02/anatomia-del-pollo.html>
57. Sambrook J., Russell D.W., (2001) *Molecular Cloning. A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. United States of America.
58. CHAPIN. (1901). *Higienización Municipal en los Estados Unidos* (Providence, R.I.)
59. Dr. Pet. (2008). *Alimentos Comerciales: Un Veneno "Silencioso"*. mayo 11, 2014, de PET FOOD Colombia Recuperado de <http://drpet.es.tl/Alimentos-Comerciales-d--Un-Veneno--g-Silencioso-g-.htm>
60. LEACH. (1904). *Inspección y Análisis de Alimentos*. New York, 1904.
61. Breteau, S.. (2014). *China, récord en escándalos alimentarios y en venta de comida adulterada*. Febrero 02, 2016, de abc.es Recuperado de <http://www.abc.es/economia/20141023/abci-china-escandalos-alimentarios-201410221152.html>
62. SONBEIRAU. (1874). *Nuevo diccionario de falsificaciones y alteraciones*. Paris.
63. Sloane, Thomas O'Conor. (1907). *Adulteration of Food*. The Catholic Encyclopedia. Vol. 1. New York: Robert Appleton Company, 1907. Recuperado de http://ec.aciprensa.com/newwiki/index.php?title=Adulteración de Alimentos&re_direct=no
64. Ann. (2010). *Informe de la Junta de Salud de Massachusetts, Michigan, New Jersey y New York; Informes y Boletines de la Junta de Química*
65. Departamento de Agricultura de E.U. sobre Adulteración de Alimentos, (2007). especialmente el Boletín Núm. 100.
66. (2006) *Informe de la Academia Nacional de ciencia y de la Junta Regular de Salud* (Washington, D.C.)
67. Sloane, Thomas O'Conor. (1907). *Adulteration of Food*. The Catholic Encyclopedia. Vol. 1. New York: Robert Appleton Company, 1907. Recuperado de <http://www.newadvent.org/cathen/01162b.htm>.
68. (2005) *Informe del Laboratorio Municipal* (París, Francia).
69. Eaqub Ali, Abdur Razzak, Sharifah Bee, Mahfujur Rahman, Al Amin, Nur Raifana, Asing. (2014). *Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods*. Food Chemistry, 177 (2015) 214-224, 11. 2016, abril 18, De ELSEVIER Base de datos.

70. Da-Wen Sun. (2008). *Modern Techniques for Food Authentication*. Ireland: ELSEVIER
71. Matsunaga T., Chikuni K., Tanabe R., Muroya S., Shibata K. Yamada J. Shinmura Y., (1999). *A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay*. *Meat Science*, 51, 143-148
72. Martin E. S. (2012). *Elegir entre dieta húmeda o dieta seca para mi perro*. © Eroski Consumer. Fundación Eroski contigo. Recuperado de <http://www.consumer.es/web/es/mascotas/perros/alimentacion/2012/01/30/206546.php#sthash.4IBNIONp.dpuf>
73. En proceso de publicación. (2015) *Estudio sobre la determinación de la composición nutricional de la carne de pollo argentina*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria –INTA- (Concepción del Uruguay y Castelar), Instituto Nacional de Tecnología Industrial -INTI- (Entre Ríos) y Centro de Empresas Procesadoras Avícolas (CEPA).;
74. FAO/OMS (2003) *Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases*. WHO Technical Report Series 916 Geneva
75. FAO (2008). *Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation*. FAO Food and Nutrition Paper No. 91. Ginebra
76. (2005) *Food and Nutrition Board*. Institute of Medicine. National Academy of Sciences. Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate
77. Food and Nutrition Board. (1997). *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorous, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*;). Institute of Medicine. National Academy of Sciences.
78. FAO (2008). *Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation*. FAO Food and Nutrition Paper No, 91. Ginebra.
79. (2015) *Estudio sobre la determinación de la composición nutricional de la carne de pollo Argentina*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria –INTA- (Concepción del Uruguay y Castelar), Instituto Nacional de Tecnología Industrial –INTI- (Entre Ríos) y Centro de Empresas Procesadoras Avícolas (CEPA).
80. FAO/OMS. (2003). *Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases*. WHO Technical Report Series 916 Geneva.
81. ©Academic. (2017). *Nugget de pollo*. Los diccionarios y las enciclopedias para el académico. Recuperado de <http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/257051>

Anexos

Anexo 1. Metodología para la selección de Primers

La selección de primers para la autenticación de especies en los productos comercializados a base de pollo, se realizó en base al artículo “Multiplex PCR assay for the detection of five meat species forbidden in Islamic foods” publicado por Md. Equb Ali , Md. Abdur Razzak, Sharifah Bee Abd Hamid, Md. Mahfujur Rahman, Md. Al Amin, Nur Raifana Abd Rashid, Asing en 2014. Su evaluación se realizó mediante la metodología que se muestra a continuación.

1. Entrar en la página web del NCBI, seleccionar la pestaña de Nucleotide e ingresar en el buscador el nombre de la especie en estudio (Gallus Gallus X60091).

The screenshot shows the NCBI Nucleotide search interface. The search bar contains the text "Gallus Gallus x60091", which is circled in red. Below the search bar, the results are displayed in a table format. The first result is "Gallus gallus L-type voltage-gated calcium channel alpha1D subunit ChCaChA1D mRNA, complete cds", with a length of 8,737 bp linear mRNA and accession number AF027602.1. The second result is "Gallus gallus isolate R/JF #256 breed Red Jungle fowl, inbred line UCD001 chromosome 1, whole genome shotgun sequence", with a length of 196,202,544 bp linear DNA and accession number CM000093.4. The page also includes navigation links like "GenBank", "FASTA", and "Graphics" for each result, and a "Find related data" section at the bottom right.

2. Dar click en “Search”.

GenBank: X60091.1
Gallus gallus partial TGF-BETA3 gene, exons 3-6
 FASTA Graphics

Go to: [icon]

LOCUS X60091 4855 bp DNA linear VRT 14-NOV-2006
 DEFINITION Gallus gallus partial TGF-BETA3 gene, exons 3-6.
 ACCESSION X60091
 VERSION X60091.1 GI:396685
 KEYWORDS TGF-beta3 gene; transforming growth factor-beta 3.
 SOURCE Gallus gallus (chicken)
 ORGANISM [Gallus gallus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Archelosauria; Archosauria; Dinosauria; Saurischia; Theropoda;
 Coelurosauria; Aves; Neognathae; Galloanserae; Galliformes;
 Phasianidae; Phasianinae; Gallus.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Burt,D.W., Paton,I.R. and Dey,B.R.
 TITLE Comparative analysis of human and chicken transforming growth factor-beta 2 and -beta 3 promoters
 JOURNAL J. Mol. Endocrinol. 7 (3), 175-183 (1991)
 PUBMED [1840616](#)
 REFERENCE 2 (bases 1 to 4855)
 AUTHORS Burt,D.W., Dey,B.R., Paton,I.R., Morrice,D.R. and Law,A.S.

Send: [dropdown]
 Change region shown [dropdown]
 Customize view [dropdown]
 Analyze this sequence [dropdown]
 Run BLAST
 Pick Primers
 Highlight Sequence Features
 Find in this Sequence
 Reference sequence information [dropdown]
 RefSeq mRNA
 See reference mRNA sequence for the TGFB3 gene (NM_205454.1).
 More about the TGFB3 gene [dropdown]
 TGFB3 gene
 Also Known As: TGF-beta3

3. Seleccionar la opción “Send” - “File” y desplegar las pestañas de Format, para finalmente seleccionar la opción “FASTA”.

NCBI Resources [icon] How To [icon] Sign in to NCBI

Nucleotide [dropdown] [input] Search Help

GenBank: X60091.1
Gallus gallus partial TGF-BETA3 gene, exons 3-6
 FASTA Graphics

Go to: [icon]

LOCUS X60091 4855 bp DNA linear VRT 14-NOV-2006
 DEFINITION Gallus gallus partial TGF-BETA3 gene, exons 3-6.
 ACCESSION X60091
 VERSION X60091.1 GI:396685
 KEYWORDS TGF-beta3 gene; transforming growth factor-beta 3.
 SOURCE Gallus gallus (chicken)
 ORGANISM [Gallus gallus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Archelosauria; Archosauria; Dinosauria; Saurischia; Theropoda;
 Coelurosauria; Aves; Neognathae; Galloanserae; Galliformes;
 Phasianidae; Phasianinae; Gallus.
 REFERENCE 1
 AUTHORS Burt,D.W., Paton,I.R. and Dey,B.R.
 TITLE Comparative analysis of human and chicken transforming growth factor-beta 2 and -beta 3 promoters
 JOURNAL J. Mol. Endocrinol. 7 (3), 175-183 (1991)

Send: [dropdown]
 Complete Record
 Gene Features
 Choose Destination
 File [selected] Clipboard
 Collections Analysis Tool
 Download 1 items.
 Format
 GenBank [dropdown]
 Summary
 GenBank
 GenBank (full)
FASTA
 ASN.1
 XML
 INSDSeq XML
 TinySeq XML
 Feature Table
 Accession List
 GI List

Reference sequence information [dropdown]
 RefSeq mRNA
 See reference mRNA sequence for the TGFB3 gene (NM_205454.1).
 More about the TGFB3 gene [dropdown]
 TGFB3 gene

4. Dar click en “Create File”

NCBI Resources [icon] How To [icon] Sign in to NCBI

Nucleotide [dropdown] [input] Search Help

GenBank: X60091.1
Gallus gallus partial TGF-BETA3 gene, exons 3-6
 FASTA Graphics

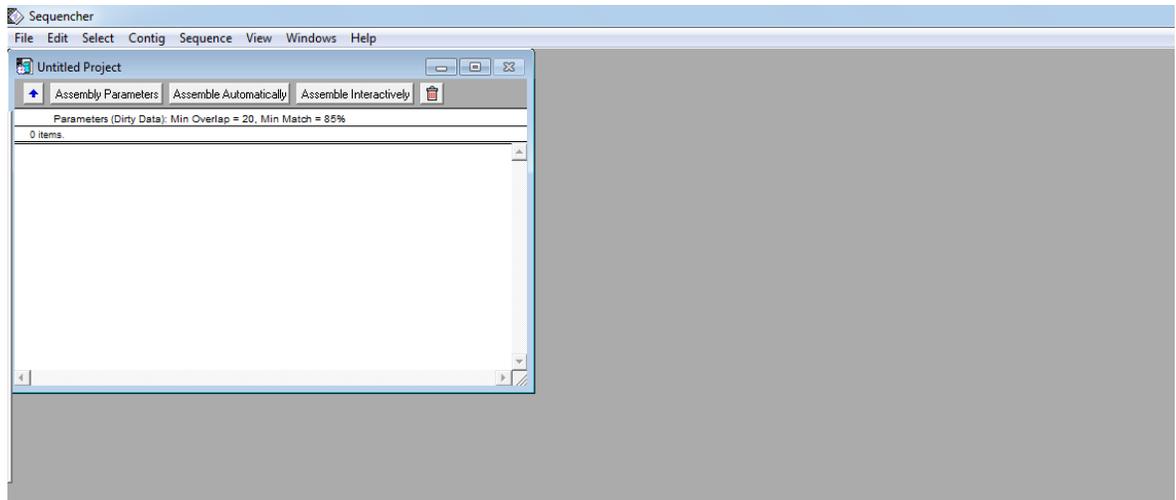
Go to: [icon]

LOCUS X60091 4855 bp DNA linear VRT 14-NOV-2006
 DEFINITION Gallus gallus partial TGF-BETA3 gene, exons 3-6.
 ACCESSION X60091
 VERSION X60091.1 GI:396685
 KEYWORDS TGF-beta3 gene; transforming growth factor-beta 3.
 SOURCE Gallus gallus (chicken)
 ORGANISM [Gallus gallus](#)
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
 Archelosauria; Archosauria; Dinosauria; Saurischia; Theropoda;
 Coelurosauria; Aves; Neognathae; Galloanserae; Galliformes;
 Phasianidae; Phasianinae; Gallus.
 REFERENCE 1

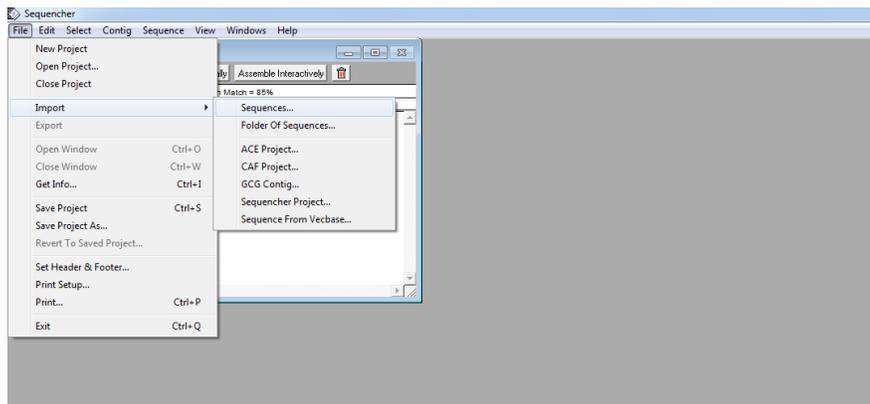
Send: [dropdown]
 Complete Record
 Gene Features
 Choose Destination
 File [selected] Clipboard
 Collections Analysis Tool
 Download 1 items.
 Format
 FASTA [selected]
Create File

Reference sequence information [dropdown]
 RefSeq mRNA
 See reference mRNA sequence for the TGFB3 gene (NM_205454.1).

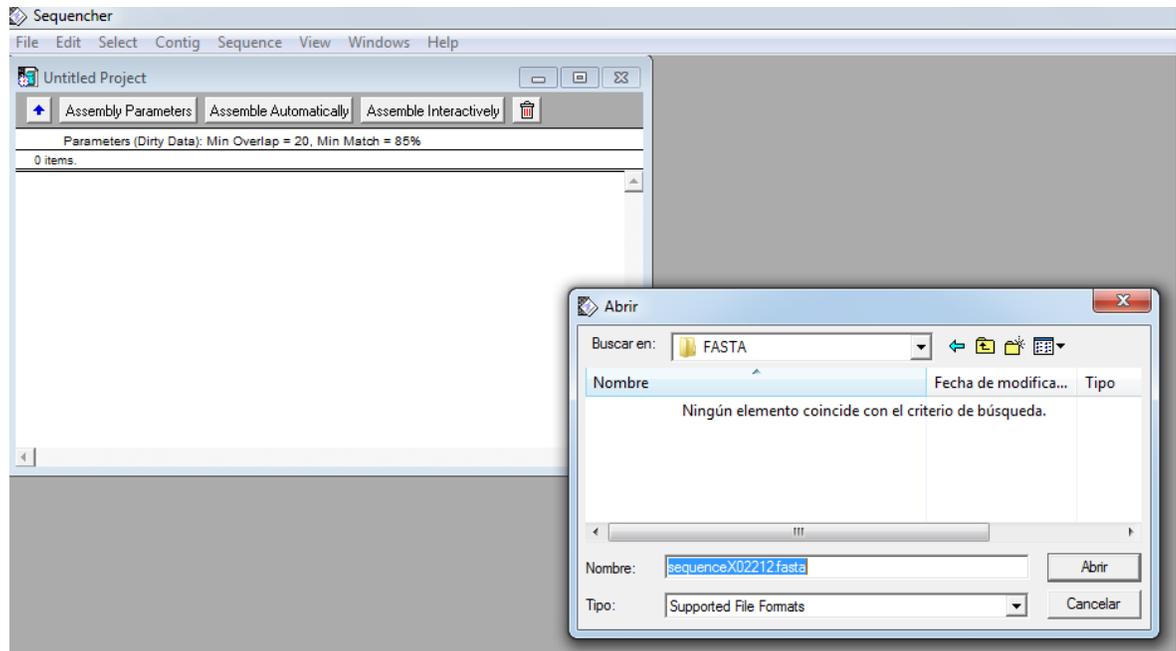
5. Una vez descargado el archivo, abrimos el programa Sequencher



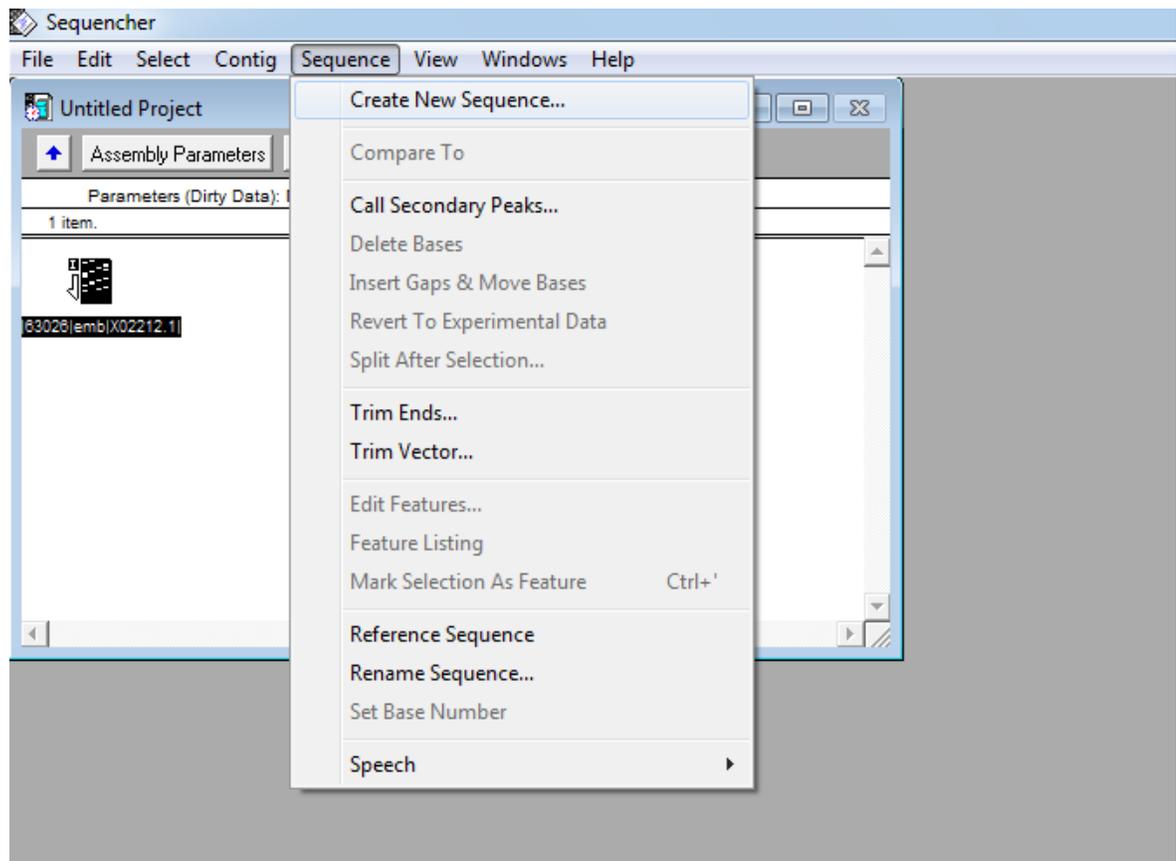
6. Seleccionar la pestaña de File – Import – Sequences.. (como se muestra en la imagen).



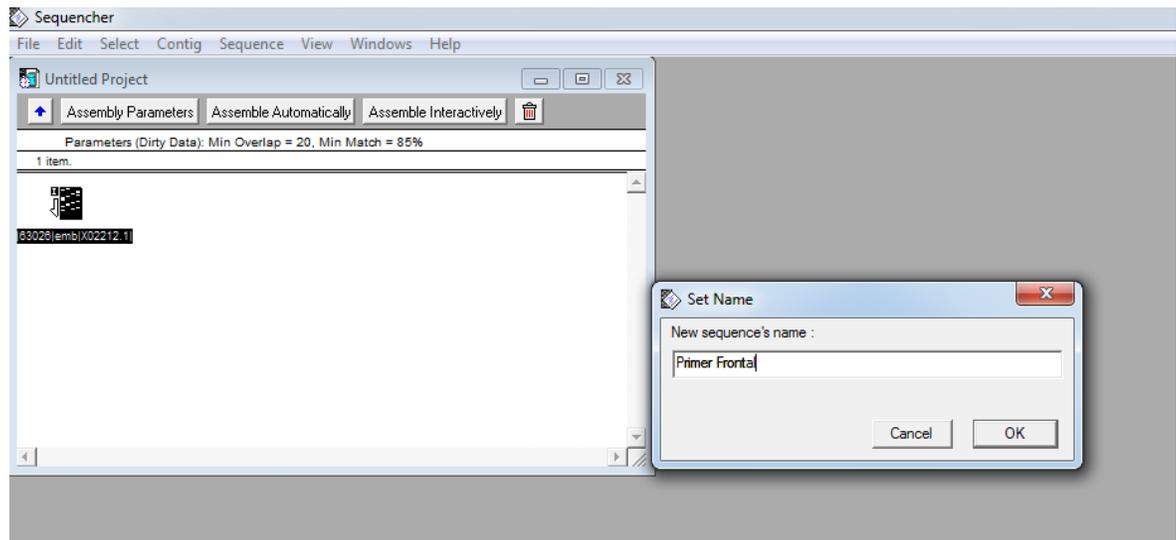
7. Buscar, seleccionar y abrir el archivo descargado previamente de la pagina NCBI.



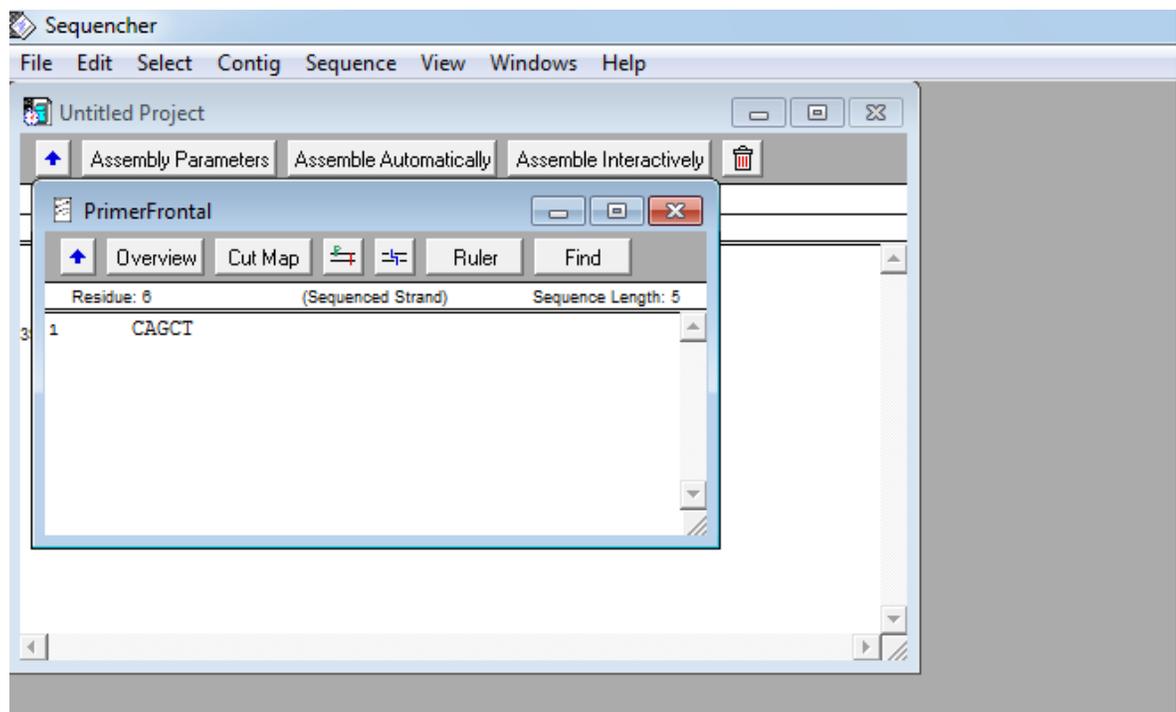
8. Se abrirá el archivo seleccionado en la pestaña, posteriormente seleccionar la pestaña “Sequence” y dar click en la opción “Create New Sequence..”



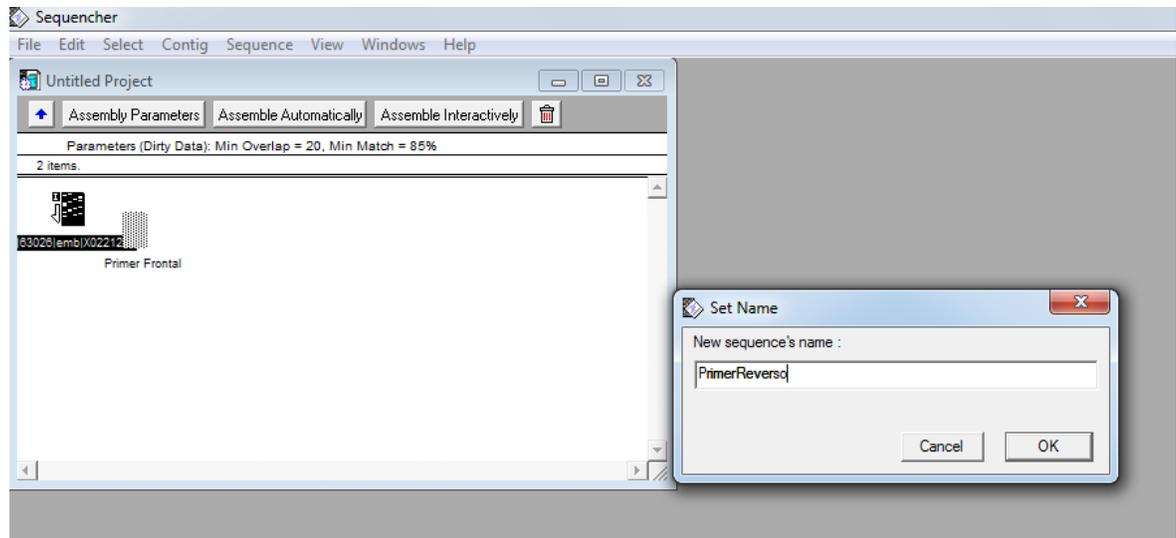
9. Se abrirá un cuadro, en el que se debe escribir un nombre, por ejemplo, Primer Frontal (como se muestra en la imagen), y dar click en “Ok”.



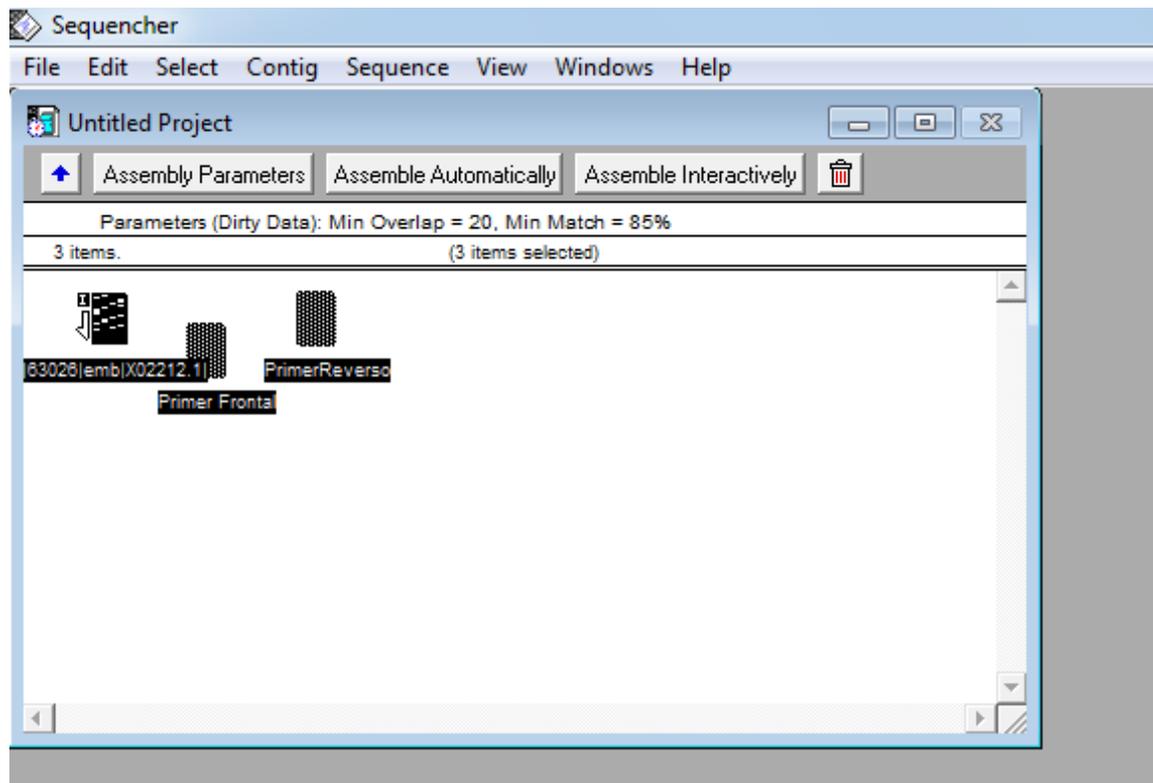
10. Aparecerá una nueva ventana donde debe escribirse el nombre del Primer (en este caso, el frontal).



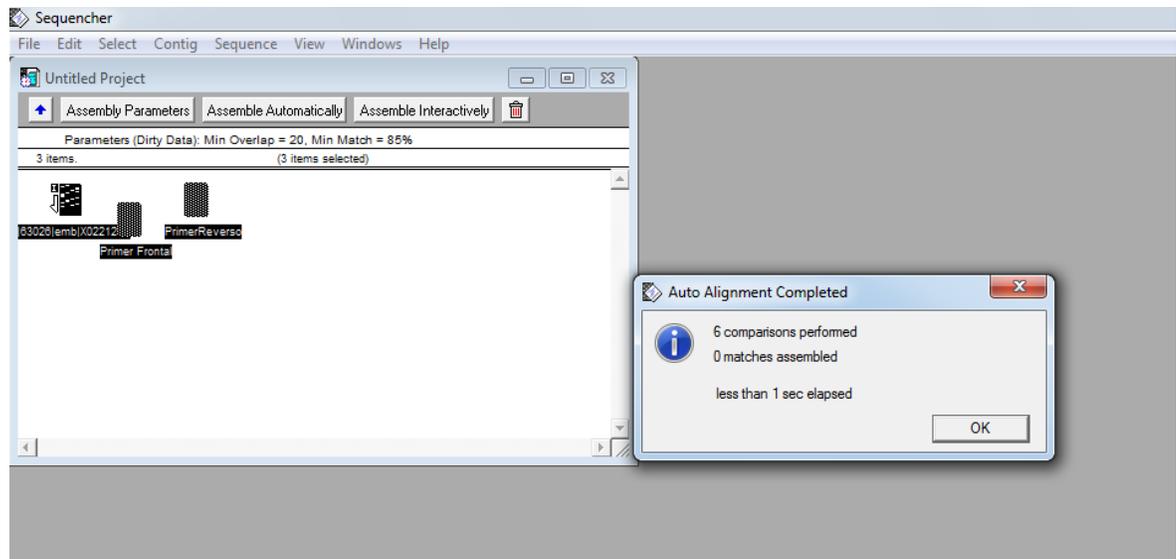
11. Minimizar la pestaña y repetir los pasos 8, 9 y 10; escribiendo un nuevo nombre, por ejemplo, PrimerReverso (como se muestra en la imagen). Dar click en “Ok”. Esta vez, se debe escribir la secuencia del segundo Primer, en este caso, el Reverso.



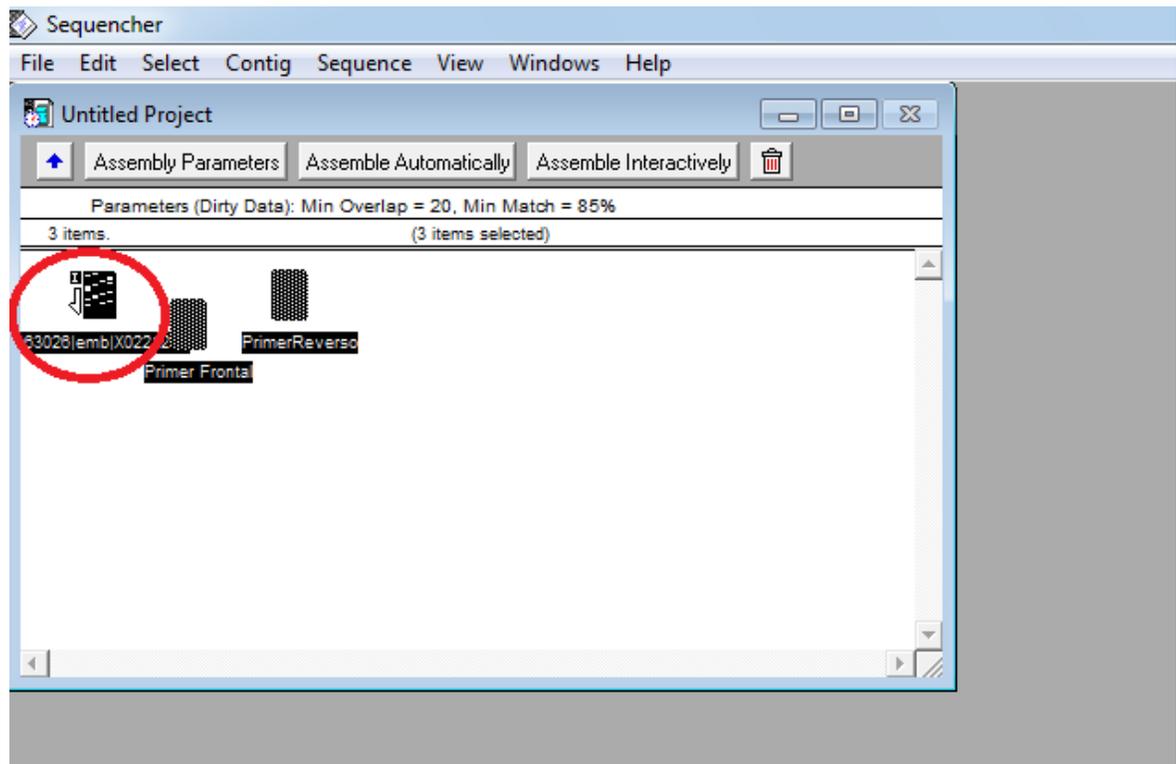
12. Una vez que estén creadas las dos carpetas de primers con su respectiva secuencia; seleccionar los 3 archivos (el archivo importado y las dos carpetas que creamos para cada Primer).



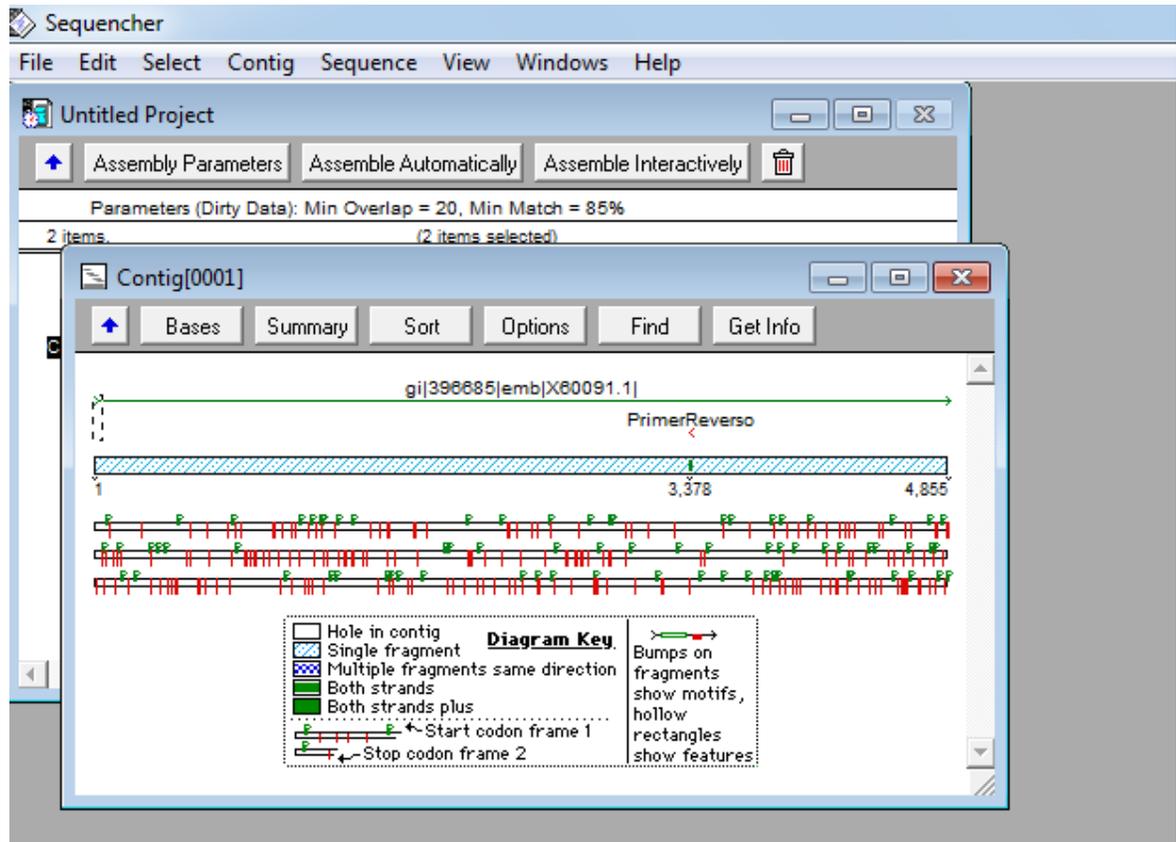
13. Dar click en la opción "Assemble Automatically". Aparecerá una ventana donde debe darse click en "Ok".



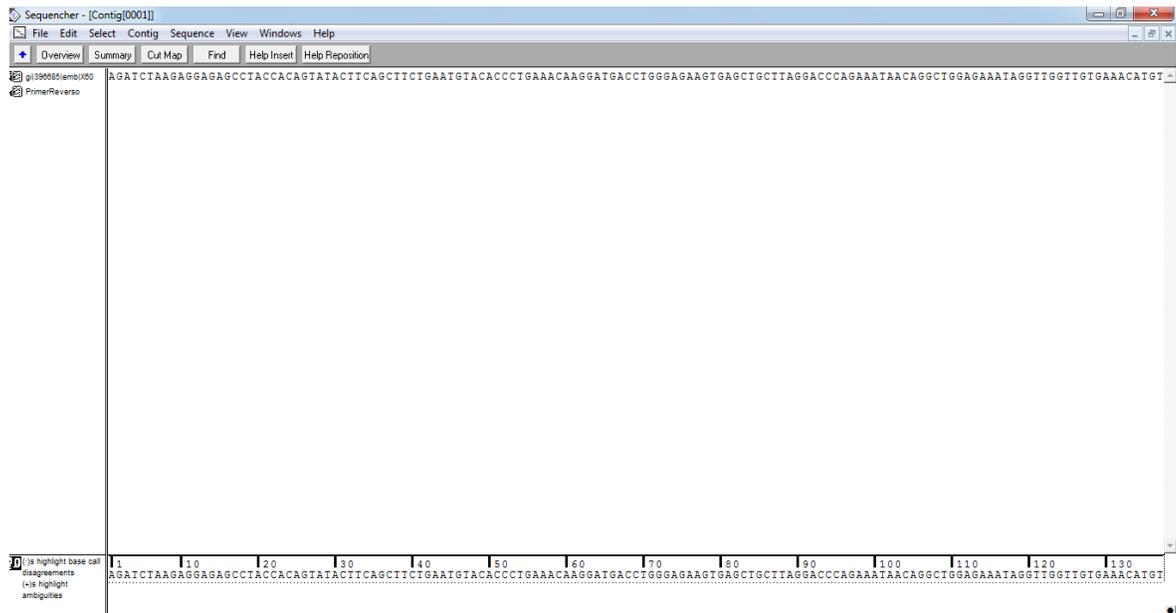
14. Después dar doble click en el archivo importado.



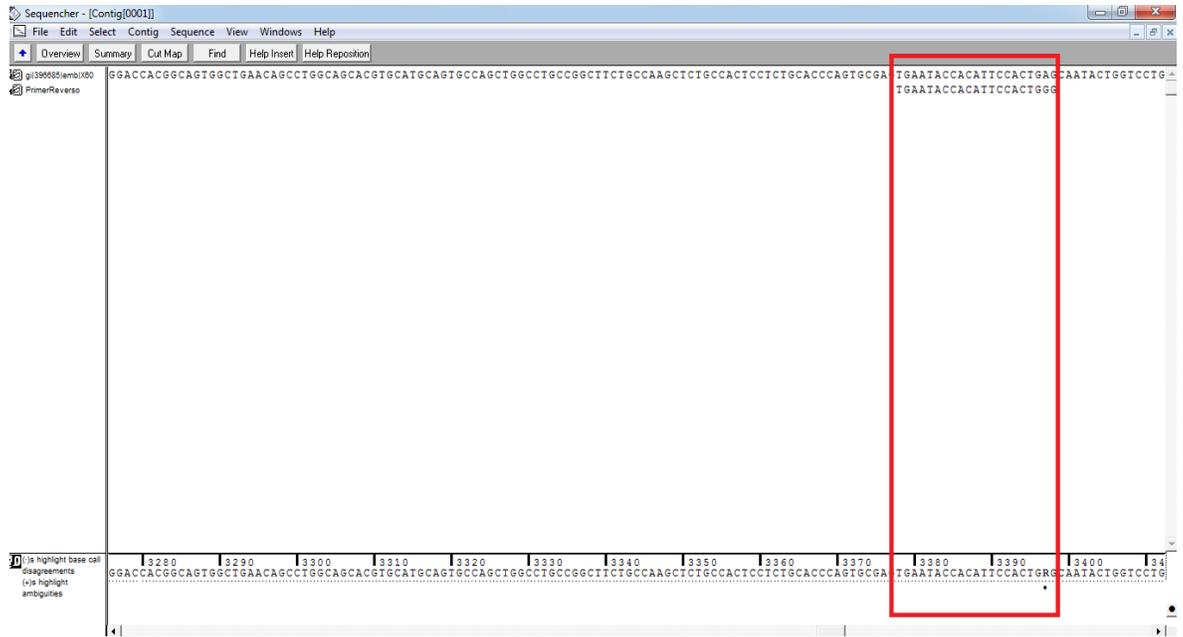
15. Se abrirá una nueva ventana (como se muestra en la imagen).



16. Dar click en la opción “Bases”



17. Como se muestra en el paso 15, el Primer Reverso se encuentra en el número 3,378, así que en la ventana mostrada en el paso 16, debemos buscar ese número.



18. Finalmente debe revisarse que los Primers coincidan (tanto el reverso como el frontal) y ver el número de pares de bases que abarca esa secuencia de primers.

Fuente		Párrafo	Estilos
Duck-probe	0.1	VIC-GGTCCCAITTAACAGCTTCCCA-MGB-NFQ	1099-1119
Chicken-F*	0.2	CAGTGGCCITGCCGG	3323-3337 76 X60091
Chicken-R*	0.2	CCCAGTGGAAATGTGATTCA	3378-3398
Chicken-probe*	0.1	FAM-TCTGCCACTCCTCTGCACCCAGT-MGB-NFQ	3350-3372
Turkey-F*	0.8	CAAAGAAAGCAGGGAAGGA	1799-1819 83 L76587
Turkey-R*	0.8	TGCACCTCTCGTTGTTAAAAGGA	1859-1881
Turkey-probe*	0.2	NED-CTGGGAAAGTTACTGTGTAGCCTCAGAACG-MGB-NFQ	1821-1850

*The primer and probe sequences for chicken and turkey were previously published by Köppel et al. (2009)
Probes are listed in the following format: REPORTER DYE-Sequence-Minor Groove Binder – Non-Fluorescent Quencher

Diagram showing a DNA sequence alignment with a legend for 'Bisectam Key' and 'Bisectam Key'.

GAACAGCCTGGCAGCACGTGCATGCAATGCAAGTGGCTGCCGGCTTCTGCCAAGCTCTGCCACTCCTCTGCACCCAGTGGCA TGAATACCCACATCCACTGAGCAATACTGGTCCCTG TGAATACCCACATCCACTGGG

CATGCAAGTGGCTGGCAGTGGCTGAACAGCCTGGCAGCACGTGCATGCAATGCAAGTGGCTGCCGGCTTCTGCCAAGCTCTGCCACTCCTCTGCACCCAGTGGCA TGAATACCCACATCCACTGAGCAATACTGGTCCCTG TGAATACCCACATCCACTGGG