



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y SERVICIO EN ZOOTECNIA POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE ANIMAL EN CARNE FRESCA EN CARNICERÍAS DE LA CIUDAD DE MÉXICO

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:
GUILLERMO RESENDIZ GONZALEZ

Bajo la supervisión de: GILBERTO ARANDA OSORIO, Ph.D.



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

Junio 2014

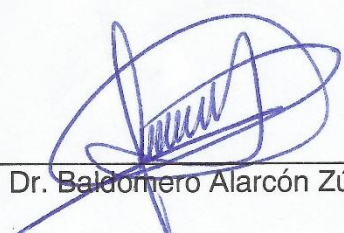
Chapingo, Estado de México

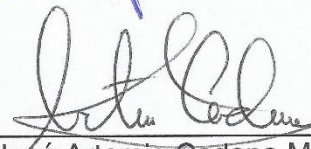
**IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE ANIMAL EN CARNE FRESCA EN
CARNICERÍAS DE LA CIUDAD DE MÉXICO**

Tesis realizada por **GUILLERMO RESENDIZ GONZÁLEZ** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR: 
Dr. Gilberto Aranda Osorio.

ASESOR: 
Dr. Baldomero Alarcón Zúñiga.

ASESOR: 
Dr. José Artemio Cadena Meneses.

ASESOR: 
Dr. Maximino Huerta Bravo.

ASESOR: 
Dr. Omar Hernández Mendo.

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
DEDICATORIAS	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
DATOS BIOGRÁFICOS	ix
1.INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.2 HIPÓTESIS	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Situación actual de la carne bovina	5
2.2 Situación actual de la carne equina	6
2.3 Calidad nutritiva de la carne bovina y equina	7
2.4 El color como indicador de especie y calidad de la carne	9
2.5 Escandalo nutritivo	13
2.6 Identificación de especie en productos de origen animal	14
2.7 Reacción en cadena de la polimerasa (Polimerase Chain Reaction – PCR)	18
2.8 Conclusiones de la Revisión	23
2.9 Literatura citada	24
3 PRESENCIA DE CARNE EQUINA EN EXPENDIOS DE CARNE BOVINA EN LA CIUDAD DE MÉXICO	29
3.1 Resumen	29
ANIMAL SPECIES IDENTIFICATION IN FRESH MEAT BUTCHERIES OF MEXICO CITY	30

3.2 Abstract.....	30
3.3 Introducción.....	31
3.4 Materiales y Métodos	32
3.4.8 Análisis estadístico	36
3.5 Resultados y Discusión	36
3.6 Conclusión	39
3.7 Literatura citada.....	40
4. CARACTERÍSTICAS NUTRITIVAS DE CARNE FRESCA DE BOVINO Y EQUINO	42
4.1 Resumen	42
NUTRITIONAL CHARACTERISTICS OF MEAT SAMPLES FROM BOROUGH MARKETS OF MEXICO CITY.....	43
4.2. Abstract	43
4.3. Introducción.....	44
4.4. Materiales y Métodos	45
4.4.1. Muestreo	45
4.4.2 Determinación de proteína, grasa, humedad y colágeno.....	45
4.4.3. Determinación de color.....	46
4.4.4. Análisis Estadístico.....	46
4.5. Resultados y Discusión	46
4.6 Conclusión	48
4.7 Literatura citada.....	49
5 Anexo.....	50

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Principales países productores, importadores y exportadores de carne equina en el año 2011.	7
Cuadro 2 Contenido nutricional de la carne de bovino por región geográfica.	8
Cuadro 3. Contenido nutricional, de hierro y vitaminas de la Carne de Equino.	9
Cuadro 4 Valores de color en carne equina y bovina	12
Cuadro 5. Características de la canal de las especies equina y bovina.	15
Cuadro 6 Número de mercados, mercados muestreados y número de muestras por Delegación.	33
Cuadro 7 Oligonucleótidos para la determinación de especie.	35
Cuadro 8 Valores medios (Media $\pm$ EE) de la composición química de muestras cárnicas de acuerdo a la especie de origen.	47
Cuadro 9 Valores medios (Media $\pm$ EE) de los indicadores de color (L, a y b) de muestras cárnicas de acuerdo a la especie de origen.	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Países productores de carne bovina	5
Figura 2 La escala CIE y su interpretación tridimensional	11
Figura 4. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (1).....	37
Figura 5. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (2).....	37
Figura 6. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (3).....	38
Figura 7. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (4).....	38
Figura 8. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (5).	38
Figura 9. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (6).	38
Figura 10. Gel de electroforesis de mezclas de los diferentes controles positivos a diferentes cantidades de DNA. Equino	39

DEDICATORIAS

A mi madre[†] y mi padre, por su apoyo incondicional, sus consejos y todo su amor, para formar mi carácter, empeño, valores y principios. Donde quiera que estés madre, te agradezco mi existencia.

A mi hermana Marlene y mi cuñado Antonio, gracias por el apoyo brindado para la culminación de este proyecto, hermanita te adoro.

A mi sobrino Nicolás, que has venido a alegrar nuestra familia, y en tan poco tiempo te has ganado nuestro amor, eres motivo de inspiración para seguir adelante.

A Rosana, gracias por apoyarme durante los estudios de maestría, tuviste paciencia y nunca me dejaste de lado en tu vida cotidiana, nos volvimos a encontrar, tardamos un poco pero la recompensa será una vida juntos. TE AMO.

A Luis Calderón Fernández, por el apoyo para la realización de este trabajo, por esas charlas que retroalimentan.

A mi tío Arturo Reséndiz López, gracias por todo el apoyo y la formación recibida por usted, por ayudarme a ser la persona que soy.

A todos ustedes les dedico el producto de mi esfuerzo

Guillermo Resendiz Gonzalez.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por la oportunidad de realizar los estudios de maestría.

Al Posgrado en Producción Animal por darme el privilegio de seguir formándome académicamente.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento dado durante mis estudios de nivel maestría.

Al Dr. Gilberto Aranda Osorio, por su paciencia y colaboración al brindar todas las facilidades para el desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. Baldomero Alarcón Zúñiga por la paciencia y supervisión en todo momento.

Al Dr. José Francisco Montiel Sosa, por apoyarme en la fase inicial y el planteamiento de este trabajo.

Al equipo de académicos e investigadores que forman parte del PPA por la experiencia transmitida para formarnos como profesionales de alta calidad y enfrentar la realidad del sector agropecuario.

A la MC. Itzel Villegas, Ing. Jesús Emmanuel Baños Galindo, la Doctora Rosario Aguirre por la amistad y el apoyo que me brindaron, en todo momento a lo largo de la maestría.

A todos los compañeros del posgrado, Araceli, Maribel, Víctor, Antonio, Misael, Lizbeth, Maricela, Juan Carlos, Genaro, Deli que de igual forma hacemos el esfuerzo por mejorar día con día, les voy a extrañar, pero siempre los llevare conmigo.

A todos los que directa o indirectamente colaboraron para que esta investigación llegara a buen término.

DATOS BIOGRÁFICOS

DATOS PERSONALES

Nombre: Guillermo Resendiz
Gonzalez.
Fecha de nacimiento: 19 de Marzo de 1983.
Lugar de nacimiento: Distrito Federal.
CURP: REGG830319HDFSNL00
Profesión: Médico Veterinario Zootecnista.
Cédula profesional: 5846230



DESARROLLO ACADÉMICO

Preparatoria: Escuela Nacional Preparatoria N° 3 “JUSTO SIERRA”.
Licenciatura: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
Maestría Universidad Autónoma Chapingo.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los caballos han sido utilizados a lo largo del tiempo principalmente como animales de tiro, de monta y como fuente de alimento (Chong-Eon *et al.*, 2007). En algunos países como Corea y Japón, la carne equina es considerada un manjar, aunado a que existe una tendencia por parte de los consumidores a evitar la carne roja por la percepción de los efectos adversos de los ácidos grasos saturados que están ligados a enfermedades coronarias (Chong-Eon *et al.*, 2007).

La carne de equino contiene un valor nutritivo similar a la carne de res, con menor contenido de grasa y de menor costo (Arcos-García *et al.*, 2002)

Los países que consumen e importan la mayor cantidad de carne equina, son Italia, Bélgica, Francia, Holanda y Japón (Gill, 2005). México, según datos de la FAO (2012), ocupó el cuarto lugar en producción de carne equina durante 2010 con 69,129 toneladas y su volumen de exportación durante el mismo año alcanzó las 60,747 toneladas (CNOG, 2012). En México existen rastros y mataderos de equinos regulados por la Secretaría de Salud (SS), y dado que, este tipo de establecimientos no son elegibles para exportar sus productos se presume que uno de los canales de comercialización sea el mercado interno, sin embargo, el conocimiento de las vías de distribución y comercialización de la carne son prácticamente desconocidos, dado que no hay estadísticas (Cámara de senadores, 2013).

La Zona Metropolitana del Valle de México es el principal mercado de carne bovina en el país, donde independientemente del ingreso familiar, el 37% de la población consume carne de bovino adquirida en mercados públicos, el 28.2% en carnicerías de barrio, el 27.4% en tiendas de autoservicio, y el 5.2% en tianguis o mercados sobre ruedas (Téllez-Delgado *et al.*, 2012). Por lo que los mercados delegacionales representan el principal canal de comercialización en el centro de consumo más importante del país.

Es común encontrar que los expendios de carne bovina tienen únicamente el nombre genérico de carnicería, sin especificar el tipo de carne que se

comercializa, lo que hace necesario el determinar la especie de origen en productos y subproductos cárnicos.

En el Capítulo 2, se presenta a través de una revisión de literatura la situación de la carne bovina y equina en el mundo; cifras del hato bovino y equino mundial, los países productores de carne bovina, cifras de la producción e importación de carne de bovino y equino mexicana.

Las bondades nutritivas que distintos autores han encontrado, así como las técnicas para la determinación de especie existentes que se utilizan en productos y subproductos de origen animal.

En el capítulo 3, se desarrolla la metodología para la identificación de especie mediante la técnica de PCR. Debido a que es muy fácil la identificación de especie en animales en pie, pero esta diferenciación no es tan sencilla en canales y difícil una vez que ha sido deshuesada. Por lo que es necesario contar con una prueba objetiva para la determinación de especie. Existen una gran variedad de técnicas desde las físicas hasta las genéticas, siendo estas últimas las de mayor precisión y confianza.

En el capítulo 4 se muestra un análisis de las características nutritivas (humedad, proteína, grasa y colágeno) de las muestras obtenidas de los mercados delegacionales de la Ciudad de México.

1.1 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de carne equina en carnicerías de carne bovina en mercados delegacionales de la Ciudad de México, así como evaluar su calidad nutricional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la especie (bovino o equino) en carne fresca a través de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
- Determinar el valor nutricional (proteína, humedad, grasa y colágeno) de las muestras de carne obtenidas en los mercados delegacionales.
- Determinar el color de las muestras de carne obtenidas en los mercados delegacionales.

1.2 HIPÓTESIS

- Debido a un alto número de equinos sacrificados en el país, y a que no se encuentran estadísticas sobre su consumo y la ruta de comercialización se presume que existe sustitución de carne bovina por equina en mercados delegacionales de la Ciudad de México.
- Es necesario contar con una técnica de determinación de especie más sensible y confiable que las técnicas basadas en reacciones antígeno anticuerpo y la PCR puede cumplir con esos objetivos.
- El valor nutricional entre muestras de carne obtenida de mercados delegacionales es muy similar.
- Los indicadores de color no varían entre las distintas muestras de carne obtenidas en mercados delegacionales de la Ciudad de México.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Situación actual de la carne bovina

En el mundo, según datos de la FAO, el hato estimado durante el año 2012 fue de 1, 485, 211,784, cabezas de ganado bovino, de los cuales 31, 925,181 de cabezas se encuentran en México; así, durante el mismo año, la producción de carne bovina a nivel mundial fue del orden de los 62, 737,255 toneladas, siendo los principales países productores: Estados Unidos, Brasil, China, Argentina, Australia, y en sexto lugar, México con 2, 205,440 toneladas (Figura 1) (FAOSTAT, 2014).

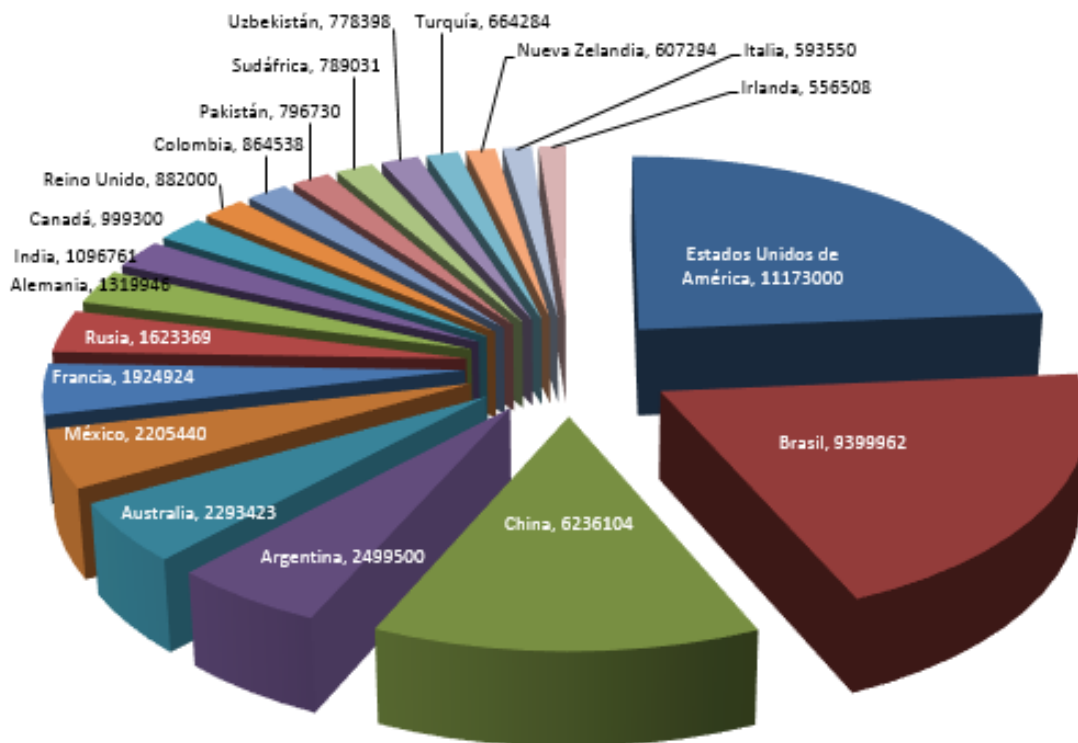


Figura 1 Países productores de carne bovina en 2012 (toneladas).

La producción de carne de bovino es una de las actividades fundamentales del sector pecuario nacional ya que la ganadería se desarrolla en aproximadamente 110 millones de hectáreas, lo que representa alrededor del 60% de la superficie del territorio nacional (Palacios, 2010).

Entre los años 2001-2012 la producción de carne de bovino en canal en México ha crecido para ubicarse en 2.2 millones de toneladas (SIAP, 2014). La exportación de carne bovina mexicana equivalente a canal durante 2012 fue de 176 959 toneladas, (SIAP 2014) las cuales se exportaron principalmente a Estados Unidos, Rusia y Japón (AMEG, 2014). En México existen 1,151 rastros, 913 son municipales, 141 privados y 97 TIF de los cuales 64 sacrifican ganado bovino (Barrera, 2012).

2.2 Situación actual de la carne equina

El consumo de carne equina a través del tiempo se volvió una práctica frecuente después de la segunda guerra mundial en la gente de bajos ingresos en Europa, mientras la carne de res era escasa, los caballos viejos de tiro fueron procesados para cubrir esa necesidad. Hoy en día en algunos países europeos la carne equina es considerada un manjar y se asocia a precios elevados (Stull, 2001).

En Estados Unidos durante 2007 fueron introducidos proyectos de ley en el Senado y la Cámara para prohibir el sacrificio de caballos para consumo humano así como evitar el transporte de caballos vivos desde Estados Unidos a los países donde podrían ser sacrificados; pese a ello, anualmente se envía un promedio de 25 y 11 mil animales a Canadá y México para ser sacrificados, respectivamente, con fines de consumo (Whiting, 2007).

Con la aparición de la encefalopatía espongiforme bovina, se redujo considerablemente el consumo de carne de res en Italia, y el número de rastros equinos comenzó a crecer debido al interés de los consumidores a diferentes tipos de carne. El consumo *per cápita* de carne equina en los países de la Comunidad Económica Europea oscila en los 400 g (Martuzzi, 2001).

El hato equino mundial es de aproximadamente 58, 900,391 cabezas, y alrededor de 6, 356,000 se encuentran en México (FAOSTAT, 2014).

En el año 2011, se produjeron alrededor de 754 398 toneladas de carne equina en el mundo, donde diversos países destacaron como los principales productores, importadores y exportadores de carne de equino (Cuadro 1).

Cuadro 1. Principales países productores, importadores y exportadores de carne equina en el año 2011 (Cantidad en toneladas de carne).

PRODUCCIÓN		IMPORTACIÓN		EXPORTACIÓN	
País	Cantidad*	País	Cantidad*	País	Cantidad*
China	161 208	Italia	28 962	Argentina	21 225
Kazajstán	75 477	Rusia	25 562	Bélgica	20 986
USA	70 215	Bélgica	25 206	Canadá	15 787
México	64 696	Francia	18 122	México	14 026
Rusia	52 897	Holanda	5 945	Polonia	11 832

Fuente: FAOSTAT, 2012.

En México, cuando estos animales llegan al fin de su vida productiva, muchos son enviados a sacrificio sin existir datos sobre la producción para consumo en el país, sin conocer el mercado de dichos subproductos. De acuerdo con estos datos, existen cerca de 50,000 toneladas que aparentemente permanecen en el país, ¿Cuál es el destino de esta carne?

Anualmente se importan cerca de 11,000 equinos en pie para ser sacrificados en rastros. Sin embargo, durante 2011 en México se importaron cerca de 143 256 cabezas de equinos para su sacrificio (cámara de Senadores, 2013) en Establecimientos Tipo Inspección Federal (TIF). Los rastros que cuentan con dicha certificación se encuentran en los estados de Zacatecas (2; E33 y E42), Aguascalientes (1; TIF E20), Chihuahua (1; E 98) y Nuevo León (1; E179).

2.3 Calidad nutritiva de la carne bovina y equina

La carne bovina es un componente importante en la alimentación y nutrición humana, ya que es un alimento rico en proteínas, minerales (potasio, fósforo y hierro), y vitaminas para el buen funcionamiento del organismo (Téllez-Delgado,

et al., 2012) Sin embargo, existen diferentes factores, como bienestar animal al sacrificio, manejo nutricional, edad y genética, entre otros, los cuales son considerados responsables de la gran variación en la calidad de la carne de bovino.

En México, según Delgado *et al.* (2005). La producción de ganado bovino se centra en tres principales regiones geográficas bien diferenciadas debido al clima imperante, sistema de alimentación, y razas explotadas, entre otras características, las cuales son la región centro, norte y sur; las características nutritivas (humedad, grasa, proteína y colágeno total) del músculo *Longissimus dorsi* de bovino por región geográfica se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2 Contenido nutricional de la carne de bovino por región geográfica.

	NORTE	CENTRO	SUR
Humedad (%)	72.9	73.6	72.2
Grasa (%)	3.0	2.7	3.6
Proteína (%)	21.7	22.3	22.3
Colágeno (mg/g)	17.4	15.8	17.0

Fuente: Delgado *et al.*, (2005).

Por otra parte, la producción equina como fuente cárnica ha sido cuestionada por su calidad comestible, a pesar de tener un valor nutritivo similar al de la carne de res (Arcos-García *et al.*, 2002). Numerosos autores indican que el sexo, la edad y el sistema de producción afectan la composición química de la carne de equino solamente en un grado mínimo (Badiani y Manfredini, 1994; Litwińczuk *et al.*, 2008).

La carne de equino ha sido objeto de análisis de sus características organolépticas y nutricionales a través del tiempo, obteniéndose resultados diversos. Algunos estudios (Cuadro 3) le atribuyen como principales características nutritivas el contener una alta cantidad de hierro, vitaminas del complejo B (tiamina, niacina y riboflavina) y menor cantidad de grasas respecto a otras carnes rojas, representando un menor riesgo de enfermedades coronarias a sus consumidores. Un estudio realizado por Chong-Eon *et al.* (2007) en Corea encontraron que, con una porción de 100 g de carne equina se

cubre cerca del 40% del requerimiento proteico para hombres adultos, así como el de fósforo (24%), sodio (2.5%), potasio (6.7%), hierro (21%), cinc (26%), y cobre (40%) de la recomendación diaria de ingesta mineral en hombres adultos, aunque el calcio y manganeso no fueron detectables.

Los resultados obtenidos en varios países y años muestran diferencias notables en cuanto a parámetros nutritivos, la carne de equino ha sido considerada una alternativa a la carne convencional, principalmente a la bovina, los motivos pueden ser múltiples, pero entre ellos pudieran ser como lo mencionamos anteriormente, la aparición en Europa, hace algunos años, de casos de dioxinas, Encefalopatía Espongiforme Bovina y Fiebre Aftosa.

Cuadro 3. Contenido nutricional, de hierro y vitaminas de la Carne de Equino.

Autor	Año	Proteína %	Grasa %	Colesterol %	Fe*	Niacina*	Tiamina*	Riboflavina*
Chong-Eon	2007	21.1	6	s/d	21.0	16.5	2.0	2.1
Litwińczuk	2008	20.2	s/d	s/d	s/d	s/d	s/d	s/d
Badiani	1997	19.8	s/d	0.061	38.9	55.4	0.4	1.8
Poławska	2013	19.8	6.6	0.061	38.0	73.0	1.8	2.0
USDA	2013	21.4	4.6	0.052	38.2	46.0	1.3	1.0
PROMEDIO		20.4	5.6	0.058	38.3	47.7	1.4	1.7

s/d Sin dato reportado.

*mg/kg.

2.4 El color como indicador de especie y calidad de la carne

La calidad de un alimento es la suma de tres principales componentes: valor nutritivo, inocuidad y aceptabilidad del consumidor (Clydesdale, 1978). La aceptabilidad del consumidor incluye un amplio margen de atributos como la apariencia, aroma, sabor, textura, etcétera. Sin embargo, el color de la carne es el principal factor que influye en la decisión de compra pues al juzgar la calidad del producto en el punto de venta le convierte quizás en el atributo más importante, ya que si se considera inaceptable, el producto no será comprado y/o consumido en consecuencia los demás atributos pierden significancia. Mancini y Hunt (2005), calculan que alrededor del 15% de la carne al por menor se descuenta en el precio debido a la decoloración de la superficie, que

corresponde a pérdidas anuales por alrededor de \$ 1000 millones en ingresos (Mancini y Hunt, 2005; Bekhit y Faustman, 2005).

El color de la carne depende del tipo de músculo (tipo de actividad) y de la concentración de mioglobina que contenga, además del estado de oxidación del átomo de hierro del grupo hemo y de una posible desnaturalización de la globina (Hulot y Ouhayoun, 1999).

La carne de equino es rica en mioglobina y tiene una alta capacidad de combinar con el oxígeno, por lo tanto la oxidación de la oximioglobina rojo brillante a metamioglobina marrón se acelera. Estas circunstancias reducen la estabilidad del color rojo en la carne fresca de equino aquejando el acortamiento de la vida útil (Badiani y Manfredini, 1994).

La percepción del color es única y exclusiva para cada individuo. Anteriormente existía una gran dificultad para comunicar objetivamente un color específico, sin tener una base de referencia, de hecho las primeras mediciones del color se hicieron basadas en estándares por medio de comparación. Actualmente para la identificación exacta de un color, existen instrumentos que le atribuyen valores numéricos, los cuales hacen objetiva esta propiedad (Hernández-Bautista y Rincón, 2009).

La CIE (de sus siglas en francés Commission Internationale de l'Eclairage, 1976) recomienda para evaluar el color dos escalas alternativas y uniformes:

CIE (L^* , a^* , b^*) o CIELAB y la CIE (L^* u^* v^*) o CIELUV. Estas escalas se basan en la teoría de percepción de colores opuestos, que establece que un color no puede ser verde y rojo, ni azul y amarillo al mismo tiempo. Cuando se expresa un color en CIELAB, L^* , indica la luminosidad o claridad y va de la escala 0 a 100; a^* , indica el valor rojo/verde (-60 a +60) y b^* identifica el valor amarillo/azul (-60 a +60) (Figura 2).

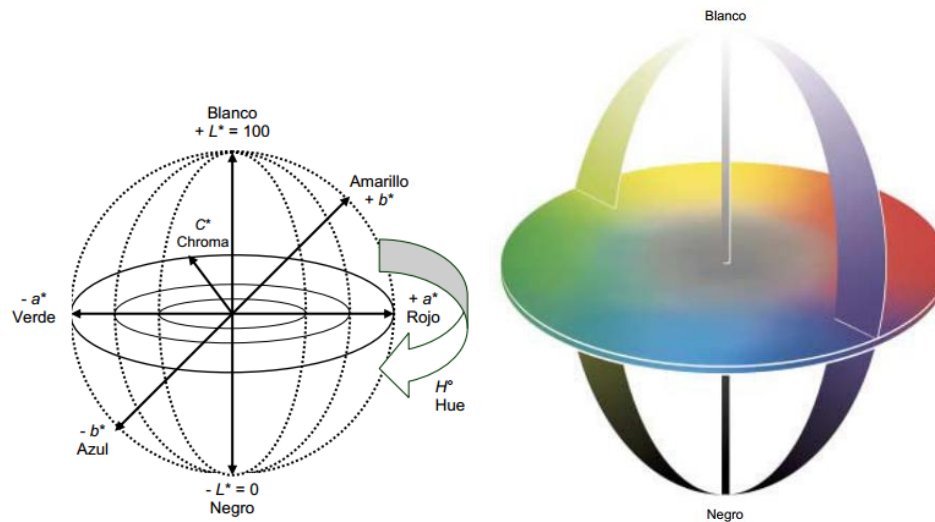


Figura 2 La escala CIE y su interpretación tridimensional

Para la evaluación del color en carne y productos cárnicos, Honikel (1997) recomienda algunos parámetros a considerar, como definir el tiempo de Blooming o tiempo de exposición de la carne al aire, exactamente después de cortar la muestra, una fuente de luz D65 a un ángulo de observación de 10° empleando la escala de color $L^* a^* b^*$ (CIE, 1976) y realizar la lectura por triplicado, habiendo calibrado con los estándares ($-L^*=0$) y blanco ($+L^*=100$). También debe considerarse que las lecturas hechas en carne con gran cantidad de grasa intramuscular (marmoleo) o colágeno producirán valores de gran variabilidad. El contenido de mioglobina es intrínseco al músculo y depende de los factores de producción primarios, tales como especie, raza, edad, tipo de músculo y grado de nutrición. El periodo *antemortem*, el proceso de sacrificio y las etapas subsecuentes, también afectan al color (Honikel, 1998). A continuación se presenta información de color de la carne de equino y bovino (Cuadro 4).

Cuadro 4 Valores de color en carne equina y bovina

Especie	Autor/Músculo	L	a	B
Bovino	Raes <i>et al.</i> 2003/ <i>L. lumborum</i>	41.70	20.70	21.5
	Gil <i>et al</i> 2001/ <i>L. thoracis</i>	32.60	24.00	27.20
	Delgado <i>et al</i> 2005/ <i>L. dorsi</i>	38.30	16.10	6.90
Equino	Lorenzo <i>et al</i> 2013 <i>B. femoris</i>	38.76	18.58	10.90
	Dufey 1996/-	34.59	-	-
Bovino	Promedio	37.53	20.27	18.53
Equino	Promedio	36.67	18.58	10.90

En los equinos, diferentes autores han evaluado factores como raza, sexo, edad al sacrificio, actividad física y tipo de músculo asociados al color. En cuanto a la raza, Lawrie (1985) encontró que la raza pura sangre inglés y los caballos de tiro tenían diferentes contenidos de mioglobina (4.6 vs 7.7 mg de mioglobina /g). Juárez *et al.* (2009) estudiaron el efecto de la raza sobre el color y mostraron que los tres valores colorimétricos (L^* , a^* y b^*) fueron mayores ($p < 0.01$) en Burguete que en la raza Hispano Breton. Sin embargo, Lanza *et al.* (2009) no encontraron diferencias significativas entre la raza, aunque se registraron valores más altos para los tres parámetros para la raza Haflinger.

Tateo *et al.* (2008) encontraron que las características colorimétricas no se vieron afectadas significativamente por el sexo. Además, Franco *et al.* (2011) demostró que ni la fuente de variabilidad (sexo y edad al sacrificio) influyen en los índices colorimétricos, a pesar de que los machos tenían un valor ligeramente mayor de L^* y a^* , lo cual podría estar relacionado con una mayor actividad física de los machos que las hembras (Badiani y Manfredini, 1994). En cuanto al tipo de músculo, el semitendinoso (ST) es menos oscuro que el pectoral profundo (Robelin *et al.*, 1984), sin embargo, Litwiczuk *et al.*, (2008) hallaron valores similares en *Longissimus lumborum* (LL) y ST para los parámetros de color. Lorenzo *et al.* (2013) encontraron que el ST fue más

luminoso que el semimembranoso (SM), *Longissimus dorsi* (LD) y *Biceps femoris* (BF), el más oscuro fue el *Triceps brachialis* (TB). Como podemos observar, los resultados de la medición de color muestran valores diversos, dependiendo de la raza y el tipo de músculo.

Además de los efectos dependientes del animal, la variación en el color de la carne depende de aspectos extrínsecos como bienestar animal al sacrificio, cadena de frío y método de conservación de la carne.

2.5 Escándalo nutritivo

En el año 2013 se presentó un escándalo alimentario en la Unión Europea (UE) cuando la Autoridad de Seguridad Alimentaria de Irlanda reveló los resultados de un estudio en el cual se encontró DNA de equino no declarado en la etiqueta de hamburguesas de res congeladas a la venta en tiendas y supermercados como Tesco®, Iceland®, Aldi® y Lidl®. Dicho producto, fue suministrado por la empresa de alimentos ABP Silvercrest (ABP), y otras fábricas implicadas en niveles bajos fueron, Dalepak® y Liffey meats® (Lawrence, 2013).

ABP señaló a sus proveedores procedentes de Polonia. El escándalo creció cuando Irlanda advirtió a la United Kingdom Food Standards Agency (UKFSA) que, debido a que las cadenas de suministro de ambos países son altamente integradas, lo que estaba a la venta en Irlanda podría estar a la venta en el Reino Unido por lo que la UKFSA ordenó analizar más productos para determinar la presencia de DNA equino. Fue entonces cuando se reveló que la carne en la *lasagna* congelada y espaguetis a la boloñesa hechos para Tesco®, Aldi® y Findus® por Comigel®, un fabricante francés, contenía hasta el 100% de DNA equino.

Comigel® producía comidas a base de carne a bajo costo para supermercados y empresas de marca en 16 países diferentes por lo que el escándalo se extendió rápidamente, presentándose “*recalls*” en Alemania, Suecia, Bélgica, los Países Bajos, Suiza, así como Irlanda y el Reino Unido.

Comigel® había subcontratado la producción de alimentos preparados a una fábrica en Luxemburgo, denominada Tavola®, la cual a su vez se suministraba de carne en una compañía llamada Spanghero® quien habría comprado carne

de un defraudador holandés condenado por pasar carne de equino por carne de res, Jan Fasen. Este comerciante holandés dirigió una compañía llamada Draap[®], que escrito al revés *paard*, significa caballo en holandés. Durante el juicio de Fasen en Holanda declaró que había suministrado a empresas francesas con carne de caballo importado de América del Sur y México fraudulentamente etiquetada como res alemana y holandesa en 2007 (Lawrence, 2013).

2.6 Identificación de especie en productos de origen animal

La identificación de la especie en productos de origen animal (carne, leche o sus derivados) es necesaria para los consumidores modernos, entre otras razones:

Para evitar el dolo económico por sustitución o adulteración del producto, por ejemplo carne de perro o gato por carne de bovino, en especial en alimentos ofrecidos en expendios sin control sanitario; en otros casos, el uso de leche bovina en la producción de quesos cuya fórmula original requiere leche de otra especie bien sea de búfala (*Bubalus bubalis*) en queso mozzarella, cabra u oveja.

Requerimientos especiales, relacionados con aspectos de salud, tales como problemas de alergias alimentarias en individuos susceptibles o que reaccionan ante ciertas proteínas de origen animal; así como aquellos individuos que no toleran la ingesta de ciertos componentes de la leche, tales como la lactosa (caso de infantes).

Por razones culturales, tal es el caso de los judíos que no consumen productos de origen porcino (Aranguren-Méndez, 2009).

Existen varios métodos para la identificación de especie cárnica, que van desde los físicos, químicos, anatómicos, histológicos y biológicos, hasta las técnicas moleculares sofisticadas. Todos los anteriores tienen pros y contras, de tal manera que conocerlos es de gran utilidad para las personas que interactúan en este campo especializado (Singh y Neelan, 2011).

La selección de la técnica adecuada depende del tipo de producto a analizar.

Métodos Físicos

Se observa la apariencia general, puede combinarse percepción del color, textura, olor y presencia de partes del cuerpo junto con la carne. Los anteriores nos dan una idea acerca de la especie basada en las características de la calidad de la carne (Singh y Neelan, 2011).

Métodos Anatómicos

Se basan en la estructura anatómica de las especies utilizadas para la producción de carne. Podemos identificar fácilmente la especie de la cual pertenece, siempre y cuando se presente la canal. En algunos países el sacrificio de bovino y equino para la producción de carne es una práctica común. Así, la sustitución de una por otra puede representar un problema, en estos casos las diferencias anatómicas entre las especies puede ser una herramienta importante para su identificación. En el Cuadro 5 se presentan las principales diferencias anatómicas entre canales bovinas y equinas (Singh y Neelan, 2011).

Cuadro 5. Características de la canal de las especies equina y bovina.

		EQUINO	BOVINO
Vertebras	Procesos espinosos primeras seis vertebrae dorsales	Bien desarrolladas	Poco desarrolladas
	Procesos transversos últimas tres vértebras lumbares	Articuladas entre sí	Sin articulación
	Costillas	Angostas y curvadas	Comparativamente más Gruesas y menos curvadas
	Cavidad torácica	Larga (18 costillas)	Corta (13 costillas)
Huesos de las extremidades	Ulna	A la mitad de la longitud del radio	Toda la longitud del radio y articula con los carpos
	Fémur	Presencia de Tercer trocante	Ausencia de Tercer trocante
	Fíbula	2/3 de lo largo de la Fíbula	Pequeña

Fuente: Singh, 2007.

Técnicas Histológicas

En esta técnica generalmente se mide la longitud de la fibra muscular, diámetro, densidad y patrón de las fibras musculares en diferentes especies (Singh y Neelan, 2011).

Técnicas Químicas

Existen técnicas para determinar diferentes nutrientes y sus cantidades presentes en la carne, pudiendo ser de gran valor si se conocen las diferencias de dichos compuestos entre las especies interesadas, siendo una técnica complementaria para su determinación (Singh y Neelan, 2011). Como ejemplo los carotenos presentes en la carne de bovino y el búfalo.

Técnicas Biológicas

Estas técnicas están basadas principalmente en las reacciones antígeno-anticuerpo; los antígenos homólogos se unen con el anticuerpo y es visualizado por varios métodos. Estas técnicas son simples y pueden ser desarrolladas en cualquier lugar. También son conocidas como pruebas serológicas o inmunológicas. Dentro de estas técnicas destacan las siguientes: Prueba de Precipitación, ELISA y Fijación de Complemento.

Prueba de precipitación

Es conocida como Prueba de Precipitación de Anillo (RPD) en el cual el antígeno homólogo y los anticuerpos reaccionan formando un anillo en el punto de su interacción. Los anticuerpos conocidos son mezclados en un tubo con un macerado de la muestra cárnica. Si la línea de precipitación se forma en el punto donde se mezclan entonces se indica positividad. Por ejemplo si un antisuero de equino es mezclado con un macerado de carne sospechosa en un tubo, éste se muestra turbio y forma un anillo de precipitación definido, si la muestra resulta positiva. Esta prueba tiene limitantes, puede ser aplicada sólo para una evaluación cualitativa y no puede ser utilizada en carne cocida. Presenta falsos positivos en especies cercanamente relacionadas debido a una

reacción cruzada. El anillo es difícil de observar y difuso en un periodo corto de tiempo (Singh y Neelan, 2011).

Fijación de Complemento

También conocida como prueba de inmunodifusión o prueba de precipitación en agar. Es el mismo principio de la prueba de precipitación pero se usa un complemento para una larga duración de los resultados. Para este propósito se utiliza suero de cerdos de Guinea como complemento y células rojas sanguíneas de borrego y suero de conejo como indicadores. Puede ser usado como prueba cuantitativa y cualitativa detectando adulteraciones por arriba de un 5%, sin embargo, la prueba dura de dos a tres días, y es poco efectiva en carne completamente cocida, es de baja sensibilidad y puede dar falsos positivos en especies cercanamente relacionadas debido a reacción cruzada (Fajardo *et al.*, 2010; Singh y Neelan, 2011).

ELISA

Es un método rápido de alta sensibilidad para manejar varias muestras a la vez, esta prueba puede determinar hasta 2% de adulteración en la muestra. Existen diferentes tipos de ELISA que están en uso como la ELISA indirecta, ELISA competitiva y sándwich ELISA. Estas técnicas están basadas principalmente en anticuerpos policlonales contra el músculo o suero proteico.

Estos anticuerpos policlonales son limitados en su producción (Singh *et al.*, 2011).

Las técnicas basadas en proteínas como las electroforéticas (Montowska *et al.*, 2007), cromatográficas (Chou *et al.*, 2007) y espectroscópicas (Ellis *et al.*, 2005) han sido útiles para identificar el origen de la especie cárnica, sin embargo, están limitadas cuando la muestra ha tenido un tratamiento térmico debido a desnaturalización de las proteínas durante el procesamiento de los alimentos. Además, el análisis por inmunoensayo, el cual se sustenta por el uso de anticuerpos contra proteínas específicas es frecuentemente alterado por reacciones cruzadas entre especies cercanas (Ayaz *et al.*, 2006).

El uso de métodos analíticos basados en ácidos nucleicos pueden superar esos inconvenientes debido a que el DNA es muy estable y molecularmente de larga vida en todos los tejidos de los organismos. Dentro de todos los métodos basados en el DNA la reacción en cadena de la polimerasa es la técnica molecular más desarrollada que provee una simple, rápida, altamente sensitiva y específica herramienta para detectar constituyentes de origen animal en alimentos. (Mafra *et al.*, 2008; Tobe y Linacre, 2008; Fajardo *et al.*, 2010).

La Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR): Es un método rápido ya que se pueden obtener múltiples copias de fragmentos específicos de DNA *in vitro* y tiene un alto grado de selectividad y sensibilidad. La técnica amplifica una secuencia blanco de una forma exponencial siendo capaz de detectar inclusive una sola copia de la secuencia de una célula (Singh y Neelan, 2011).

2.7 Reacción en cadena de la polimerasa (Polimerase Chain Reaction - PCR)

La autenticidad de los alimentos es actualmente un tema importante para los investigadores, consumidores, industrias y los marcadores de políticas en todos los niveles del proceso de producción. Especialmente en la industria de la carne, los productos procedentes de distintas especies zootécnicas son objetivos susceptibles de etiquetado fraudulento debido al beneficio económico que resulta de la venta de una carne más barata que la carne de las especies más rentables y convenientes, entre otros aspectos. Estas razones han motivado el desarrollo de métodos para garantizar el comercio justo y el etiquetado de la carne desde el nivel de la producción hasta el uso de los consumidores de productos finales. En comparación con la proteína, el DNA es más estable y resistente a factores tales como alta temperatura, la presión, y compuestos químicos. Las propiedades antes mencionadas de los ácidos nucleicos permiten la identificación no sólo de los productos de carne cruda de diferentes especies, sino también aquellos sometidos a tratamiento térmico o complementado con diversos compuestos químicos. Además, los métodos genéticos hacen posible distinguir las especies de carne de animales

estrechamente relacionados, tales como, por ejemplo, de pollo y de pavo, o carne que se utiliza de manera individual o en una mezcla compleja. En los últimos años, toda la atención ha girado hacia la implementación de la genética molecular para la identificación de especies de carne debido a su alta sensibilidad y especificidad, así como el tiempo de procesamiento rápido y de bajo costo (Spychaj *et al.*, 2009; Fajardo *et al.*, 2010).

PCR multiplex

La PCR multiplex es una variación de la PCR convencional, en la cual más de un par de oligonucleótidos es usado en la reacción en cadena de la polimerasa. El objetivo de esta técnica es amplificar diferentes segmentos del DNA de interés, empleando una única muestra del DNA objetivo, en poco tiempo y minimizando costos (Matsunaga *et al.*, 1999).

El rendimiento de cada uno de los productos amplificados es reducido en proporción al número de oligonucleótidos que se incluyan en la reacción. Sin embargo como una regla general, más de ocho pares de oligonucleótidos empleados simultáneamente en la reacción pueden ocasionar un bajo rendimiento en la amplificación de los productos hasta el punto de causar la invisibilidad de éstos en el posterior análisis de los productos en un gel de agarosa (Sambrook y Rusell, 2001).

Para optimizar la reacción multiplex, deberá tomarse en consideración lo siguiente:

Comprobar que los oligonucleótidos seleccionados amplifican eficazmente por separado, utilizando el mismo programa de PCR.

Determinar la cantidad adecuada de cada pareja de oligonucleótidos para lograr la máxima amplificación de éstos, en reacciones separadas bajo el mismo programa de PCR y las mismas condiciones de reacción. (Sambrook y Rusell, 2001).

El proceso de PCR por lo general consiste en una serie de 20 a 35 cambios repetidos de temperatura llamados ciclos; cada ciclo suele consistir en 2-3

pasos de temperaturas. La PCR común se realiza con ciclos que tienen tres pasos de temperatura. Los pasos a menudo están precedidos por un choque térmico (llamado "hold") a alta temperatura ($>90^{\circ}\text{C}$), y seguido por otro "hold" al final del proceso para la extensión de producto final o el breve almacenaje. Las temperaturas usadas y el tiempo aplicado en cada ciclo dependen de gran variedad de parámetros (Sambrook y Rusell, 2001). Las tres etapas que se repiten durante los ciclos son: Desnaturalización, Hibridación y Elongación.

Desnaturalización

La desnaturalización de la doble hebra de DNA es determinante para la obtención de hebras simples a partir de la molécula de DNA. La desnaturalización se debe tanto a la ruptura de los puentes de hidrogeno entre pares de bases, como de las interacciones hidrofóbicas entre bases apiladas al desnaturalizarse. Las dos hebras del DNA se separan y pasan a una conformación al azar sin que se altere la estructura primaria, ya que no hay ruptura de enlaces covalentes.

Ese paso se lleva a cabo sometiendo a la muestra a altas temperaturas ($94-95^{\circ}\text{C}$), La temperatura a la cual se decide realizar la desnaturalización depende, por ejemplo, de la proporción de G+C que tenga la hebra, como también del largo de la misma. Otros métodos, raramente empleados en la técnica de la PCR, serían la adición de sales o agentes químicos capaces de realizar la desnaturalización (Sambrook y Rusell, 2001).

Hibridación

Durante esta etapa el cebador se unirá a su secuencia complementaria en el DNA molde. Para ello es necesario bajar la temperatura a $50-65^{\circ}\text{C}$ durante 20-40 segundos (según el caso), permitiendo así el alineamiento. Los puentes de hidrógeno estables entre las cadenas de DNA (unión DNA-DNA) sólo se forman cuando la secuencia del cebador es muy similar a la secuencia del DNA molde. La polimerasa une el híbrido de la cadena molde y el cebador, y empieza a sintetizar DNA. Los cebadores actuarán como límites de la región de la molécula que va a ser amplificada (Sambrook y Rusell, 2001).

Elongación

En esta etapa actúa la DNA polimerasa, tomando el DNA molde para sintetizar la cadena complementaria y partiendo del cebador como soporte inicial necesario para la síntesis de nuevo DNA. La polimerasa sintetiza una nueva hebra de DNA complementaria a la hebra molde añadiendo los dNTP's complementarios en dirección 5'→ 3', uniendo el grupo 5'- fosfato de los dNTPs con el grupo 3'-hidroxilo del final de la hebra de DNA creciente (la cual se extiende). La temperatura para este paso depende de la DNA polimerasa que usemos. Para la Taq polimerasa, la temperatura de máxima actividad está en 75-80°C (comúnmente 72°C). El tiempo de extensión depende tanto de la DNA polimerasa usada y de la longitud del fragmento de DNA que se va a amplificar (Comúnmente 72°C). El tiempo de extensión depende de la DNA polimerasa usada y la longitud del fragmento de DNA que se va a amplificar (Sambrook y Rusell, 2001).

Componentes de la reacción

Para poder llevar a cabo la reacción en cadena de la polimerasa se requiere de los siguientes componentes esenciales:

- DNA polimerasa termoestable.
- Oligonucleótidos sintéticos (Primers).
- Desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs).
- Cationes divalentes.

DNA polimerasa termoestable

Inicialmente se empleó la DNA polimerasa de *Escherichia coli*, como enzima polimerizadora, pero debido a su inestabilidad térmica era necesario agregarla cada ciclo, haciendo muy costosa la prueba. Tomando en cuenta los problemas que producía el empleo de esta enzima, se purificó una enzima termoestable a partir de bacterias *Thermus acuaticus* que actualmente se conoce como Taq polimerasa. Esta enzima tiene un peso molecular cercano a los 93.910 Da y su temperatura optima, en que se observa su actividad máxima, es entre 75 y 80°C; su tasa de incorporación de nucleótidos, es de unos 150 nucleótidos/seg/enzima (Perera y García, 2002).

Oligonucleótidos sintéticos (Primers)

De todos los factores que influyen sobre la eficiencia y especificidad de la reacción de amplificación, el más crucial es el diseño de los oligonucleótidos, en donde según Perera y García (2002) es muy importante atender diversos factores:

La longitud de los oligonucleótidos utilizados para cebar la reacción de PCR deberá de ser de secuencia corta (15 a 30). Cuando mayor sea su tamaño, mayor es la posibilidad de que se asocien a secuencias no perfectamente complementarias y conduzcan a la amplificación de productos no específicos (Perera y García, 2002).

La composición de bases de los cebadores es importante por el efecto que tiene sobre la estabilidad del híbrido; lo ideal es que tengan 50% de GC. Si el porcentaje es menor, interesa que tenga mayor longitud, para evitar una baja temperatura de fusión. Deben evitarse secuencias con bases repetidas (más de 3 o 4 seguidas), para dificultar uniones no correctas. Los oligonucleótidos deben estar presentes en la reacción a una concentración adecuada. Su ausencia detiene el proceso de amplificación, pero una cantidad excesiva puede provocar su unión inespecífica y la amplificación de secuencias no deseadas. Para la amplificación de secuencias específicas y determinadas, se utilizan cebadores también específicos, derivados de regiones conocidas que flanquean la secuencia de interés.

Desoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs)

Son desoxinucleótidos con dos átomos de fósforo más, suelen agregarse en concentraciones superiores a lo establecido ya que se gastan en la reacción rápidamente, la concentración de dNTP y el $MgCl_2$ va relacionada, ya que la enzima necesita de Mg para poder incorporar a los dNTP. (Sambrook y Russell, 2001)

Para una concentración de 200 μM de cada dNTP se suele añadir a una concentración de 1.5 mM (Perera y García, 2002).

Cationes divalentes

Todas las DNA polimerasa termoestables requieren de cationes divalentes libres para su actividad, usualmente Mg^{2+} , sin embargo, la presencia de estos está más ligada a la presencia de dNTPs y oligonucleótidos, debido a que son ellos los que se unen al catión. La concentración molar del catión, debe exceder la concentración molar de los grupos fosfato que aportan dNTPs más los oligonucleótidos (Sambrook y Rusell, 2001).

2.8 Conclusiones de la Revisión

El equino ha sido utilizado de muy diversas maneras, desde animales de trabajo hasta como fuente de proteína de origen animal. Su carne, ha sido apreciada en desde tiempos lejanos en muchas culturas, la cual es muy similar a la carne bovina desde el punto de vista nutritivo. Existen países donde la carne de equino es un producto aceptado y algunos otros donde no lo es. En nuestro país, los volúmenes de producción de carne bovina y equina son diferentes, siendo mayor la de carne bovina, sin embargo, México es uno de los principales productores de carne equina a nivel mundial, al grado de que existe una industria de sacrificio de equinos que permite la exportación de este producto; no obstante, los volúmenes de exportación son menores en comparación a los de producción, aunado a la ausencia de cifras de consumo interno, nos revela un posible empleo de ésta como un producto sustitutivo en algún punto de la cadena productiva de la carne bovina nacional, lo que hace necesario autenticar el origen de especie de la carne; para este fin existen diferentes técnicas y la PCR ha demostrado mejores atributos respecto a las demás.

La composición nutritiva de la carne es uno de los principales atributos a considerar por los consumidores, además que no es apreciable a simple vista, de igual manera, las características organolépticas de la carne inciden directamente en la compra, siendo el color el principal atributo para ese fin, lo que nos lleva a analizar la carne expedida en la principal ciudad de consumo de carne bovina del país.

2.9 Literatura citada

- AMEG (Asociación Mexicana de Engordadores de Ganado Bovino) 2014. Exportación de carne bovina equivalente a canal. Disponible en: <http://www.ameg.org.mx/estadisticas/nacional/exportacion/> Consultado el 14 de abril de 2014.
- Aranguren-Méndez J., M. Portillo, J. Ruiz, Y. Villasmil-Ontiveros, L. Yáñez, L. Borjas y W. Zabala. 2009 Identificación de especies en productos de origen animal mediante PCR. *Revista Científica Universidad de Zulia* 19 (2): 159-164.
- Arcos-García, G., Totosaús, A., Guerrero, I., and Pérez-Chabela, M.L. 2002. Physicochemical, sensory, functional and microbial characterisation of horse meat. *Agrociência Brasil* 8(1): 43-46.
- Ayaz, Y., N. D. Ayaz, and I. Erol. 2006. Detection of species in meat and meat products using enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Muscle Foods* 17(2): 214-220.
- Badiani, A., and M. Manfredini. 1994. The production of horsemeat. *Italian Journal of Animal Science* 20: 5–43.
- Badiani A., N. Nanni, P. Gatta, B. Tolomelli, and M. Manfredini. 1997. Nutrient profile of horsemeat. *Journal of Food Composition and Analysis* 10: 254-269.
- Barrera Moreno A. Siddhartha. 2012. Situación y Perspectivas de la Producción de Carne de Bovino. En *Ciclo de Seminarios MCIG Otoño 2012*. 14 de Marzo de 2012. Chapingo, México. P13.
- Bekhit, A. E. and Faustman, C. 2005. Review: Metmyoglobin reducing activity. *Meat Science* 71 (3): 407-439.
- Chong-Eon, L., S. Pil-Nam, O. Woon-Young, K. Moon-Suck, K. Kyu-Il, and J. Jae-Hong. 2007. Nutritional characteristics of horsemeat in comparison with those of beef and pork. *Nutrition Research and Practice* 1:70-73.
- Cámara de senadores LXVII Legislatura. 2013. Punto de acuerdo dirigido a diversas secretarías e instancias federales con motivo del ingreso, procesamiento, comercialización y exportación de carne equina. Publicado el miércoles, 24 de abril de 2013.
- Chou, C., S. P. Lin, K. M. Lee, C. T. Hsu, T. W. Vickroy, and J. M. Zen. 2007. Fast differentiation of meats from fifteen animal species by liquid chromatography with electrochemical detection using copper nanoparticle plated electrodes. *Journal of Chromatography Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 846(12): 230-239.

- Clydesdale, F. M. 1978. Colorimetry-methodology and applications. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 10(3): 243-301.
- CNOG (Confederación Nacional de Organizaciones Ganaderas) 2012. Información económica pecuaria n°20. Disponible en: http://www.cnog.org.mx/index2.php?option=com_flippingbook&view=book&id=20:boletin-20&catid=3:especiales&tmpl=component Consultado el 21 de mayo de 2012.
- Delgado E. J., M. S. Rubio, F. A. Iturbe, R. D. Méndez, L. Cassís, and R. Rosiles. 2005. Composition and quality of Mexican and imported retail beef in México. *Meat Science* 69: 465-471.
- Dufey, P. A. 1996. Sensory and physicochemical properties of meat from horses of different age groups. *Proceeding of 42nd International Congress of Meat, Science and Technology* pp. 556–557.
- Ellis, D. I., D. Broadhurst, S. J. Clarke, and R. Goodacre. 2005. Rapid identification of closely related muscle foods by vibrational spectroscopy and machine learning. *Analyst*, 130(12) 1648-1654.
- Fajardo, V., González, I., Martín, R., Rojas, M., and T. García. 2010. A review of current PCR-based methodologies for the authentication of meats from game animal species. *Trends in Food Science and Technology* 21: 408-421.
- FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura 2012. FAOSTAT Producción Agrícola. Disponible en: <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=es> Consultado el 21 de mayo de 2012.
- Franco, D., E. Rodríguez, L. Purriños, S. Crecente, R. Bermúdez, and Lorenzo, J. M. 2011. Meat quality of “Galician Mountain” foals breed. Effect of sex, slaughter age and livestock production system. *Meat Science* 88: 292–298.
- Gil, M., X. Serra, M. Gispert, M. A. Oliver, C. Sañudo, B. Panea, J. L. Olleta, M. Campo, M. Oliván, K. Osoro, M. D. García-Cachán, R. Cruz-Sagredo, M. Izquierdo, M. Espejo, M. Martín and J. Piedrafita. 2001. The effect of breed production systems on the myosin heavy Chain I, the biochemical characteristics and the colour variables of longissimus thoracis from seven Spanish beef cattle breeds. *Meat Science* 58: 181-188.
- Gill, C. O. 2005. Safety and storage stability of horse meat for human consumption. *Meat Science* 71: 506–513.
- Hernández Bautista, J., y F. R. Rincón. 2009. Efecto de los grupos raciales bovinos en las características de calidad de la carne. *Nacameh* 3(1): 1-20
- Hulot, F. and J. Ouhayoun. 1999. Muscular pH and related traits in rabbits: A review. *World Rabbit Science* 7: 15-36.

- Honikel, K. O. 1997. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. *Food Chemistry*. 59(4):573-582.
- Honikel, K. O. 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science* 49: 447-457.
- Juárez, M., O. Polvillo, M. D. Gómez, M. J. Alcalde, F. Romero, and M. Valera. 2009. Breed effect on carcass and meat quality of foals slaughtered at 24 months of age. *Meat Science* 83: 224–228.
- Lawrie, R. A. 1985. The eating quality of meat. *Meat Science* (4th ed.). Pergamon Press. England. 442 p.
- Lawrence, F. Correspondent. Horsemeat scandal: the essential guide. *The guardian* February 15, 2013. Disponible en <http://www.theguardian.com/uk/2013/feb/15/horsemeat-scandal-the-essential-guide#101> Consultado el 20 de marzo de 2013.
- Litwińczuk, A., M. Florek, P. Skąlecki and Z. Litwińczuk. 2008. Chemical composition and physicochemical properties of horse meat from the longissimus lumborum and semitendinosus muscle. *Journal of Muscle Foods* 19: 223-236.
- Lorenzo, J. M., M. Pateiro and D. Franco. 2013B. Influence of muscle type on physicochemical and sensory properties of foal meat. *Meat Science* 94: 77-83.
- Martuzzi, F., A. L. Catalano, and C. Sussi. 2001. Characteristics of horse meat consumption and production in Italy. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria* 21: 213–233.
- Mafra, I., I. M. P. Ferreira, and M. B. P. P. Oliveira. 2008. Food authentication by PCR-based methods. *European Food Research and Technology* 227(3): 649-665.
- Mancini, R. A., and M. C. Hunt. 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71: 100-121.
- Matsunaga, T., K. Chikuni, R. Tanabe, S. Muroya, K. Shibata, J. Yamada, and Y. Shinmura. 1999 A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. *Meat Science* 51(2): 143-148.
- Montowska, M., and E. Pospiech. 2007. Species identification of meat by electrophoretic methods. *Acta Scientiarum Polonorum, Tecnologia Alimentaria* 6(1): 5-16.
- Palacios F., J. M. 2010 Editorial. En *Revista Claridades Agropecuarias* N° 207. Disponible en: <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/207/ca207.pdf> Consultado el 27 de mayo de 2014.

- Perera J., A. Tormo y J. L. García., (2002). Vol.1, Ingeniería Genética, Preparación, análisis, manipulación y clonaje de DNA. Síntesis, Madrid, España, 527p.
- Poławska, E., R. G. Cooper, A. Jóźwik, and J. Pomianowski. 2013. Meat from alternative species—nutritive and dietetic value, and its benefit for human health—a review. *CyTA-Journal of Food* 11(1): 37-42.
- Raes, K., A. Balcaen, P. Dirinck, A. De Winne, E. Claeysa, D. Demeyera and S. De Smeta. 2003. Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in belgain retail beef. *Meat Science* 65: 1237-1246.
- Robelin, J., R. Boccard, W. Martin-Rosset, M. Jussiaux, and G. Trillaud. 1984. Caractéristiques des carcasses et qualités de la viande de cheval. In R. Jarrige, and W. Martin-Rosset Editors. *Le cheval*, Paris: INRA.
- Ruíz F. A. 2004. Impacto del TLCAN en la cadena de valor de los bovinos para carne. Universidad Autónoma Chapingo. 39 p.
- Sarriés, M. V., and M. J. Beriain. 2006. Color and texture characteristics in meat of male and female foals. *Meat Science* 74: 738–745.
- Sambrook, J., and D. Russel. 2001. *Molecular Cloning. A laboratory manual*. E.U.A, Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp8.1.
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera 2014. Producción de carne bovina en México disponible en: <http://www.siap.gob.mx/resumen-nacional-pecuario/> Consultado el 9 de febrero de 2014.
- Singh V. P. and S. Neelan. 2011. Meat species specifications to ensure the quality of meat. *International journal of meat science* 1: 15-26.
- Singh V. P. 2007. *Meat Inspectors Manual Red Meat*. Veterinary Public Health National Department of Agriculture. Republic of South Africa 1: 20-45.
- Spychaj, A., P.E. Mozdziak, and E. Pospiech. 2009. PCR Methods in meat species identification as a tool for the verification of regional and traditional meat products. *Acta Scientarium Polonorum, Tecnología* 8(2): 5-20.
- Stull, C. L. 2001. Evolution of the proposed federal slaughter horse transport regulations *Journal of Animal Science* 79: E12-E15.
- Tateo, A., P. De Palo, E. Ceci, and P. Centoducati. 2008. Physicochemical properties of Italian Heavy Draft horses slaughtered at the age of eleven months. *Journal of Animal Science* 86: 1205–1214.
- Téllez-Delgado, R., S. Morra-Flores, M. A. Martínez-Damián, R. García-Mata, y J. A. García-Salazar. 2012. Caracterización del consumidor de carne bovina en la zona metropolitana del valle de México. *Agrociencia* 46(1): 75-86.
- Tobe, S. S., and A. M. T. Linacre. 2008. A multiplex assay to identify 18 European mammal species from mixtures using the mitochondrial cytochrome b gene. *Electrophoresis* 29(2): 340-347.

- Tonial, I. B., A. C. Aguiar, C.C. Oliveira, E. G. Bonnafé, and J. V. Visentainer, and N. E. de Souza. 2009. Fatty acid and cholesterol content, chemical composition and sensory evaluation of horsemeat. *South African Journal of Animal Science* 39(4): 328-332.
- USDA 2013 USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/> Consultado el 12 de agosto de 2013.
- Whiting, T. L. 2007. The United States' prohibition of horsemeat for human consumption: Is this a good Law? *The Canadian Veterinary Journal* 48(11): 1173-1180.

3 PRESENCIA DE CARNE EQUINA EN EXPENDIOS DE CARNE BOVINA EN LA CIUDAD DE MÉXICO

3.1 Resumen

En México, durante el año 2011 se registraron producciones de carne de equino de alrededor de 64 mil toneladas, mientras que el volumen de exportaciones fue de solamente 14 mil, evidenciando la presencia de este producto dentro del país. La información sobre el consumo y comercialización del mismo es limitada, motivo por el cual se sospecha de la sustitución de carne bovina por equina en diferentes subproductos. En este sentido, se estandarizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la identificación de la especie animal en carne fresca. Para determinar la frecuencia de sustitución de carne bovina por equina, se realizó un muestreo en 74 establecimientos integrados por 69 mercados delegacionales (138 muestras) y 5 centros de comercialización (23 muestras) en la ciudad de México. De un total de 161 muestras la frecuencia de positividad fue de 9 representando el 5.5%; solo una de las muestras positivas se encontró en Centros de Comercialización mientras que las ocho restantes se encontraron en los Mercados Delegacionales. Las muestras positivas constituyen el 12.16% de los establecimientos. La técnica de PCR es apropiada para la identificación de especies en carne fresca.

Palabras Clave: Carne, Equino, Bovino, Sustitución.

Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Guillermo Resendiz Gonzalez.

Director de Tesis: Gilberto Aranda Osorio

ANIMAL SPECIES IDENTIFICATION IN FRESH MEAT BUTCHERIES OF MEXICO CITY

3.2 Abstract

The production of horsemeat in México during 2011 was around 64,000 tons, meanwhile the volume of exports were only 14 000, showing the presence of this product within the country. The information about consumption and marketing of this product is limited, therefore the replacement of bovine meat by horsemeat in different products is suspected. In this sense, the Polymerase Chain Reaction (PCR) to identify the origin of the species in fresh meat was standardized. To determine the frequency of replacement of beef by horsemeat, sampling was carried out in 74 establishments made up of 69 borough markets (138 samples), and 5 marketing centers (23 samples) in Mexico city. From a total of 161 samples, the positive frequency was 9 representing 5.5 %; only one of the positive samples was found in Marketing Centers while the eight remaining were found in borough markets. Positive samples constitute 12.16% of the establishments. The PCR technique is suitable for the identification of species in fresh meat.

Key words: meat, horse, beef, replacement.

Master of Science Thesis, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Guillermo Resendiz Gonzalez

Advisor: Gilberto Aranda Osorio

3.3 Introducción

Según la FAO (2013), durante el año 2011 México ocupó el quinto lugar como país productor de carne equina con una producción de 64 696 toneladas y durante el mismo periodo, el cuarto lugar como exportador con 14 026 toneladas, existiendo una diferencia de 50 669 toneladas que aparentemente se quedaron en el país, lo que permite suponer un consumo interno. Pese a ello, no se cuenta con información de los canales de distribución y comercialización para carne y subproductos equinos en el país. Debido a lo anterior, se sospecha de sustitución de carne hacia el consumidor, específicamente de un intercambio de carne de diferente especie en productos y subproductos cárnicos.

Esta situación ha sido motivo de preocupación desde muchos años atrás, y para ello se han utilizado diferentes métodos de análisis como ejemplo tenemos el trabajo realizado por García Macías *et al.* (2000), quien realizó un estudio mediante la técnica de inmunodifusión doble en gel para identificar especie en muestras de carne provenientes de carnicerías de la ciudad de Chihuahua, así como Moreno Ramírez (1972), mediante una prueba de precipitación, realizó la identificación de especie de cecina expedida en algunos mercados y tianguis del Valle de México. Sus resultados fueron del 22 y 17% de positividad a carne de equino sobre el total de sus muestras, respectivamente. No obstante, en los últimos años, toda la atención ha girado hacia la implementación de la genética molecular para la identificación de especies en productos de origen animal debido a su alta sensibilidad y especificidad, así como el tiempo de procesamiento rápido y de bajo costo (Spychaj *et al.*, 2009, Fajardo *et al.*, 2010).

En este sentido, Kuhen *et al.* (2006) analizaron 500 muestras para diferenciar entre carne de asno asiático salvaje (*Equus hemionus*) y el caballo doméstico (*Equus domesticus*), mediante una técnica de RFLP y PCR provenientes de mercados en la ciudad de Ulaanbatar, Mongolia, encontrando todas las muestras positivas a equino doméstico. La técnica de PCR se ha ido desarrollando para determinar diferentes especies animales, así Corona *et al.*

(2007), desarrolló una prueba de PCR para determinar la presencia de DNA de bovino, ovino, caprino y porcino en concentrados y harinas destinadas a la alimentación animal para el control efectivo de esta fuente potencial de transmisión de la encefalopatía espongiforme bovina (EEB). Kesmen *et al.* (2010) desarrollaron un método mediante PCR para identificar carne de caballo, burro y cerdo en una salchicha seca fermentada tradicional de Turquía, llamada Sucuk.

Debido a que la Ciudad de México y su zona metropolitana representan el principal centro de comercialización y consumo de carnes (Téllez-Delgado *et al.*, 2012) en particular de carne bovina, es un punto de referencia para estudiar algún tipo de sustitución y dentro de ésta, los principales puntos de venta lo constituyen los mercados delegacionales y los centros de distribución ya que el 37% de la población consume carne de bovino adquirida en mercados públicos; el 28.2% en carnicerías de barrio; el 27.4% en tiendas de autoservicio; y el 5.2% en tianguis o mercados sobre ruedas. Debido a esto, es necesario determinar la presencia de carne equina en carnicerías de carne bovina en mercados delegacionales de la Ciudad de México mediante la técnica de PCR.

3.4 Materiales y Métodos

3.4.1 Toma de muestras

Para realizar el muestreo de carne en el Distrito Federal, se consideró lo siguiente: Se tomaron muestras en grandes centros de comercialización y Mercados delegacionales de la Ciudad de México, donde los grandes centros de comercialización fueron los siguientes: La Merced, Calle 7, Rastro Viejo, Central de Abastos y Ferrería. En cuanto a los Mercados Delegacionales, se realizó una búsqueda en el portal del Instituto de Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales del Distrito Federal para solicitar información sobre alguna base de datos de mercados delegacionales, obteniendo por cada delegación el listado de los mismos.

El muestreo fue designado guardando proporción conforme al número de mercados por delegación, obteniendo 2 muestras por cada mercado (Cuadro 6). La selección de mercados fue aleatoria con ayuda del programa Excel.

Cuadro 6 Número de mercados, mercados muestreados y número de muestras por Delegación.

DELEGACIÓN	MERCADOS 307	MERCADOS MUESTREADOS 69	MUESTRAS 161
ÁLVARO OBREGÓN	15	3	6
AZCAPOTZALCO	20	5	10
BENITO JUÁREZ	16	4	8
COYOACÁN	17	4	8
CUAJIMALPA	5	1	2
CUAUHTÉMOC	34	8	16
GUSTAVO A. MADERO	49	11	22
IZTACALCO	17	4	8
IZTAPALAPA	20	5	10
LA MAGDALENA CONTRERAS	5	1	2
MIGUEL HIDALGO	19	4	8
MILPA ALTA	9	1	2
TLÁHUAC	19	4	8
TLALPAN	18	4	8
VENUSTIANO CARRANZA	33	8	16
XOCHIMILCO	11	2	4
CENTROS DE COMERCIALIZACIÓN	-	-	23

Fuente: Infodf, 2012

Las muestras que se obtuvieron de las carnicerías fueron adquiridas bajo las mismas condiciones que cualquier consumidor de carne de dichos establecimientos. Se solicitó carne de aguayón (*Biceps femoris*), dado que es un corte que se trabaja de la misma forma en el equino y el bovino, se decidió usarlo como corte de referencia, sin embargo este hecho no pudo constatarse debido a que la obtención de las mismas no permitía observar con claridad de qué corte provenían. Las muestras eran de aproximadamente 250 gramos y se pidieron en una sola porción para disminuir el riesgo de contaminación, fueron separadas e identificadas y se mantuvieron en hielo durante el proceso de toma de muestras y transportación. La muestra de carne para la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), se obtuvo inmediatamente después del arribo al laboratorio del Posgrado en Producción Animal de la Universidad Autónoma

Chapingo, mediante un corte con un escalpelo de una porción interna de cada muestra, esto con la finalidad de evitar una posible contaminación de origen.

3.4.2 Extracción de DNA de tejido

En un microtubo se colocaron 500 mg de tejido, y se mantuvo en ultracongelación (ThermoScientific®, modelo 2186) a -80°C por 48 horas. Las muestras se liofilizaron (Labconco®, modelo Freezone 4.5) durante 5 días, se molió el tejido con ayuda del disruptor celular TissueLyser II® (Qiagen, Alemania) y se realizó la extracción de ADN, colocando 1000 µl de solución de lisis, 7 µl de proteinasa K (promega), e incubando a 50°C por dos horas y a 60°C durante una hora (Jeio-Tech, modelo 1B-15G), se agregaron 500 µl de Fenol:cloroformo:isoamílico (12:24:1) y se centrifugó a 10000 rpm (Eppendorf, modelo 5430) durante 10 minutos. El sobrenadante se recuperó en otro tubo y se adicionó 1000 µl de etanol al 70% a -20°C mezclándose por inversión hasta que el ADN precipitó. Se formó un pellet mediante centrifugación y se secó en centrifuga de vacío, para resuspenderse en 50 µl de TE.

3.4.3 Cuantificación de ADN por medición de absorbancia

La concentración y pureza final de ADN, (ng/µl.) fue calculada por medio del espectrofotómetro Nanodroop® (Thermo Scientific, modelo ND-100) los rangos de lectura de 230/260 (que es la longitud de onda donde absorbe luz el ADN) y la longitud de onda 260/280 (donde se observa la pureza o si existen trazas de proteínas, fenoles o amino ácidos aromáticos).

Las preparaciones puras de ADN indican valores dentro del rango de 1.8 a 2.0 ng/µl, mientras que valores superiores a 2.0 ng/µl muestran la existencia de preparaciones puras de ARN. Si existe contaminación significativa con fenol o proteínas, la relación 260/280 será menor de 1.7 ng/µl entonces no se puede cuantificar el ADN presente en la muestra (Sambrook y Rusell, 2001). Las muestras que no cumplieron con estos requerimientos fueron sujetas a un nuevo lavado con Fenol:cloroformo:isoamílico (12:24:1) y etanol para mejorar la

calidad. El ADN fue almacenado a -20°C hasta la dilución para la reacción de PCR.

3.4.4 Determinación de especie mediante PCR

El presente protocolo experimental contempla la amplificación del DNA de las especies de interés mediante PCR mix. Para ello se usaron 161 muestras de tejido cárnico obtenidos durante el muestreo.

3.4.5 Selección de los oligonucleótidos

Se seleccionaron los oligonucleótidos reportados por Matsunaga *et al.* (1999) que consisten en un primer forward universal y los oligonucleótidos reverse específicos de especie (Cuadro 7).

Cuadro 7 Oligonucleótidos para la determinación de especie.

Especie	Primer	Secuencia	Tamaño
Universal	Forward	GAC CTC CCA GCT CCA TCA AAC ATC TCA TCT TGA TGA AA	NA
Bovino	Reverse	CTA GAA AAG TGT AAG ACC CGT AAT ATA AG	274bp
Equino	Reverse	CTC AGA TTC ACT CGA CGA GGG TAG TA	439bp

3.4.6 Reacción de PCR

La mezcla madre a volumen final de 50 µl comprende 5µl de 10x PCR buffer, 1µl de 20µM de DNTP mix, 2 µl de primer universal [10 pmol/µl], 2 µl de primer equino [10 pmol/µl], 2 µl de primer bovino [10 pmol/µl], 0.25 µl de taq polimerasa (Roche), 250 ng de muestra y 32.75 µl de agua grado biología molecular (Sigma). Se utilizó la termocicladora Axygen (modelo Maxygene). Las condiciones de termociclado fueron: 35 ciclos de amplificación, 94°C durante 30 segundos, 60°C durante 30 segundos y 72°C durante 30 segundos.

3.4.7 Gel de electroforesis

Se mezclaron 5 µl del amplicon con 3 µl de buffer de carga 5x y se colocaron 6 µl en un gel de agarosa Seakem (Lonza) al 3% (P/V) en 1500 ml TAE 1x, con 25 µl de Bromuro de Etidio (Invitrogen). Para la lectura, se corrió a 100 V durante 45 minutos.

3.4.8 Análisis estadístico

Se realizó la prueba de Chi-cuadrada (χ^2) con la finalidad de comparar los resultados obtenidos respecto a los esperados, por lo que la hipótesis nula (H_0) se fundamentó en que las muestras de carne adquiridas de carnicerías serían de la especie bovina, mientras que la hipótesis alternativa (H_a) refiere que al menos una de las muestras no correspondería a carne bovina sino a carne equina.

3.5 Resultados y Discusión

Se tomaron en total 161 muestras, 23 provenientes de grandes centros de comercialización y 138 de mercados delegacionales, muestreando un total de 69 mercados correspondiendo al 22.5% del total de mercados del Distrito Federal (307).

Los patrones de los productos amplificados por la PCR obtenidos de cada una de las muestras, correspondieron a los tamaños esperados de las especies de interés, se obtuvieron fragmentos de 439 y 274 pares de bases (bp) que corresponden a lo reportado por Matsunaga *et al.* (1999) para equino y bovino respectivamente.

Los resultados de la prueba de PCR se muestran en las Figuras 3 a la 9 (Consultar anexo para su interpretación). Se obtuvieron un total de 9 muestras positivas a equino (5.59%) y 152 positivas a bovino (94.41% del total), con lo cual se demuestra que la carne equina es utilizada para sustituir a la carne bovina en la comercialización. Cabe señalar que una muestra presentó doble bandeo, cada una en los pesos moleculares para ambas especies, por lo cual se realizó una prueba de sensibilidad con diferentes cantidades de ADN de ambas especies y así observar su patrón a fin de determinar qué cantidad de ADN es la mayoritaria de especie y poder definir así su origen (Figura 9).

Como lo mencionamos previamente, existen alrededor de 50 000 toneladas de carne equina en el mercado nacional, las cuales pueden estar constituidas en cortes de diferentes porciones anatómicas del equino, (cuarto delantero o cuarto trasero) lo que nos puede inducir a la existencia de sustitución no sólo en carne fresca, sino también en otros productos y subproductos de origen cárnico.

La prueba de Ji cuadrada nos indica que no se tienen los elementos estadísticos para rechazar la hipótesis nula, por lo tanto se acepta, sin embargo los resultados son importantes ya que el encontrar una muestra positiva a equino nos demuestra su uso como sustituto de carne bovina.

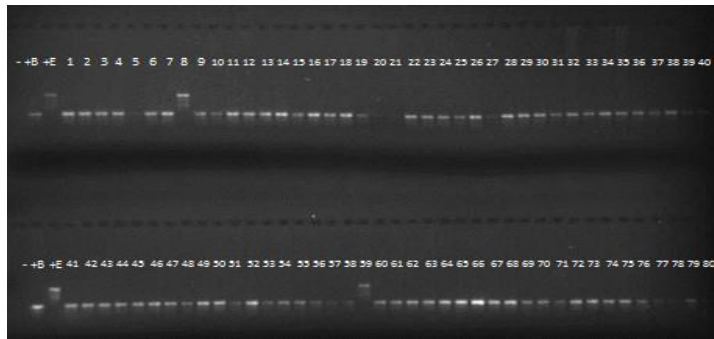


Figura 3. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (1). - Control negativo, +B Control positivo de Bovino, +E Control positivo de Equino, y número de muestra

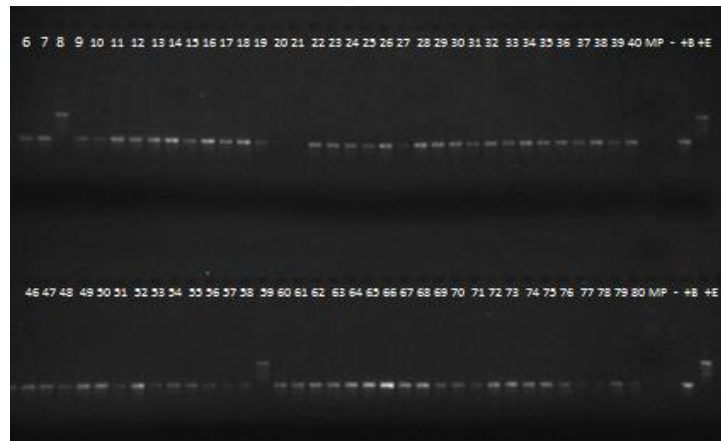


Figura 4. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (2). - Control negativo, +B Control positivo de Bovino, +E Control positivo de Equino, y número de muestra

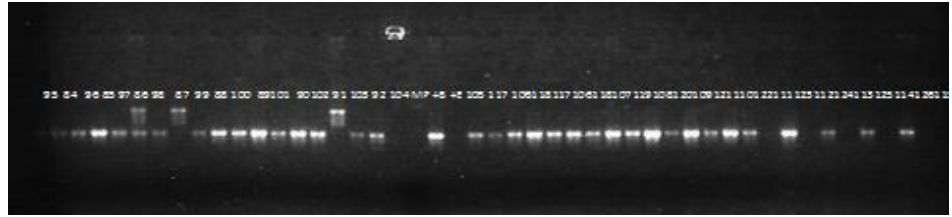


Figura 5. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (3). MP Marcador de peso molecular, - Control negativo, +B Control positivo de Bovino, +E Control positivo de Equino, y número de muestra



Figura 6. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (4). MP Marcador de peso molecular, - Control negativo, +B Control positivo de Bovino, +E Control positivo de Equino, y número de muestra

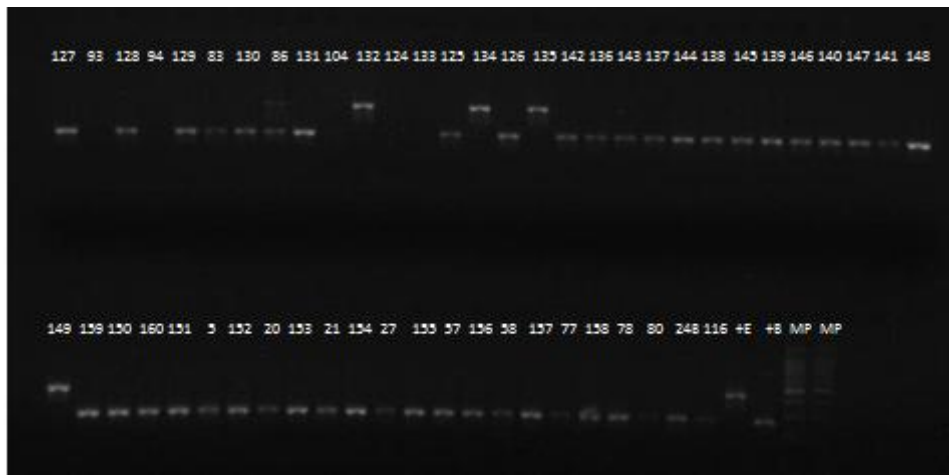


Figura 7. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (5). MP Marcador de peso molecular, - Control negativo, +B Control positivo de Bovino, +E Control positivo de Equino, y número de muestra



Figura 8. Gel de electroforesis de la prueba de PCR de muestras de la Ciudad de México (6). MP Marcador de peso molecular, +B Control positivo de Bovino, +E Control positivo de Equino, y número de muestra

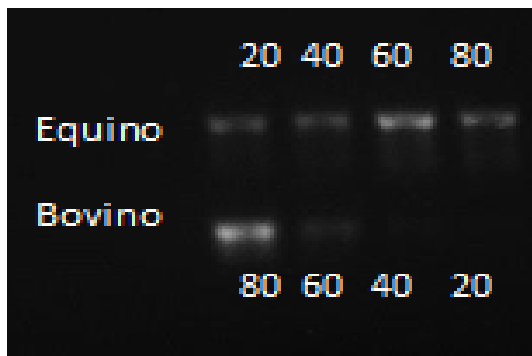


Figura 9. Gel de electroforesis de mezclas de los diferentes controles positivos a diferentes cantidades de DNA. Equino 20%-Bovino 80%, Equino 40%-Bovino 60%, Equino 60%-Bovino 40%, y Equino 80%-Bovino 20% nanogramos totales por reacción 250.

3.6 Conclusión

Se concluye que existe un cierto grado de sustitución de carne bovina por equina en los mercados delegacionales de la Ciudad de México, constituyendo un engaño al consumidor de éste producto; en general esta situación puede agravarse si no se toman las medidas pertinentes afectando la producción de carne bovina al ocupar el lugar de éste producto a un precio más bajo, además de la falta de información para el consumidor. Esta práctica puede presentarse también en otros subproductos de origen animal, principalmente en subproductos cocidos. En cuanto a la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, se demostró que es una herramienta útil para determinar el origen de la especie en productos de origen animal.

3.7 Literatura citada

- Corona B., R. Leonard, Y. Carpio, O. Uffo, and S. Martínez 2007 Short communication. PCR detection of DNA of bovine, ovine-caprine and porcine origin in feed as part of a bovine spongiform encephalopathy control program Spanish Journal of Agricultural Research 5(3): 312-317.
- Fajardo, V., González, I., Martín, R., Rojas, M., and T. García. 2010. A review of current PCR-based methodologies for the authentication of meats from game animal species. Trends in Food Science and Technology 21:408-421.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2012.FAOSTAT Producción Agrícola. Disponible en: <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=es> Consultado el 21 de mayo de 2012.
- García Macías J. G. Enrique Erosa de la Vega, C Prieto, Y F. Núñez González. 2000 Identificación del origen de especie animal en carne fresca utilizando inmunodifusion doble. Técnica Pecuaria México 38(3): 231-237.
- Instituto de Acceso a la Información Pública y Protección de Datos Personales del Distrito Federal (Infodf).2012. Consulta infomex-DF. Consultado en mayo de 2012. Disponible en:<http://www.infodf.org.mx/web/index.php>
- Kesmen Z., H. Yetim, and F. Şahin. 2010. Identification of different meat species used in sucuk production by PCR assay. GIDA: The Journal of Food 35 (2): 81-87.
- Kuehn R., P. Kaczensky, D. Lkhagvasuren, S. Pietsch, and C. Walzer. 2006. Differentiation of Meat Samples from Domestic Horses (*Equus caballus*) and Asiatic Wild Asses (*Equus hemionus*) Using a Species-Specific Restriction Site in the Mitochondrial Cytochrome b Region. Mongolian Journal of Biological Science 4(2): 57-62.
- Matsunaga, T., K. Chikuni, R. Tanabe, S. Muroya, K. Shibata, J. Yamada, and Y. Shinmura. 1999 A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay. Meat Science 51: 2 143-148.
- Moreno Ramírez Miguel Ángel. 1972. Contribución al estudio de la frecuencia de cecina elaborada con carne de equino que se expide en el Distrito Federal. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México. p12.
- Sambrook, J. and Russel, D., (2001). Molecular Cloning. A laboratory manual. E.U.A, Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp8.1.
- Spychaj, A., P.E. Mozdziak, and E. Pospiech. 2009. PCR Methods in meat species identification as a tool for the verification of regional and

traditional meat products. *Acta Scientiarum Polonorum, Tecnología Alimentaria* 8(2) 5-20.

Téllez-Delgado, R., S. Morra-Flores, M.A. Martínez-Damián, R. García-Mata, y J. A. García-Salazar. 2012. Caracterización del consumidor de carne bovina en la zona metropolitana del valle de México. *Agrociencia* 46(1): 75-86.

4. CARACTERÍSTICAS NUTRITIVAS DE CARNE FRESCA DE BOVINO Y EQUINO

4.1 Resumen

Se recolectaron 161 muestras provenientes de mercados delegacionales de la Ciudad de México para determinar la especie de origen mediante PCR. La carne proveniente de las especies equina y bovina fue analizada por medio de la tecnología de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR's) para evaluar sus características nutritivas (proteína, humedad, grasa y colágeno), y el color de ambos tipos de carne. Los resultados muestran diferencias ($p \leq 0.05$) en los parámetros proteína (22.00% vs 23.51%) y humedad (73.16% vs 75.13%), la luminosidad (L^*) se mostró disminuida ($p \leq 0.05$) en la carne equina, con respecto a la carne bovina, mientras que los demás parámetros (grasa, colágeno, a^* y b^*) no tuvieron diferencias estadísticas entre las especies. Por lo cual se concluye que la carne equina tiene un menor contenido de proteína y humedad, además de ser más oscura respecto a la carne de res.

Palabras Clave: **Carne, Equino, Bovino, NIR's.**

Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Guillermo Resendiz Gonzalez.

Director de Tesis: Gilberto Aranda Osorio

NUTRITIONAL CHARACTERISTICS OF MEAT SAMPLES FROM BOROUGH MARKETS OF MEXICO CITY

4.2. Abstract

One hundred sixty one samples from markets of Mexico City were collected to determine the species of origin by PCR. The beef and horsemeat was analyzed by near infrared spectroscopy technology (NIR's) to assess their nutritional characteristics (protein, moisture, fat and collagen), as well as the color of both types of meat, in order to evaluate the physicochemical characteristics. The results showed differences ($p \leq 0.05$) in protein parameters (22.00% vs 23.51%) and moisture (73.16 vs 75.13), lightness (L^*) was decreased ($p \leq 0.05$) in horsemeat, with respect to meat bovine, while other parameters (fat, collagen, a^* and b^*) had no statistical differences between species. Therefore we conclude that horsemeat has a lower protein content and moisture, and is darker in comparison to beef.

Key words: meat, **horse**, **beef**, **NIR's**.

Master of Science Thesis, Universidad Autónoma Chapingo
Author: Guillermo Resendiz Gonzalez
Advisor: Gilberto Aranda Osorio

4.3. Introducción

El rol del equino ha sido diverso en Norteamérica durante el último siglo, incluyendo el sacrificio para la obtención de productos cárnicos con fines de consumo de éstos por el humano. Culturalmente la carne equina no es la preferida para los estadounidenses ni para algunos canadienses, sin embargo, en México fue y es considerada una fuente cárnica aceptable (Stull, 2012). Pese a ello, en los últimos años en México se especula de una sustitución de carne bovina por equina en diversos puntos de venta, debido a diferentes factores como una diferencia de cerca de 50,000 toneladas entre la producción y la exportación de carne equina nacional durante el año 2011 (FAO, 2012), la existencia de establecimientos dedicados al sacrificio de equinos que no cuentan con la certificación Tipo Inspección Federal, y en consecuencia, no elegibles como exportadores, pero sobre todo, por la falta de información sobre los canales de distribución y comercialización, y las características organolépticas y composición química de la carne equina que se comercializa en el país.

La sustitución de un producto por otro, además de significar un engaño al consumidor, puede representar una competencia desleal entre los productores de carne, no obstante, es importante conocer sobre las características nutritivas de la carne de ambas especies, a fin de estar al tanto de lo que el consumidor puede estar recibiendo en realidad. La carne equina es considerada nutritiva y saludable, especialmente por su bajo contenido de grasa y alta digestibilidad (Lorenzo *et al.*, 2013).

En una prueba previa de determinación de especie realizada a las muestras provenientes de los mercados delegacionales del Distrito Federal, se encontraron muestras positivas a carne equina y bovina, motivo por el cual el presente trabajo tiene como objetivo realizar una comparación sobre las características nutritivas (proteína, grasa, humedad y colágeno) de la carne obtenida en los mercados, a fin de simular lo que un consumidor puede estar recibiendo en realidad en cuanto a las características nutritivas del producto.

4.4. Materiales y Métodos

4.4.1. Muestreo

Se obtuvieron 161 muestras provenientes de 69 mercados de la Ciudad de México, adquiridas durante el periodo del 10 de julio al 9 de agosto del 2013, el muestreo fue distribuido de acuerdo al porcentaje de mercados en cada delegación política. La muestra consistió en una porción de aguayón (*bíceps femoris*) en un solo corte de 250 g aproximadamente, adquirida bajo las mismas condiciones que cualquier consumidor de carne de dichos establecimientos. Posterior a la toma de muestras, éstas fueron identificadas mediante un código, fueron colocadas en doble bolsa y se mantuvieron almacenadas y refrigeradas en una hielera para ser trasladadas al laboratorio e inmediatamente analizadas en el Laboratorio del Posgrado en Producción Animal de la Universidad Autónoma Chapingo.

Como primer parte se hizo una prueba de determinación de especie que se explica en el Capítulo 3, en donde se obtuvieron 9 muestras positivas a equino lo que representó el 5.5% y 152 muestras positivas a bovino (94.5%) a las cuales se les realizaron las siguientes determinaciones: proteína, grasa, humedad, colágeno y color. Todas las muestras fueron procesadas de la misma forma para la determinación de valor nutritivo y color, desconociendo hasta ese momento la especie de origen de las mismas.

4.4.2 Determinación de proteína, grasa, humedad y colágeno.

La determinación de estos componentes en la muestra fueron cuantificados conforme el método AOAC 2007.04 mediante la tecnología de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR's) con el equipo Foodscan Meat Analyzer (FOSS[®], Dinamarca). La preparación de la muestra se realizó lo más apegado al procedimiento AOAC 983.18, se pesaron 180 g de muestra y se realizó una molienda con un procesador de alimentos Picalica (Moulinex[®], Francia) durante 30 segundos (dos series de 15 segundos), para posteriormente colocarla en el equipo para su análisis mediante el software ISIScan[®].

4.4.3. Determinación de color

Las muestras fueron analizadas con el equipo Miniscan (Hunterlab[®], USA) para determinar el color en el espacio CIELAB (Luminosidad L*, a* valor rojo/verde y b* valor amarillo/azul), como lo propone la Comisión Internacional del Color, se obtuvieron 5 lecturas por muestra en un cuadrante superior, inferior, derecho, izquierdo y centro.

4.4.4. Análisis Estadístico

Los datos obtenidos de calidad nutritiva se organizaron por especie y se analizaron con un diseño completamente al azar. El procedimiento empleado fue GLM de SAS (2004).

El modelo estadístico para probar el efecto especie T_j sobre las características nutritivas de las muestras fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} fueron las características nutritivas

μ corresponde al valor de la media de las respectivas variables

T_i representa el efecto de la especie

E_{ij} representa el error experimental.

La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey.

4.5. Resultados y Discusión

Los valores de los parámetros nutritivos Humedad, Proteína, fueron diferentes ($p \leq 0.05$) entre las especies de interés, mientras que para los parámetros Grasa y Colágeno no hubo efecto de la especie. En el Cuadro 8 se indican los valores medios de las características nutritivas de la carne de ambas especies.

Cuadro 8 Valores medios (Media $\pm$ EE) de la composición química de muestras cárnicas de acuerdo a la especie de origen.

ESPECIE	Proteína ^a	Grasa ^a	Humedad ^a	Colágeno ^b
BOVINO	23.51 $\pm$ 0.11	2.3 $\pm$ 0.05	75.13 $\pm$ 0.19	1.46 $\pm$ 0.02
EQUINO	22.00 $\pm$ 0.50	2.0 $\pm$ 0.44	73.16 $\pm$ 0.69	1.38 $\pm$ 0.09
Pr>F	0.0016	0.2454	0.0148	0.3234

^a Valores expresados en porcentaje.

^b Valores expresados en mg/g.

Estas diferencias en el contenido de humedad podrían deberse a factores como la edad al sacrificio y el tipo de músculo. Franco *et al.*, (2011) observó una correlación positiva entre la edad al sacrificio y el contenido de humedad en la canal, desafortunadamente por el tipo de muestreo no podemos corroborar factores como la edad, el sexo y la raza de los animales, así como la continuidad de la cadena de frío y las condiciones de almacenamiento de la carne en las muestras de ambas especies.

El color de la carne de las diferentes especies fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$) en cuanto a la luminosidad (L), sin mostrar diferencias en los valores de a^* y b^* , esto puede ser debido a la cantidad de mioglobina que contienen las especies involucradas, no obstante las diferencias del contenido de la misma pueden deberse a edades diferentes (Cuadro 9).

Cuadro 9 Valores medios (Media $\pm$ EE) de los indicadores de color (L, a y b) de muestras cárnicas de acuerdo a la especie de origen.

Especie	L	A	B
BOVINO	37.50 $\pm$ 0.22	16.20 $\pm$ 0.01	14.90 $\pm$ 0.01
EQUINO	29.80 $\pm$ 0.88	15.00 $\pm$ 0.11	13.40 $\pm$ 0.11
Pr>F	0.0001	0.2708	0.2628

Segato *et al.* (1999) observaron que la edad tiene un efecto significativo en el color de la carne equina, con una luminosidad más intensa en el rango de 1 a 5 años y la disminución de los valores de a^* y b^* con el aumento de la edad en el

músculo *Longissimus thoracis* (LT). Con la edad, la concentración de mioglobina aumenta durante los dos primeros años de vida, y durante los siguientes diez disminuye (Badiani y Manfredini, 1994). El color de la carne de animales de seis meses de edad es de color rosado debido a los bajos niveles de hierro hemo, sin embargo a los 18 meses de edad, la carne es muy rica en mioglobina y tiene un color más oscuro (Rossier y Berger, 1988).

En el presente trabajo se encontró que el valor de L^* para la carne equina fue menor ($p < 0.05$) respecto a la carne bovina, mientras que los valores de a^* y b^* fueron similares en ambas especies, lo cual nos dice que la carne de equino es estadísticamente más oscura que la carne de bovino.

Cabe señalar que los métodos de conservación de la carne en el punto de venta son desconocidos pudiendo ser diferentes entre establecimientos, aunado a que debido a la naturaleza del muestreo no nos permite conocer más sobre el origen de la muestra, la edad al sacrificio del animal, el bienestar animal al sacrificio, la raza, el sexo, los cuales son de relevancia para poder definir un valor esperado de las determinación de color, sin embargo el manejo de la carne de ambas especies es muy similar en cada punto de venta, lo que nos puede dar una idea sobre lo que el consumidor recibe en realidad, en cuanto a valor nutritivo y color.

4.6 Conclusión

La carne equina no presentó diferencias con respecto a la bovina en el contenido de colágeno y grasa, mientras que en humedad y proteína la carne bovina obtuvo sólo 2 unidades por encima de la carne equina, por lo cual la carne equina se considera un producto apto para consumo humano, siendo una alternativa a la carne proveniente de especies convencionales.

Pese a que los valores anteriormente mencionados son el resultado de factores como la edad al sacrificio, sexo, raza, bienestar animal, tipo de alimentación y la cadena de frío, los resultados muestran que la carne equina es similar a la bovina.

4.7 Literatura citada

- Badiani, A., and M. Manfredini. 1994. The production of horsemeat. *Italian Journal of Animal Science* 20: 5–43.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) 2012.FAOSTAT Producción Agrícola. Disponible en: <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=es>
Consultado el 21 de mayo de 2012.
- Franco, D., E. Rodríguez, L. Purriños, S. Crecente, R. Bermúdez, and Lorenzo, J. M. 2011. Meat quality of “Galician Mountain” foals breed. Effect of sex, slaughter age and livestock production system. *Meat Science* 88: 292–298.
- Lorenzo, J. M., M. V. Sarriés, and D. Franco. 2013. Sex effect on meat quality and carcass traits of foals slaughtered at 15 months of age. *Animal* 7: 1199–1207.
- Rossier, E., and C. Berger. 1988. La viande de cheval: des qualités indiscutables et pourtant méconnues. *Cahiers de Nutrition et de Diétologie* 23: 35–40.
- SAS. 2004. SAS/STAT 9.1. User's Guide. Vol. 1-7. SAS Publishing. Cary, NC, USA. 5180 p.
- Segato, S., G. Cozzi, and I. Andrighetto. 1999. Effect of animal morphotype, sex and age on quality of horsemeat imported from Poland. *Proceedings of the A.S.P.A. XIII Congress, Piacenza, June 21–24 pp.*
- Stull, C. L. 2012. The journey to slaughter for North American Horses. *Animal Frontiers* 2(3): 68-71.

5 Anexo

Lectura de la electroforesis:

