



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Determinación de adulteración con especies *Gallus gallus domesticus*, *Sus scrofa domesticus* y *Bos taurus* en embutidos de pavo mediante PCR”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

AARÓN DOMÍNGUEZ ROBLERO

ASESORES: DR. JOSÉ FRANCISCO MONTIEL SOSA
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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Determinación de adulteración con especies Gallus gallus domesticus, Sus scrofa domesticus y Bos taurus en embutidos de pavo mediante PCR.

Que presenta el pasante: **Aarón Domínguez Roblero**

Con número de cuenta: **309139108** para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

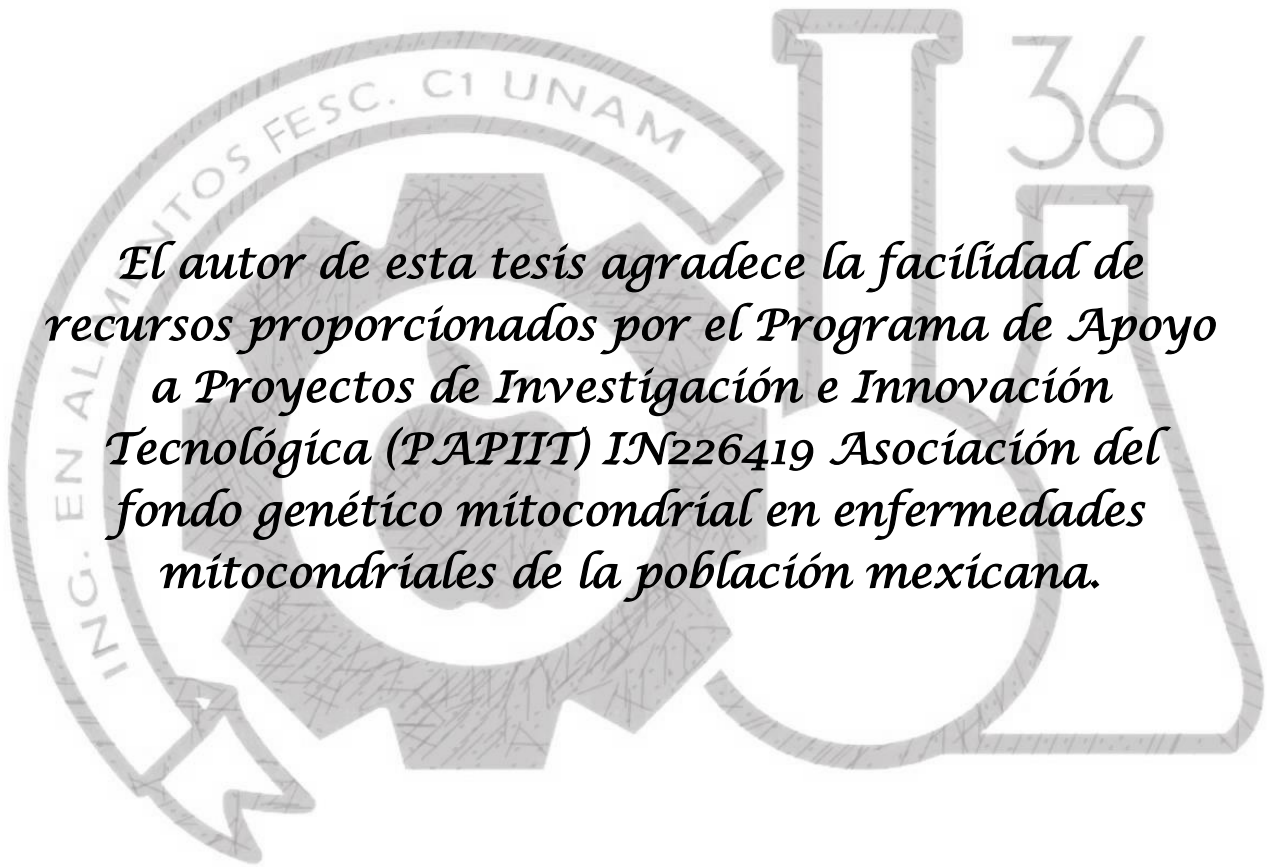
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 27 de Noviembre de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Francisco Montiel Sosa	
VOCAL	Q.F.B. Martha Patricia Zúñiga Cruz	
SECRETARIO	I.A. María Guadalupe López Franco	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
2do. SUPLENTE	M. en C. Jonathan Coria Hernández	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



El autor de esta tesis agradece la facilidad de recursos proporcionados por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN226419 Asociación del fondo genético mitocondrial en enfermedades mitocondriales de la población mexicana.

Agradecimientos

Agradecido con **Dios** por todas sus bondades, la oportunidad de vivir y terminar esta meta más en la vida.

A mis padres **Zaida** y **Carlos** por ser ese pilar principal en mi vida, gracias por apoyarme pese a todas adversidades que hemos pasado, por motivarme en los momentos difíciles, por demostrarme su amor cada día, por eso y más estoy agradecido con ustedes, ¡los amo mucho!

A mi hermana **Darney** que en paz descanse, fuiste una de las razones por la cual no deje de luchar para terminar esta carrera, no fue nada fácil el que te fueras pero nos dejaste una razón por la cual seguir adelante, un hermoso niño, Abner, que al verlo veo en él tu imagen y por ese pequeño es por el cual seguí adelante y el día de hoy agradezco a Dios el haberme permitido tenerte como hermana, gracias por esos consejos, regaños y ese apoyo que pude recibir de ti, sé que nos volveremos a ver.

A mi hermana **Jocabel** por ser otro pilar en mi vida, por apoyarme y motivándome a seguir, ciertamente no fue fácil continuar sin Darney pero mira, ¡lo eh logrado!, gracias por no dejarme a un lado pese a todos los problemas, por defenderme cuando no podía, por decirme que todo estaría bien y demostrarme que todo tiene solución. Por eso y más, gracias.

A mi cuñado **Eliseo Manjarrez**, gracias por siempre estar ahí cuando lo he necesitado, y ya por fin ¡lo logré!

Gracias tío **Andrés** e **Ivonne** por su cariño y apoyo para seguir adelante, por ayudarme cuando lo necesitaba, de verdad muchas gracias.

A mis tíos **Rebeca** y **Oscar**, gracias por su apoyo incondicional y cariño, por estar siempre al pendiente y motivarme a seguir con mis metas

A mi primo **Abisai** por ser esa chispa de risa y locura, chamaco gracias por nunca dejarme caer y motivarme a seguir adelante, por estar al pendiente de mí y nunca dejarme solo cuando sentía que lo estaba, por ser mi confidente, amigo y paño de lágrimas. También a mi primo **Magdiel**, mi empachado favorito por ser otro loco más a mi vida que junto con Abis, me han ayudado. Los quiero par de empachados.

Al Pastor **David Barrera**, su esposa **Ana Reyes** y su hija **Arlette**, por llevarme siempre en sus oraciones, consejos y por estar pendiente de mí, gracias por ser ese apoyo espiritual que fortalece el alma en momentos difíciles.

A la **Dr. María Elena Reyes Silva** por estar siempre pendiente de mi salud, de igual forma el motivarme a culminar mis estudios para ser un profesional, gracias por sus consejos y ayuda en los momentos difíciles y por sacarme siempre adelante en cuestiones de salud.

A **Laura Hernández, Jonathan Domínguez, Susy Ventura, Bety (Belanova)**, por su amistad, apoyo y consejos, gracias por extender sus manos en los momentos difíciles, por sus muestras de cariño que recibo cada vez que los veo y esa motivación que veo a través de su sonrisa que en situaciones no gratas han logrado dibujar una en mi rostro.

A **Samuel Nava** y su esposa **Laura Fabián**, por ese cariño que han tenido para conmigo y mi familia, por ayudarme en situaciones donde no tenía a quien recurrir y sin ningún impedimento extendieron su mano, gracias por esa amistad y ayuda.

A **Fabiola Martínez**, mi mejor amiga desde CCH, mi lulu, mi confidente, por estar en los buenos y malos momentos, sé que por tiempos ya es difícil vernos, pero eres una de las personas que más ha marcado mi vida y siempre estaré agradecido con la vida por haberte conocido, por ser mi amiga, por reír y llorar, por motivarnos siempre a conseguir nuestros sueños y no dejarnos caer el uno al otro, te quiero mil mi lulu.

A **Donovan Reyes**, mejor conocido como "brócoli", por tu amistad que ha sobrepasado el tiempo y hasta la distancia, eres de los pocos que pese al paso de los años seguimos en contacto y como no agradecer por siempre motivarme a luchar por lo que quiero. Me da gusto tenerte como un gran amigo, te quiero y estimo demasiado.

A mi valedor **Gregorio** por sus buenas vibras y motivaciones para realizarme como profesional, gracias por esas pláticas motivacionales y divertidas que siempre son buenas para sonreír y no dejar que la vida nos amargue.

A la profesora **I.A. Miriam Edith**, más que profesora una gran amiga, siempre estaré agradecido por su ayuda, sus consejos, esos días de servicio social que se convertían a veces en pláticas sin fin, gracias por apoyarme en todo y siempre motivarme a seguir adelante, por no dejarme caer en los momentos difíciles, la quiero y estimo demasiado; gracias por su amistad que valoro y estimo demasiado.

A **Ninel Flores**, gracias amiga por todo tu apoyo, de las mejores cosas que me dejó la universidad fue a una persona como tú, por motivarme siempre y darme tus buenas vibras para pasar en aquel entonces cálculo que tu bien sabes me fue muy difícil, pero no fue imposible lograrlo, te quiero mucho de verdad.

Mango, Melody, Clara, Pame, Lary, Josselin, Dulce (jefa), Joako (mono), Chucho, Leo, Zoraida, Brenda, gracias a sus locuras y sobre todo su amistad. **Sara, Karina, Mariana y Gaby** mis babys, lo mejor que pudo dejarme la universidad son personas como ustedes. Pese a los problemas nuestra amistad ha continuado y algo que aprendí es que la vida te deja a las personas correctas en tu vida y ustedes forman parte de ese grupo; amistad que sé que será hasta que la vida nos diga basta.

Ameyari, Viri, compartir ese último semestre fue lo mejor de todo, mi lulú que desde CCH ha compartido mis locuras y mi brujita favorita. **Alfredo, Frida, Ale, David, Monse, Karina**, gracias por su amistad, esas pláticas que hacían de un día pesado algo súper padrísimo. Jamás olvidaré cuando íbamos a depa Fri después de clases. ¡Si o no Fri!, frase inmemorable que usábamos para organizar cualquier cosa y jamás olvidar que entre nosotros había una damita (Karina) aprendiendo siempre cosas útiles para vivir con esos consejos que impartíamos. Por todo el apoyo que siempre nos hemos demostrado. Gracias por hacer de la universidad algo increíble. #LoRudoLoRudoUhUhUh.

Como olvidar a mi amigo **Danielik**, bueno, mi amigo Edgar Daniel Soria, gracias por hacer parte de la universidad algo súper divertido, por enseñarme y ayudarme en cuestiones que no tenía ni la más mínima idea. **Adrián** amigo mío, gracias por todo tu cariño y apoyo durante la carrea, esa motivación que siempre nos ayudó a superar obstáculos en todos los sentidos, por eso y más gracias. Mi amigo **Raúl Ruíz**, mi planta, mi narizón, como no agradecerte en verdad, te quiero y estimo demasiado, pese a los problemas que tuvimos pero jamás dejamos a un lado lo que significa ser un gran amigo.

Xochitl, Vania, Raúl y Jesed, recuerdo las locuras que hacíamos juntos y me dan ganas de llorar, esas clases interminables con el capitán Balti, cuando la profesora Lidia no me quería y me decía Alan y ustedes nada más se reían; pudiera seguir mencionando los momentos que disfrutamos en esta etapa. Una amistad y apoyo que recibí de ustedes de la manera más sincera, gracias de verdad.

Ale y Angie Luna, mis morras favoritas. Las quiero mucho mis morras, si hiciera una lista de todas las cosas que hemos pasado tanto buenas como malas no terminaría, lo único que puedo decirles en resumidas palabras es gracias por su apoyo en todos los aspectos y a sus papis, los quiero mucho familia Luna López.

A **Ale, Vale, Walter y Adolfo (Bofo)**, mejor conocidos como “**Dubys**” por esa amistad que sobrepasó el compañerismo laboral y que hoy en día seguimos al pendiente los unos de los otros y hemos demostrado que hasta en los momentos difíciles estamos y estaremos ahí, los quiero dupsteps.

A mi hermanito **Roberto Emanuel Constantito Gonzales** mejor conocido como baby Robert, gracias por tu amistad, por esos momentos de locura que pasamos juntos e inolvidables, por el apoyo recibido siempre amigo, y más que amigo un hermano, así como a **Mafer**, mi cuñadita querida, gracias por esas platicas y consejos que sé que nos permitieron superar parte de nuestros malos ratos y malas rachas, los quiero mi pareja de bichitos.

A mi hermanita **Karla (Robertita)** y su novio **Rodrigo** por su amistad y cariño, los quiero demasiado de verdad. Así como a **Laura** compañera del laboratorio por soportarme, reír y llorar porque nada amplificaba. Gracias por apoyarme y motivarme en mi experimentación y por hacer de la UIM algo divertido y a **Alish**, donde quiera que estés, también por todas tus locuras que hacían de un día pesado algo divertido.

Eduardo Kano, muchas gracias amigo por tu ayuda, sin importar la hora y el día estuviste presto para auxiliarme, no sé qué hubiera hecho sin ti.

“Segunda estrella a la derecha y todo recto hasta el amanecer”

Deborah Hautzig

Agradecimientos técnicos

A la Universidad Nacional Autónoma de México F.E.S. Cuautitlán, mi *Alma máter*, por formarme como profesionista, dándome una educación de nivel a través de cada uno de los doctores, maestros y profesores que estuvieron a cargo de impartir su conocimiento para formarme como Ingeniero en Alimentos.

Al Dr. **José Francisco Montiel Sosa** por el apoyo brindado, estoy en deuda con usted por haberme aceptado en su clase para culminar la carrera, gracias por sus enseñanzas que me hicieron encontrar el interés y amor por la biología molecular.

M. en C. **Ana Elvia Sánchez Mendoza** gracias por haberme asesorado durante mi experimentación y motivándome a seguir pese a los problemas que presentamos experimentando, gracias por no desesperarse de mi querida maestra, la aprecio mucho y gracias por usarme como esclavo durante mi estancia en el laboratorio, aprendí muchas cosas no solo teóricas sino prácticas. Más que una maestra, más que una asesora una amiga.

M. en C. **Josefina Moreno Lara** por los consejos y apoyo, sin ser mi asesora le agradezco mucho la atención brindada durante mi estancia en el laboratorio y por formar parte de este proyecto con su ayuda.

I.A. **Mayra Vaely Coronel Flores** gracias por la enseñanza brindada en el taller de Biotecnología, por ser paciente conmigo y darme las herramientas para entender, comprender y amar esta materia, así como para desarrollar este proyecto.

A la Q.F. B. **Martha Patricia Zúñiga** por sus enseñanzas en Bioquímica General y ayudar a mejorar mi tesis, ciertamente era mi temor la bioquímica pero terminé convirtiendo esa debilidad en fortaleza y lo demuestro en este trabajo

Al igual que a la I.A. **María Guadalupe López** e I.A. **Miriam Velazco**, sus aportaciones a este trabajo fueron de gran ayuda.

M. en C. **Jonathan Coria** le agradezco mucho por ayudar a corregir, mejorar y culminar mi trabajo de manera exitosa.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”



Índice

ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
CAPITULO 1. ANTECEDENTES	3
1.1 Generalidades de la carne	3
1.1.1 Composición química	3
1.1.1.1 Proteínas	3
1.1.1.2 Grasas	3
1.1.1.3 Carbohidratos	3
1.1.1.4 Agua	4
1.1.2 Cambios <i>post-mortem</i>	4
1.1.2.1 Cambios químicos	5
1.1.2.2 Relación del <i>rigor</i> y de los cambios <i>post-rigor</i> con las propiedades del músculo	5
1.1.3 Características sensoriales de la carne	5
1.1.3.1 Terneza	5
1.1.3.2 Jugosidad	6
1.1.3.3 Color	6
1.1.3.4 Aroma y sabor	6
1.2 Pavo	7
1.2.1 Morfología	8
1.2.2 Taxonomía	9
1.2.3 Composición química	10
1.3 Producción	11
1.4 Consumo	12
1.5 Productos derivados del pavo	12
1.5.1 Embutidos	12
1.5.1.1 Salchichas	12
1.5.1.2 Jamón	13
1.5.1.3 Chorizo	13
1.6 Características de las especies de interés	13
1.6.1 Carne de pollo	13



1.6.1.1 Producción a nivel mundial	14
1.6.1.2 Producción en México	15
1.6.2 Carne de res	16
1.6.2.1 Producción a nivel mundial.	17
1.6.2.2 Producción en México	18
1.6.3 Carne de cerdo	19
1.6.3.1 Producción a nivel mundial	19
1.6.3.2 Producción en México	20
1.7 Consumo	21
1.8 Situación del mercado Mexicano	22
1.9 Adulteración	23
1.9.1 Tipos de adulteración	23
1.9.2 Métodos para autenticación de alimentos	23
1.9.2.1 Métodos de análisis basados en la detección de proteínas	23
1.9.2.2 Métodos de análisis basados en la detección de ADN	24
1.9.2.2.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	24
1.9.2.2.2 ADN mitocondrial	26
1.9.2.2.3 Componentes de reacción de la PCR	27
1.9.2.2.4 Uso de electroforesis en gel para los productos de la PCR	29
1.9.2.2.5 Limitaciones de la técnica	29
1.9.2.2.6 Alcances de la aplicación de la técnica de PCR	30
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	31
2.1 Justificación del proyecto	31
2.2 Cuadro metodológico	32
2.2.1 Problema	33
2.2.2 Objetivo general	33
2.2.3 Objetivos particulares	33
2.2.3.1 Objetivo particular 1	33
2.2.3.2 Objetivo particular 2	33
2.2.3.3 Objetivo particular 3	33
2.3 Material	34
2.3.1 Reactivos	34
2.3.2 Material y equipo de laboratorio	35



2.4 Métodos	35
2.4.1 Extracción de ADN por el método de Sambrook y Russell (2001)	35
2.4.2 Cuantificación ADN.....	36
2.4.3 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	37
2.4.4 Análisis de amplificación de PCR por electroforesis en gel de agarosa.....	40
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
3.1 Objetivo particular 1.....	41
3.2 Objetivo particular 2.....	42
3.3 Objetivo particular 3.....	47
CONCLUSIONES	59
RECOMENDACIONES	60
REFERENCIAS.....	61
ANEXO: DISEÑO DE <i>PRIMERS</i>	65

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Morfología general del pavo.	8
Cuadro 2. Clasificación taxonómica de los pavos.	9
Cuadro 3. Composición química del pavo.	10
Cuadro 4. Composición química de la carne de pollo.	14
Cuadro 5. Composición química de la carne de res.	17
Cuadro 6. Composición química de la carne de cerdo.	19
Cuadro 7. Precios por kilogramo de carne en México.	22
Cuadro 8. Muestras de embutidos de pavo producidos y distribuidos en México.	35
Cuadro 9. Cantidad de componentes necesarios para la PCR.	37
Cuadro 10. Resultados del cálculo del Tm para cada uno de los primers.	37
Cuadro 11. Secuencias de primers a emplear de las especies de interés.	41
Cuadro 12. Resultados extracción de ADN de las especies de estudio (lejanas y cercanas) sin diluir y diluidas.	42
Cuadro 13. Resultados extracción de ADN de las 16 muestras a evaluar sin diluir y diluidas.	47
Cuadro 14. Especies encontradas mediante la técnica de PCR y la especie reportada en etiqueta.	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de las especies de <i>Meleagris gallo-pavo</i> . Fuente sasscer.wordpress.com (2011).	7
Figura 2. Cortes importantes del pavo, de las cuales solo las piernas, pechuga y alas son de consumo prioritario. Fuente El Vigía, (2015).	9
Figura 3. Estados productores de pavo (SAGARPA, 2016).	11
Figura 4. Producción mundial de carne de pollo, 2006-2016 (FIRA, 2016).	15
Figura 5. Principales estados productores de carne de pollo, 2014-2016 (FIRA, 2016).	16
Figura 6. Producción mundial de la carne de bovino 2007-2017 (FIRA, 2017).	17
Figura 7. Principales estados productores de carne de bovino, 2014-2016 (FIRA-2017).	18
Figura 8. Producción mundial de carne de cerdo, 2006-2016 (FIRA, 2017).	20
Figura 9. Principales estados productores de carne de cerdo, 2014-2016 (FIRA, 2017).	20
Figura 10. Consumo per cápita de carne en México, 2006-2017 (FIRA, 2017).	22
Figura 11. Pasos de la PCR, mostrando los componentes de dicha reacción (Bioninja, 2017).	25
Figura 12. Cuadro metodológico.	32
Figura 13. Programa PCR para <i>Gallus gallus domesticus</i>	38
Figura 14. Programa PCR para <i>Sus scrofa domesticus</i>	38
Figura 15. Programa PCR para <i>Bos taurus</i>	39
Figura 16. Programa PCR para <i>Meleagris gallo-pavo</i>	39
Figura 17. Evaluación de los primers con el programa bioinformático Sequencher.	42
Figura 18. Gel de agarosa al 1% para determinar especificidad de primers <i>Bos taurus</i> diseñadas frente a especies filogenéticamente cercanas y lejanas. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) <i>Bos taurus</i> , 4) <i>Gallus gallus domesticus</i> , 5) <i>Sus scrofa domesticus</i> , 6) <i>Meleagris gallo-pavo</i> , 7) Zanahoria, 8) Trigo 9) Avena.	43
Figura 19. Gel de agarosa al 1% para determinar especificidad de primers <i>Gallus gallus domesticus</i> diseñadas frente a especies filogenéticamente cercanas y lejanas. 1) Marcador de Peso (pb), 2)	



Blanco, 3) <i>Bos taurus</i> , 4) <i>Gallus gallus domesticus</i> , 5) <i>Sus scrofa domesticus</i> , 6) <i>Meleagris gallopavo</i> , 7) Zanahoria, 8) Trigo 9) Avena.....	44
Figura 20. Gel de agarosa al 1% para determinar especificidad de primers <i>Meleagris gallopavo</i> diseñadas frente a especies filogenéticamente cercanas y lejanas. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) <i>Bos taurus</i> , 4) <i>Gallus gallus domesticus</i> , 5) <i>Sus scrofa domesticus</i> , 6) <i>Meleagris gallopavo</i> , 7) Zanahoria, 8) Trigo 9) Avena.....	45
Figura 21. Gel de agarosa al 1% para determinar especificidad de primers <i>Sus scrofa domesticus</i> diseñadas frente a especies filogenéticamente cercanas y lejanas. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) <i>Bos taurus</i> , 4) <i>Gallus gallus domesticus</i> , 5) <i>Sus scrofa domesticus</i> , 6) <i>Meleagris gallopavo</i> , 7) Zanahoria, 8) Trigo 9) Avena.....	46
Figura 22. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Bos taurus</i> . 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) C+, 4) MPK, 5) MPD, 6) JPK, 7) VPF, 8) VPZ, 9) PPA, 10) FPA. 48	48
Figura 23. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Bos taurus</i> . 11) Marcador de Peso (pb), 12) Blanco, 13) C+, 14) SPBZ, 15) SPD, 16) SPF, 17) SCPZ, 18) SPC, 19) CPZ, 20) CPK.	48
Figura 24. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Bos taurus</i> . 21) Marcador de Peso (pb), 22) Blanco, 23) C+, 24) CPC, 25) PP.	49
Figura 25. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Gallus gallus domesticus</i> . 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) C+, 4) MPK, 5) MPD, 6) JPK, 7) VPF, 8) VPZ, 9) PPA, 10) FPA.....	50
Figura 26. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Gallus gallus domesticus</i> . 11) Marcador de Peso (pb), 12) Blanco, 13) C+, 14) SPBZ, 15) SPD, 16) SPF, 17) SCPZ, 18) SPC, 19) CPZ, 20) CPK.	50
Figura 27. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Gallus gallus domesticus</i> . 21) Marcador de Peso (pb), 22) Blanco, 23) C+, 24) CPC, 25) PP.	51
Figura 28. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Meleagris gallopavo</i> . 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) C+, 4) MPK, 5) MPD, 6) JPK, 7) VPF, 8) VPZ, 9) PPA, 10) FPA.	52
Figura 29. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Meleagris gallopavo</i> . 11) Marcador de Peso (pb), 12) Blanco, 13) C+, 14) SPBZ, 15) SPD, 16) SPF, 17) SCPZ, 18) SPC, 19) CPZ, 20) CPK.	52
Figura 30. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Meleagris gallopavo</i> . 21) Marcador de Peso (pb), 22) Blanco, 23) C+, 24) CPC, 25) PP.	53
Figura 31. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Sus scrofa domesticus</i> . 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) C+, 4) MPK, 5) MPD, 6) JPK, 7) VPF, 8) VPZ, 9) PPA, 10) FPA.....	54
Figura 32. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Sus scrofa domesticus</i> . 11) Marcador de Peso (pb), 12) Blanco, 13) C+, 14) SPBZ, 15) SPD, 16) SPF, 17) SCPZ, 18) SPC, 19) CPZ, 20) CPK.	54
Figura 33. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie <i>Sus scrofa domesticus</i> . 21) Marcador de Peso (pb), 22) Blanco, 23) C+, 24) CPC, 25) PP.	55



RESUMEN

En el presente trabajo se muestra la utilidad de la técnica de extracción de ADN molecular que sirvió para determinar adulteraciones en embutidos de pavo elaborados y comercializados en México. Se analizó la presencia de 4 especies (res, pollo, pavo y cerdo) en embutidos de pavo utilizando la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la cual se obtiene varias réplicas de ADN a partir de una pequeña cantidad del ADN molde.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica que consiste en amplificar *in vitro* fragmentos específicos del ADN por el apareamiento de dos moléculas cebadoras o *primers* con la molécula de ADN original, con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés en el genoma de un organismo y es una técnica que se emplea para la determinación de adulteraciones e identificación de especies

Se diseñaron parejas de *primers* a partir del artículo publicado por Kesmen *et al.*, 2009 en donde menciona el número de acceso al GenBank de las especies de interés y mediante programas bioinformáticos se realizó el diseño de éstos.

La reacción en cadena de la polimerasa se llevó a cabo mediante 4 programas de PCR para cada especie, utilizando la temperatura de hibridación de los *primers*. Posteriormente se comprobó su especificidad para evitar hibridaciones con otras especies y no tener errores en la determinación de adulteraciones.

Los resultados obtenidos mostraron que la mayoría de las muestras analizadas contienen una o más especies que no están reportadas en la etiqueta, lo que indica adulteración e incumplimiento de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010. La carne de pollo fue la especie que se encontró en su mayoría, 7 muestras, cerdo en 5 muestras, res en una muestra. Únicamente de 6 de 16 muestras comerciales coincidieron con la especie reportada en la etiqueta.



INTRODUCCIÓN

La carne de pavo es considerada como uno de los productos de origen animal con menor contenido de grasa en comparación con la carne de cerdo, pollo y res. El consumo de estos productos es una alternativa que está relacionada con el cuidado en la salud y prácticas religiosas (Estudios de Mercado, 2013), además su alto contenido proteico y bajo contenido en colágeno facilita su digestibilidad; razones por las cuales existe preferencia de esta carne por parte de los consumidores (Villamar y Guzmán, 2006).

Los embutidos son alimentos consumidos en su mayoría por su fácil cocción y preparación, teniendo una gran versatilidad a la hora de ser preparados siendo de buen agrado para el consumidor, en especial para los niños, ya que es una forma más atractiva de consumo. Los embutidos de pavo en los últimos años se han presentado como una nueva alternativa de consumo dirigido a las personas que cuidan su salud, la industria alimentaria utiliza la carne de pavo para ofrecer una opción alterna a los embutidos de cerdo, consiguiendo reducción de calorías y de grasas en los productos elaborados a partir de pavo (Estudios de Mercado, 2013).

La identificación de especies en embutidos es un tema importante, no solo del punto de vista económico, sino también por razones de salud pública, regulaciones gubernamentales y por prácticas religiosas.

La adulteración en productos alimenticios es un problema que se ha presentado en el transcurso de los años, causando enfermedades y reacciones alérgicas que van en contra de las normas existentes que dictan el aseguramiento de calidad e inocuidad de los alimentos para los consumidores por parte de las industrias alimenticias (NOM-251-SSA-2009). Por lo que el uso de carnes que no son reportadas en el etiquetado atenta contra el bienestar del consumidor y va en contra de las normas establecidas en nuestro país. Estas adulteraciones se presentan más en productos de baja gama y en algunos casos en productos de gama media, debido a la reducción de costos a la hora de elaborar dichos embutidos, mezclando carnes de distintos animales o en su defecto siendo sustituidos por especies similares (Villamar y Guzmán, 2006).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica que consiste en amplificar *in vitro* fragmentos específicos del ADN por el apareamiento de dos moléculas cebadoras o *primers* con la molécula de ADN original, con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés en el genoma de un organismo y es una técnica que se emplea para la determinación de adulteraciones e identificación de especies (Coleman y Tsongalis, 2005).



CAPITULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Generalidades de la carne

Según la NOM-194-SSA1-2004, se define a la carne como una estructura muscular estriada esquelética, acompañada o no de tejido conectivo, huesos y grasa, además de fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos; proveniente de los animales para abasto, que no ha sido sometida a ningún proceso que modifique de modo irreversible sus características sensoriales y fisicoquímicas; se incluyen las refrigeradas o congeladas.

1.1.1 Composición química

1.1.1.1 Proteínas

Las proteínas constituyen la mayor parte del organismo animal. En el músculo vivo, las proteínas son los componentes más importantes por su función fisiológica y en la carne constituyen la principal fuente de proteína de alta calidad de la dieta humana.

Químicamente las proteínas son moléculas complejas constituidas por unas cadenas de aminoácidos. Los aminoácidos pertenecen a la configuración L y difieren fundamentalmente en el grupo R de la estructura general $R-CH(NH_2)COOH$. Las propiedades y funciones de cualquier proteína dependen del número de posición relativa de los aminoácidos que posee y de la naturaleza química de sus grupos laterales (Potter, 1973).

De acuerdo con su procedencia, las proteínas del musculo se clasifican en sarcoplásmicas, miofibrilares y proteínas del tejido conectivo. Además de las proteínas musculares, existen numerosas proteínas en los diferentes órganos, membranas celulares y estructuras membranosas, hueso y de las diversas formaciones derivadas de la piel (Potter, 1973).

1.1.1.2 Grasas

Las grasas suponen 18-30% del peso en canal listo para el mercado. Los niveles inferiores son más frecuentes a consecuencia de las nuevas tendencias en la crianza y comercialización. Las grasas constituyen para los animales un reservorio de energía; la grasa es el componente de mayor valor calórico que dispone el organismo animal (Potter, 1973).

1.1.1.3 Carbohidratos

Todos los tejidos y líquidos tisulares de los animales contienen carbohidratos, aunque estos sean más abundantes en los vegetales. Se presentan libres o formando parte de los ácidos nucleicos, nucleósidos, nucleótidos y de algunas proteínas y lípidos. La aldohexosa glucosa es el carbohidrato primario que utilizan los tejidos animales para obtener la energía que necesitan sus procesos corporales, sobre todo la contracción muscular. El polímero de la glucosa denominado glucógeno, se almacena hasta que se necesita en casi todos los tejidos, pero fundamentalmente en el músculo esquelético y en el hígado (Potter, 1973).



1.1.1.4 Agua.

En el aspecto cuantitativo el agua es el componente más importante de la carne. La carne roja contiene alrededor del 76% de agua en peso y puede absorber aún más agua cuando por ejemplo se divide finamente y se transforma para fabricar salchichas, al ser tan abundante, el agua influye profundamente en la calidad de la carne, afectando en primer término a su jugosidad, pero también a la blandura, color y sabor. Puesto que el agua es el medio universal de las reacciones biológicas, su presencia influye poderosamente en los cambios que ocurren en la carne durante la refrigeración, almacenamiento y procesado (Potter, 1973).

1.1.2 Cambios *post-mortem*.

Para comprender la transformación del músculo en carne es necesario conocer los procesos químicos que tienen lugar en el animal vivo y las subsiguientes alteraciones de los mismos después de la muerte. Los cambios que se producen en el músculo vivo y en el tejido después de la muerte son similares, pero después de la muerte fisiológica los tejidos son incapaces de sintetizar y eliminar determinados metabolitos.

Las vías metabólicas implicadas en la contracción y relajación muscular solo difieren ligeramente de las que conduce al desarrollo del *rigor mortis* (Price y Schweigert, 1976).

El *rigor mortis* constituye la fase inicial en la transformación del músculo en carne. Consiste simplemente en la unión irreversible de miosina y actina para formar actomiosina. Esta unión puede ir acompañada o no de contracción muscular, pero se manifiesta en la rigidez cadavérica que le caracteriza. Después de la muerte se produce:

- Falta de regulación nerviosa y hormonal.
- Falta de aporte de nutrientes.
- Falta de aporte de oxígeno.
- Alteración del equilibrio osmótico (Honikel *et al.*, 1983).

La consecuencia más inmediata del sangrado es el fallo en el aporte de oxígeno transportado por la sangre a los músculos y por tanto la caída del potencial de oxidación-reducción. En consecuencia, el sistema enzimático citocromo no puede funcionar y la síntesis de ATP por esta vía es imposible. Por acción de la ATPasa de la miosina disminuye el nivel de ATP, liberando simultáneamente fosfato inorgánico que estimula la conversión del glucógeno en ácido láctico. La síntesis de ATP por glucólisis anaerobia no permite mantener el nivel de ATP y al disminuir éste hasta casi desaparecer y se forma actomiosina se produce la inextensibilidad característica del *rigor mortis* (Honikel *et al.*, 1983).

La baja disponibilidad de ATP también incrementa la dificultad para mantener la integridad estructural de las proteínas, al mismo tiempo que el bajo pH, causado por la acumulación de ácido láctico, favorece su desnaturalización. La desnaturalización frecuentemente está acompañada por la pérdida de la capacidad para retener agua y el

descenso del pH, que se aproxima al punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares. Ambos fenómenos causan exudación. Este conjunto de complejas transformaciones constituye en una primera etapa el proceso denominado *rigor mortis* (Price y Schweigert, 1976).

1.1.2.1 Cambios químicos

Los cambios químicos que experimenta *post-mortem* el músculo dependen esencialmente de los compuestos fosfato, ricos en energía, y de los mecanismos que intervienen en su síntesis y degradación, la glucólisis, por tanto, es uno de los procesos implicados. Mediante una serie de reacciones, la energía química de la glucosa es utilizada en la síntesis de ATP. Mediante la oxidación aeróbica la glucosa es completamente oxidada a CO₂ por el acetilcoenzima A, según el ciclo del ácido tricarboxílico y su correspondiente fosforilación (White *et al.*, 1964).

1.1.2.2 Relación del *rigor* y de los cambios *post-rigor* con las propiedades del músculo

Se ha demostrado que la carne en *pre-rigor* es blanda, que se va endureciendo progresivamente a medida que se completa el *rigor* y que a partir de entonces aumenta su terneza con la prolongación del periodo de maduración (Paul *et al.*, 1952). Esta pauta característica de la terneza parece presentarse en todas las especies, si bien en las aves los cambios correspondientes ocurren con mucha mayor rapidez (DeFremery, 1996). Aunque se desconoce la causa exacta del endurecimiento gradual con la implantación del *rigor mortis*, el aumento de la dureza parece estar relacionado con el acortamiento del músculo. Como se señaló anteriormente, el aumento de dureza ocurre si los músculos se mantienen bajo tensión, para evitar el acortamiento durante el desarrollo del *rigor* (Herring *et al.*, 1965), o si se administra una inyección *ante-mortem* de un quelante de Ca²⁺, para bloquear la interacción actina-miosina (Weiner y Pearson, 1966).

1.1.3 Características sensoriales de la carne

Independiente de su calidad nutritiva, la carne y los productos cárnicos se consumen en cantidades adecuadas si resultan apetecibles. La calidad sensorial de la carne depende de factores tales como el aroma, sabor, el color o aspecto, terneza y jugosidad (Price y Schweigert, 1976).

1.1.3.1 Terneza

Estudios basados en la opinión de los consumidores han puesto de manifiesto que la terneza de la carne es el factor de la calidad sensorial que más influye en la aceptación de la carne vacuna y probablemente de otras carnes, como la de aves. Muchos factores influyen en la terneza de la carne, afectándola unos *ante-mortem* y otros *post-mortem*. Los factores que influyen *ante-mortem* son:

- Características genéticas.
- Factores fisiológicos.

- Prácticas de alimentación.

Para el caso *post-mortem* actúan factores como: Temperatura de la carne después del sacrificio (maduración, congelación, etc.)

(Price y Schweigert, 1976)

1.1.3.2 Jugosidad

La jugosidad de la carne puede desglosarse en dos componentes, la sensación de humedad que produce al iniciarse la masticación debido a una rápida liberación de jugo y la sensación de jugosidad sostenida causada al parecer por la lenta liberación de agua y por el efecto estimulante de la grasa sobre el flujo salivar. Puesto que la última sensación perdura más que la causada por la liberación inicial del jugo, es bastante lógico que la mayor parte de los estudios sobre los factores que afectan a la calidad de la carne se haya enfocado en que la jugosidad está más relacionada con el contenido graso de la carne y jugo liberado, que con la capacidad de retención de agua. La jugosidad de la carne cocinada de diferentes animales y de diferentes tajos de carne varía considerablemente.

La terneza y la jugosidad están íntimamente relacionadas, de modo que cuanto más terna es la carne tanto más rápidamente se liberan los jugos durante la masticación y tanto mayor es la sensación de jugosidad que produce (Price y Schweigert, 1976).

1.1.3.3 Color

El color de la carne baja en grasa no curada, después de la cocción, depende en gran parte de la naturaleza y cantidad de los derivados de la mioglobina y de sus productos de descomposición. El color de las carnes curadas, como el jamón, el cual contiene pigmentos termoestables de óxido nítrico mioglobina, su coloración apenas cambia durante la cocción.

La intensidad del color de la carne fresca y de la carne curada, después de la cocción, refleja la cantidad de mioglobina presente en el tejido muscular.

Por esta causa, la carne cocinada de los animales más viejos y de los músculos que poseen una alta demanda de oxígeno suele ser más oscura que la de los animales jóvenes o de los músculos con una menor demanda de oxígeno (Price y Schweigert, 1976).

1.1.3.4 Aroma y sabor

La carne fresca en estado crudo tiene un olor muy ligero que a veces recuerda al del ácido láctico comercial. La intensidad del olor de la carne de los animales viejos es mayor que la de los jóvenes de la misma especie. La carne de los animales machos adultos a veces posee un olor desagradable debido a los niveles de androstenona que es una feromona sexual, la cual es transportada y acumulada de manera reversible en el tejido adiposo.

Cuando la carne se conserva sin congelar durante cierto tiempo aparecen determinados olores peculiares; la carne vacuna madura, por ejemplo, tiene un aroma característico que

recuerda al de la carne de animales salvajes. La conservación prolongada, en especial cuando las condiciones de almacenamiento no son favorables, determina la aparición de olores proteolíticos o pútridos a consecuencia de la descomposición de la proteína, olores ácidos o desagradables debidos al crecimiento bacteriano y olores rancios causados por la oxidación de grasas (Price y Schweigert, 1976).

El sabor de la carne, al igual que ocurre con el aroma, es muy difícil de evaluar y de describir. Ambas características apenas son separables, ya que las sensaciones odoríferas repercuten en el sabor. La carne cruda tiene un sabor ligeramente salino parecido al de la sangre. La edad del animal el tipo de alimento, el tiempo y condiciones de almacenamiento de la carne después de la muerte, afectan al sabor de la carne (Price y Schweigert, 1976).

1.2 Pavo

El pavo es un ave doméstica que se sitúa en la escala zoológica dentro del orden *Galliformes*, familia *Meleagridae*, género *Meleagris*, especie *gallopavo*. Son originarios de América del Norte, cuya área de dispersión geográfica se extendía entre Canadá y México, como se muestra en la Figura 1 en color rojo (Baroglio, 2004; Losada *et al.*, 2006).



Figura 1. Distribución geográfica de las especies de *Meleagris gallo-pavo*. Fuente sasscer.wordpress.com (2011).

La carne de pavo tiene una alta terniza y fina. Aunque alcanzan enormes pesos no tienden al engrosamiento; razón de preferencia de la carne. Los pavos pueden pesar hasta 15-20 kg, las extremidades tienen una carne relativamente ordinaria y oscura, mientras que la carne de la pechuga presenta más terniza y de color pálido (Farchmin, 1967).

Existen 7 razas de pavos silvestres como lo son:

- *Meleagris gallopavo gallopavo* (México).

- *Meleagris gallopavo mexicano* (Noreste de México y Baja California).
- *Meleagris Gallopavo merriami* (Oeste de EUA.)
- *Meleagris gallopavo intermedia* (Texas, Oklahoma y California).
- *Meleagris gallopavo osceole* (Florida, Luisiana y Carolina del sur).
- *Meleagris gallopavo silvestris* (Florida a Ontario y Texas a Dakota).
- *Meleagris gallopavo onusta* (México, Meseta Central).

Los pavos domésticos descienden de la primera raza originaria de México, donde se llevaron a España, pasando luego a casi toda Europa. Siendo las principales razas domésticas: Blanco de Holanda, Narragansett; Raza Negra; Ardesia; Rojo de Bordón; Blanca de Beltsville y Bronceada Gigante (Barioglio, 2004).

1.2.1 Morfología

La morfología de los pavos se presenta en el siguiente cuadro

Cuadro 1. Morfología general del pavo.

Parte	Característica
Cabeza	Pequeña, fina y alargada. Desnuda y roja con la cara azul, coloración que se intensifica notablemente según el grado de excitación. Carunculada, especialmente la nuca. Presenta un apéndice en la base superior del pico, que en los machos excitados se extiende notablemente, y una gran papada que recorre desde la base del pico y toda la parte desnuda del cuello.
Orejas	Pequeñas y cubiertas de filo plumas claras, pero con el extremo oscuro.
Pico	Largo, curvo y grande. Fuerte, de color claro con la base oscura. La sección clara deberá abarcar al menos la mitad del pico.
Cuello	Más bien largo, fino, desnudo y carunculado. De color rosado a rojo intenso según el grado de excitación del animal. En animales de cierta edad, se presenta desnudo, con su parte posterior azulada y carúnculas incluso hasta su borde inferior. En su inserción con el tronco se ensancha notablemente.
Tronco	Largo, profundo e inclinado hacia atrás.
Dorso	Largo e inclinado hacia atrás.
Pecho	Ancho, profundo y poco prominente. En la base del cuello, centrado, aparece el "escobón" (mechón negro y rígido de filamentos queratinosos), que en función de la edad puede alcanzar los 10 cm de longitud.
Cola	En prolongación de la línea dorsal.
Alas	Grandes, fuertes y llevadas, cuando el animal está activo, por encima de la cola.
Muslos	Largos, robustos y parcialmente visibles
Tarsos	Largos, robustos, desnudos y de color gris oscuro. Con cuatro dedos.

Jiménez, 2002

Como se muestra en la Figura 2, los cortes más importantes del pavo, de los cuales el consumo de enfoca más en la pechuga, muslos, piernas y alas.

1. Pavo entero

2. Pescuezo

3. Pechuga

4. Filete de pechuga

5. Pierna

6. Ala primera falange

7. Ala segunda falange

8. Muslos

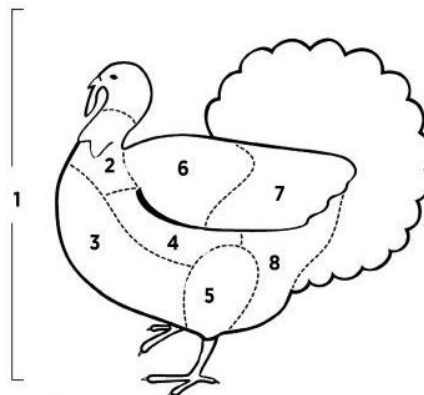


Figura 2. Cortes importantes del pavo, de las cuales solo las piernas, pechuga y alas son de consumo prioritario. Fuente El Vigía, (2015).

1.2.2 Taxonomía

La taxonomía de los pavos se presenta en el siguiente cuadro.

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de los pavos.

CATEGORÍA	TAXA	DESCRIPCIÓN
Reino	<i>Animalia</i>	Animales: Sistemas multicelulares que se nutren por ingestión.
Filo	<i>Chordata</i>	Cordados: Animales con médula espinal, o cordón nervioso.
Subfilo	<i>Vertebrata</i>	Vertebrados: Cordados con columna vertebral.
Superclase	<i>Gnathostomata</i>	Vertebrados con mandíbulas.
Clase	<i>Aves</i>	Aves: Vertebrados con plumas
Subclase	<i>Neornithes</i>	Aves Verdaderas: Vértebras de la cola fundidas
Superorden	<i>Neognathae</i>	Aves del Vuelo
Orden	<i>Galliformes</i>	Gallos y aves afines
Familia	<i>Phasianidae</i>	Gallos
Subfamilia	<i>Meleagridinae</i>	Pavos
Género	<i>Meleagris</i>	Pavos
Especie	<i>gallopavo</i>	Pavo Común

Jiménez, 2002

1.2.3 Composición química

La composición química de la carne de pavo depende al igual que las otras carnes de la dieta, edad, sexo y grado de desarrollo de los animales, esto se verifica en los contenidos de sus nutrientes (Ramírez, 2006).

La carne de pavo por su alto contenido proteico y bajo nivel de colesterol y grasa, es una de las fuentes de proteína más completa y de mejor calidad dentro de los alimentos de origen animal, además de su bajo contenido en colágeno facilita su digestibilidad; razones por las cuales existe preferencia de esta carne por parte de los consumidores, incluso a nivel mundial (Villamar y Guzmán, 2006).

La carne de pavo tiene como componente mayoritario, en un 75% aproximadamente, al agua, como se muestra en el Cuadro 3. Le siguen las proteínas con alto valor biológico, dado su contenido en aminoácidos esenciales. El pavo es una carne magra, con menor concentración de grasa y de colesterol incluso que el pollo, especialmente cuando se consume sin piel donde reside una parte importante de la misma. Aunque el músculo del animal vivo contiene una pequeña cantidad de carbohidratos en forma de glucógeno, éste se destruye en los procesos *postmortem* del ave, de forma que la carne de pavo no contiene carbohidratos. Con respecto a los micronutrientes el pavo es fuente de minerales entre los que destacan magnesio, zinc, potasio, fósforo. Sin embargo, el contenido de hierro en esta carne, aunque de alta biodisponibilidad; es cuantitativamente bajo comparado con la media del grupo, no alcanzando 1 mg por 100 g de alimento (Moreiras *et al.*, 2013).

Cuadro 3. Composición química del pavo.

Producto	Pavo (deshuesado, sin piel)
Porción comestible	100 g
Agua (g)	75.5
Energía (Kcal)	107
Energía (Kj)	454
Proteínas (g)	21.9
Lípidos (g)	2.2
Carbohidratos (g)	0
Fibra (g)	0
Fe (mg)	0.8
Zn (mg)	1.7
P (mg)	210
K (mg)	300
Vitamina B6 (mg)	0.46
Vitamina B12 (µg)	12
Ácido fólico (µg)	15

Moreiras *et al.*, 2013

1.3 Producción

La avicultura es la actividad que se encarga de la producción de pollos y pavos bajo rigurosos procesos de cuidado y alimentación para mantener la calidad que caracteriza a México. Esta industria genera alrededor de un millón de empleos directos e indirectos y beneficia al comercio nacional e internacional.

Las aves de mayor consumo son los pollos y las gallinas, de estas últimas existen diversas razas que cubren necesidades específicas, por ejemplo, las gallinas ligeras producen huevo, para consumo de carne están las gallinas pesadas y las gallinas semipesadas que son con doble propósito (carne y huevo); los pollos son aquellas aves que en su mayoría se ocupan para consumo de carne y es conocido como pollo de engorda y se obtiene de las gallinas pesadas.

Dentro de la avicultura también encontramos la producción de guajolote, como se le conoce en México desde la época prehispánica, o pavo, como también se le conoce por la influencia española, es una de las aves domésticas de mayor tamaño, pudiendo alcanzar entre 14 y 18 kilogramos de peso a los 6 meses de edad; el consumo de esta ave en México es mucho menor ya que, en su mayoría se prepara para festividades navideñas, los guajolotes que son utilizados para consumo humano son los denominados como pavo de corral (SAGARPA, 2016).

Entre las principales entidades productoras de pavo (guajolote) destacan Chihuahua, con 3,850 toneladas; Puebla, 2,500; Estado de México, 2,452; Yucatán, 2,373; Veracruz, 1,286; Tabasco, 1,128 e Hidalgo, 1,104 toneladas.

En ese orden, el estado de Chihuahua aporta el 26% de la producción nacional; Puebla, 17%, Estado de México 17%, Yucatán 16%, Veracruz, 9%, Tabasco 8%, e Hidalgo 7% como se muestra en la Figura 3 (SAGARPA, 2016).

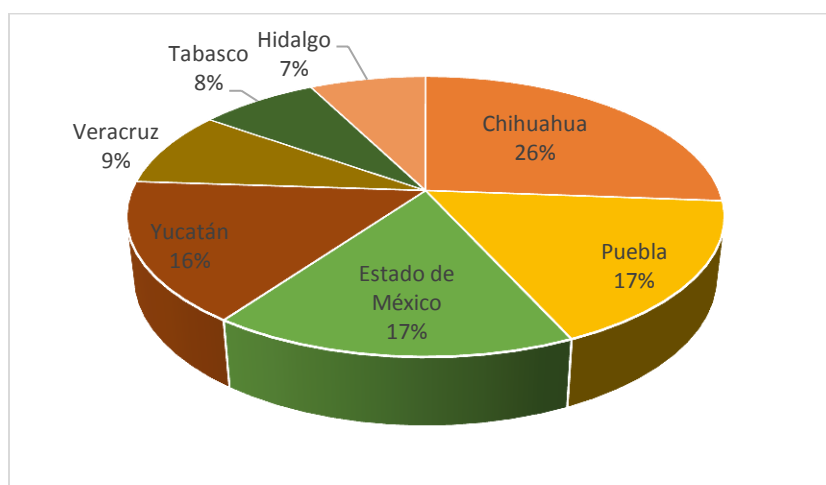


Figura 3. Estados productores de pavo (SAGARPA, 2016).



Debido a que la producción de pavos se destina para consumo en temporada de fin de año, las parvadas se programan para ser sacrificadas a partir del mes de marzo en menor escala, registrándose los mayores volúmenes de matanza entre julio y septiembre.

También existen rastros particulares, que no cuentan con la certificación TIF, pero que operan bajo estrictas medidas higiénicas, ubicándose en los estados de Guerrero, México, Puebla, Tabasco, Veracruz y Yucatán (Villamar y Guzmán, 2006).

1.4 Consumo

Referente a las importaciones de carne de pavo, es un producto principalmente demandado por la industria de embutidos a nivel nacional, las instancias gubernamentales y organizaciones productivas anotaron que en 2015 se registró un monto por este concepto de 341 millones de dólares.

Principalmente es consumido en temporada navideña y de fin de año, se consume natural u ahumado, pero las carnes industrializadas son las que presentan un consumo consecutivo y mayormente abastecido a través de productos de importación, ya sea a través de piezas o pastas de carne de estas aves. El Consumo Nacional Aparente de pavo en México incrementó a partir de los años 90, a raíz de la apertura comercial de México (Villamar y Guzmán, 2006).

1.5 Productos derivados del pavo

Debido a que la congelación mantiene los alimentos seguros, las industrias prefieren utilizar con frecuencia el pavo y cortes de aves de corral congelados para elaborar productos procesados, por su fácil manejo y disponibilidad como lo son chorizos, carne molida, hamburguesas, carne ahumada, jamón, paté, salchichas (Márquez *et al.*, 2006).

1.5.1 Embutidos

La fabricación de embutidos cuenta con una larga tradición en todo el mundo. Así en escritos desde la antigua Roma ya se mencionaba diversos nombres de embutidos (salsicia=salchicha) que se ha conservado como raíces para la designación del embutido. En alimentación se denomina embutido a una pieza, generalmente de carne picada y condimentada con hierbas aromáticas y diferentes especias (pimentón, pimienta, ajos, romero, tomillo, clavo de olor, jengibre, nuez moscada, etcétera) que es introducida (embutida) en piel de tripas de cerdo. En la fabricación industrial moderna de estos productos se utiliza un tipo de tripa artificial, que resulta comestible. Su forma de curación ha hecho que sea fácilmente conservable a lo largo de relativamente largos periodos de tiempo (Fehlhaber y Janetschke, 1995).

1.5.1.1 Salchichas

Conforme a la NMX-F-065-1984, la salchicha es un producto alimenticio embutido de pasta semifirme de color característico, elaborado con la mezcla de carne (60% mínimo) de ternera, res y cerdo y grasas de las especies antes mencionadas, adicionado de condimentos, especias y aditivos para alimentos.

1.5.1.2 Jamón

De acuerdo con la NMX-158-SCF1-2003 dicta que el jamón de pavo es un producto alimenticio elaborado exclusivamente con la carne de los muslos de pavo, declarados aptos para el consumo humano por la autoridad responsable, de la especie *Meleagris gallo-pavo*, de acuerdo con los criterios y especificaciones generales que se establecen en dicha norma.

1.5.1.3 Chorizo

El chorizo es un embutido crudo, de origen español. Se elabora a partir de carne picada de cerdo, mezcla con sal, especias y nitrato de potasio. El producto es embutido en tripa de cerdo y atado en porciones de 10-25 cm. Su elaboración puede ser fresco o madurado (FAO, 2012).

Existen diferentes clases y técnicas de elaboración dependiendo de los gustos de cada país, pueden variar el tipo de carne sustituyendo la carne de cerdo por carne de aves, como lo es la carne de pavo, así como el uso de sojas texturizadas para un mayor rendimiento y reducción de costos.

En México son embutidos frescos madurados muy populares, que se presentan diferencias regionales con respecto a la formulación y elaboración (Kuri *et al.*, 1995).

1.6 Características de las especies de interés

1.6.1 Carne de pollo.

El pollo es el ave gallinácea de cría, macho o hembra, sacrificada con una edad máxima de 20 semanas (5 meses) y un peso que oscila entre 1 y 3 kilos (cuando la crianza se realiza de manera doméstica o rural). En la actualidad, el pollo se cría de manera intensiva en las granjas y en 38 días se consigue una unidad de pollo terminado vivo con 1.95 kilogramos. Debido a su gran versatilidad en la cocina y a su precio económico, es un alimento muy común en todos los hogares. Sin embargo, y dada la gran demanda de esta carne, los pollos alimentados con grano han dado paso a los criados de forma intensiva. Así, su precio ha disminuido de forma considerable, hasta el punto de ser en la actualidad una de las fuentes cárnicas más económicas (CEI-RD, 2011).

La composición de la carne varía en función de la edad del animal sacrificado. Los ejemplares más viejos son más grasos. También existen diferencias en la composición de las distintas piezas cárnicas, como en el caso de la pechuga, cuyo contenido en proteínas es mayor que el que presenta el muslo, como se muestra en el Cuadro 4. El contenido, distribución y composición de la grasa del pollo es similar al del resto de las aves de corral. Tampoco se aprecian grandes diferencias en lo referente al aporte proteico, equiparable al de la carne roja. Entre los minerales, el nivel de hierro y de zinc es menor que en el caso

de la carne roja, aunque supone una fuente más importante de fósforo y potasio. (Moreiras *et al.*, 2013).

Cuadro 4. Composición química de la carne de pollo.

Producto	Carne de pollo cruda	Pechuga de pollo	Muslo de pollo
Porción comestible	100 g	100 g	100 g
Agua (g)	70.3	73.9	74.7
Energía (Kcal)	167	107.3	127.1
Energía (Kj)	699	449	531
Proteínas (g)	20	23.7	16.9
Lípidos (g)	9.7	1.4	5.2
Carbohidratos (g)	0	0	0
Fibra (g)	0	0	0
Fe (mg)	1.1	1	1.5
Zn (mg)	1	0.7	0.8
P (mg)	248	212	151
K (mg)	300	264	204
Vitamina B6 (mg)	0,3	0.53	0.42
Vitamina B12 (µg)	Tr	Tr	Tr
Ácido fólico (µg)	10	4.8	11.4

Moreiras *et al.*, 2013

1.6.1.1 Producción a nivel mundial

Para 2016, se pronosticó que la producción mundial de carne de pollo alcance 89.7 millones de toneladas, lo que representaría un aumento anual de 1.1% y un nuevo máximo histórico. En particular, para 2016 se prevé crecimiento anual, como lo muestra la Figura 4, en la producción de Estados Unidos 2.6%, Brasil 3.2%, Unión Europea 1.3%, Rusia 4.2% e India 7.7%, países que en conjunto aportan el 56.5% de la oferta mundial del cárnico. Por otro lado, se pronostica una contracción de 5.2% anual en la producción de carne de pollo en China. México se mantendrá en el séptimo lugar como país productor, con una participación de 3.7 % de la producción mundial (FIRA, 2016).

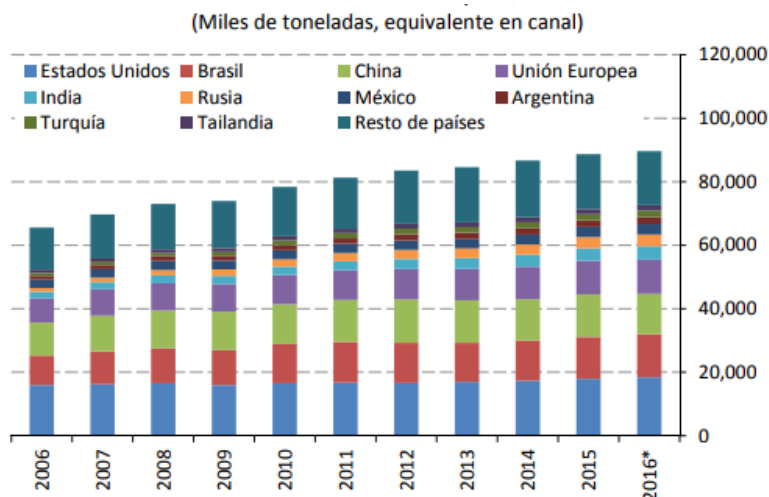


Figura 4. Producción mundial de carne de pollo, 2006-2016 (FIRA, 2016).

1.6.1.2 Producción en México

En 2014, México produjo casi 3 millones de toneladas de pollo para consumo y el estado con mayor producción de carne de pollo es Jalisco.

En el tercer trimestre de 2016, se reportó una producción de carne de pollo de dos millones 294 mil 916 toneladas, con un consumo per cápita de 28.5 kg, como lo indica la Figura 5.

En el 2015, la producción de pollo fue de dos millones 962 mil toneladas, donde destacan los estados de Jalisco con 12.3 por ciento; Veracruz, 10.4 por ciento y Querétaro 9.3 por ciento, entidades que en conjunto suman 930 mil toneladas.

Las entidades federativas que producen carne de ave son Aguascalientes, 300,981 toneladas; Durango, 289,472; Guanajuato, 175,081; Puebla, 167,120; Chiapas, 159,858; Sinaloa, 126,167; Yucatán, 123,264, y el resto, 690,243 toneladas (FIRA 2016).

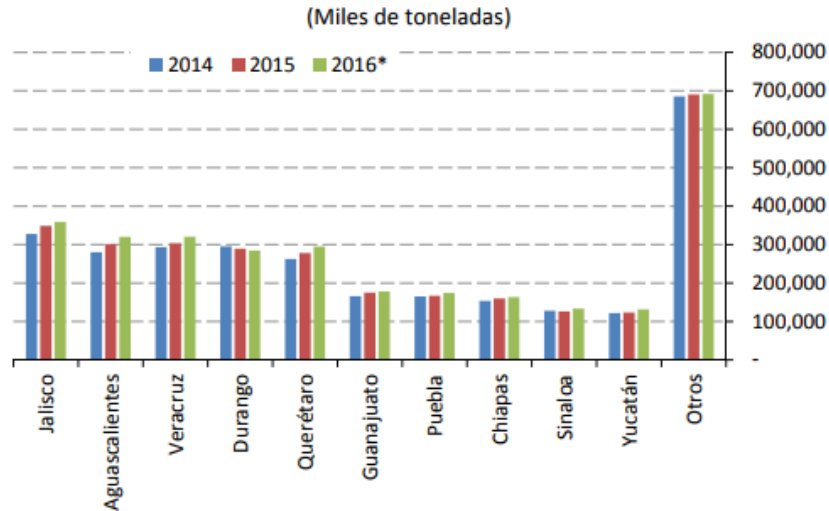


Figura 5. Principales estados productores de carne de pollo, 2014-2016 (FIRA, 2016).

1.6.2 Carne de res

La carne de res proporciona agua, proteínas con aminoácidos esenciales como isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina, valina, vitaminas como B6, B12, ácido pantoténico, niacina y minerales como fósforo, potasio, sodio, zinc y hierro. La carne tiene un alto valor biológico pues provee todos los aminoácidos esenciales en cantidades adecuadas. Los aminoácidos son moléculas que forman a las proteínas de los alimentos y que al ser consumidos pasan a formar parte de las proteínas que requiere el cuerpo humano para conformar y mantener los músculos, huesos, sangre y distintos órganos del cuerpo. Los aminoácidos también mantienen las reservas de proteínas en el organismo, lo que permite la síntesis de anticuerpos, los cuales dan inmunidad a enfermedades. La capacidad del cuerpo humano a resistir enfermedades es dependiente de su habilidad de producir anticuerpos. Existen 22 aminoácidos importantes para la salud humana, de los cuales el cuerpo puede producir 13, los otros 9 los tiene que adquirir de la dieta, es decir es esencial obtenerlos por medio de la ingesta de alimentos ricos en proteínas de alta calidad. Si bien algunas fuentes vegetales también aportan aminoácidos, no lo hacen en la concentración y calidad que lo hacen las fuentes concentradas como son las carnes. Por otro lado, la carne es una excelente fuente de hierro, zinc y fósforo. El hierro previene la anemia, el zinc es necesario para el crecimiento y los procesos de cicatrización y el fósforo es importante para la asimilación de calcio por el organismo. De 100 g de carne de res, Cuadro 5, se obtienen 1.84 mg de hierro, 5.11 mg de zinc, y 211 mg de fósforo (Moreiras *et al.*, 2013).

Cuadro 5. Composición química de la carne de res.

Producto	Carne cruda de res
Porción comestible	100 g
Agua (g)	73.9
Energía (Kcal)	131
Energía (Kj)	548
Proteínas (g)	20.7
Lípidos (g)	5.4
Carbohidratos (g)	0
Fibra (g)	0
Fe (mg)	1.84
Zn (mg)	5.11
P (mg)	211
K (mg)	350
Vitamina B6 (mg)	0.32
Vitamina B12 (µg)	12
Ácido fólico (µg)	15

Moreiras et al., 2013

1.6.2.1 Producción a nivel mundial.

Entre 2007 y 2016, la producción mundial de carne de bovino creció a una tasa promedio anual de 0.3%. Se observaron tasas de disminución en importantes países productores (Figura 6) en Estados Unidos, la producción disminuyó a una tasa promedio anual de 0.6%; en la Unión Europea 0.5%, en Argentina 2.2% y en Australia 0.2 %. En cambio, en dicho período la producción creció en Turquía 14.3% anual, India 6.2 %, Paquistán 3.0%, México 1.8% y China 1.3%. Así, en 2016 la producción mundial de carne de bovino se ubicó en 60.5 millones de toneladas. Para 2017 ascendió un nivel récord de 61.3 millones de toneladas, lo que representó un aumento anual de 1.4 % (FIRA, 2017).

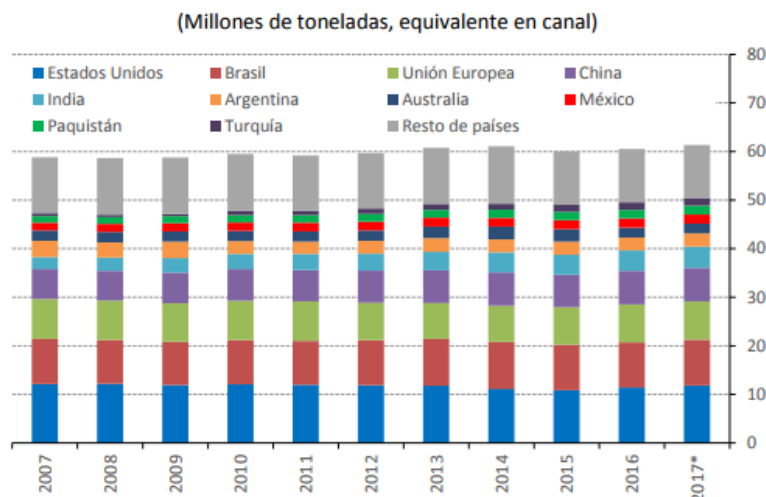


Figura 6. Producción mundial de la carne de bovino 2007-2017 (FIRA, 2017).

1.6.2.2 Producción en México

El sector bovino en México presenta cambios, Figura 7, ya que las cabezas de ganado han descendido hasta 16.605 millones de cabezas en 2016 que son 515 millones menos que en 2015, esta cifra es la más baja en 59 años en México. Además, en México continúa habiendo un descenso en el consumo de carne bovina. El consumo per cápita descendió de 17.7 kg por habitante en el año 2008 hasta 13.7 kg en 2016 (datos Departamento de Agricultura de Estados Unidos). Mientras que se espera que la cifra total no sea tan baja, México no está exento del descenso mundial de consumo de carne. Desde el Consejo Mexicano de la Carne se apunta al alto precio de los insumos para alimentar al ganado, mientras que especialistas apuntan a la baja en el poder adquisitivo del consumidor que se viene registrando en los últimos años. En cambio, y a pesar de que el consumo de res en los países desarrollados bajará dos por ciento para 2024, según datos de la FAO y la OCDE, la ingesta de carne bovina en los países en desarrollo subirá 6% en el mismo lapso por lo que el mercado de exportación seguirá ofreciendo lucrativas oportunidades (FIRA, 2017).

La industria cárnica ha encontrado en las exportaciones los beneficios que no ha podido alcanzar en el mercado local. Desde 2009 han aumentado cerca de 28,000 toneladas métricas hasta más de 161,000 de toneladas métricas en 2015. Estados Unidos es el principal destino de las exportaciones de carne mexicana y la participación de EUA, México también exporta carne de res a Japón, pero la cantidad y proporción de las exportaciones a Japón ha disminuido en los últimos dos años (Industria Alimenticia, 2017).

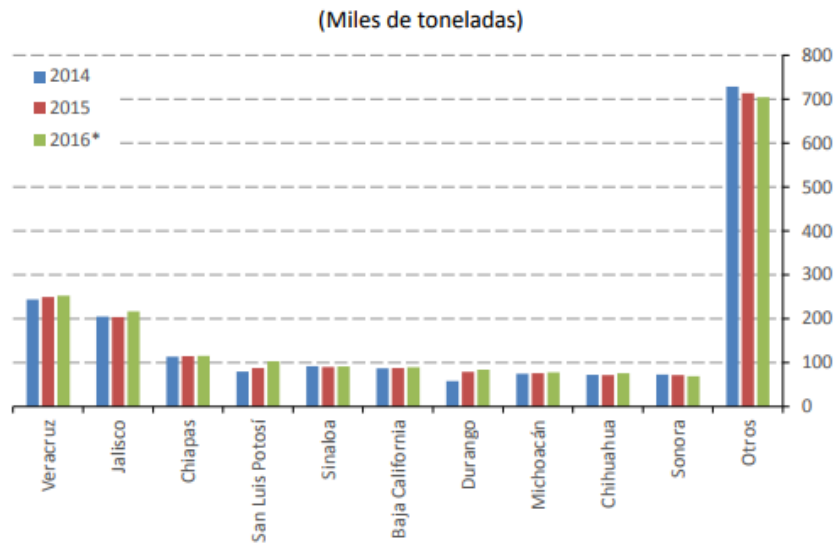


Figura 7. Principales estados productores de carne de bovino, 2014-2016 (FIRA-2017).

1.6.3 Carne de cerdo

La carne de cerdo se compone fundamentalmente de tejido muscular que contiene agua, sales minerales, diferentes proteínas, hidratos de carbono, lípidos y tejido conectivo. La composición química de la carne de cerdo depende de muchos factores: raza, sexo, condiciones de crecimiento, alimentación y los procesos a los que se haya sometido la carne, pero se tiene un estimado como se muestra en el Cuadro 6 (Villorino, 2004).

Cuadro 6. Composición química de la carne de cerdo.

Producto	Carne cruda de cerdo
Porción comestible	100 g
Agua (g)	71.7
Energía (Kcal)	155
Energía (Kj)	649
Proteínas (g)	20
Lípidos (g)	8.3
Carbohidratos (g)	0
Fibra (g)	0
Fe (mg)	1.5
Zn (mg)	2.5
P (mg)	170
K (mg)	370
Vitamina B6 (mg)	0.45
Vitamina B12 (µg)	3
Ácido fólico (µg)	5

Moreiras *et al.*, 2013

1.6.3.1 Producción a nivel mundial

La producción mundial de carne de cerdo creció a una tasa promedio anual de 1.6 por ciento durante el periodo 2007-2016. De acuerdo con estimaciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y en 2017 se ubicó en un máximo histórico de 111.0 millones de toneladas, lo que representa un incremento de 2.6% con respecto al año previo.

El incremento en la oferta mundial fue resultado del aumento anual en la producción de tres de los principales países productores: 3.7% en China, 3.8% en Estados Unidos, y 3.1% en Brasil. En 2016, estos países aportaron 47.9, 10.4 y 3.4% de la producción mundial de carne de cerdo. La Unión Europea, que participó con el 21.6% de la oferta mundial en 2016, se registró en 2017 el mismo nivel de producción que el año previo. En conjunto, los cuatro principales países productores aportaron el 83.4% de la oferta mundial de carne de cerdo en 2016. México ocupa la novena posición, con una participación del 1.3% en la producción mundial de este tipo de carne, con 1.4 millones de toneladas (FIRA, 2017).

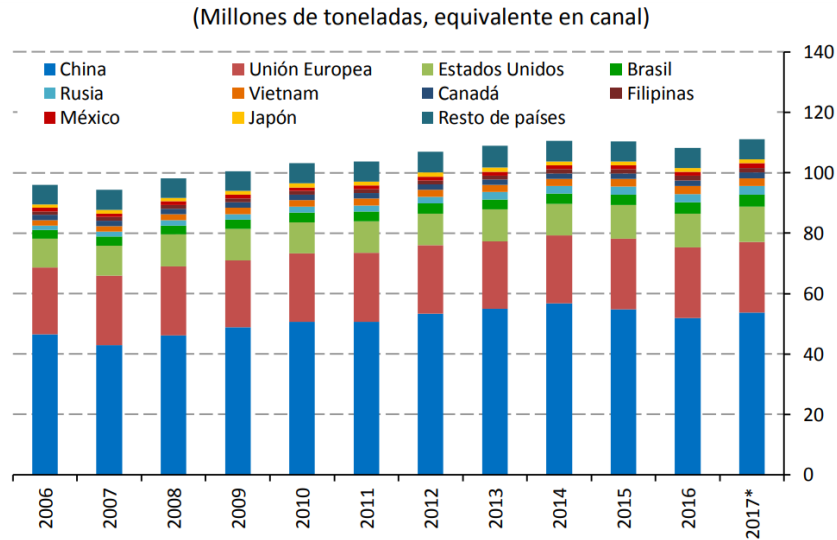


Figura 8. Producción mundial de carne de cerdo, 2006-2016 (FIRA, 2017).

1.6.3.2 Producción en México

El sector porcino muestra una diversidad importante para muchos países de América Latina. Mientras que México ha visto un aumento en los precios durante el año 2016 y se ha embarcado en nuevos mercados exportadores como China, ha visto también un beneficio en la devaluación de su moneda frente al dólar, lo cual ha evitado una gran entrada de carne porcino procedente del país (Industria Alimenticia, 2017).

En lo que respecta a la producción de carne por Entidad Federativa, Figura 9, se observa que el 67.3% de la producción nacional se concentra en cinco entidades. Durante 2015, en Jalisco se produjo el 19.5% del total nacional; en Sonora, el 17.3%; 12.2% en Puebla; 9.3% en Yucatán; y en Veracruz, el 9.0% de la producción nacional del cárnico (FIRA, 2017).

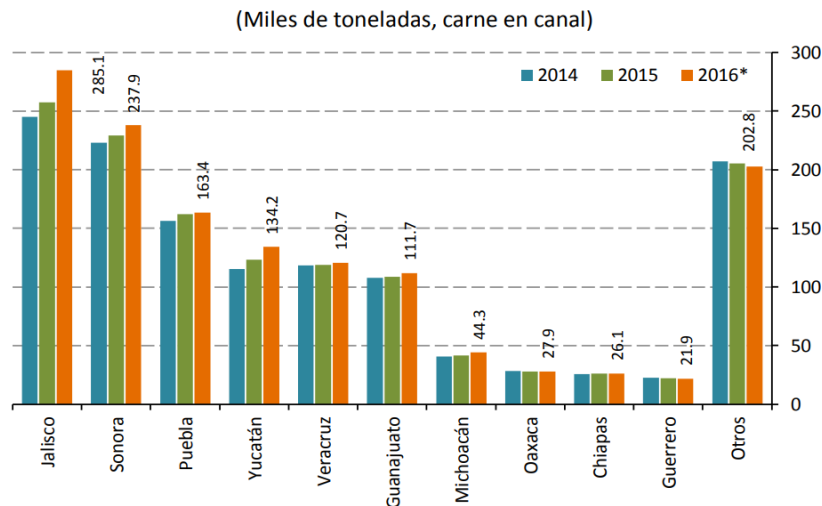


Figura 9. Principales estados productores de carne de cerdo, 2014-2016 (FIRA, 2017).



1.7 Consumo

En México, el consumo de carne per cápita (res, cerdo, ave, ovina y caprina en conjunto) en 1970 era de 23 kilogramos; para 1990 fue de 34 y actualmente es de 63, lo que significa que en las dos últimas décadas registró un incremento de 84.5% (29 kilogramos), en el periodo el aumento en la ingesta de carne de ave paso de 10 a 29 kilogramos, lo anterior supone, en parte, un aumento en el poder adquisitivo de la población en el periodo señalado. Cabe mencionar que para el periodo señalado la población creció 2.3 veces, con lo cual el número de consumidores registró también un aumento.

Los niveles de consumo de carne en México, Figura 10, significan alrededor de 20.7 gramos de proteína por persona al día, 47% superior al registrado a nivel mundial. En 1970 el nivel de proteína por consumo de carne era de 8.3 gramos y en 1990 de 13.3 gramos (SAGARPA, 2016).

Aun cuando los precios de la carne de res son mayores en comparación con otras fuentes de proteína de origen animal, los sectores de población de medianos y bajos ingresos han mantenido el consumo de bistec de carne de res, el cual es un corte de valor inferior en comparación con otro tipo de cortes. Así mismo, se estima que el consumo de cortes de mayor valor en el estrato de la población de mayores ingresos se mantenga estable. Se espera que la carne de cerdo siga siendo una alternativa de menor costo en relación con la carne de res, y presente precios competitivos respecto a la carne de ave. Dado que los consumidores son cada vez más conscientes de que los sistemas de producción porcina son tan fiables como los de carne de ave y de carne de res, el cerdo continúa ganando la confianza del consumidor como una fuente saludable de proteína animal (FIRA, 2017).

El consumo per cápita de carne de pollo en México ha aumentado, entre 2006 y 2015, a una tasa media anual de 1.5%. Asimismo, el consumo de la carne de cerdo muestra un comportamiento similar, creciendo a tasa media anual de 2.8%, mientras que el consumo de carne de res en el mismo periodo ha disminuido a una tasa media anual de 2.0% (FIRA, 2017).

El consumo per cápita de carne de bovino en México se ha reducido, entre 2007 y 2016, a una tasa media anual de 2.1 por ciento, al pasar de 18.0 a 14.8 kilogramos por persona por año. En tanto, el consumo de otras carnes, como la de pollo y la de cerdo, muestra un comportamiento diferente, con una tasa de crecimiento promedio anual de 2.0 y 3.3% respectivamente durante el citado período. Así que en 2017 el consumo per cápita de carne de bovino se ubica en 14.8 kg, el de carne de cerdo en 19.0 kg y el de carne de pollo en 33.8 kg (FIRA, 2017).

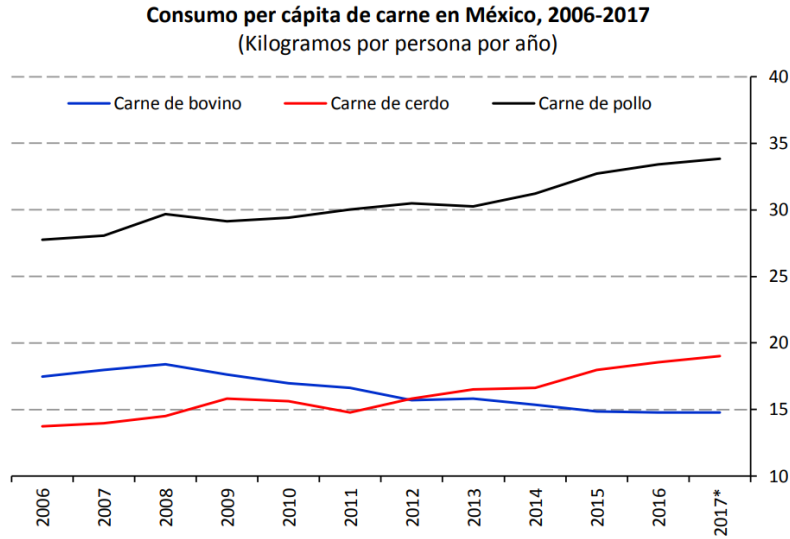


Figura 10. Consumo per cápita de carne en México, 2006-2017 (FIRA, 2017).

1.8 Situación del mercado Mexicano

Las carnes que se consumen con mayor frecuencia en los hogares mexicanos son: cerdo, pollo y res, en diferentes cortes.

Los precios que se presentan en el Cuadro 7, son precios promedio en 19 ciudades del país.

De los tres tipos de carne el de menor precio por kilogramo se observó en el pollo, particularmente en el pollo entero (\$37.61) y en la pierna o bate (\$51.75); mientras que el corte de mayor precio lo registró el filete limpio de res (\$389.03). En cuanto a la carne de cerdo, el rango de precios oscila entre \$61.75 y \$109.19, según el corte que se elija, el más económico se registró en la pierna entera con hueso o perril con hueso y el de mayor precio en el lomo o caña de lomo. Mientras que la pechuga de pavo en \$163.87 (PROFECO, 2018).

Cuadro 7. Precios por kilogramo de carne en México.

Producto	Precio promedio
Carne de cerdo	\$61.75-\$109.19
Carne de pollo	\$37.61-\$51.75
Carne de pavo	\$163.87
Carne de res	\$389.03

PROFECO, 2018



1.9 Adulteración

Un alimento adulterado es aquel que ha sido modificado por el hombre, alterando sus características o cualidades propias sin que se declaren expresamente en la etiqueta, ya sea extrayendo o sustituyendo alguno de los componentes propios del alimento. Esto puede encubrir una calidad inferior del producto (Reglamento Sanitario de los Alimentos, 2000; FAO, 2012).

1.9.1 Tipos de adulteración

La adulteración de un alimento puede ser:

- Parcial o completa de sus constituyentes de alto valor.
- Total, o parcial sustitución con componentes alimenticios de menor calidad o valor económico.
- Encubrimiento de daños de calidad inferior.
- Adición de materiales o sustancias no declaradas en la etiqueta, con el fin de incrementar el peso o volumen del producto (Hargin, 1996).

1.9.2 Métodos para autenticación de alimentos

La autenticación consiste en la identificación de los componentes de un producto y la confirmación de su procedencia (López *et al.*, 2003). Diversas técnicas electroforéticas y cromatográficas tales como la de ELISA, Western Blot, Electroforésis capilar y HPLC han sido utilizadas para la identificación de especies específicas en diferentes productos (Hurley *et al.*, 2004). Estas técnicas enfocadas al análisis de proteínas o ácidos grasos son efectivas, pero tienen algunas limitantes. Los métodos electroforéticos e inmunológicos al basarse en el análisis de proteínas disminuyen su sensibilidad con productos tratados térmicamente, además de no ser tan efectivos ya que dichos productos presentan matrices complejas. Las técnicas cromatográficas presentan una alta sensibilidad para diferenciar el perfil de ácidos grasos de especies específicas, pero son muy costosas y requieren un mayor tiempo y trabajo (Sachinandan *et al.*, 2011).

1.9.2.1 Métodos de análisis basados en la detección de proteínas

La detección de proteínas puede realizarse en muestras de alimentos frescos o procesados, siempre y cuando el procesamiento no haya afectado a las proteínas de la muestra. Por ese motivo, las técnicas moleculares que suponen el manejo de proteínas pueden aplicarse en aquellos casos en los cuales se dispone de muestras con alto contenido proteico y en cantidad suficiente (López *et al.*, 2003).

Las técnicas basadas en el análisis de proteínas actualmente utilizadas son:

- Elisa

- Electroforesis
- Cromatografía líquida
- Isoelectroenfoque
- Western Blot

Los métodos de identificación de proteínas (técnicas electroforéticas, cromatografía líquida, inmunoensayos), algunos de ellos incluso de recién desarrollo, están siendo reemplazados por técnicas basadas en el análisis de ADN, principalmente debido a la degradación que sufren las proteínas al desnaturalizarse durante el procesamiento. Los análisis basados en el ADN parecen ser los más adecuados para la identificación de especies en alimentos (Lockey y Bardsley, 2009).

1.9.2.2 Métodos de análisis basados en la detección de ADN

Los métodos analíticos basados en la detección de ADN suelen emplearse cuando el alimento ha sido procesado o tratado (calor, presión, etc.), ya que la proteína puede haberse desnaturalizado o degradado en el proceso y en los métodos analíticos de proteínas se ven afectados por estos cambios; el ADN en cambio puede haberse fragmentado durante el procesamiento en trozos pequeños, pero esto no implica que no puedan ser detectados. Aunque el ADN también se degrada durante la esterilización por calor en el proceso de enlatado de alimentos, sin embargo, todavía es posible obtener pequeños fragmentos con suficientes diferencias de secuencias como para hacer posible la diferencia entre especies. El ADN utilizado en la identificación de especies es generalmente el ADN mitocondrial, aunque también se utilizan secuencias de ADN procedente de genes de la familia lactina. Ambos tipos de secuencias cumplen con las características necesarias para ser utilizados como indicativos de especies, al estar presentes en todas las especies y presentar una gran variabilidad entre las mismas (López *et al.*, 2003).

1.9.2.2.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una tecnología que consiste en amplificar *in vitro* fragmentos específicos del ADN, con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés en el genoma de un organismo y es una técnica que se emplea para la determinación de adulteraciones e identificación de especies. El concepto de PCR fue descrito por primera vez en 1985 y modernas técnicas emergieron años más tarde (Coleman y Tsongalis, 2005) desde esa fecha se ha empleado con éxito en diferentes campos como la medicina, biología, antropología y en la biología sistemática (Dale y von-Schantz, 2007).

La PCR (Figura 11) consiste en tres pasos esenciales:

- 1) La desnaturalización del ADN, sirve para separar por temperatura (94°C) el ADN de doble cadena a moléculas de cadena sencilla, éstos serán el molde para la síntesis de los fragmentos.
- 2) En el alineamiento, la temperatura se reduce para permitir el reconocimiento de los oligonucleótidos a las cadenas moldes, la temperatura óptima de alineamiento puede variar de 40-65°C y dependerá de las características de los oligonucleótidos (su longitud, composición de bases nitrogenadas y especificidad).
- 3) En la extensión, la enzima Taq polimerasa producirá la cadena de ADN complementaria a partir de los oligonucleótidos unidos a las cadenas moldes; la temperatura de extensión óptima es aproximadamente 72 °C, la enzima Taq polimerasa agrega aproximadamente 1000 pares de bases por minuto, éstos ciclos se repiten las veces que sea necesario para obtener de manera exponencial el fragmento de interés (30 a 40 ciclos se acumula alrededor de 10^6 a 10^8 moléculas) a partir de la muestra de ADN (Dale y von-Schantz 2007; Valdez y Kahl, 2005).

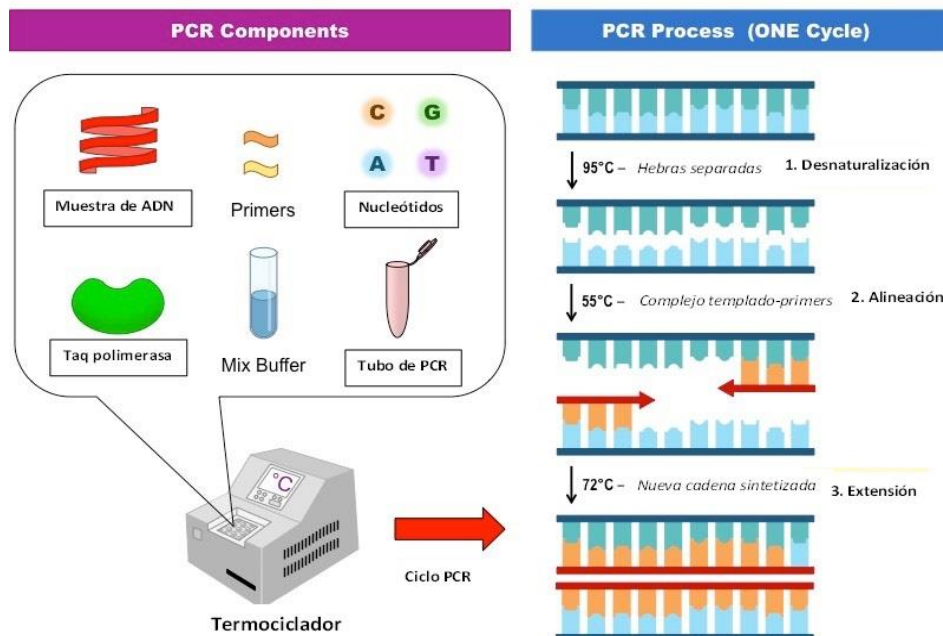


Figura 11. Pasos de la PCR, mostrando los componentes de dicha reacción (Bioninja, 2017).



1.9.2.2.2 ADN mitocondrial

El ADN mitocondrial (ADNmt), es una molécula circular, cerrada y de doble cadena, en los seres humanos tiene un tamaño aproximado de 16569 pares de bases mientras que en las levaduras contiene cerca de 80000 pares de bases y en plantas varía entre 100 y 2000 kb (Figura 12).

Las dos cadenas complementarias tienen una proporción de Citosina y Guanina muy diferente, por lo que tiene un peso molecular muy distinto, existe una hebra rica en bases púricas que es la cadena pesada o H y la cadena complementaria rica en pirimidinas conocida como cadena ligera o L. La cadena que se representa por convenio sobre la que se realiza la numeración del genoma mitocondrial es la cadena L de 1 a 16569 (Álvarez, 2008).

El ADN mitocondrial presenta una gran economía y su información está muy compactada ya que sus genes no presentan intrones, y disponen uno a continuación de otro sin tramos intermedios no codificantes y algunos incluso llegan a solaparse como los ATPasa 6 y ATPasa 8. Los 37 genes que contiene están dentro de una gran región codificante que representa el 90% del total de la molécula, 28 de estos genes están codificados por la cadena H y nueve por la L (Segura, 2004).

De los 37 genes, 22 codifican para ARNt, 2 para ARNr (12s y 16s) y 13 codifican para ARN mensajero y por lo tanto para 13 polipéptidos implicados en la cadena de fosforilación oxidativa (OXPHOS): 7 de las 48 subunidades de la NADH deshidrogenasa, para el complejo I, un citocromo b de complejo III, 3 de las 13 subunidades del citocromo oxidasa c (COX) del complejo IV y 2 ATPasas (ATPasa 6 y ATPasa 8) del complejo V (Segura, 2004; Roman, 2012).

Las demás proteínas necesarias en la mitocondria están codificadas por genes nucleares, se sintetizan en el citoplasma y son transportadas posteriormente al interior de la mitocondria. Se trata tanto de proteínas implicadas en el proceso de fosforilación oxidativa como de ADN y ARN polimerasas y algunas proteínas ribosómicas mitocondriales.

El 10% restante de la molécula es ADN no codificante, contiene aproximadamente 1.2 kb y es conocida como región control. Contiene fundamentalmente los promotores de la transportación de ambas cadenas, el origen de replicación de la cadena pesada y secuencias de regulación (Anderson *et al.*, 1990). También contiene lugares de unión de factores de transcripción, secuencias conservadas relacionadas con el inicio de la replicación de la cadena H y secuencias asociadas a la finalización del bucle de desplazamiento o D-loop. El D-loop es una región de aproximadamente 1100 pares de bases, visible bajo microscopía electrónica, que se genera durante la replicación de la cadena H por la síntesis de un corto segmento de la hebra pesada, ADN 7s, que

permanece unido al ADN molde, desplazando la cadena H y formando una triple hélice (Crews *et al.*, 1979).

Otra característica del ADN mitocondrial es que el código genético está alterado respecto al universal ya que 4 de los 64 codones presentan un significado diferente al que posee para la síntesis de citoplasmática, el hecho de que el código genético mitocondrial es casi el mismo en todos los organismos proporciona fuertes evidencias de que todas las células eucariotas evolucionaron a partir de un antepasado común (Aranguren *et al.*, 2009).

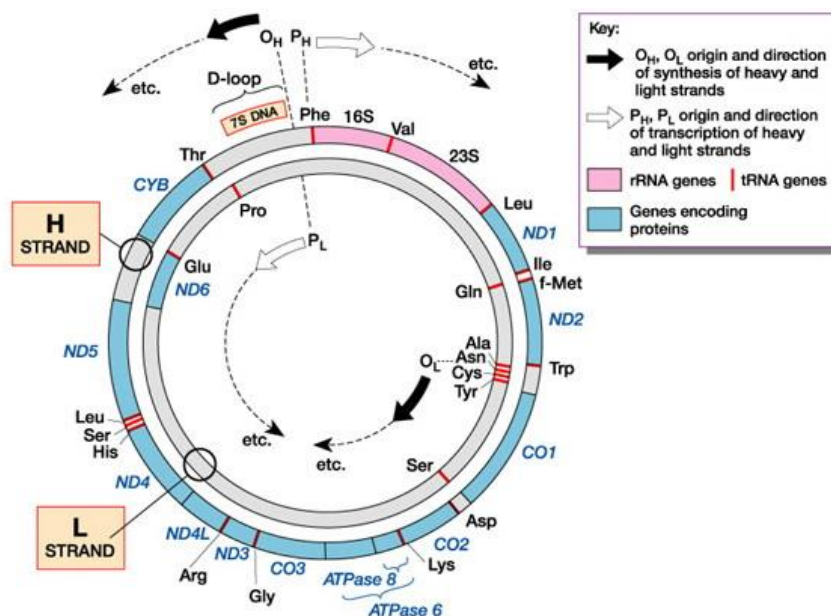


Figura 12. Estructura del ADN mitocondrial donde se representan las regiones codificantes en distintos colores y las no codificantes en gris (Álvarez, 2008).

1.9.2.2.3 Componentes de reacción de la PCR

-ADN diana

En principio puede efectuarse la multiplicación por PCR si está presente al menos un ejemplar intacto del gen diana, es el número de ejemplares del gen diana es mayor, también lo será la posibilidad de que tenga éxito la amplificación del ADN. El tamaño de la secuencia diana puede variar entre 0.1 y unas cuantas kilo bases, es requerida una concentración adecuada para lograr una amplificación adecuada para lograr una amplificación óptima; si la concentración de ADN es baja, es probable que no se visualice una banda clara en la electroforesis, por otro lado, si la concentración es muy alta, la Taq polimerasa posiblemente no podrá actuar sobre las cadenas desnaturalizadas de ADN. La cantidad total de ADN utilizada normalmente está entre 0.05 y 1.0 mg, lo que permite la detección de ejemplares solo de la secuencia diana, aunque las muestras no tienen que



estar muy purificadas, si es necesario eliminar algunos contaminantes, como la hepatina, el formol, los agentes quelantes de Mg^{2+} o los detergentes, para evitar que inhiban el proceso de amplificación (Sambrook y Russell, 2001).

-Primers o cebadores

Debido a que la especificidad entre la hebra molde y los *primers* es crucial para el resultado de la PCR, el diseño de la secuencia es muy importante, por lo que se deben tener en cuenta diversos factores:

- Generalmente se utilizan *primers* de 10 a 30 nucleótidos de longitud, lo que permite que la temperatura de anillamiento sea razonablemente elevada. Cuanto más amplia sea la secuencia, habrá más posibilidad de que el *primer* se asocie a secuencias no complementarias en su totalidad y se genere la amplificación de productos no específicos (Perera *et al.*, 2002).
- Deben evitarse las secuencias repetidas invertidas, a fin de prevenir la formación de estructuras secundarias del *primer*, que impedirán su hibridación con el ADN molde (Perera *et al.*, 2002).
- Deben evitarse las secuencias complementarias de otros *primers* utilizados en la PCR para prevenir la hibridación entre *primers* o la formación de dímeros de *primers*, es especialmente importante en la relación con el extremo 3' del *primer* (Querici *et al.*, 2007).
- Siempre que sea posible, conviene que el extremo 3' del *primer* tenga gran proporción (mayor al 50%) de base de G y C para aumentar la hibridación del extremo que se quiere extender y así evitar una baja temperatura de fusión (Perera *et al.*, 2002).
- La distancia entre *primers* debe ser inferior a 10 kb en longitud. Normalmente se observa una importante reducción del rendimiento cuando los *primers* se encuentran a más de unos 3 kb de distancia entre sí (Querici *et al.*, 2007).

La concentración usual de oligonucleótidos para la PCR es de 1 μ L, esto resulta suficiente para al menos 30 ciclos de amplificación. La presencia de oligonucleótidos a una concentración superior puede provocar la amplificación no deseada de secuencias distintas de la diana. Por el contrario, la PCR no es eficaz si la concentración del *primer* es limitante (Querici *et al.*, 2007).

-Tampón de la reacción.

El tampón usado usualmente este compuesto básicamente por 100 Mm Tris-HCl, pH 8, 500 Mm $MgCl_2$, se guarda concentrado 10 veces (Jiménez, 2003).

El dimetilsulfóxido (DMSO) añadido al Bufer de la reacción en un 10% contribuye a la disminución de la estructura secundaria del ADN (Anderson, 1990). También se pueden



usar detergentes como el Tween 20, Laureth 12 (0.1%) o Tritón x10, que ayudan a estabilizar la enzima. Existen también protocolos que incorporan polietilenglicol (PEG), glicerol, formamida, seroalbúmina bovina (BSA), etc., aunque no son en ningún caso imprescindibles (Mas, 2001).

-Deoxinucleótidos trifostado (dNTPs)

Son cuatro: dATP, dGTP, dCTP y dTTP. Se deben añadir en la solución de la reacción en concentraciones iguales que normalmente oscila entre los 20 y los 200 μM . Los dNTPs pueden captar Mg^{2+} , por lo que las concentraciones de ambos componentes deben guardar siempre la misma relación, no deben variar de manera independiente (Sambrook y Russell, 2001).

1.9.2.2.4 Uso de electroforesis en gel para los productos de la PCR

La electroforesis en gel es un método que se emplea para separar macromoléculas en función del tamaño, la carga eléctrica y otras propiedades físicas. El término electroforesis describe la migración de las partículas cargadas bajo la influencia de un campo eléctrico. Así la electroforesis en gel es una técnica que consiste en aplicar corriente eléctrica a las moléculas para que atraviesen una placa de gel. La fuerza motriz de la electroforesis es la tensión eléctrica aplicada a los electrodos de ambos extremos del gel (Westermeier, 2005).

La electroforesis en gel de agarosa es un método normalizado que se utiliza para separar, identificar y purificar fragmentos de ADN. Se trata de una técnica sencilla y rápida que permite diferenciar fragmentos de ADN que no pueden separarse adecuadamente con otros procedimientos, por otra parte, el ADN puede localizarse en el gel tiñendo con una concentración baja de bromuro de etidio, que es un agente intercalante fluorescente que se utiliza como colorante (Sambrook y Russell, 2001).

1.9.2.2.5 Limitaciones de la técnica

La PCR presenta una importante limitación: produce una alta tasa de errores en la incorporación de dNTPs; la Taq polimerasa carece de actividad exonucleasa 3'-5' y por lo tanto, de la capacidad para la revisión del nucleótido incorporado y en su caso, para su degradación y sustitución por el correcto. Esto provoca la incorporación de errores con frecuencia de alrededor de 1×10^{-4} por ciclo, lo que se traduce en la aparición de un 0.25% de fallos tras 30 ciclos de amplificación. De esta manera se elimina, la posibilidad de que la incorporación incorrecta se haya producido en las primeras rondas de amplificación y aparezca posteriormente en la mayoría de los clones derivados de la reacción (Perera *et al.*, 2002).



1.9.2.2.6 Alcances de la aplicación de la técnica de PCR

Actualmente las aplicaciones de la PCR son numerosas, debido a que esta técnica ha resultado ser una herramienta de gran ayuda, debido a su alta especificidad y confiabilidad. Algunas de sus aplicaciones son:

-Clonación: en el campo de la biología molecular, la PCR se utiliza para la clonación molecular de genes y su secuenciación nucleótida. La PCR favorece la clonación si se incorporan genes de restricción.

-Diagnóstico clínico: En este campo la PCR se usa en la genética médica para el diagnóstico de enfermedades hereditarias y de algunas cromosopatías comunes; en el campo de la inmunología se emplea para determinar asociaciones entre el complejo de mayor histocompatibilidad y la predisposición genética para el desarrollo de enfermedades autoinmunes; en el campo de la oncología para probar mutaciones activadoras de oncogenes o supresoras de anti oncogenes, para detectar arreglos cromosómicos presentes en procesos neoplásicos y para la detección de virus, entre otros muchos aspectos.

-Alimentos: Recientemente debido a la necesidad que se tiene con respecto a la seguridad del consumidor y los alimentos que llegan hasta él, en cuanto a la autenticidad de los alimentos procesados y su calidad, se han tenido que desarrollar técnicas eficaces para asegurar estos aspectos en alimentos. Para llevar a cabo dicha práctica se hace uso de manera exitosa la PCR ya que esta permite confirmar con fiabilidad y rapidez la calidad y pureza de los alimentos y productos alimenticios, lo que constituye un asunto de vital importancia para las empresas del sector alimentario y la seguridad del propio consumidor (Torres y Baca, 1995).

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Justificación del proyecto

La carne de pavo es considerada como uno de los productos de origen animal baja en grasa y son consumidos por su alto contenido proteico comparado con la carne de cerdo, pollo y res. El consumo de estos productos se debe también a una alternativa en cuestión de salud y religiosas.

Los embutidos son alimentos usados en su mayoría por su fácil cocción y preparación, teniendo una gran versatilidad a la hora de ser preparados siendo de buen agrado para el consumidor, en especial para los niños, ya que es una forma más atractiva de consumo. Los embutidos de pavo en los últimos años se han presentado como una nueva alternativa de consumo dirigido a las personas que cuidan su salud, debido a que estos productos son más bajos en grasas y presentan mayor proteína en comparación a los que son de cerdo o res (Estudios de Mercado, 2013).

La adulteración en productos alimenticios es un problema que se ha presentado en el transcurso de los años, causando enfermedades y reacciones alérgicas que van en contra de las normas existentes que dictan el aseguramiento de calidad e inocuidad de los alimentos para los consumidores por parte de las industrias alimenticias (NOM-251-SSA-2009). Por lo que el uso de carnes que no son reportadas en el etiquetado atenta contra el bienestar del consumidor y va en contra de las normas establecidas en nuestro país. Estas adulteraciones se presentan más en productos de gama baja y en algunos casos en productos de gama media, debido a la reducción de costos a la hora de elaborar dichos embutidos, mezclando carnes de distintos animales o en su defecto siendo sustituidos por especies similares. También otro factor que puede proporcionar estas adulteraciones son los costos de la carne en las épocas del año, ya que la carne de pavo durante los meses de marzo-agosto, es más elevada en comparación de los meses restantes, debido a que el consumo de esta ave se presenta más en épocas decembrinas (Villamar y Guzmán, 2006).

La adulteración en productos provenientes del pavo es un problema debido a que en México no existe una norma que regule el uso de dicha carne en embutidos, como lo son las salchicha, pero para el caso de los embutidos como jamones y chorizos (productos frescos y madurados) existe una norma correspondiente para el uso de este tipo de carne, pero de igual manera el reporte en la etiqueta debe estar basado conforme a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 la cual hace referencia al uso del término "carne de ave" para todas las aves de corral y no se debe de especificar en el producto la especie sino se está haciendo uso exclusivo de dicha carne. Por lo que se propone identificar posibles adulteraciones mediante la técnica de PCR, esto debido a que es una técnica rápida y confiable, además de que solo se necesitan pequeñas muestras provenientes del tejido, sangre, alimentos procesados para obtener y amplificar el ADNmt (Torres y Baca, 1995).

2.2 Cuadro metodológico

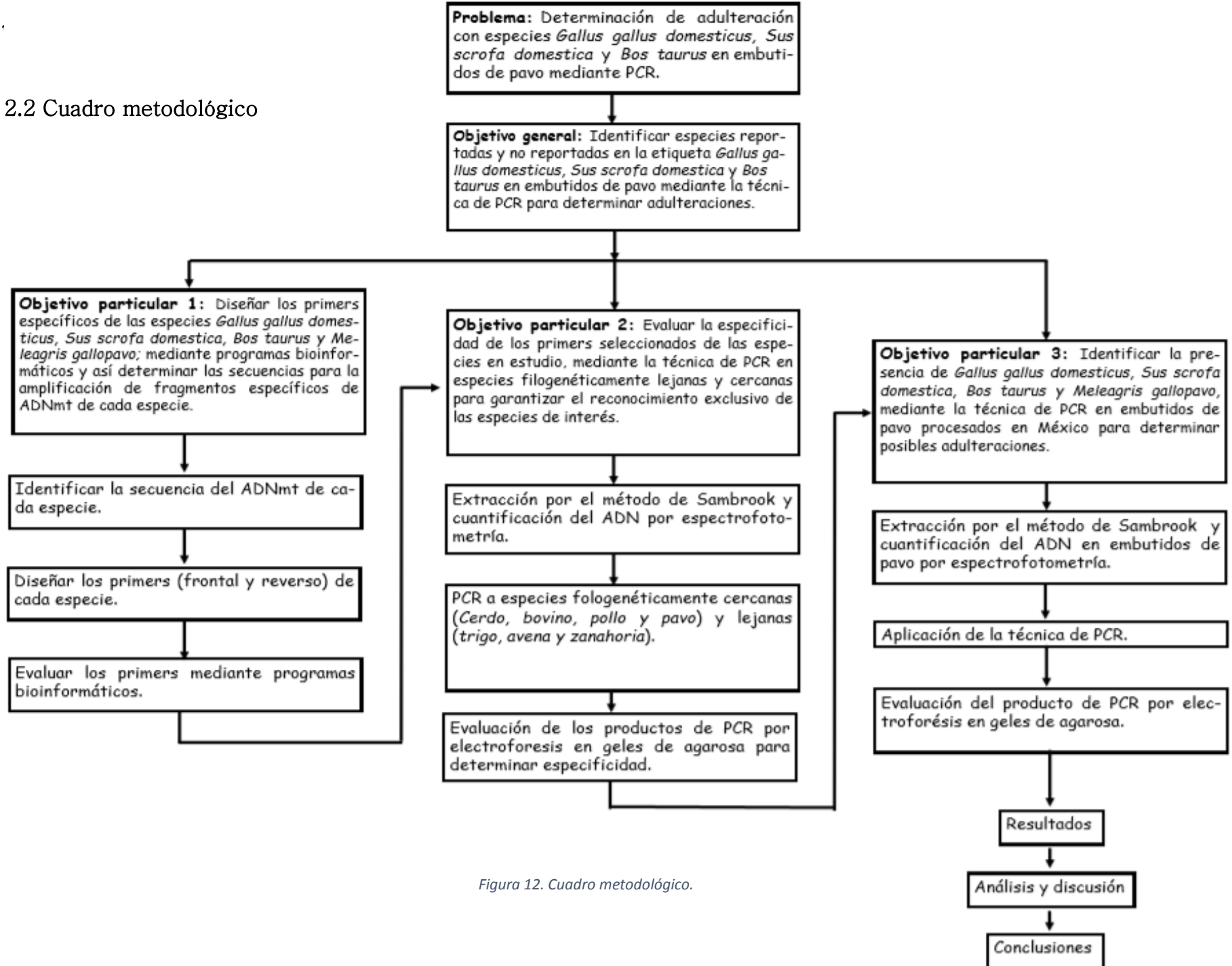


Figura 12. Cuadro metodológico.

2.2.1 Problema

Determinación de adulteración con especies *Gallus gallus domesticus*, *Sus scrofa domesticus* y *Bos taurus* en embutidos de pavo mediante PCR.

2.2.2 Objetivo general

Identificar especies reportadas y no reportadas en la etiqueta de *Gallus gallus domesticus*, *Sus scrofa domesticus* y *Bos taurus* en embutidos de pavo mediante la técnica de PCR para determinar adulteraciones.

2.2.3 Objetivos particulares

2.2.3.1 Objetivo particular 1

Diseñar los *primers* específicos de las especies *Gallus gallus domesticus*, *Sus scrofa domesticus*, *Bos taurus* y *Meleagris gallopavo*; mediante programas bioinformáticos y así determinar las secuencias para la amplificación de fragmentos específicos de ADNmt de cada especie.

Actividades:

- Identificar la secuencia del ADNmt de cada especie.
- Diseñar los *primers* (frontal y reverso) de cada especie.
- Evaluar los *primers* mediante programas bioinformáticos.

2.2.3.2 Objetivo particular 2

Evaluar la especificidad de los *primers* seleccionados de las especies en estudio, mediante la técnica de PCR en especies filogenéticamente lejanas y cercanas para garantizar el reconocimiento exclusivo de las especies de interés.

Actividades:

- Extracción por el método de Sambrook y Rusell (2001) cuantificación del ADN por espectrofotometría.
- PCR a especies filogenéticamente cercanas (*cerdo, bovino, pollo y pavo*) y lejanas (*zanahoria, avena y trigo*).
- Evaluación de los productos de PCR por electroforesis en geles de agarosa para determinar especificidad.

2.2.3.3 Objetivo particular 3

Identificar la presencia de *Gallus gallus domesticus*, *Sus scrofa domesticus*, *Bos taurus* y *Meleagris gallopavo*, mediante la técnica de PCR en embutidos de pavo procesados y comercializados en México para determinar posibles adulteraciones.



Actividades:

- Extracción por el método de Sambrook y cuantificación del ADN en embutidos de pavo por espectrofotometría.
- Aplicación de la técnica de PCR.
- Evaluación del producto de PCR por electroforésis en geles de agarosa.

2.3 Material

2.3.1 Reactivos

Extracción de ADN

- Agua desionizada.
- Solución de lisis.
- Enzima proteinasa K.
- Mezcla Fenol-Cloroformo-Alcohol isoamílico.
- Etanol frío.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

- Agua libre de nucleasas.
- Kit para PCR Master Mix.
- ADN extraído.
- *Primers* específicos.

Electroforésis

- Agarosa.
- Tris acetato y EDTA (TAE) 1X.
- Bromuro de etidio.
- Marcador de peso molecular.
- Tinte blue/orange.
- Muestra resultante de la PCR o ADN extraído.

2.3.2 Material biológico

Conforme a lo que se describe en el cuadro metodológico, se requieren varias muestras las cuales se obtendrán de supermercados (Cuadro 8), siendo un total de 16 productos embutidos de pavo que se producen y se comercializan en México los cuales se presentan a continuación.

Cuadro 8. Muestras de embutidos de pavo producidos y distribuidos en México.

No.	Muestra	Código	Caducidad	Costo	Peso neto
1	Mortadela de pavo	MPK	Cad. 16/Feb/18	\$36	250 g
2	Mortadela de pavo	MPD	Cad. 28/Mar/18	\$29.50	250 g
3	Jamón de pavo	JPK	Cad. 11/Feb/18	\$30	500 g
4	Virginia de pavo	VPF	Cad. 19/Mar/18	\$24.90	250 g
5	Virginia de pavo	VPZ	Cad. 05/Feb/18	\$30.50	250 g
6	Pechuga de pavo	PPA	Cad. 17/Mar/18	\$29.90	500 g
7	Frankfurt de pavo	FPA	Cad. 06/Abr/18	\$31	500 g
8	Salchicha de pavo	SPBZ	Cad. 11/Mar/18	\$84	250 g
9	Salchicha de pavo	SPD	Cad. 17/Mar/18	\$26	250 g
10	Salchicha de pavo	SPF	Cad. 08/Mar/18	\$33	500 g
11	Salchicha cocktail de pavo	SCPZ	Cad. 04/Feb/18	\$49	500 g
12	Salchicha de pavo	SPC	Cad. 01/Feb/18	\$29.90	1 Kg
13	Chorizo de pavo	CPZ	Cad. 27/Feb/18	\$31.90	200 g
14	Chorizo de pavo	CPK	Cad. 16/Abr/18	\$19.90	200 g
15	Chorizo de pavo	CPC	Cad. 06/Mar/18	\$21	200 g
16	Peperami de pavo	PP	Cad. 24/Jun/18	\$15	23 g

2.3.2 Material y equipo de laboratorio

- Balanza digital.
- Agitador Vortex.
- Microcentrífuga.
- Termoblock.
- Nanoespectrofotómetro.
- Termociclador.
- Cámara de electroforesis.
- Micropipetas.
- Horno de microondas.
- Transluminador.

2.4 Métodos

2.4.1 Extracción de ADN por el método de Sambrook y Russell (2001)

-Desintegración del tejido

Se toman 0.125 g de muestra y se coloca en un tubo Eppendorff estéril, al cual se le adicionan 1.25mL de solución de lisis, se agita con ayuda del vortex aproximadamente 1 minuto. Después se adicionan 7 μ L de enzima proteinasa K y se incuba en el termoblock a 50°C por dos horas. Pasado ese tiempo se inactiva la enzima aumentando y manteniendo la temperatura del termoblock a 60 °C por una hora.

-Extracción de proteínas y polisacáridos.

Una vez inactiva la enzima, se adicionan 0.25 μL de solución fenol-cloroformo-alcohol isoamílico al tubo y se mezcla varias veces de manera suave. La muestra se centrifuga a 10 000 rpm por 10 minutos y se recupera la fase acuosa superior cuidadosamente en un nuevo tubo Eppendorff estéril, evitando recuperar cualquier otra fase. Nuevamente se adiciona al tubo 0.25 μL de solución fenol-cloroformo-alcohol isoamílico y se repite el procedimiento anterior únicamente si hay pigmentos, pectinas etc.

-Precipitación del ADN

Al tubo Eppendorf que contiene la fase recuperada anteriormente se le adicionó 1000 μL de etanol frío y se mezcla varias veces de manera suave, posteriormente se centrifuga a 10 000 rpm por 10 minutos y se decanta posteriormente cuidadosamente el exceso de etanol y se deja secar el tubo a 31°C en el termoagitador para que el etanol se evapore, el ADN precipitado se puede presentar como una ligera capa en el tubo. Una vez evaporado completamente el etanol del tubo, se adiciona 100 μL de agua libre de nucleasas y se agita con el vortex un minuto para resuspender completamente el ADN extraído.

2.4.2 Cuantificación ADN.

El ADN, ARN, oligonucleótidos e incluso los mononucleótidos pueden cuantificarse directamente en soluciones acuosas, en forma diluida o sin diluir, midiendo la absorbancia de la luz ultravioleta. Si la muestra es pura, es decir, no contiene cantidades significativas de contaminantes como proteínas o fenol, la medición espectrofotométrica de la irradiación ultravioleta absorbida por las bases es sencilla y exacta.

La concentración de ácidos nucleicos suele determinarse midiendo a 260 nm. La interferencia de contaminantes puede determinarse calculando un cociente. Dado que las proteínas absorben a 280 nm, se emplea el cociente 260/280 para calcular la pureza de los ácidos nucleicos. Los cocientes respectivos del ADN y el ARN puros son aproximadamente de 1.8 y 2.0 respectivamente. Una absorción a 230 nm se emplea para determinar si la muestra está contaminada con hidratos de carbono, péptidos, fenoles, compuestos aromáticos u otras sustancias. El cociente 260/280 (relación de pureza) de las muestras puras es de 1.8 aproximadamente (Querci et al, 2007).

-Método

Se calibra el equipo colocando 2 μL de agua libre de nucleasas. Se abre el programa Nanodrop en la computadora y se selecciona en la pantalla la opción de ácidos nucleicos. Se limpia el lector del equipo con un paño especial y se coloca nuevamente 2 μL de agua libre de nucleasas para registrarlo como blanco en el programa, nuevamente se limpia el lector del equipo y se coloca 2 μL de la muestra de ADN a cuantificar y se corre nuevamente el programa. Se registra la concentración de ADN proporcionado por el equipo (ng/ μL) y la relación 260/280 para determinar el grado de pureza del ADN.

2.4.3 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

-Preparación de la reacción

Para la preparación de la reacción se deben de estandarizar las concentraciones de los componentes (*primers* y ADN). Los *primers* deben ser solubilizados en una concentración de 0.5 μL , mientras que el ADN requiere una concentración baja (50-60 ng/ μL) puesto que solo una sola copia de ADN es suficiente para su amplificación.

Las preparaciones de las muestras para la reacción se reparten en tubos de 12 μL con los volúmenes mencionados en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Cantidad de componentes necesarios para la PCR.

Reactivo	Cantidad
Kit Master Mix	6.25 μL
Primer frontal	0.25 μL
Primer reverso	0.25 μL
Agua libre de nucleasas	5.25 μL
Volumen total	12 μL
ADN muestra	0.5 μL

-Programa de PCR.

Para la realización del programa de la PCR se necesita conocer las T_m de cada *primer*, así como las condiciones necesarias para llevarse a cabo. La T_m se calcula con la siguiente ecuación: $T_m = [(G + C)4] + [(A + T)2] - 5$

El resultado de las temperaturas para cada *primer* específico (Cuadro 10) los cuales se muestran en el anexo.

Especie	T_m primer frontal	T_m primer reverso	T_m promedio
<i>Gallus gallus domesticus</i>	61°C	61°C	61°C
<i>Sus scrofa domesticus</i>	61°C	61°C	61°C
<i>Bos taurus</i>	61°C	59°C	60°C
<i>Meleagris gallo-pavo</i>	61°C	61°C	61°C

Cuadro 10. Resultados del cálculo del T_m para cada uno de los primers.

La programación del termociclador es conforme a las condiciones obtenidas de la T_m de cada *primer*. Teniendo así los programas para cada pareja de *primers* como se muestra en la Figura 13 las condiciones para *Gallus gallus domesticus*.

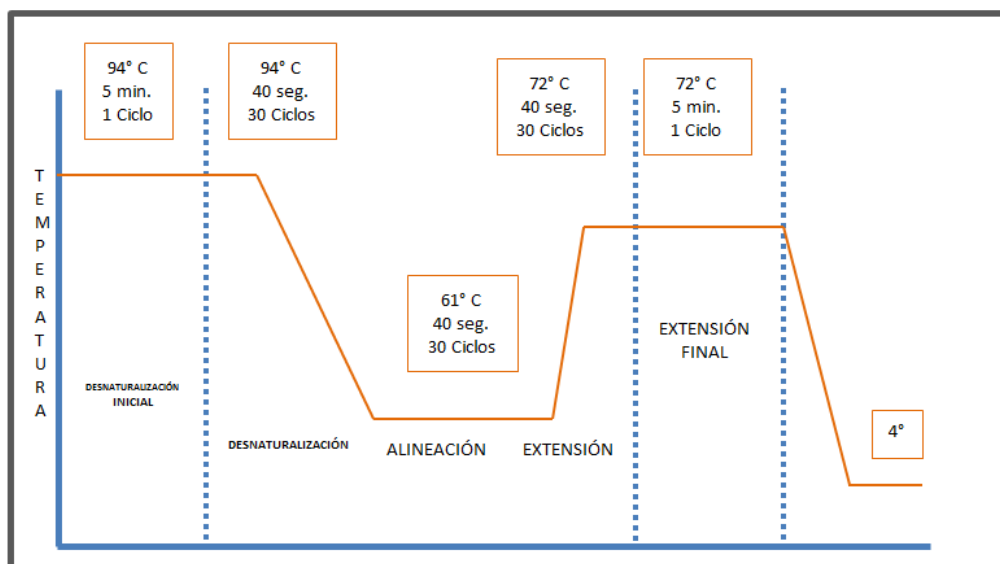


Figura 13. Programa PCR para *Gallus gallus domesticus*.

Las condiciones del programa de PCR (Figura 14) para *Sus scrofa domesticus* conforme a las condiciones de la T_m promedio para esta pareja de *primers*.

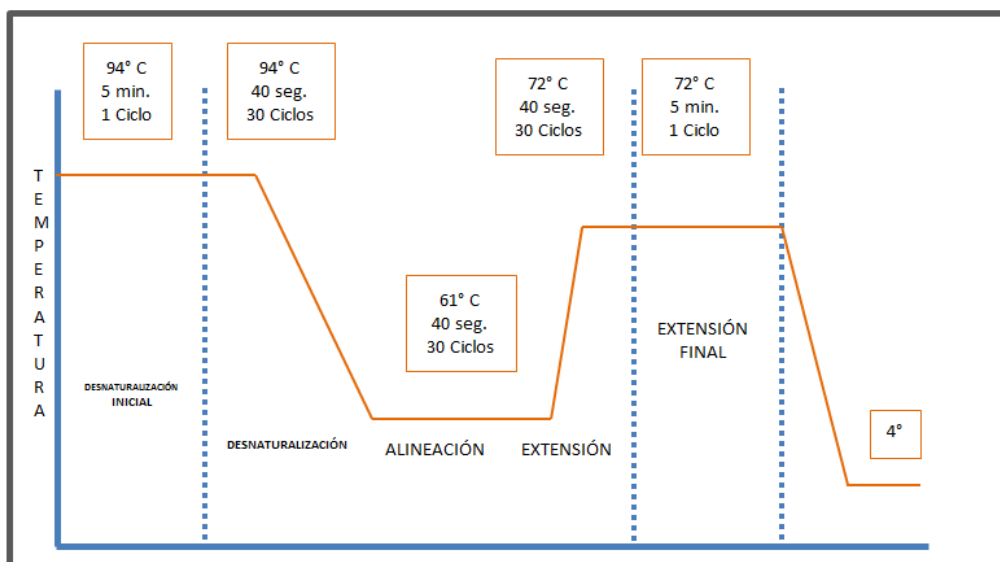


Figura 14. Programa PCR para *Sus scrofa domesticus*.

Como se observa en la Figura 15, la Tm para la alineación es de 60°C variando solo 1°C con respecto a las otras especies.

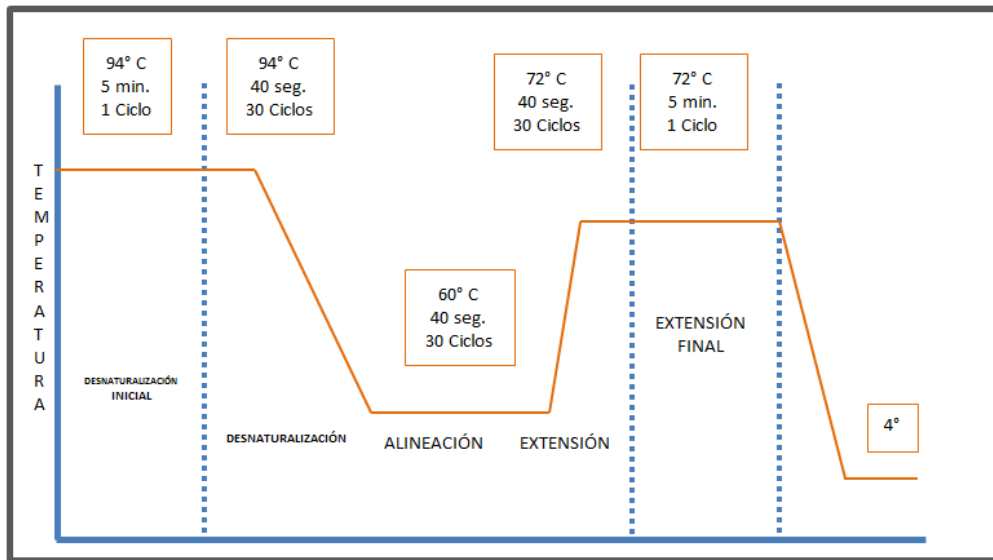


Figura 15. Programa PCR para *Bos taurus*.

Para *Meleagris gallo-pavo* Figura 16, el programa de la PCR se muestra de la siguiente manera:

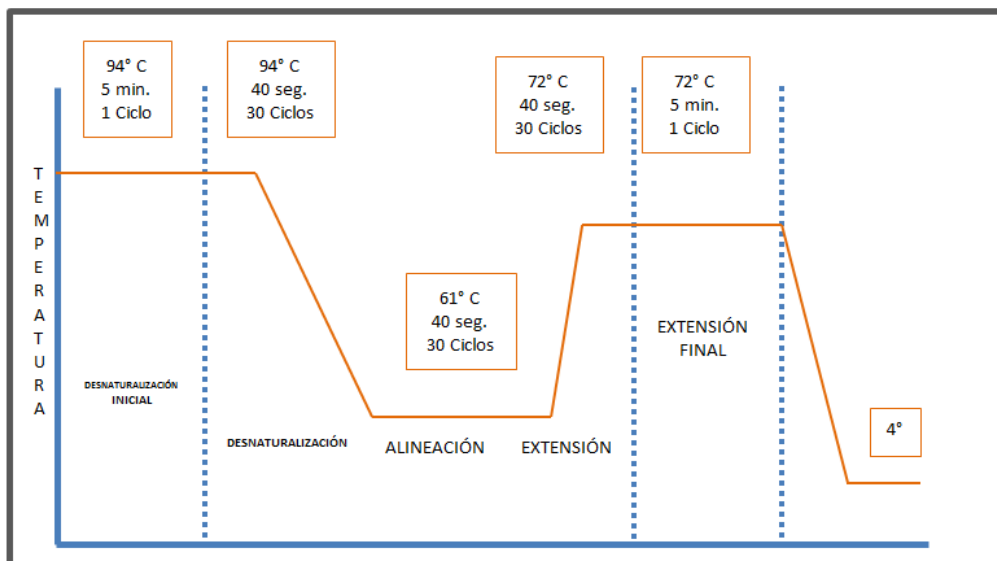


Figura 16. Programa PCR para *Meleagris gallo-pavo*.



2.4.4 Análisis de amplificación de PCR por electroforesis en gel de agarosa

Un fragmento de ADN de un tamaño determinado migra a diferentes velocidades a través de los geles según la concentración de agarosa. En función de la concentración de agarosa, se pueden separar segmentos de ADN, que contengan de 20 a 50 000 pb. En los geles horizontales, la agarosa se emplea por lo general en concentraciones comprendidas entre un 0.7 % y un 3% (Querci *et al*, 2007).

-Método

Se prepara un gel de agarosa con una concentración de 3%. Se pesan 0.9 g de agarosa en un matraz y se diluye en 30 mL de solución Buffer TAE 1X. La mezcla se calienta en el horno de microondas hasta que la agarosa se disuelva completamente. Se deja enfriar la solución y se le adiciona una gota de bromuro de etidio.

Después se vierte en el soporte de la cámara de electroforesis, se coloca el peine para la formación de pocillos. Se deja enfriar para que se gelifique el gel de agarosa y posteriormente se retira el peine. Finalmente se agrega el amortiguador TAE 1X a la cámara de electroforesis para cubrir el gel.

-Carga y corrida del gel

Se coloca en un parafilm 3 μ L de bromuro de etidio, 3 μ L de colorante blue/orange y 4 μ L de la muestra resultante en la PCR, procurando que ninguna de estas se mezcle. Posteriormente con una micropipeta se homogeneiza y la mezcla final se coloca cuidadosamente en uno de los pocillos del gel de agarosa.

Una vez cargadas las muestras en el gel, se cierra la cámara y se conecta a la fuente de poder, con un voltaje de 60 V a la cámara hasta que el colorante recorra $\frac{3}{4}$ partes del gel. Una vez recorrido, se apaga la fuente de poder de la cámara y se retira el gel cuidadosamente.

-Visualización de amplificados

El gel se coloca en la base del transluminador y se enciende la cámara fotográfica, se centra y enfoca el gel en la pantalla. Se cierra la puerta del transluminador, se enciende la lámpara de luz UV para posteriormente capturar la imagen del gel y se envía al ordenador para su visualización.

La detección del bromuro de etidio intercalado en los fragmentos de ADN presentes en el gel es debido a que la radiación UV es absorbida a 254 nm el ADN y transmitida al colorante, el cual unido por sí mismo absorbe la luz a 302 nm y 366nm. En ambos casos, la energía es remitida a 590 nm en la región rojo-naranja del espectro visible (Sambrook y Russell, 2001).

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Objetivo particular 1

Para cumplir este objetivo se realizó una investigación y revisión bibliográfica para realizar el diseño de los *primers*, teniendo como apoyo el artículo publicado por Kesmen *et al.*, 2009. Donde indica el número de acceso (GenBank) de las especies de interés y mediante la página electrónica NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) se buscó la secuencia del ADNmt completo de las especies de estudio. Los pasos se muestran en el Anexo 1.

Posteriormente con el programa bioinformático en línea, Primer Quest (<https://www.idtdna.com/PrimerQuest/Home/Index>), se realizó el diseño de los *primers* específicos copiando las secuencias de ADNmt completo de las especies y haciendo las consideraciones siguientes:

- La longitud de los *primers* debe estar entre 18-25 pb; el par debe ser de la misma longitud o de lo contrario no rebasar una diferencia de 3 unidades.
- La Tm debe estar entre 55-62°C la pareja de *primers* no debe diferir en 2°C.
- La composición G-C debe estar entre 40-60% y las 4 bases distribuidas por toda la secuencia
- Un residuo de G o C en el extremo 3' de los *primers* ayudó a alcanzar el extremo terminal 3' debido a que los puentes de hidrógeno son más fuertes en el residuo G-C
- Los *primers* deben ser específicos o complementarias a las regiones deseadas. Por lo que no deben ser homólogos.

Teniendo así los resultados correspondientes del diseño de los *primers* de las 4 especies de estudio (Cuadro 11).

Cuadro 11. Secuencias de primers a emplear de las especies de interés.

Especies	Primer frontal	Primer reverso	PB
<i>Gallus gallus domesticus</i>	GGAGCTAACCACAGCTACATAC	GGGTTGGATAAGCAGAGAGAAG	235
<i>Sus scrofa domesticus</i>	GCCCTCATAGCCCTACATATTC	GGTTCCTAAGACCAACGGATAG	244
<i>Bos taurus</i>	CGCCGGACTCTATTTCTATTC	TAACGAGTGCTATGTGGCTTAC	150
<i>Meleagris gallo-pavo</i>	CAATCTCCCTACTGCCATAAC	CTAAGTGCTGTGCCGACTATAC	515

Posteriormente se evalúa cada una de las secuencias completas de ADNmt con los *primers* con el programa bioinformático *Sequencher* para corroborar la cantidad de pares de bases a amplificar (Figura 17).

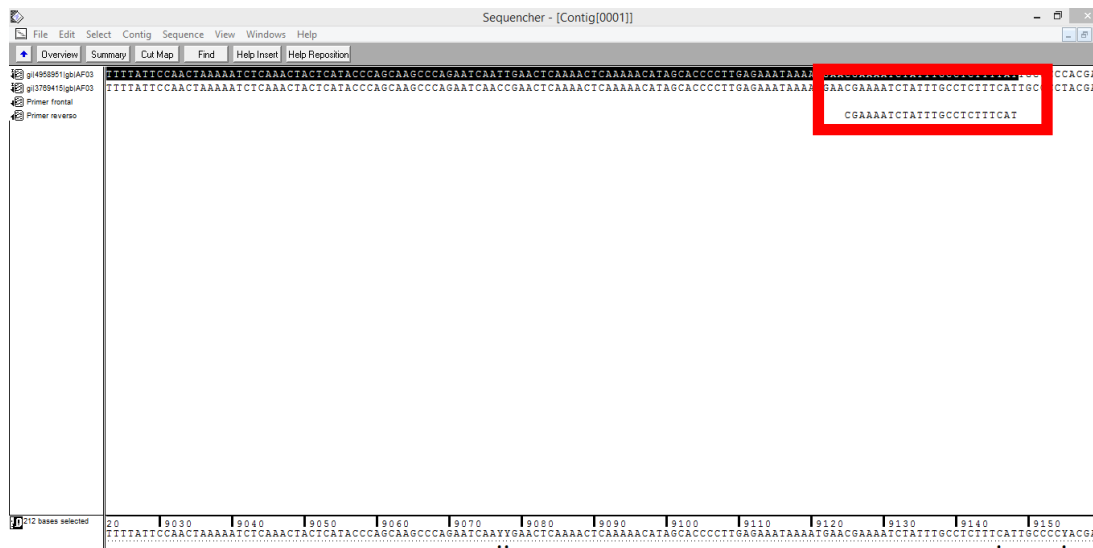


Figura 17. Evaluación de los primers con el programa bioinformático Sequencher.

Teniendo así la correcta selección de los *primers* y proseguir a la evaluación de cada uno de *primers* para comprobar su especificidad y cubrir el objetivo siguiente.

3.2 Objetivo particular 2

La extracción de ADN fue conforme al protocolo de Sambrook y Russell, (2001) obteniendo las siguientes concentraciones de ADN sin diluir y diluidas.

Cuadro 12. Resultados extracción de ADN de las especies de estudio (lejanas y cercanas) sin diluir y diluidas.

Muestras	Sin diluir		Diluidas	
	Relación 260/280	ADN (ng/μL)	Relación 260/280	ADN (ng/μL)
Pollo	1.85	1776.8	1.8	72.5
Res	1.83	387.6	1.9	72.2
Cerdo	1.77	1255.7	1.71	64.5
Pavo	1.82	1686.9	1.72	88.1
Zanahoria	1.66	1040.5	1.69	64.4
Avena	1.71	168.3	1.74	63.9
Trigo	1.73	78.5	1.73	78.5

Como se muestra en el Cuadro 12, la relación 260/280 está en un intervalo de 1.6-2.0, lo que nos indicó que el ADN extraído de cada una de las muestras están libres de contaminación con proteínas o ARN, y en relación a las cantidades de ADN obtenidas en la extracción son elevada para llevar a cabo la PCR, a excepción de la muestra de trigo que está en el intervalo, debido a que con una pequeña cantidad de ADN se obtienen millones

de copias, por lo que las muestras fueron diluidas ajustando a una concentración aproximadamente a 60 ng/ μ L.

Analizando los resultados del Cuadro 11, en las columnas donde indican la dilución, se observó que la relación 260/280 se encuentra en valores 1.6 a 1.9 indicando que las muestras de ADN se encuentran libres de proteínas o ARN, lo cual nos permite realizar una PCR.

Para evaluar la especificidad de los distintos *primers* se llevó a cabo una PCR, en donde se mezcló la pareja de *primers* seleccionado con distintas especies filogenéticamente cercanas (res, pollo, pavo y cerdo) y filogenéticamente lejanas (zanahoria, avena y trigo).

Para esta prueba cada pareja de *primers* solo debe amplificar con la especie para cual fue diseñado, lo cual indicara si es específico para la especie seleccionada. Así mismo, el objetivo de esta prueba permitió evitar errores en la detección de las especies en estudio.

Obteniéndose los siguientes resultados, Figura 18:

- **Especificidad *Bos Taurus***

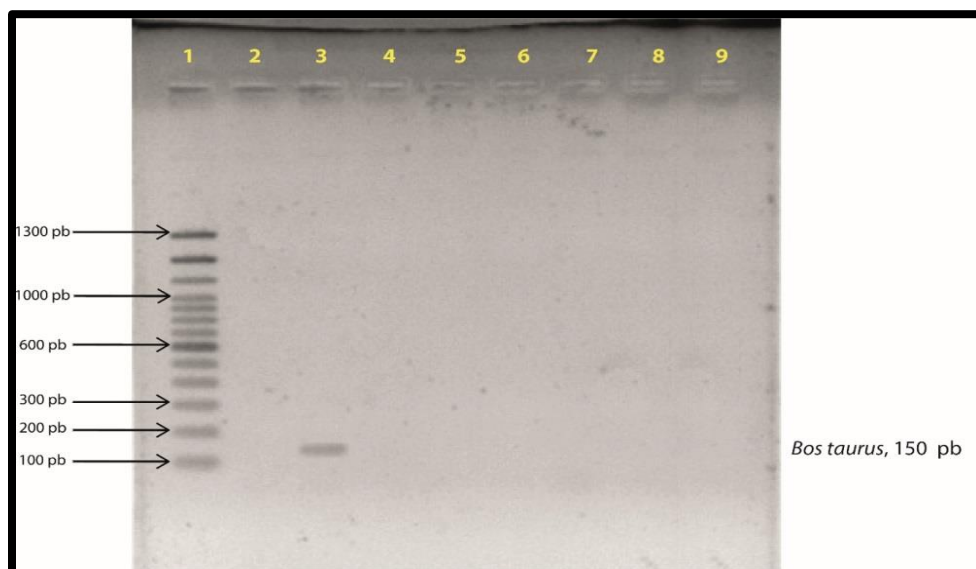


Figura 18. Gel de agarosa al 1% para determinar especificidad de primers *Bos taurus* diseñadas frente a especies filogenéticamente cercanas y lejanas. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) *Bos Taurus*, 4) *Gallus gallus domesticus*, 5) *Sus scrofa domesticus*, 6) *Meleagris gallo-pavo*, 7) Zanahoria, 8) Trigo 9) Avena.

En la Figura 18 se puede observar la amplificación del control positivo para la especie *Bos taurus*, demostrando la especificidad de la pareja de *primers* diseñados ya que la banda obtenida en el gel corresponde a la especie de interés (*Bos taurus*). Las condiciones empleadas para llevar a cabo esta amplificación corresponden a las descritas en Figura 16.

- **Especificidad *Gallus gallus domesticus***

Se siguió el programa de la PCR con las condiciones descritas en la Figura 14, obteniendo lo siguiente:

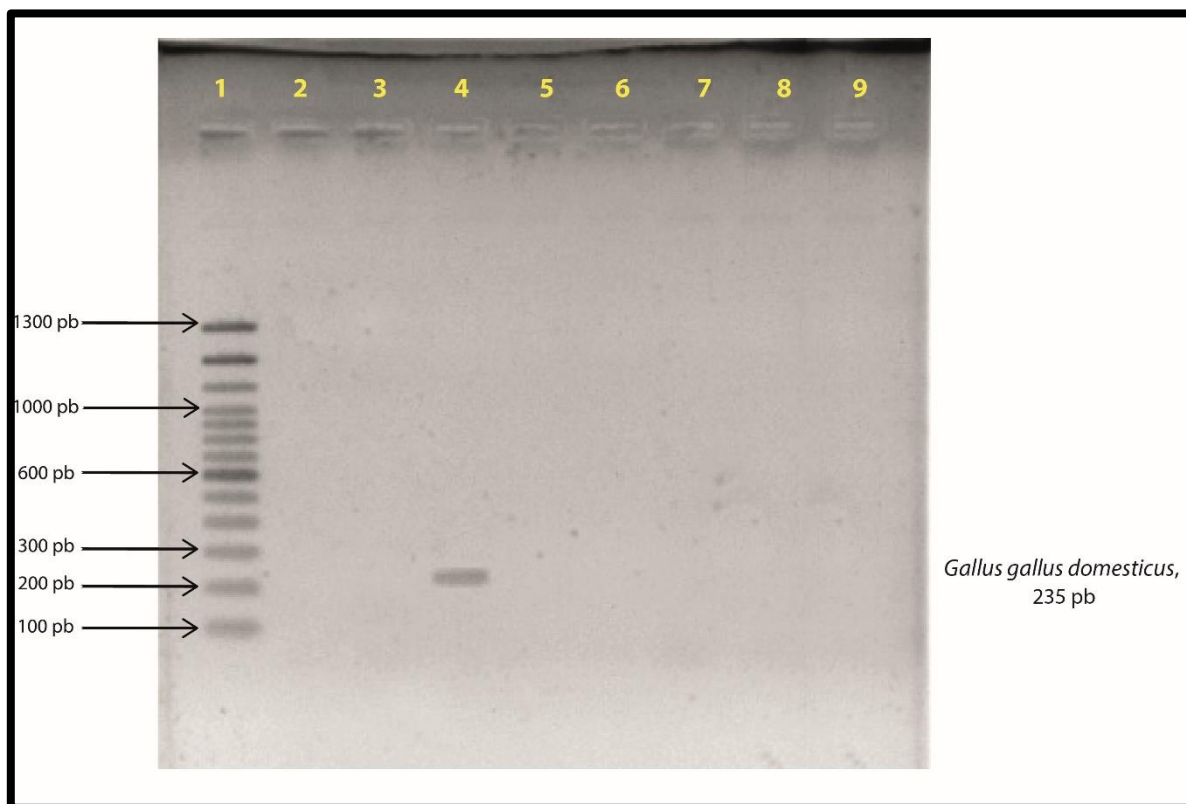


Figura 19. Gel de agarosa al 1% para determinar especificidad de primers *Gallus gallus domesticus* diseñadas frente a especies filogenéticamente cercanas y lejanas. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) *Bos taurus*, 4) *Gallus gallus domesticus*, 5) *Sus scrofa domesticus*, 6) *Meleagris gallo-pavo*, 7) Zanahoria, 8) Trigo 9) Avena.

En la Figura 19 la banda obtenida en el gel corresponde a la especie de interés *Gallus gallus domesticus* amplificando a lo esperado 235 pb conforme al diseño de estos primers, indicando la especificidad para esta pareja de primers para esta especie de estudio.

- **Especificidad *Meleagris gallo-pavo*.**

En la Figura 17 se expresan las condiciones de la PCR para esta especie, dando como resultado lo siguiente al ser visualizado el gel de agarosa.

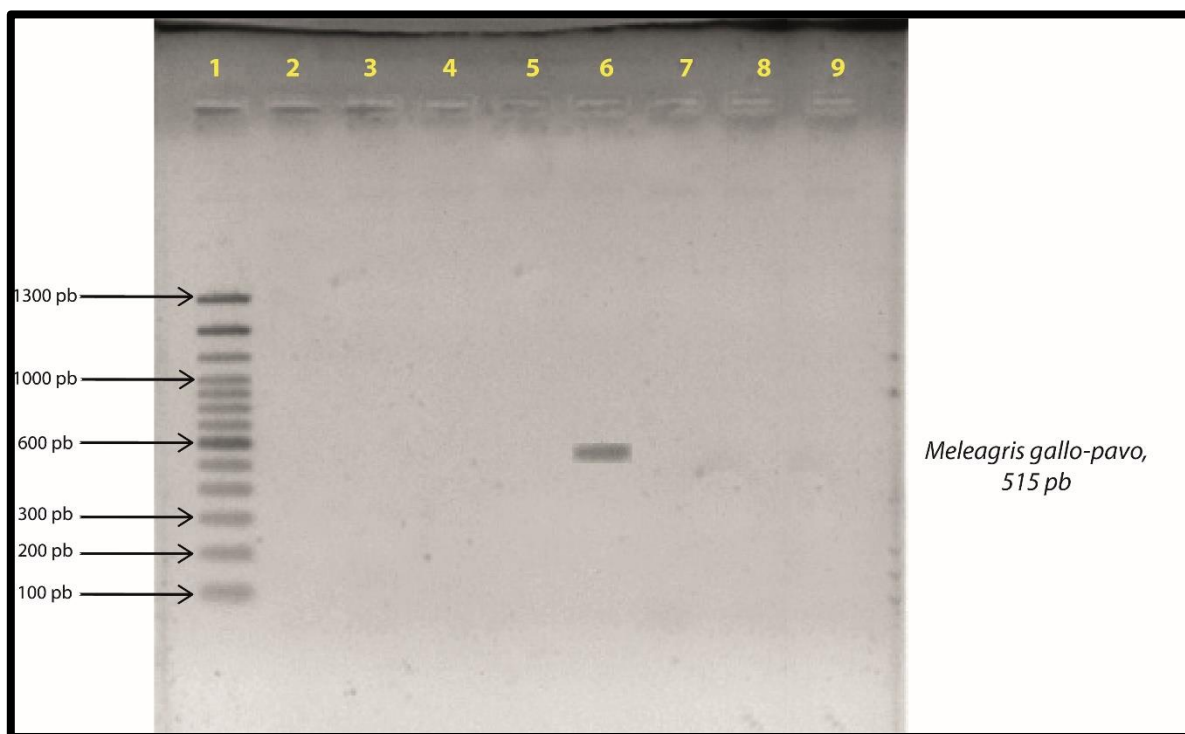


Figura 20. Gel de agarosa al 1% para determinar especificidad de primers *Meleagris gallo-pavo* diseñadas frente a especies filogenéticamente cercanas y lejanas. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) *Bos taurus*, 4) *Gallus gallus domesticus*, 5) *Sus scrofa domesticus*, 6) *Meleagris gallo-pavo*, 7) Zanahoria, 8) Trigo 9) Avena.

El gel de agarosa al 1% al ser visualizado (Figura 20), se observa la banda a 515 pb para la especie *Meleagris gallo-pavo* asegurando la especificidad para esta especie de estudio, el resultado esperado es conforme al diseño de *primers*.

- **Especificidad *Sus scrofa domesticus*.**

Para cada pareja de *primers* se determinó un programa de PCR dependiendo de sus temperaturas de hibridación, y para el caso de esta especie se siguió el programa como lo indica la Figura 15.

Teniendo los siguientes resultados:

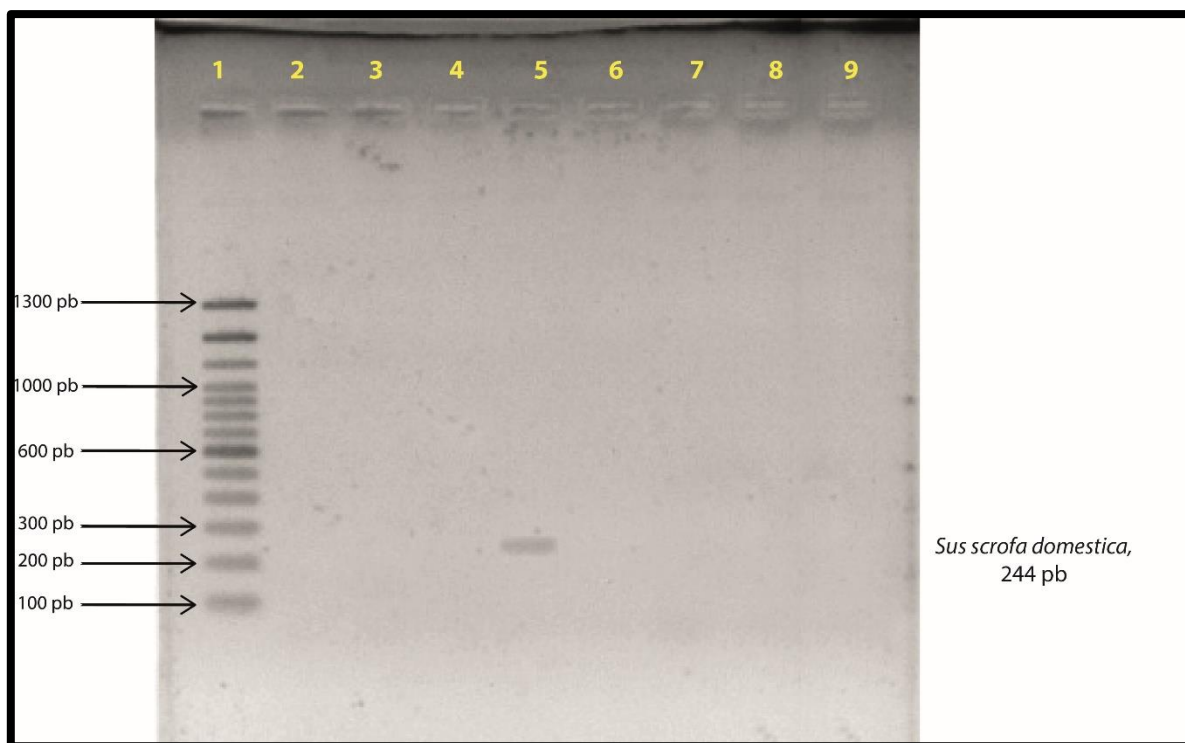


Figura 21. Gel de agarosa al 1% para determinar especificidad de primers *Sus scrofa domesticus* diseñadas frente a especies filogenéticamente cercanas y lejanas. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) *Bos taurus*, 4) *Gallus gallus domesticus*, 5) *Sus scrofa domesticus*, 6) *Meleagris gallo-pavo*, 7) Zanahoria, 8) Trigo 9) Avena.

En Figura 21 se observa la especificidad de la pareja de *primers* para esta especie, debido a que amplificó únicamente en el carril donde contenía el ADN de la especie de estudio.

La realización de las pruebas de especificidad nos aseguró y demostraron que las parejas de *primers* diseñados para estas 4 especies de estudios son específicas, lo cual nos permitió determinar la identificación de estas en las muestras comerciales a través de la PCR.

3.3 Objetivo particular 3

Para llevar a cabo este objetivo se obtuvieron 16 muestras de diferentes embutidos (mortadela, jamones, salchichas, chorizos y peperami) de pavo, los cuales se adquirieron en tiendas de autoservicio y se realizó la extracción de ADN con el protocolo mencionado anteriormente. Teniendo los resultados siguientes:

Cuadro 13. Resultados extracción de ADN de las 16 muestras a evaluar sin diluir y diluidas.

Muestras	Sin diluir		Diluidas	
	Relación 260/280	ADN (ng/μL)	Relación 260/280	ADN (ng/μL)
1	1.79	210.8	1.92	52.6
2	1.8	127.3	1.73	57.5
3	1.78	697	1.72	69.5
4	1.84	3596.8	1,69	69.6
5	1.77	694.9	1,77	59.3
6	1.83	1490.5	1.64	66.6
7	1.94	337	1.67	60.2
8	1.83	241.7	1.81	77.4
9	1.86	235.7	1.69	60.4
10	1.89	307.7	1.6	63.5
11	1.98	565.2	1.81	70.1
12	2.02	399.5	1.62	60.2
13	1.96	407.8	1.67	60.4
14	1.74	291.6	1.76	62.2
15	1.71	511.7	1.68	98.1
16	1.68	93.6	1.65	61.2

Como se observa en el Cuadro 13, las cantidades de ADN son altas, y en la relación de pureza (260/280) se mantienen en un intervalo de 1.6-2.0 lo que nos indicó que nuestro ADN extraído se encuentra libre de proteínas ARN, permitiéndonos realizar la PCR.

Procediendo a diluir cada una de las muestras, teniendo así que la relación de pureza (260/280) se encuentra en un intervalo de 1.6-1.9 indicando que están libres de contaminación para realizar la PCR. Y la concentración de ADN varía entre los 52 y 98 ng/μL, debido a que los resultados de la concentración de ADN son aproximados y al realizar el cálculo correspondiente para tener concentraciones de 60 ng/μL de igual forma son aproximadas dándonos estas variaciones al diluirlas.

Teniendo los controles positivos, las 16 muestras de ADN ajustadas en concentración y la especificidad de la pareja de *primers*, se llevó a cabo la PCR de cada una de las muestras

comerciales para determinar alguna adulteración con las 4 especies de estudio con las condiciones establecidas en los programas de PCR indicados en las Figuras 14, 15 16 y 17 para cada especie.

Obteniendo así los resultados siguientes:

- **Resultados PCR *Bos taurus***

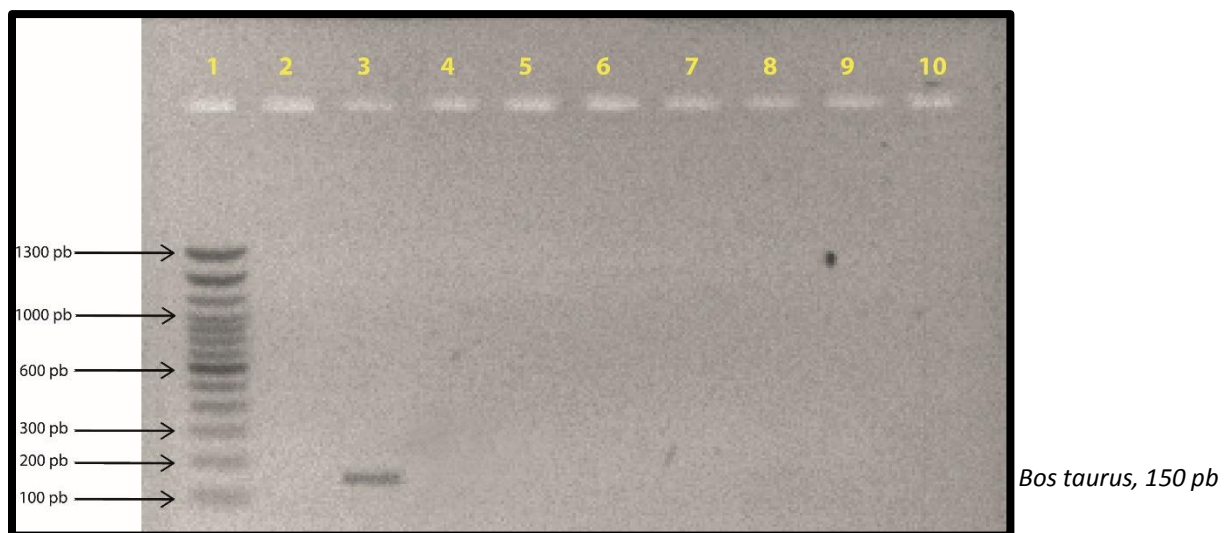


Figura 22. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Bos taurus*. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) C+, 4) MPK, 5) MPD, 6) JPK, 7) VPF, 8) VPZ, 9) PPA, 10) FPA.

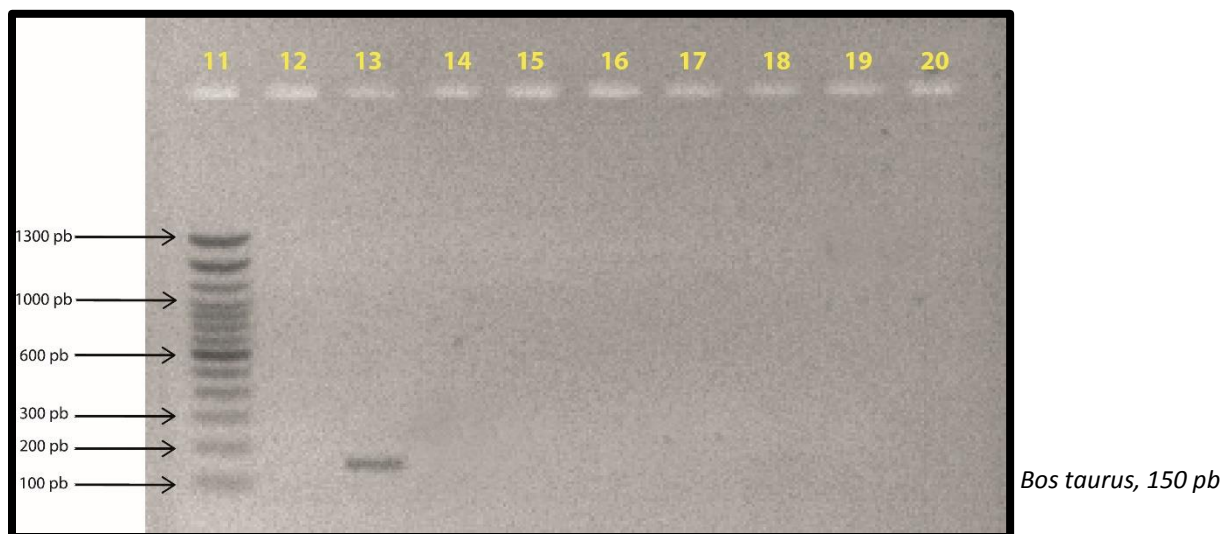


Figura 23. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Bos taurus*. 11) Marcador de Peso (pb), 12) Blanco, 13) C+, 14) SPBZ, 15) SPD, 16) SPF, 17) SCPZ, 18) SPC, 19) CPZ, 20) CPK.

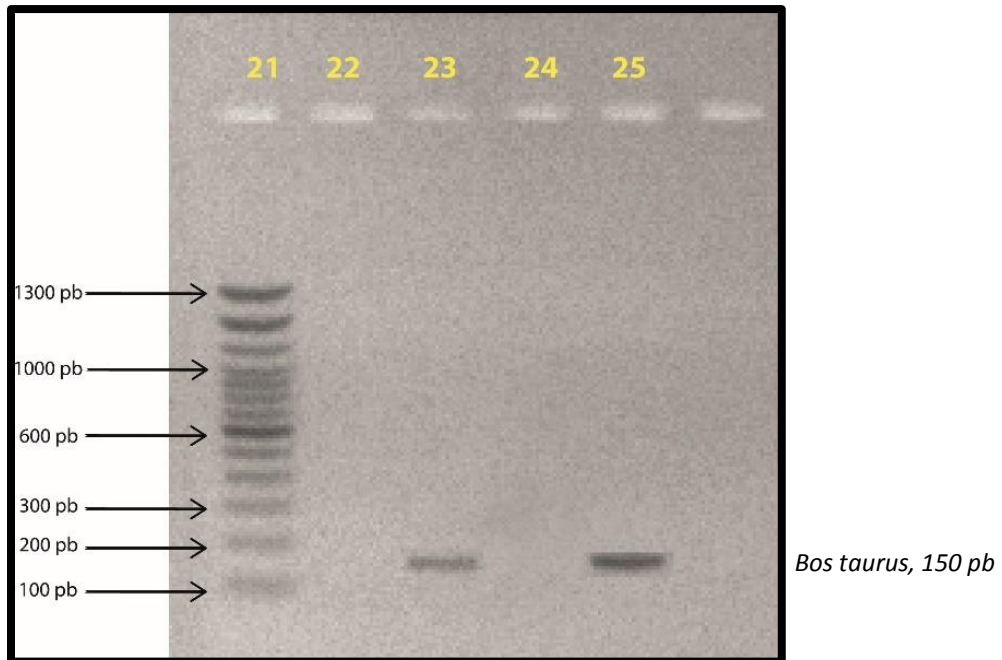


Figura 24. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Bos taurus*. 21) Marcador de Peso (pb), 22) Blanco, 23) C+, 24) CPC, 25) PP.

A partir de los resultados obtenidos de la PCR (Figuras 22, 23 y 24) se observa que solo la muestra 16 (carril 25) que corresponde al peperami de pavo contiene carne de res, mientras que las demás muestras no presentan contenido de esta carne. El amplificado es conforme a las pares de bases esperadas de 150 pb conforme al diseño de la pareja de *primers* indicando en los carriles 3, 13 y 23 como C+ y el marcador de peso molecular utilizado fue de 1,300 pb.

- Resultados PCR *Gallus gallus domesticus*.

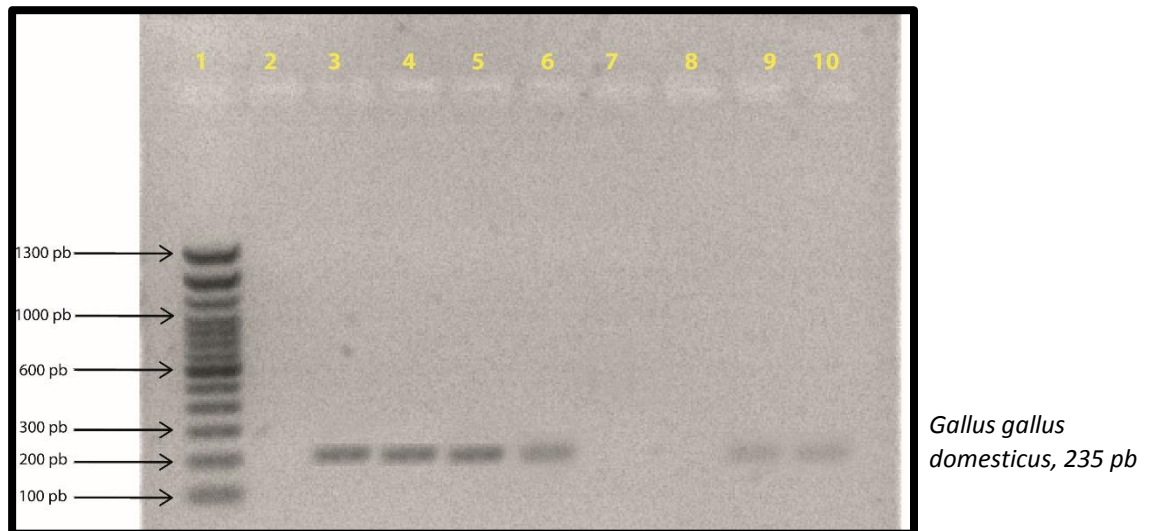


Figura 25. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Gallus gallus domesticus*. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) C+, 4) MPK, 5) MPD, 6) JPK, 7) VPF, 8) VPZ, 9) PPA, 10) FPA

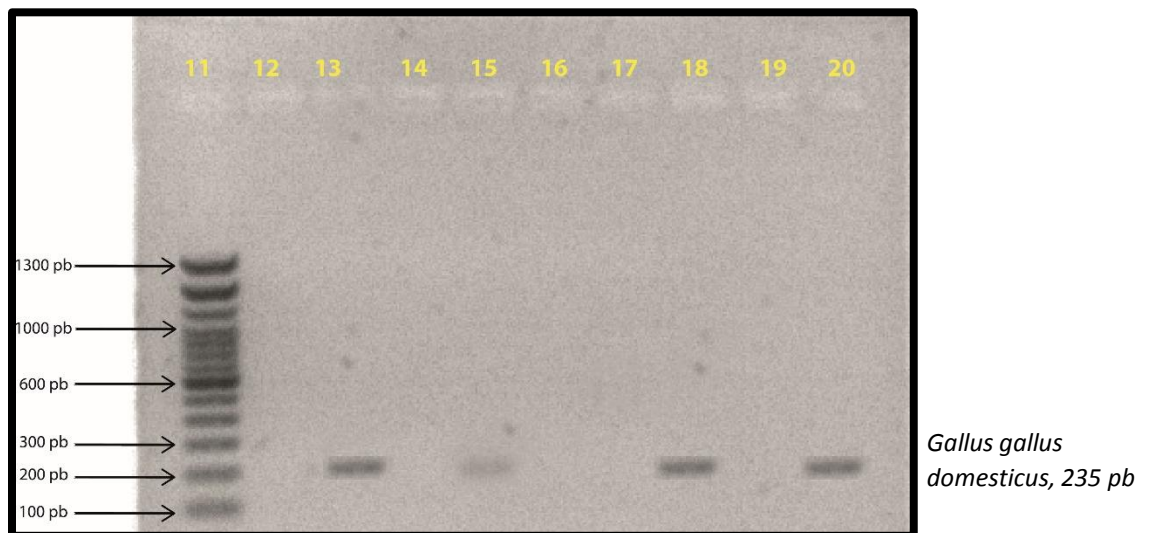


Figura 26. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Gallus gallus domesticus*. 11) Marcador de Peso (pb), 12) Blanco, 13) C+, 14) SPBZ, 15) SPD, 16) SPF, 17) SCPZ, 18) SPC, 19) CPZ, 20) CPK.



Figura 27. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Gallus gallus domesticus*. 21) Marcador de Peso (pb), 22) Blanco, 23) C+, 24) CPC, 25) PP.

Las Figuras 25, 26 y 27 muestran los resultados obtenidos para la determinación de *Gallus gallus domesticus*. Mostrando que la mayoría de las muestras amplificaron, carriles (4, 5, 6, 9, 10, 15, 18 y 20), indicando la presencia de carne de pollo en sus contenidos, lo cual va en contra de la normatividad, ya que en la etiqueta de estos productos declaran ser de pavo, lo que nos lleva a analizar la lista de ingredientes en donde la mayoría de estos incidan tener pechuga de pavo o en general pavo.

El amplificado esperado corresponde a 235 pb.

- Resultados PCR *Meleagris gallo-pavo*.

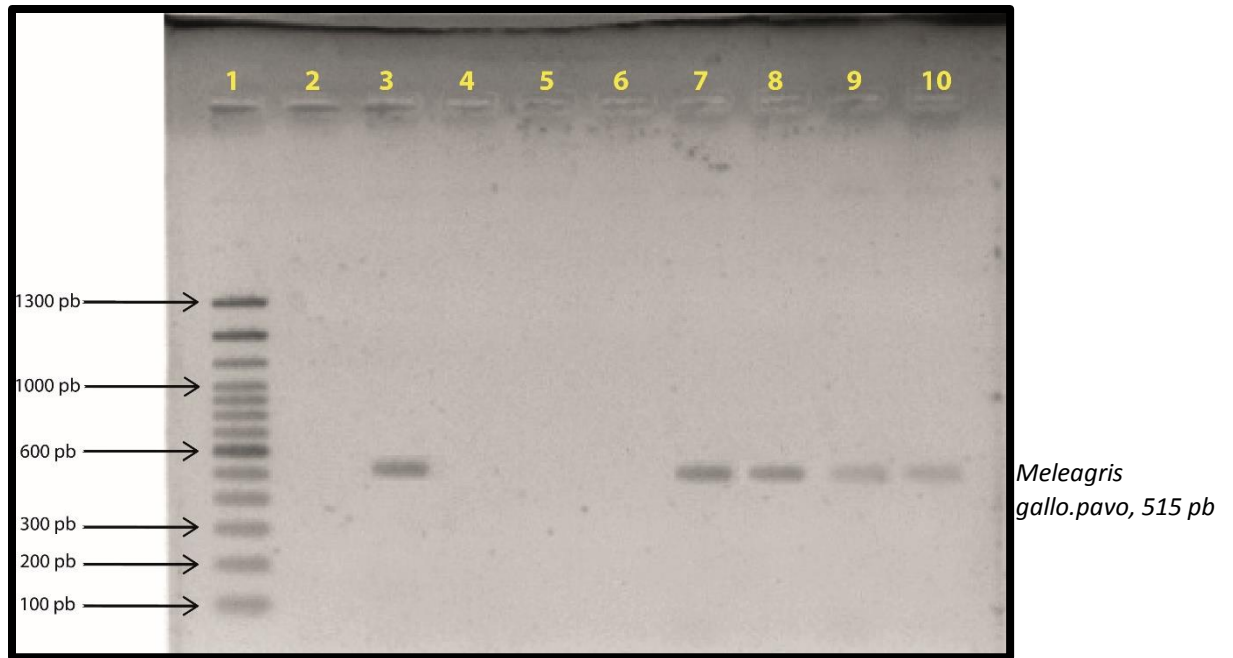


Figura 28. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Meleagris gallo-pavo*. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) C+, 4) MPK, 5) MPD, 6) JPK, 7) VPF, 8) VPZ, 9) PPA, 10) FPA.

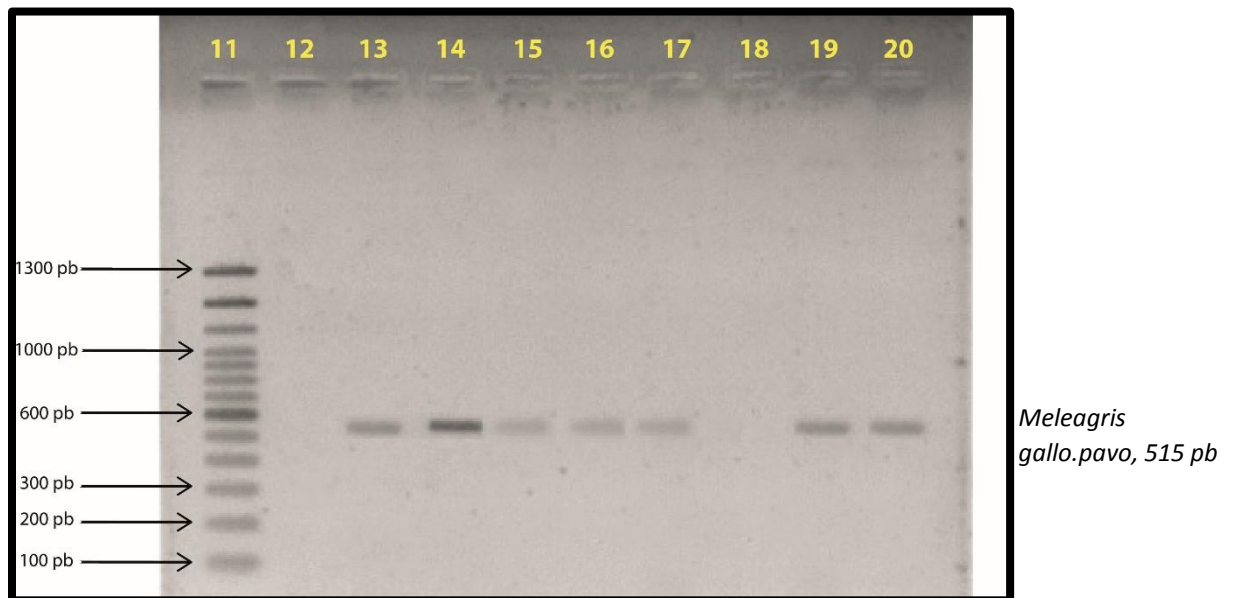


Figura 29. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Meleagris gallo-pavo*. 11) Marcador de Peso (pb), 12) Blanco, 13) C+, 14) SPBZ, 15) SPD, 16) SPF, 17) SCPZ, 18) SPC, 19) CPZ, 20) CPK.

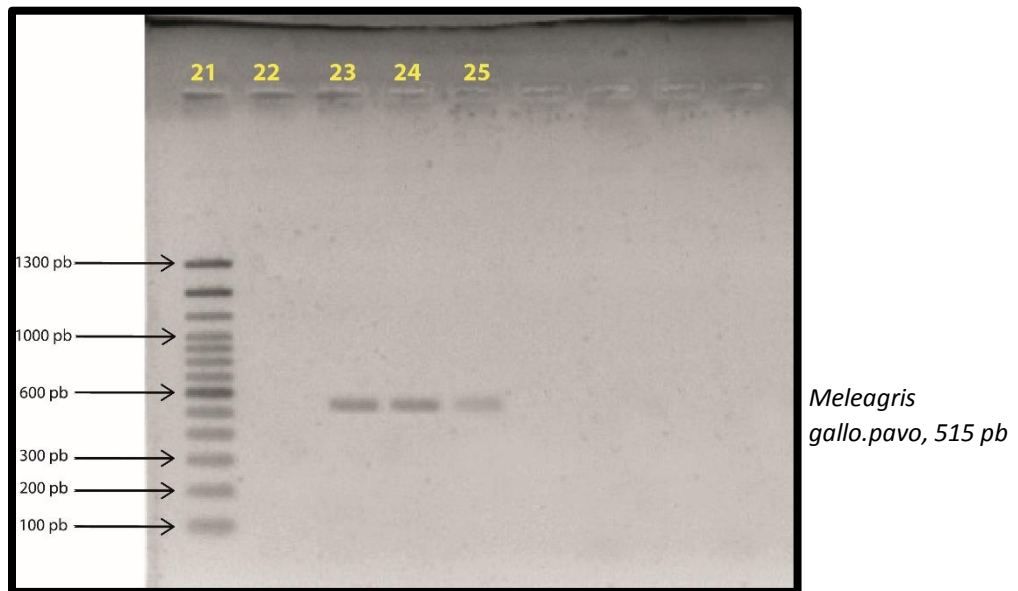


Figura 30. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Meleagris gallo-pavo*. 21) Marcador de Peso (pb), 22) Blanco, 23) C+, 24) CPC, 25) PP.

Al visualizar los geles en el transluminador, Figuras 28, 29 y 30 respectivamente, 12 de las muestras presentan pavo, carriles (7, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 24, y 25), como lo indica en sus etiquetas y lista de ingredientes, percibiéndose en algunas, una banda más fuerte como lo es el caso del carril 14. La intensidad de las bandas es por las proporciones de ADN de dicha especie en el producto.

El tamaño del amplificado fue de 515 pb conforme a lo esperado en el diseño de los primers.

- Resultados PCR *Sus scrofa domesticus*.

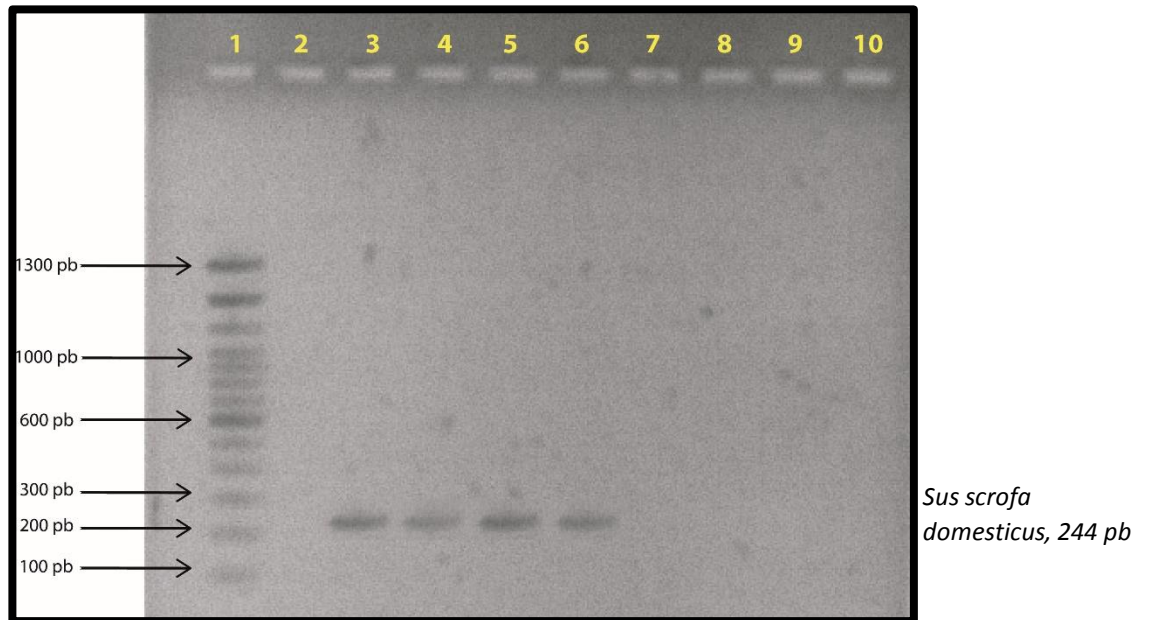


Figura 31. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Sus scrofa domesticus*. 1) Marcador de Peso (pb), 2) Blanco, 3) C+, 4) MPK, 5) MPD, 6) JPK, 7) VPF, 8) VPZ, 9) PPA, 10) FPA

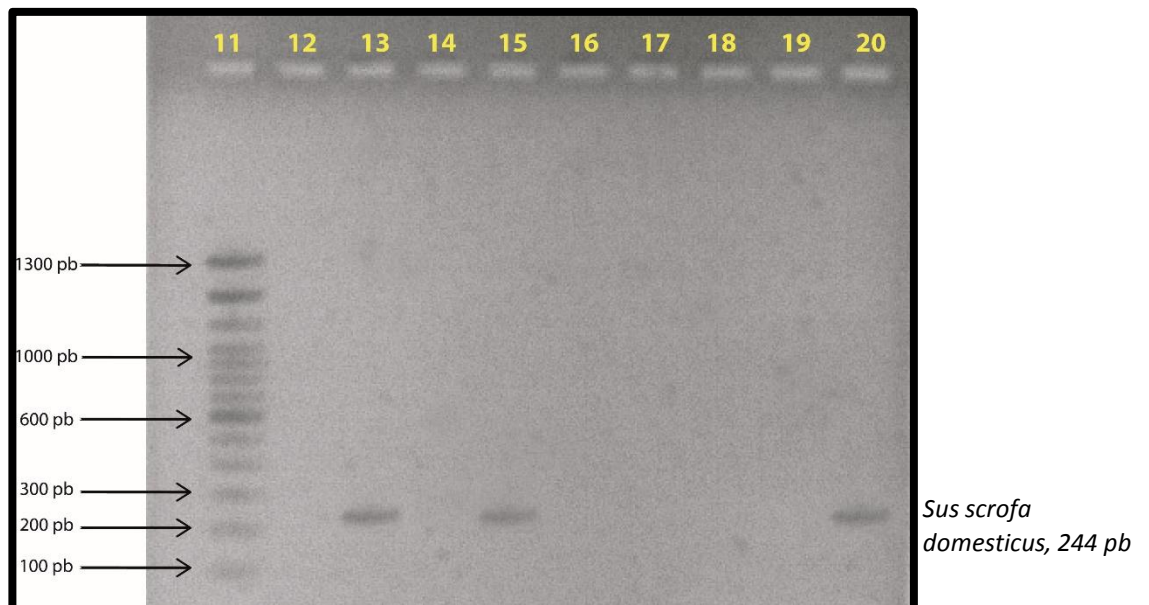


Figura 32. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Sus scrofa domesticus*. 11) Marcador de Peso (pb), 12) Blanco, 13) C+, 14) SPBZ, 15) SPD, 16) SPF, 17) SCPZ, 18) SPC, 19) CPZ, 20) CPK.

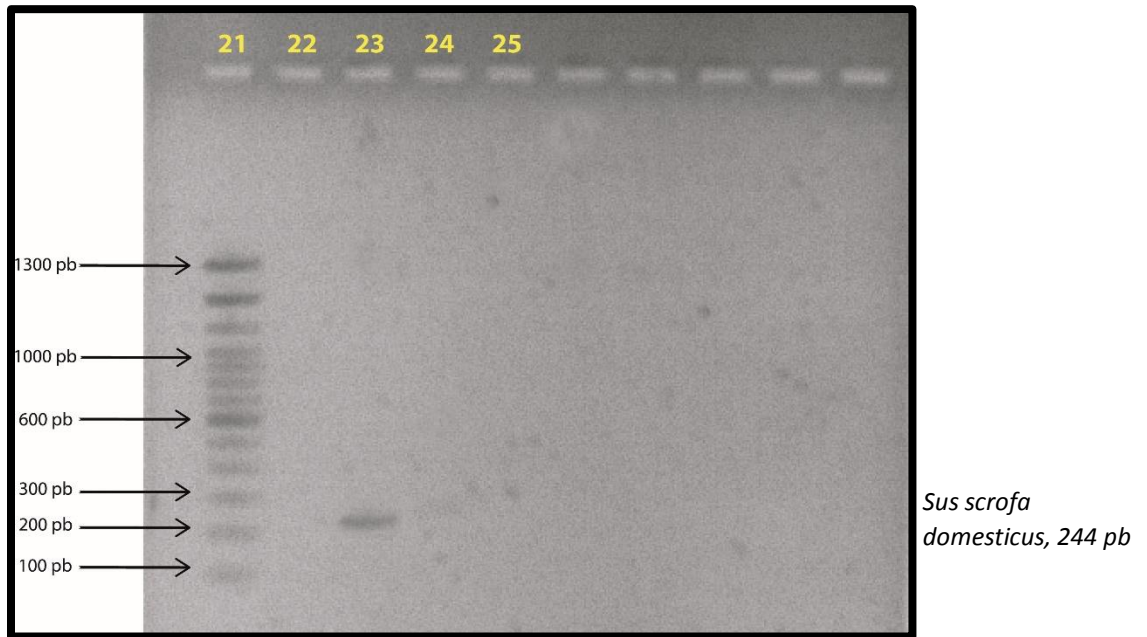


Figura 33. Gel de agarosa al 1.5% para determinar adulteración con la especie *Sus scrofa domesticus*. 21) Marcador de Peso (pb), 22) Blanco, 23) C+, 24) CPC, 25) PP.

Los resultados mostrados en las Figuras 31, 32 y 33 evidencian la presencia de carne de cerdo en 5 de los 16 productos evaluados ya que se observa un amplificado de 244 pb en los carriles 4, 5, 6, 15, 20, dicha especie no se reporta en ninguna de las etiquetas ni en lista de ingredientes, por lo que en estos productos la adulteración es perceptible.

Para tener una mejor interpretación de los resultados obtenidos en la PCR, se construyó la siguiente tabla comparativa:

Cuadro 14. Especies encontradas mediante la técnica de PCR y la especie reportada en etiqueta.

Muestra	<i>Bos taurus</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	<i>Sus scrofa domesticus</i>	Especie reportada en etiqueta
1	-	+	-	+	Pavo
2	-	+	+	+	Muslo de pavo
3	-	+	-	+	Carne de pavo
4	-	+	+	-	Pavo
5	-	-	+	-	Pechuga de pavo
6	-	+	+	-	Pechuga de pavo
7	-	+	+	-	Carne de pavo
8	-	-	+	-	Pechuga de pavo
9	-	+	-	+	Carne de pavo
10	-	-	+	-	Carne de pavo
11	-	-	+	-	Pierna de pavo
12	-	+	-	-	Carne de pavo
13	-	-	+	-	Carne de pavo
14	-	+	+	+	Carne de pavo
15	-	-	+	-	Carne de pavo
16	+	-	+	-	Muslo de pavo

• (+) Amplificó (-) No Amplificó

En el Cuadro 14, se muestran las especies encontradas en las pruebas que se realizaron en el laboratorio de la UIM L-8.

La NOM-051-SCFI/SSA1-2010 establece que la información en el contenido de las etiquetas de alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados debe ser fidedigna, demostrando al consumidor la denominación de estos productos, siendo embutidos de pavo, coincidiendo los ingredientes en la etiqueta y a su vez la NOM-251-SSAI-2009 declara que toda industria debe proporcionar alimentos de calidad e inocuos que aseguren el bienestar del consumidor.

En nuestro país no existe una norma para embutidos de pavo, pero se utiliza como referencia esta NOM-051-SCFI/SSA1-2010 la cual declara a las aves de corral como pollo, pavo entre otras aves. Las cuales deben de corresponder al nombre del producto indicándose tanto en la etiqueta como en los ingredientes, el termino carne de ave se usará solo cuando el producto no haga referencia a un tipo específico de carne de aves de corral, indicándose tanto en su etiqueta como contenido de ingredientes.

Al analizar las 16 muestras con respecto a esta norma, encontramos que todas indican tanto en ingredientes como en etiqueta utilizar carne de pavo para su elaboración, pero no todas cumplen con los lineamientos establecidos, ya que 7 de estas muestras



presentan carne de pollo, lo cual se demostró en la PCR realizada, al igual que 5 muestras tienen carne de cerdo en su contenido y solo una muestra presenta carne de res.

La utilización de carne de pollo en embutidos de pavo es más común en productos de bajo y medio costo, ya que los parámetros de calidad en las industrias de embutidos solo se enfocan en liberar el producto si cumplen los contenidos de proteínas establecidos en las normas NMX-F-065-1984 y NMX-158-SCF1-2003 los cuales están basados en la NMX-F-068-S-1980, en donde presenta el método de Kjeldahl-Gunning como única opción para ser liberados los productos que cumplan con el porcentaje mencionado en la normatividad, lo que nos indica que no hay una técnica que sea usada para determinar adulteración en estos productos.

El aspecto monetario es uno de los factores importantes por el cual el pollo es más utilizado en este tipo de productos, debido a la crianza de pavo está enfocada más a fines de año, el precio de esta especie aumenta en otras temporadas, dejando al pollo en un precio más aceptable reduciendo costos en la elaboración de dichos embutidos.

Otra razón por la cual la carne de pollo es utilizada en los embutidos de pavo es por la semejanza que existe en estos, enmascarando el sabor del pollo con alguna combinación de sabores a pavo hace que la elaboración de estos no tenga inconveniente. Pero al no ser reportado en los ingredientes la utilización de esta especie se denomina adulteración ya que conforme a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 se debería indicar en los ingredientes como uso de carne de ave, lo cual sería lo más conveniente al usar estas dos especies. Demostrando que las muestras 1, 2, 3, 6, 7, 9 y 12 están adulteradas al no reportar esta especie conforme a los lineamientos de la NOM-051-SCFI/SSA1-2010.

El cerdo es otro producto que tiene un precio en el mercado más bajo en comparación al pavo y al pollo, pero difiere mucho en cuestión de cercanía en sabor. La carne de cerdo llega a ser utilizada en este tipo de productos, como se pudo apreciar en 5 de estos, muestras (1, 2, 3, 9 y 14) siendo en su mayoría utilizado en productos de bajo costo y en chorizos, ya que la grasa de cerdo es barata y reduce costos a la hora de elaborar embutidos, presentando adulteración al no ser reportados en la etiqueta.

La carne de res a diferencia de las especies anteriores es de alto costo, pero algunas grasas que ayudan a la elaboración de productos madurados como lo es el peperami, son implementadas en la elaboración de estos, dando estabilidad, la NOM-051-SCFI/SSA1-2010 determina que la declaración del uso de manteca de cerdo o bovino debe ser mencionada en los ingredientes. Teniendo que la presencia de estas dos especies en estos productos se encuentra adulterados, siendo un engaño al consumidor y causarle algún problema de salud.

Por otro lado, las muestras que solo amplificaron para la especie de pavo y que no amplificaron con otra especie, (5, 8, 10, 11, 13 y 15), declaran en su etiqueta la presencia de pechuga de pavo y pavo, cumpliendo la normatividad conforme a la NOM-051-



SCFI/SSA1-2010. Al analizar estos 6 productos podemos percibir que están dirigidos a niveles socioeconómicos medios/altos, ya que el precio de estos en comparación a embutidos de baja, duplican su valor, demostrando que entre más caro sea un producto la veracidad de sus ingredientes corresponde en su totalidad a lo declarado.

CONCLUSIONES

El uso de programas bioinformáticos fue una herramienta importante y confiable que permitió diseñar parejas de *primers* partiendo de la secuencia del ADNmt de las 4 especies de estudio, las cuales fueron evaluadas en una simulación (*in silico*) mediante estos programas, dándonos una aproximación la cual se confirmó al realizar las pruebas *in vitro* correspondientes de especificidad cumpliendo así el objetivo 1.

La extracción de ADN por el método de Sambrook and Russell (2001), permitió obtener ADN integro, para la obtención tanto de controles positivos como de las muestras a evaluar, lo cual permitió realizar las pruebas de PCR cumpliendo los objetivos particulares 2 y 3.

La precisión de la técnica de PCR para llevar a cabo la determinación de adulteraciones en embutidos de pavo comercializados y distribuidos en México, permitió cumplir el objetivo general demostrando que esta técnica es específica a partir de una pequeña cantidad de ADN la cual es replicada y al utilizar *primers* específicos aseguran la amplificación y presencia de especies.

Conforme a lo indicando en las normas NOM-251-SSAI-2009 y NOM-051-SCFI/SSA1-2010, que refieren en primera instancia que las empresas aseguren brindar alimentos de calidad e inocuos y a su vez que su contenido sea fidedigno indicando en el etiquetado los ingredientes que lo constituyen asegurando al consumidor un alimento adecuado a sus necesidades sin atentar contra su salud. Estas normas sirvieron como apoyo para corroborar mediante la PCR si hay un cumplimiento en estos productos debido a que no existe una norma para embutidos de pavo.

Las muestras analizadas resultaron con alguna adulteración, que generalmente fue la adición de carne o grasa de otras especies, las cuales no se reportan en las etiquetas. Las industrias realizan este tipo de adiciones para reducir costos en fabricación y a su vez brindar productos que estén al alcance de la población, debido a que los productos de pavo son elevados en costo, orillando a las industrias a cometer adulteraciones en sus productos violando dos normas NOM-251-SSAI-2009 y NOM-051-SCFI/SSA1-2010 comprometiendo la salud del consumidor al no brindar alimentos de buena calidad, inocuos y que declaren el contenido verás a lo indicado en su etiqueta.



RECOMENDACIONES

En este proyecto de tesis se propuso analizar embutidos de pavo de distintas categorías: baja, media y alta, buscando 4 especies que son consumidas en nuestro país las cuales se utilizan para la elaboración de embutidos, sin embargo, estos productos únicamente son sometidos a pruebas de calidad para ser liberados por el porcentaje de proteína que indica la NMX-F-068-S-1980. Es por eso por lo que se recomienda la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) como una alternativa que ayudara a identificar adulteraciones de productos debido a su precisión y especificidad.

La implementación de la técnica de PCR como un método de prueba de especificidad daría un respaldo para el cumplimiento a lo que declara la NOM-051-SCFI/SSA1-2010, para las especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados, asegurando al consumidor el origen de especie en estos productos y no violando lo establecido con la normatividad.

La falta de educación alimentaria en nuestro país es un problema que ha provocado una mala alimentación en nuestra sociedad causando enfermedades, también provocando que las industrias alimentarias no aseguren la integridad del consumidor, elaborando productos que violan la normatividad que existe en nuestro país, por lo que la difusión de información nutricional de la carne de pollo con respecto al pavo ayudaría a nuestra sociedad a tener un mejor criterio en el consumo de estas carnes así como fomentar una cultura al leer las etiquetas de los productos que consumimos. Todo esto con el fin de elaborar una norma para embutidos de pavo que establezca las condiciones y parámetros de producción y etiquetado que garanticen al consumidor la seguridad e integridad de los productos que declaran ser elaborados con pavo.



REFERENCIAS

1. Álvarez I., Vanessa. (2008). *Estudio multidisciplinar de la variabilidad del ADN mitocondrial en poblaciones humanas*. USC. 12-14.
2. Anderson M. (1990). Perfecting the Polimerase Chain Reaction. *Laboratory Equipment digets*. 1, 30-31.
3. Aranguren, J. M., Portillo, M., Ruiz, J., Villasmil, Y. O., Yañez, L., Borjas, L., y Zabala, W. (2009). Identificación de especies en productos de origen animal mediante PCR. *Revista científica*, Maracaibo, 19.
4. Barioglio, C.F., (2004). Diccionario de producción animal. Brujas, Argentina. 231 pp.
5. CEI-RD. 2011. Perfil CARNE DE POLLO. República Dominicana. 2-3.
6. Coleman W and Tsongalis G. (2005). The Polymerase chain Reaction Molecular diagnostics. *In: W. Coleman and G. Tsongalis (Eds.): Molecular diagnostic: for the clinical laboratorian*. 2° ed. Springer. USA. 47-55.
7. Crews, S., Ojala, D., Pasakony, J., Nishiguchi, J., Attardi, G. (1979). Nucleotide sequence of a región of human mitochondrial DNA containing the precisely identified origin of replication. *Nature* 277(5693). 8, 192.
8. Dale W and von-Schantz M. (2007). *From genes to genomes, concepts and applications of DNA tecnology*. 2° ed. John Wiley & Son, Ltd. England, UK, 384.
9. DeFremery, D. (1966). Some Aspects of Post-Mortem Canges in Poultry Muscle, in *The Physiology and Biochemistry of Muscle as a Food*. University of Wisconsin Press. Madison. 205.
10. Estudios de Mercado. (2013). El mercado del jamón y el embutido curado en México. *Exportación e Inversiones*. ICEX. España. 25-28.
11. FAO. 2012. Fichas técnicas, procesados de carnes.
12. FAO, 2012. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y agricultura.
13. Farchmin, G. (1967). *Inspección veterinaria de los alimentos*, ACRIBIA. Zaragoza. 45,65.
14. Fehlhaver, K. y Janetschke, P. (1995). *Higiene veterinaria de los alimentos*. ACRIBIA. Zaragoza. 304-310.
15. FIRA. 2016. Panorama Agroalimentario: Avicultura carne 2016. *Dirección de investigación y Evaluación Económica y Sectorial*. México. 10-15.
16. FIRA. 2017. Panorama Agroalimentario: Carne de Bovino 2017. *Dirección de investigación y Evaluación Económica y Sectorial*. México. 16-22.
17. FIRA. 2016. Panorama Agroalimentario: Carne de cerdo 2016. *Dirección de investigación y Evaluación Económica y Sectorial*. México. 13-21.
18. Hargin, K. D. (1996). Authenticity issues in meat and meat products. *Meat Science*. 277-289.
19. Herring, H. K., R. G. Cassens, and E. J. Briskey. (1965). Further Studies on Bovine Muscle Tenderness as Influenced by Carcass Position, *Sarcomere Lengh and fiber diameter*. *Journal of Food*. 30,1049.



20. Honikel, K.O., Fisher, C., Hamid, A. and Hamm, R. (1981). Influence of postmortem changes in bovine muscle on the water-holding capacity of beef. *Postmortem storage of muscle at 20°C. Journal of Food Science*. 23-46.
21. Hurley I, Coleman R., Ireland H. y Williams J. (2004). Measurement of bovine igG by indirect competitive ELISA as a means of detecting milk adulteration. *Journal of Dairy Science*. 87, 215-221.
22. Industria Alimentaria. (2017). Informe Anual Cárnico y Avícola. BNP Media. México.
23. Jiménez E. A. (2003). *Manual de Neurogenética*, Díaz de Santos. España. 293.
24. Jiménez, M. (2002). Taxonomía del pavo. El zoológico electrónico. Consultado el 21 de octubre del 2017 desde <http://www.damisela.com/zoo/ave/otros/gall/phasianidae/meleagridinae/gallopavo/taxa.htm>
25. Kesmen, Z., Gulluce, A., Sahin, F., Yetim. H. (2009). *Identification of Meat Species By TaqMan-Based Real Time PCR Assay*. ELSEVIER. 6.
26. Kuri, V., Madden, R., & Collins, M. (1995). Hygienic quality of raw pork and chorizo on retail Sali in Mexico City. *Journal of Food Protection*. 59.
27. Lockley A.K. y Bardsley R.G. (2009). DNA-based methods for food authentication. *Trends in food Science & Technology*. 11,67-77.
28. López, M., Mallorquín, P y Vega M. (2003). Tecnologías Moleculares de Trazabilidad Alimentaria. *Informe de vigilancia tecnológica, Sector Agroalimentario*. Genoma España/CIBT-FGUAM.
29. Losada, H., Rivera, J., Cortez, J., Castillo, A., González, R. O., Herrera, J. (2006). Un análisis de sistemas de producción de guajolotes (*Meleagris gallipavo*) en el espacio suburbano de la delegación de Xochimilco al sur de la Ciudad de México. México. *Investigación Agropecuaria para el Desarrollo Rural*. 18.
30. Márquez, E., Arévalo, E., Barboza, Y., Benítez, B., Rangel, L., Archile, A., (2006), Efecto de la concentración de transglutaminasa y tiempo de reacción en la estabilidad de productos reestructurados. *Revista científica*.
31. Mas, E., Poza, J., Ciriza, J., Zaragoza, P., Osta, R., Rodellar, C. (2001). *Fundamentos de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)*. AquaTiC. 15.
32. Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera L., y Cuadrado, C. (2013). *Tablas de composición de alimentos*. Pirámide. 54-56.
33. Norma Mexicana NMX-F-065-1984. Alimentos. Salchichas. Especificaciones.
34. Norma Mexicana NMX-158-SCF1-2003. Jamón-Denominación y clasificación comercial, especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas, organolépticas, información comercial y métodos de prueba.
35. Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados. Información comercial y sanitaria.
36. Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado



- de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos.
37. Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSAI-2009, Practicas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.
 38. Paul, P., L. J. Bratzler, E. D. Farwell, and K. Knight. (1952). Estudios en la Tenderización de Carne. *Food Res.* 17, 504.
 39. Perera, J., Tormo, A., & García, J. (2002). *Ingeniería genética: preparación, análisis, manipulación y clonaje de ADN (vol. 1)* España; Editorial síntesis. 528.
 40. Potter, Norman, N., Ph, D. (1973). *La Ciencia de los Alimentos*. EDUTEX. México. 41,44,49-55.
 41. Price, J. F., Schweigert, B. S. (1976). *Ciencia de la Carne y de los productos Cárnicos*. ACRIBA. España. 212-231,339-348.
 42. PROFECO. (2018). PRECIOS DE PROTEÍNA ANIMAL: CERDO, POLLO Y RES.
 43. Querci, M., Jermini, M., & Van den Eede, G. (2007). Curso de formación sobre análisis de la presencia de organismos genéticamente modificados en muestras de alimentos. Luxemburgo; Oficina de Publicaciones Oficiales de las Comunidades Europeas.
 44. Reglamento Sanitario de los alimentos. 2000. http://www.sernac.cl/wp-content/uploads/leyes/decreto/ds_977-96_reglamento:alimetos.pdf
 45. Ramírez, A.R.I., (2006), Tecnología de carnes y pescados, Colombia, Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería, Ingeniería en Alimentos, Universidad Nacional Abierta y a Distancia.
 46. Roman, N. A. (2012). Genoma mitocondrial y enfermedades relacionadas. http://kizzurblood.blogspot.mx/2012/06/4_9685.html
 47. Sachinandan D., Biswajit B., Shamik P., Ayan M., Moloya G., Karen P., Sing R.; Sing T., Kumar D. y Surender L. (2011). Simplex and dúplex PDR assays for species specific identification of cattle and buffalo milk and cheese. *Food control.* 22, 690-696.
 48. SAGARPA. (2016). Pollos, gallinas y la avicultura en México. México: SAGARPA.
 49. Sambrook, J., Russell, D. (2001). *Molecular Cloning. A laboratory manual*, U.S.A.: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2028.
 50. Segura, H. P. (2004). ADN mitocondrial, envejecimiento y cáncer. *Umbral Científico*, 3,12-18.
 51. Torres T. A. G. y Baca B. E. (1995). *Reacción en cadena de la polimerasa*. Elementos. 23, 16-21.
 52. Valdez E y Kahl G. (2005). *Huellas de ADN en genomas de plantas, teoría y protocolos de laboratorio*. Mundi-prensa S. A. DF, México. 147.
 53. Villamar, A.L., Guzmán, V.H. (2006). Situación actual y perspectiva de la producción de carne de guajolote (pavo) en México. Coordinación general de ganadería. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y alimentación (SAGARPA)*. 9-12.



54. Villorino, A. (2004). *Carne de cerdo y alimentación saludable*. Universidad Complutense de Madrid. 1-3.
55. Weiner, P. D., and A. M. Pearson. (1966). Inhibición de Rigor Mortis por Acido etilendiaminotetracético. *Biología Médica*. 123,185.
56. Westermeie, R. (2005). *Electrophoresis in Practice*. Alemania: GE Healthcare Bio-Sciences. 426.
57. White, A., P. Handler, and E. L. Smith. (1964). *Principios de Bioquímica*, 3^o edición. McGraw-Hill, New York, 293.

ANEXO: DISEÑO DE PRIMERS

Paso 1: Buscar la página de NCBI (National Center for Biotechnology Information)

The screenshot shows a Google search for 'ncbi'. The search results include a link to the National Center for Biotechnology Information website. A sidebar on the right provides information about the NCBI, including its mission, founding date (November 4, 1988), and a link to its Wikipedia page. The search results also list various databases and resources available on the NCBI website, such as BLAST, PubMed, and Nucleotide.

Paso 2: Entrar al sitio y seleccionar la opción “nucleotide”.

The screenshot shows the NCBI website interface. The navigation menu on the left is open, and the 'Nucleotide' option is highlighted. The main content area displays various resources and services, including 'Download', 'Learn', and 'Research'. The 'Nucleotide' option is selected in the navigation menu.



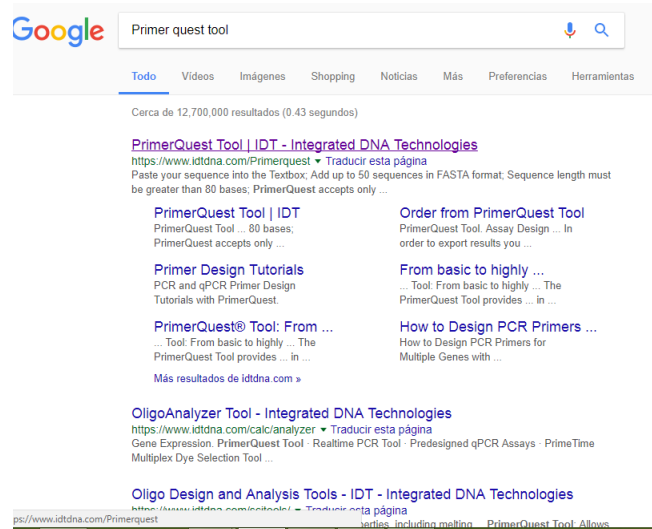
Paso 3: Buscar el ADNmt de las especies de interés con el número de acceso (GenBank) obtenido de Kesmen *et al.*, 2009.

<p>Nucleotide</p> <p>GenBank</p> <p>Meleagris gallopavo mitochondrion, complete genome</p> <p>GenBank: EF153719.1</p> <p>FASTA Graphics</p> <p>Go to</p> <p>LOCUS EF153719 16717 bp DNA circular VMT 26-JUL-2016</p> <p>DEFINITION Meleagris gallopavo mitochondrion, complete genome.</p> <p>ACCESSION EF153719</p> <p>VERSION EF153719.1</p> <p>KEYWORDS</p> <p>SOURCE mitochondrion Meleagris gallopavo (turkey)</p> <p>ORGANISM <i>Meleagris gallopavo</i> Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Archelosauria; Archosauria; Dinosauria; Saurischia; Theropoda; Coelurosauria; Aves; Neognathae; Galliformes; Phasianidae; Meleagridinae; Meleagris.</p> <p>REFERENCE 1 (bases 1 to 16717) AUTHORS Guan,X., Silva,P., Syenal,K.B., Xu,Z., Geng,T., Tu,Z., Samuels,D.C. and Smith,E.J. TITLE The mitochondrial genome sequence and molecular phylogeny of the turkey, <i>Meleagris gallopavo</i> JOURNAL <i>Anim. Genet.</i> 40 (2), 134-141 (2009)</p> <p>REFERENCE 2 (bases 1 to 16717) AUTHORS Guan,X. TITLE Direct Submission JOURNAL Submitted (03-DEC-2006) Animal and Poultry Science, Virginia Tech, 2668 Litton Reaves Hall, Blacksburg, VA 24060, USA</p>	<p>Nucleotide</p> <p>GenBank</p> <p>Bos taurus mitochondrion, complete genome</p> <p>GenBank: AY526085.1</p> <p>FASTA Graphics</p> <p>Go to</p> <p>LOCUS AY526085 16338 bp DNA circular MHV 26-JUL-2016</p> <p>DEFINITION Bos taurus mitochondrion, complete genome.</p> <p>ACCESSION AY526085</p> <p>VERSION AY526085.1</p> <p>KEYWORDS</p> <p>SOURCE mitochondrion Bos taurus (cattle)</p> <p>ORGANISM <i>Bos taurus</i> Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos.</p> <p>REFERENCE 1 (bases 1 to 16338) AUTHORS Chung,M.Y. and Ha,J.H. TITLE Haplotype analysis of mitochondrial DNA in Korean native cattle JOURNAL Unpublished</p> <p>REFERENCE 2 (bases 1 to 16338) AUTHORS Chung,M.Y. and Ha,J.H. TITLE Direct Submission JOURNAL Submitted (09-240-2004) Animal Genomics & Bioinformatics, National Livestock Research Institute, Omsokchon don, Suwon, KY 441701, Korea</p> <p>FEATURES source 1..16338 /organism="Bos taurus" /organella="mitochondrion" /mol_type="genomic DNA"</p>
---	---

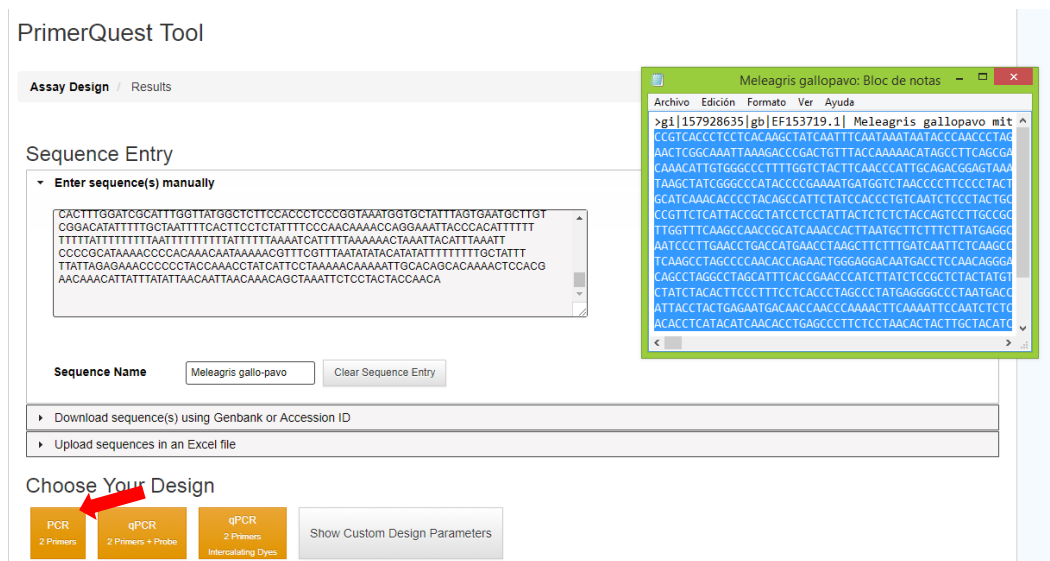
<p>Nucleotide</p> <p>GenBank</p> <p>Sus scrofa mitochondrion, complete genome</p> <p>GenBank: AF034253.1</p> <p>FASTA Graphics</p> <p>Go to</p> <p>LOCUS AF034253 16613 bp DNA circular MHV 26-JUL-2016</p> <p>DEFINITION Sus scrofa mitochondrion, complete genome.</p> <p>ACCESSION AF034253</p> <p>VERSION AF034253.1</p> <p>KEYWORDS</p> <p>SOURCE mitochondrion Sus scrofa (pig)</p> <p>ORGANISM <i>Sus scrofa</i> Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Suina; Suidae; Sus.</p> <p>REFERENCE 1 (bases 1 to 16613) AUTHORS Lin,C.S., Liu,C.Y., Wu,H.T., Sun,Y.L., Chang,L.C., Yen,N.T., Yang,P.C., Huang,H.C. and Mao,S.J.T. TITLE SSCP analysis in the D-loop region of porcine mitochondrial DNA as confirmed by sequence diversity JOURNAL <i>J. Anim. Breed. Genet.</i> 115 (1), 73-78 (1998)</p> <p>REFERENCE 2 (bases 1 to 16613) AUTHORS Lin,C.S., Sun,Y.L., Liu,C.Y., Yang,P.C., Chang,L.C., Cheng,I.C., Mao,S.J. and Huang,H.C. TITLE Complete nucleotide sequence of pig (<i>Sus scrofa</i>) mitochondrial genome and dating evolutionary divergence within Artiodactyla JOURNAL <i>Gene</i> 236 (1), 107-114 (1999)</p> <p>REFERENCE 3 (bases 1 to 16613)</p>	<p>Nucleotide</p> <p>GenBank</p> <p>Gallus gallus mitochondrial genome</p> <p>GenBank: X52392.1</p> <p>FASTA Graphics</p> <p>Go to</p> <p>LOCUS X52392 16775 bp DNA circular VRT 14-JUL-2016</p> <p>DEFINITION Gallus gallus mitochondrial genome.</p> <p>ACCESSION X52392</p> <p>VERSION X52392.1</p> <p>KEYWORDS 12S ribosomal RNA; 16S ribosomal RNA; ATPase 6; ATPase 8; circular; cytochrome b; cytochrome oxidase; cytochrome oxidase subunit I; cytochrome oxidase subunit II; cytochrome oxidase subunit III; NADH dehydrogenase; ribosomal RNA; transfer RNA; transfer RNA-Ala; transfer RNA-Arg; transfer RNA-Asp; transfer RNA-Cys; transfer RNA-Gln; transfer RNA-Glu; transfer RNA-Gly; transfer RNA-His; transfer RNA-Ile; transfer RNA-Leu; transfer RNA-Lys; transfer RNA-Met; transfer RNA-Phe; transfer RNA-Pro; transfer RNA-Ser; transfer RNA-Thr; transfer RNA-Trp; transfer RNA-Tyr; transfer RNA-Val.</p> <p>SOURCE mitochondrion Gallus gallus (chicken)</p> <p>ORGANISM <i>Gallus gallus</i> Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Archelosauria; Archosauria; Dinosauria; Saurischia; Theropoda; Coelurosauria; Aves; Neognathae; Galliformes; Phasianidae; Phasianinae; Gallus.</p> <p>REFERENCE 1 (bases 1 to 16775) AUTHORS Desjardins,P. and Morais,R. TITLE Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome.</p>
---	---

Paso 4: Se descarga cada secuencia de ADN como lo indica la siguiente figura.

Paso 5: Ahora se busca en Google “Primer Quest Tool” para diseñar los *primers*.



Paso 6: Una vez en la página se inserta la secuencia completa de ADNmt de las especies de interés, para posteriormente seleccionar la opción PCR 2 primers.



Paso 7: Se seleccionan los *primers* (Frontal-reverso) considerando el GC%, Longitud y Tm, así como la longitud de amplificación.

Amplicon Length: 666		Start	Stop	Length	Tm	GC%
View Assay Details	Forward	9812	9834	22	62	50
	Reverse	10455	10478	23	62	47.8

Set 3 <i>gallus gallus</i>						
Amplicon Length: 235		Start	Stop	Length	Tm	GC%
View Assay Details	Forward	8928	8950	22	62	50
	Reverse	9141	9163	22	62	50

Set 4 <i>gallus gallus</i>						
Amplicon Length: 549		Start	Stop	Length	Tm	GC%
View Assay Details	Forward	10441	10462	21	62	47.6
	Reverse	10968	10990	22	62	45.5

Set 5 <i>gallus gallus</i>						
Amplicon Length: 754		Start	Stop	Length	Tm	GC%
View Assay Details	Forward	14441	14461	20	62	50
	Reverse	15173	15195	22	62	50

Paso 8: Revisar Harpin para cada primer el cual nos indica la temperatura a la que se forman orquídeas, y el Blast para similitudes 100% de coincidencia con la especie de interés.

Meleagris gallo-pavo

General Information # Bases 22

Run Date: 10/22/2017 6:20:07 PM

CCTACCACATAGTTGACCCAAG

Nucleotide Type: DNA

Sequence Type: linear

Temperature: 25 °C

Max Foldings: 20

Na Concentration: 50 mM

Start Position:

Mg Concentration: 0 mM

Stop Position:

Suboptimality: 50 %

Update Order

Structure Name	Image	ΔG (kcal.mole ⁻¹)	T _m (°C)	ΔH (kcal.mole ⁻¹)	ΔS (cal.K ⁻¹ .mole ⁻¹)	Output
1		-0.31	29.9	-19.3	-63.69	Ct Det
2		-0.05	25.6	-26	-87.04	Ct Det

*Note dNTP Concentration is not taken into account.



Sequences producing significant alignments:

Select **All** None Selected 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Meleagris gallopavo strain Nicholas mitochondrion, complete genome	44.1	44.1	100%	0.025	100%	gi 323368894 JF275060.1
Meleagris gallopavo mitochondrion, complete genome	44.1	44.1	100%	0.025	100%	gi 157928635 EF153719.1
Meleagris gallopavo NADH dehydrogenase subunit 2 (ND2) gene, complete cds, mitochondrial gene for mitochondrial product	44.1	44.1	100%	0.025	100%	gi 14276720 AF22256.1
PREDICTED, Elaeis guineensis uncharacterized LOC105056388 (LOC105056388), transcript variant X3, mRNA	36.2	36.2	81%	6.1	100%	gi 1130643604 XM_010938567.2
PREDICTED, Elaeis guineensis uncharacterized LOC105056388 (LOC105056388), transcript variant X2, mRNA	36.2	36.2	81%	6.1	100%	gi 1130643603 XM_010938565.2
PREDICTED, Elaeis guineensis uncharacterized LOC105056388 (LOC105056388), transcript variant X1, mRNA	36.2	36.2	81%	6.1	100%	gi 1130643602 XM_010938564.2
Meleagris ocellata mitochondrion, partial genome	36.2	36.2	100%	6.1	95%	gi 1000232842 KU094576.1
Diphyllobothrium latum genome assembly D. latum_Geneva_scaffold DILT_scaffold0014760	36.2	36.2	81%	6.1	100%	gi 689079041 LL585007.1
Strongylus vulgaris genome assembly S. vulgaris_Kentucky_scaffold SVUK_scaffold0017166	36.2	36.2	81%	6.1	100%	gi 686805183 LM230314.1
Rhesus Macaque BAC CH250-320322 () complete sequence	36.2	36.2	81%	6.1	100%	gi 116875870 AC191826.3
Diretmoides vericariae mitochondrial DNA, complete genome, except for D-loop	36.2	36.2	100%	6.1	95%	gi 25006803 AP004426.1
Lupinus angustiflorus cultivar Tanilil chromosome LG-04	34.2	34.2	77%	24	100%	gi 1239725805 CP023116.1
Homo sapiens contactin 5 (CNTN5), RefSeqGene on chromosome 11	34.2	34.2	77%	24	100%	gi 102725067 ING_047156.1
Verruconis gallopava hypothetical protein partial mRNA	34.2	34.2	77%	24	100%	gi 1022780947 XM_016352754.1
Drosophila yakuba uncharacterized protein, transcript variant C (Dyak1GE10049), mRNA	34.2	34.2	77%	24	100%	gi 969517468 XM_015197493.1
Drosophila yakuba uncharacterized protein, transcript variant B (Dyak1GE10049), mRNA	34.2	34.2	77%	24	100%	gi 969516488 XM_002088978.2
Uncultured candidate division Zviobacteria bacterium Rifle_16ft_4_minimus_38126 genomic sequence	34.2	34.2	77%	24	100%	gi 87457653 KT07017.1
Ovis canadensis canadensis isolate 43U chromosome 14 sequence	34.2	128	81%	24	100%	gi 8504891142 CP011899.1
Apteryx australis mantelli genome assembly AptMant0_scaffold scaffold100	34.2	34.2	77%	24	100%	gi 840324083 LK391417.1
Apteryx australis mantelli genome assembly AptMant0_scaffold scaffold32	34.2	102	77%	24	100%	gi 840009127 LK064646.1

Paso 9: Una vez corroborada cada una de estas informaciones, se toman las características de primers reverso y frontal de cada especie como se muestra en la siguiente figura.

Back to Results

Parameter Set: General PCR (Primers only)

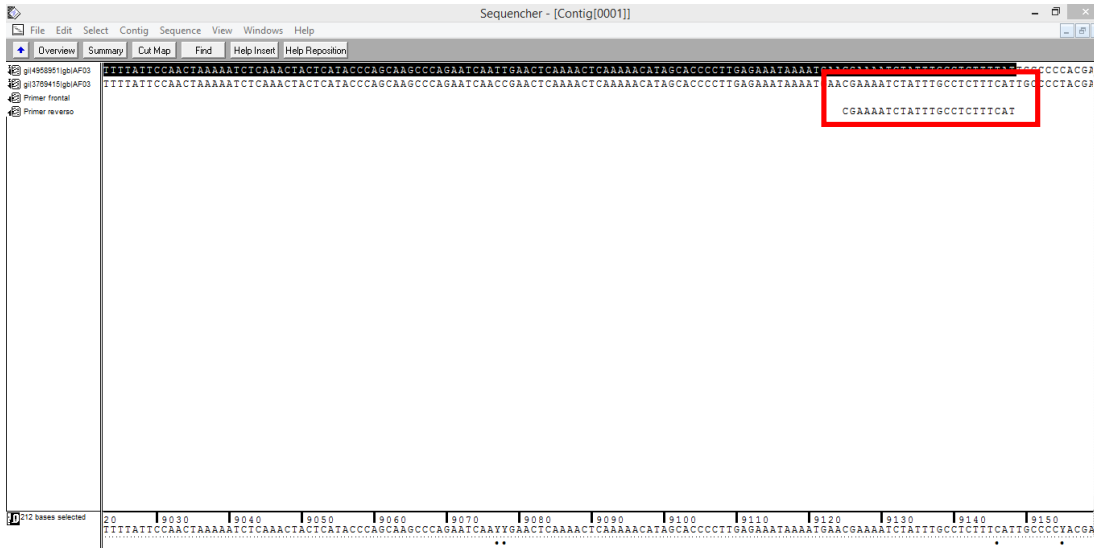
Sequence Name: Meleagris gallo-pavo

Amplicon Length: 515

	Start	Stop	Length	Tm	GC%
Forward CAATCTCCCTACTGCCCATAAC (Sense)	5008	5030	22	62	50
Reverse CTAAGTGCCTGCGGACATAC (AntiSense)	5501	5523	22	62	50

Base	Sequence
1	GCCCCCATAGCTTAACCAAAAGCATGGCCACTGAAGATGCCAAGACGGTAGCATAACTACCTGTGGGCAAAAGACTAGTCCTAACCTTACTATTGATTTT
101	TGCTAAACATATA CATGCAAGTATCCGACTGCCAGTGAAATGCCCCTAACCCCTTAAGAAAAGAAATAAGGAGCAGGATCAGGCCACACTCTAATGTAGC
201	CCAAGACGCCCTTGTGAGCCACACCCCACGGGTATT CAGCAGTAATTAACCTTAAGCAATAAGTGTAAACTTACCTAGCCATAGCAACTTAAAGGTT
301	GSTAAATCTTGTGCGAGCCACCGGGTCAACAAGAAACCCAAATCAATAGCCACTCCGGCTAAAGAGTGGTGCACATGCTATCTATACCAATTAAGATCA
401	AAGTAACTAAGCTGTCAATAGCCCAAGATTCACCTAAGCCCGCTAAAAATGATCTTAAGTAAAGATCAATTAAGCCACGAAAGCAGGGCAC
501	AACTGGATAGATCCACACTAGCCCTGGCCCTAAATCTTGTACTAATATACCTACCTAGCCCTAGCCCTAGCCCTAGCCCTAGCCCTAGCCCTAGCCCT
601	AAAGACTTGGCGGTGCCCTAAACCCACCTAGAGAGCCCTGTTCTGTAACTGATAATCCACGATCCCGCCCAACACCTCTTGGCAACAGCCCTAACATCC
701	GCCGTGCGCAGCCCACTAAAATGAAGATCAATAGTGAAGCTCAATAGTCCCACTAAACAAGACAGGTCAGGATAGCCCATGAGGTTGAAAGAAATGGG
801	CTACATTTCTAACTAGAAACAGACGAAAGAGGCGGTGAAACTGCGCCCTTGGAGAGGAGTTAGCACTAAGTAAGACCACTACTCTCTTAAGCTACT
901	TAAAGACGCCCTGGGACAGTACATAGCCCGCTCACCTCCCTCAGCAAGCTATCAATTTCAATAAATTAATCCCAAGCCCTTACTAAGATGAGGTAAGT
1001	CSTAAACAAAGTAAAGCTAAGCCAGGCTGCGCTTAGACTACCAAGGCTAGCTATAAAGCCATAAGCATTACAGCTTACAGCTGAAAGTACCTTTAACAAC
1101	AAAGTGGCTTGAATGCTTGCCTTCCCTTAGCCCAACACCCATACCCCAATTAACCATCAAAAACCTACTAGCCCAAACTAAACATTTCTAACCTACT
1201	CCTAGTATAGGTGATGAAAAGACCTTAGGCGCAATAGAGACCAACCGTACCGTAAAGGAAAAGATGAATATAGTGAAGACCATAGCAAAAATAGTATA
1301	AAAGACCAACCTTGTACTCTTGTGATGATTAGCAAGAACCAACCAAGCAAGCGAATCAAAAGTTTGCCTCCGAAACCTAAGGAGCTTACTAGC
1401	AGCAGCTAAATTAAGCGAAACCCATCTCTGTCGCAAAAGAGTGGGATGACTTGGTGGTAGAGGTGAAAGCCCAATCGAGTAGGTTGATAGCTGGTACT
1501	GCTAAATGAAATTAAGTTCTCCCTTAAACCCATTCAACAGGACATTCACCCAAACCCCTGCTCATGTAGGGTTAAGAGCAACTCGACGGGGTACAGCCCC
1601	CTCGAAAAGAAATACAACTCCCGCCAGGGATAATACACTTTCTCCACCTATCGTAGGCCCTAAGCAGCCATCAACAAAAGAGTGGGTCAAAGCTCCA
1701	CCAAATAAAAATCTAGAACCTTATCGACTCCCTCACTAAAGCAGGTTAACTATGAAAATAAGAAATTTATGCTAAATAGATTAAGTAAAGAACCTCC
1801	TTCAACAGCGTAAACTTACATTAATATATTAACAAGACTCAACTTATATACGCACTCAACAGACTTATATTAAGCCTAAACCTGTTAAGCAA
1901	ATCTAGGAGGCTTATTAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCTTAAAGGCT

Paso 10: Por último, con el programa bioinformático “Sequencher” se corroboran las secuencias de *primers* creando un nuevo archivo en el cual se selecciona el ADNmt de cada especie y se insertan y ensamblan los *primers* para asegurarse de que sean los adecuados.



Paso 11: Después de diseñar los *primers* frontal y reverso, se hace el cálculo de la T_m de cada uno de ellos con la siguiente ecuación:

$$T_m = [(G + C)4] + [(A + T)2] - 5$$

En la cual se sustituye el número de guaninas, citosinas, adeninas y timinas de cada uno de los *primers* frontal y reverso de cada una de las especies.

Especies	Primer frontal	Primer reverso
<i>Gallus gallus domesticus</i>	GGAGCTAACCCAGCTACATAC	GGGTTGGATAAGCAGAGAGAAG
<i>Sus scrofa domesticus</i>	GCCCTCATAGCCCTACATATTC	GGTTCCTAAGACCAACGGATAG
<i>Bos taurus</i>	CGCCGGACTCTATTTCTATTC	TAACGAGTGCTATGTGGCTTAC
<i>Meleagris gallo-pavo</i>	CAATCTCCCTACTGCCATAAC	CTAAGTGCTGTGCCGACTATAC



Paso 12: Obteniendo así la Tm de cada pareja de *primers* para posteriormente sacar su promedio y tener la Tm del *primer* de cada especie.

Especie	Tm primer frontal	Tm primer reverso	Tm promedio
<i>Gallus gallus domesticus</i>	61°C	61°C	61°C
<i>Sus scrofa domesticus</i>	61°C	61°C	61°C
<i>Boss taurus</i>	61°C	59°C	60°C
<i>Meleagris gallo-pavo</i>	61°C	61°C	61°C

