

**LABORATORIO DE DESARROLLO DE ALIMENTOS DE LA DIVISION DE
ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**

**“EVALUCION DEL TIEMPO DE MADURACION EN SECO DE CARNE DE
CERDO PELON MEXICANO A PARTIR DE CAMBIOS PROTEOLITICOS”**

TESIS PARA TITULACIÓN INTEGRAL

INGENIERÍA BIOQUÍMICA

**EGRESADO:
BRIANI DEL CARMEN PECH ZAMARRIPA**

**DIRECTOR Y CO-DIRECTOR:
DR. JORGE CARLOS CANTO PINTO
DR. VICTOR MANUEL MOO HUCHIN**

Calkiní, Campeche, México 2025



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Subdirección de Planeación y Desarrollo

Instituto Tecnológico Superior de Calkiní
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante

Calkiní, Campeche 45957
P/10/25/801
INGENIERÍA BIOQUÍMICA

CONSTANCIA DE NO INCONVENIENCIA

MODALIDAD: **TESIS**

C. BRIANI DEL CARMEN PECH ZAMARRIPA 6841
PASANTE DE LA CARRERA DE
INGENIERÍA BIOQUÍMICA.
PRESENTE

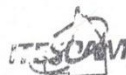
Con relación a lo establecido en el Reglamento de Estudios de Licenciatura, capítulo VII, fracción I, vigente en este Instituto, y una vez emitido el fallo favorable por el director DR. JORGE CARLOS CANTO PINTO, y el co-director DR. VICTOR MANUEL MOO HUCHIN, respectivamente, este Instituto consta de no tener inconveniencia para la realización del acto protocolario de titulación integral de su trabajo profesional titulado: **"EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE MADURACIÓN EN SECO DE CARNE DE CERDO PELÓN MEXICANO A PARTIR DE CAMBIOS PROTEOLÍTICOS"**.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Sabiduría, Fortaleza de Nuestra Cultura®

Dr. Jorge Alfonso Hau Puc.
Departamento de Administración y
Apoyo al Estudiante.

C.c.p. Archivo



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE CALKINÍ
DEPARTAMENTO DE ADMINISTRACIÓN
ESCOLAR Y APOYO A
ESTUDIANTES
CLAVE: 04MSU0013P
CALKINÍ, CAMPECHE, MÉXICO.



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal, Calkiní, Campeche,
C.P. 24900 Tel. 996-8134870,
e-mail: se_dcalkini@tecnm.mx | itescam.edu.mx



Agradecimientos

RESUMEN

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	8
2.	MARCO TEÓRICO	11
2.1	Cerdo Pelón Mexicano (CPM).....	11
2.2.	Características de calidad de la carne y sus cortes.....	14
2.3	Maduración en seco (Dry Aged).....	18
2.3.1	Tipos.....	19
2.3.2	Factores que afecta la maduración en seco.....	22
2.3.3	Efecto de la maduración en seco de la carne sobre la ternera, color, flavor, etc. 23	
2.3.4	Proteólisis durante la maduración en seco.....	26
3	OBJETIVOS	30
3.1	General.....	30
3.2	Específicos	30
4	JUSTIFICACIÓN	31
5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
5.1.	Estrategia general de trabajo	33
5.2	Obtención del corte bondiola	33
5.3.	Maduración en seco y muestreo	34
5.4.	Métodos analíticos	35
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
7	CONCLUSIÓN.....	55
8	ANEXOS	¡Error! Marcador no definido.
9	BIBLIOGRAFÍA.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Genotipo de Cerdo Pélon Mexicano.....	11
Figura 2. Cerdo Pelón Mexicano criado en traspatio.	12
Figura 3. Características de los Cerdos Pelón Mexicano. Foto propia.	13
Figura 4. Refrigerador Dry Aged	19
Figura 5. Maduración en seco sin bolsa UMAi Dry.	20
Figura 6. Maduración en seco con bolsa UMAi.	21
Figura 7. Oxidación y reducción de los pigmentos en la carne.	26
Figura 8. Estrategia general de trabajo.	33
Figura 9. Proceso para invertir la imagen.....	41
Figura 10. Obtención de tabla de datos.....	42
Figura 11. Selección por corrida total y por pesos moleculares.....	43
Figura 12. Fórmula para la obtención de datos en Excel.....	43
Figura 13. Variación de IFM de la carne de CPM madurada en seco a diferentes tiempos.	45
Figura 14. Variación de la solubilidad de proteínas de la carne de CPM madurado en seco	47
Figura 15. Variación del colágeno total de la carne de CPM madurada en seco a diferentes tiempos.....	51
Figura 16. Variación de la fuerza de corte de la carne de CPM madurada en seco a diferentes tiempos.....	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cortes de carne de CPM.	15
Tabla 2. Estudio del rendimiento de la carne de Cerdo Pelón Mexicano con diferentes dietas de forrajes.	17
Tabla 3. Factores que afectan la maduración en seco.	22
Tabla 4. Evaluación de la proteólisis de carne madurada en diferentes animales a diferentes condiciones.	26

1. INTRODUCCIÓN

El cerdo pelón mexicano (CPM) es una raza porcina desarrollada en la Península de Yucatán, México. El CPM se caracteriza por su piel oscura y sin pelo, lo que lo hace especialmente adaptable al clima cálido y húmedo de la región sureste de México. Además, el cerdo es de tamaño mediano, con una estructura corporal robusta (Lemus Flores & Alonso Spilsbury, 2005). La producción local del cerdo es importante para preservar las tradiciones de su manejo y su conservación de la raza. Además, la comercialización del cerdo es una fuente proteica en la dieta y una fuente de ingresos para las comunidades rurales. Tradicionalmente, la carne de CPM se utiliza para la preparación de platos tradicionales yucatecos como la cochinita pibil, que es una parte esencial de la gastronomía típica de la región. Además, la cría del CPM en sistemas extensivos respetuosos con el medio ambiente promueve la sostenibilidad y preserva los métodos agrícolas tradicionales, ayudando a fortalecer el vínculo entre la comunidad y su territorio (Rosado Aguilar et al., 2022).

La carne del CPM se destaca por su alto contenido de grasa intramuscular, lo que le da un marmoleo característico que mejora su jugosidad y sabor. Esta característica se debe a que el CPM no se ha sometido a procesos intensivos de selección genética, manteniendo una alta actividad lipogénica en las primeras etapas de desarrollo. Además, la alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados de la carne de CPM contribuye a su perfil organoléptico único (Dzib-Cauich et al., 2020).

El CPM puede representar una muy buena alternativa sustentable en el consumo de carne tipo gourmet para nuevos mercados especializado (Ángel Hernández et al., 2020).

La valorización de la calidad de la carne de CPM tendría un impacto significativo para el rescate y preservación genética como raza en Yucatán (Rosado Aguilar et al., 2022).

La maduración en seco, conocida como Dry aged, es un proceso que tiene como propósito principal mejorar ciertas características de la carne, como su sabor, terneza y jugosidad. Durante este proceso, la carne está bajo ciertas condiciones controladas de temperatura, humedad y velocidad de aire durante un periodo de tiempo. En el proceso, la carne se deshidrata y las enzimas (proteasas y lipasas) hidrolizan las proteínas miofibrilares y grasas, resultando en una carne con mejor textura y realzando su sabor (Carnicas Discare, 2023).

En este proceso es importante destacar que hay diversos factores que deben ser cuidadosamente controlados para obtener resultados óptimos, las cuales son la temperatura, tiempo de maduración, humedad relativa de la cámara, flujo de aire entre los más importantes (Vitale, 2016).

En el siguiente trabajo de Jaramillo Recalde (2016) se evaluó el efecto de la maduración en seco y en húmedo sobre la calidad de la carne bovina (*Longissimus dorsi*) de hembras Holstein. Los resultados de los autores indicaron que, a los 12 d, la maduración en seco y húmedo obtuvieron un valor más bajo de la fuerza de corte de 23 N, demostrando una mejora significativa en la terneza de la carne.

En el trabajo de (Guuml rbuuml z et al., 2022) se investigó los efectos del proceso de maduración en seco sobre la calidad de la carne de cordero de la raza Akkaraman. Utilizando los músculos *Longissimus thoracis* (LT) y *Longissimus Lumborum* (LL), las muestras se sometieron a maduración en seco durante 0, 7 y 14 días en condiciones controladas de 1 °C, con humedad relativa de 85 % y flujo de aire de 0.2- 0.5 m/s. De acuerdo con estos mismos autores, no se registraron cambios significativos en los valores de pH en los músculos LT y LL a lo largo del periodo de maduración; sin embargo, en las muestras LT se presentó una mayor pérdida de peso de 700 ± 15 a 570 ± 9.5 , un incremento significativo en los valores de color a^* de 12.37 ± 0.55 a 14.66 ± 0.29 (rojo) y b^* (amarillo) de 10.36 ± 0.61 a 12.07 ± 0.29 , y una menor fuerza de corte en comparación con las muestras LL siendo de 22.96 ± 1.66 N a 17.36 ± 0.74 N. La maduración en seco mostró una disminución significativa de la fuerza de corte en las muestras LL después de 7 d, indicando una mejora en la terneza de la carne.

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del tiempo de maduración en seco de la carne de cerdo pelón mexicano (CPM) sobre los principales cambios proteolíticos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Cerdo Pelón Mexicano (CPM)

Los cerdos Célticos, Ibéricos, Napolitanos y animales de raza asiática, introducidos por los españoles y China, respectivamente condujo a la formación de un genotipo denominado Cerdo Pelón Mexicano (Figura 1), debido a la falta de control entre el cruzamiento de distintas razas de cerdos criollos (Lemus Flores & Alonso Spilsbury, 2005). El nombre proviene del Maya “*Birich KéeKén*”, que significa Cerdo Pelón (Ogato, s. f.).



Figura 1. Genotipo de Cerdo Pélon Mexicano.

El CPM es un genotipo más difundido de cerdos criollos, estos animales están ampliamente distribuidos en todas las regiones costeras y en el sureste de México tales como los estados de Oaxaca, sur de Veracruz, Tabasco, Chiapas, Campeche, Quintana Roo, Yucatán y algunos estados hacia el occidente como Nayarit y Jalisco (Lemus Flores & Alonso Spilsbury, 2005). En la Península de Yucatán, la carne de CPM es una fuente importante de proteína para la dieta humana y brinda beneficios económicos a los productos. Hay escasos registros de la población de CPM en

Yucatán y de lo reportado en 2010, se indica un registro en existencia de alrededor de 1,000 cerdos puros en Yucatán (Castro Marín, 2010).

Los animales son criados en comunidades rurales en explotación de tipo familiar (Figura 2). Es un genotipo que escasamente participa en programas de selección genética y son poblaciones de CPM ampliamente heterogéneas. Además, en ocasiones están cruzados con otras razas de cerdos, pero conserva un elevado grado de características de estas poblaciones (Lemus Flores & Alonso Spilsbury, 2005).



Figura 2. Cerdo Pelón Mexicano criado en traspatio.

Los CPM tiene la cabeza y cara rectilínea; orejas de tamaño mediano, semirrectas; dorso un tanto rectilíneo, con ancas completamente caídas; el cuerpo esta parcial y totalmente desprovisto de pelo; su color es grisáceo o combinado con blanco, y son de talla mediana teniendo una alzada de 57 a 76 cm, una longitud de 83 cm, con un peso adulto de 70 a 83 Kg (Figura 3) (Lemus Flores & Alonso Spilsbury, 2005). De acuerdo con De La Rosa et al., (2021) estos animales son considerados una especie en riesgo de pérdida genética debido al intercambio genético entre razas, el mestizaje y la cría descontrolada. A pesar de estar en peligro de extinción, productores que tienen el interés de incrementar su valor agregado a sus productos cárnicos procesados, han impulsado durante los últimos años la cría y producción de carne de CPM (Sierra Martínez, 2019).



Figura 3. Características de los Cerdos Pelón Mexicano. Foto propia.

Debido a su pequeño tamaño y a la alta producción de grasa subcutánea, la carne de CPM no ha sido valorada a nivel comercial, sin embargo, al probarse recientemente que la calidad de la carne del CPM corresponde a una carne exquisita, tierna y con un sabor singular, el cuál son características diferentes al de otros cerdos haciéndola apropiada para su industrialización, con excelentes productos embutidos de tipo ibérico, se presenta una oportunidad para estudiar y difundir la elaboración de productos en las comunidades rurales, para crear una cultura de conservación y uso de proteína animal en la alimentación humana, mejorando el nivel de nutrición y beneficiando la preservación y uso de este tipo de cerdo, fomentando además, una agrupación de criaderos de CPM que nos permite estudiar y mejorar este cerdo (Lemus Flores & Alonso Spilsbury, 2005).

Dado que proporciona un sustituto de la producción comercial de carne del cerdo americano común usado en la industria cárnica, el CPM ha desempeñado un papel importante en la economía de supervivencia de los pueblos mayas durante muchos años. De lo que se sabe, la carne del CPM es muy reconocido, atribuido al manejo de los animales en las poblaciones rurales, incluyendo la dieta del animal aprovechando una gran cantidad de forrajes nativos, como son las hojas de Ramón, Huaxin, Tzitzilché, Chichibé, Jabín, entre otros, raíces y tubérculos (maíz, calabaza, yuca,

camote), y son animales resistentes a enfermedades zootécnicas (Rosado Aguilar et al., 2022).

En el mercado gourmet se ha producido un aumento en la demanda de la carne de CPM. Los restaurantes en México, particularmente en Mérida, Yucatán, demandan 4,000 cerdos anualmente, además de 500 cerdos criados en otros estados, según datos de la Asociación Mexicana Especializada en Cerdos Criollos (AMECC) (Rosado Aguilar et al., 2022).

2.2. Características de calidad de la carne y sus cortes

La conformación corporal del cerdo es uno de los muchos y muy variados factores que afectan la calidad de la carne de cerdo, que refiere el rendimiento en canal, y las características de la carne y grasas producidas, expresadas en su consistencia, color, olor y flavor (Pedraza Aguilar, 2019).

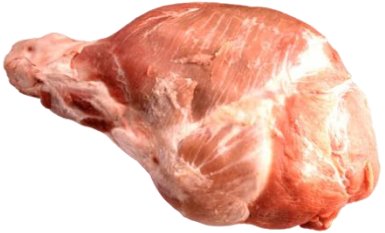
La carne debe estar firme, tener un color brillante y una superficie libre de exudado. Después de la cocción, la carne debe tener un sabor agradable, una textura distinta y un buen aroma. Su contenido proteico, la disponibilidad biológica de los aminoácidos esenciales, las vitaminas hidrosolubles, los minerales y los lípidos de alta energía son factores que determinan su valor nutricional (Pedraza Aguilar, 2019)

La carne CPM tiene ventajas que la hacen competitiva y sostenible. Este genotipo de cerdos exhibe rasgos fisicoquímicos comparables a los de otros tipos de razas comercialmente reconocidas. Además, la carne de estos cerdos tiene un sabor distintivo y un veteado de ácidos grasos de alta calidad. Otras especies de animales no se benefician de la calidad distintiva de la grasa intramuscular que se encuentra en la carne. Los ácidos grasos Omega 3 y Omega 6, consideradas grasas buenas, abundan en la carne de CPM. Estos lípidos también están presentes en la dieta del cerdo ibérico, muy conocido en Europa por productos premium como el jamón serrano (Sierra Martínez, 2019). Su sabor singular, tierno, exquisito de la carne CPM, diferentes al de otras razas semejantes, es característico de la capacidad genética lograda por el CPM.

Los cortes primarios del CPM se separan en varias partes que se utilizan en la preparación de alimentos, al igual que los de otras razas de cerdo. Algunos de los cortes primarios comunes incluyen (tabla 1):

La tabla 1 muestra los cortes primarios comunes que podemos obtener del CPM.

Tabla 1. Cortes de carne de CPM.

Corte	Descripción	
Lomo	Se encuentra a lo largo de la espalda y es la parte que contiene más carne magra.	
Cabeza de lomo	Es la parte del lomo de cerdo que está más cercano a la cabeza o al cogote de la cabeza. Es un trozo de carne mucho más grasa y jugosa que el resto del lomo del cerdo.	
Pernil o pierna	Se obtiene del cuarto trasero una vez que se ha cortado el rabo y separado la pezuña, realizando un corte aproximadamente a la mitad de la longitud del hueso de la tibia.	

Paleta o brazo	Es el miembro delantero del cerdo. Que incluye pezuña delantera y todos los músculos que se encuentran alrededor de los huesos de la escapula, humero y radio, entre otros.	
Costillar	Son todas las costillas junto con la falda, tal como se obtiene de la media canal.	
Tocino	Es la grasa que se obtiene entre la piel y el musculo, en cualquier parte de la canal.	
Panza	Una de las partes con más grasa del cerdo es la panceta, esta parte también es conocida por el “bacón” o el “tocino” que son cortes de la panceta.	

Papada	Son los músculos cutáneos de la cara: músculos digástricos y músculos milohioideo.	
---------------	--	--

Una dieta adecuada influye en la salud y el bienestar del animal, así como también impacta directamente en las propiedades organolépticas y físicas de la carne obtenida.

El brindar una dieta equilibrada a la formación de tejido muscular magro, lo que mejora la terneza y el sabor de la carne. Ciertos autores (tabla 2) plantean dietas diseñadas utilizando diferentes forrajes para criar al CPM y tener calidad y rendimiento en la canal proporcionándole un equilibrio óptimo entre las porciones de grasa y carne magra.

La tabla 2 muestra las investigaciones recientes sobre la calidad de la carne del CPM utilizando diferentes forrajes.

Tabla 2. Estudio del rendimiento de la carne de Cerdo Pelón Mexicano con diferentes dietas de forrajes.

Dieta	Características de la calidad evaluada	Resultados	Autor
Maíz quebrado adicionado con vitaminas y minerales (MA) y adicionado con soya (MS).	Crecimiento y niveles hormonales y ganancia de peso en CPM. Dieta a base de maíz quebrado: MA + 7.8 % de proteína cruda y MS + 13.8 % de proteína cruda.	La dieta MS tuvo valores mayores que los de MA, con respecto al rendimiento en consumo del alimento y ganancia de peso vivo (16.32 kg).	(Hernández Velázquez, 2019)

Ensilaje de maíz criollo Chak Nal tel (Nal), San Pableño (San), maíz híbrido (Hib) y alimento comercial (AlCo).	Consumo y ganancia de peso en el CPM. Dieta con ensilado de maíces criollos: dieta control, T0 AlCo 100 %, T1 Nal 30 % + AlCo 70 %, T2 San 30 % + AlCo 70 %, T3 Hib 30 % + AlCo 70 %.	La ganancia de peso de los cerdos obtenida con Nal 30 % + AlCo 70 % es comparable a los obtenidos con alimento comercial (3.4. kg).	(Bautista Rodríguez, 2021)
Pasta de aguacate (<i>Persea americana</i> Mill.) (PA)	Características de la canal y ganancia de peso. Dieta a base de PA en 0, 2.5, 5 y 10 %.	El 10 % de PA en los cerdos mostró un mejor rendimiento de la canal en comparación de los otros porcentajes. Rendimiento de la canal, control (PA0 %): 53.29 kg, PA10 %:48.88 kg.	(Jiménez et al., 2021)
Hojas de <i>B. alicastrum</i> (BA) y <i>M. oleifera</i> (MO)	Calidad de la canal y cortes primarios. Evaluando una dieta con forrajes: dieta control, 10 % MO, 10 % BA, 5 % MO + 5 % BA	El peso de lomo (4 kg) fue mayor para animales con una dieta de BA.	(Cauich et al., 2022)

2.3 Maduración en seco (Dry Aged)

Consiste en el proceso de someter a la carne para su añejamiento, que se realiza durante un tiempo prolongado en ambientes con humedad y temperatura controladas utilizando cámaras frigoríficas (figura 4). La maduración de la carne se puede prolongar de días hasta años, pero generalmente se madura entre 7 y 21 días a una humedad relativa entre 60 y 80 %. Se sabe que el envejecimiento hace que la carne sea más tierna durante su almacenamiento post mortem bajo condiciones de refrigeración;

entonces, el aumento de la ternura se debe a la pérdida de la integridad de las miofibrillas postmortem (López-Maldonado, 2009).



Figura 4. Refrigerador Dry Aged

Para este tipo de maduración se pueden hacer con diferentes tipos de cortes de carne de cualquier animal, comúnmente podemos encontrar este tipo de proceso en carne de cerdo, bovinos, corderos y algunas veces en aves. Se puede madurar carne magra o con un alto contenido graso distribuido en el corte de manera uniforme, la grasa ayuda a proteger a las piezas de un deterioro interno. Durante la maduración, las enzimas de la carne actúan sobre el tejido muscular, ablandando la carne y resaltar su sabor (Palanca Carnissers, 2017).

2.3.1 Tipos

Hablando tradicionalmente, la maduración se realiza manteniendo la canal entera, media canal o un cuarto de canal en cámaras frigoríficas. Todavía hay un mercado para la carne que es madurada de forma tradicional, pero por lo general, los cortes que están destinados a ser picados o cortados en cubos son separados del canal en un plazo de una semana, y solo los cortes que serán para asarse o freírse son dejados madurar por más de 7 días (Vitale, 2016). No se requiere ninguna preparación especial

para madurar un corte de carne; dependiendo del método y del espacio disponible, se puede realizar con o sin hueso.

2.3.1.1 Maduración en seco sin bolsa (Tradicional)

Consiste en dejar reposar la carne (canal entera, cuartos o cortes), sin envolver y sin envasar, se almacena en una sala o cámara frigorífica (Figura 5), especialmente construida para mantener un ambiente con parámetros de temperatura, humedad, flujo aire y nivel de bacterias estrictamente controlado (Vitale, 2016).

Después de la muerte del animal y su posterior limpieza, normalmente se corta por la mitad (un corte longitudinal) o en cortes primarios grandes, que luego se colocan en un refrigerador. Las piezas se cuelgan en ganchos en refrigeradores especiales con aire circulante. El flujo de aire es un factor muy importante, por lo que debe haber cierta distancia entre las piezas. El ambiente dentro del refrigerador debe permanecer en un clima de 1.5 °C y 3.0 °C con una humedad relativa de 60 y 80 % y las piezas pueden permanecer entre 21 y 28 días de maduración (Samuel, 2019).



Figura 5. Maduración en seco sin bolsa UMAi Dry.

2.3.1.2 Maduración en seco con bolsa

Consiste en madurar la carne (canal entera, cuartos o cortes) envasadas en bolsas permeables al vapor de agua utilizando las bolsas Tublin bag (TUBLIN 10, TUB-EX ApS, Dinamarca) o Umai dry bag (UMAI Dry; ZACROS USA, Wayzata, MN) (Panella-Riera et al., 2021). Estas bolsas imitan la maduración en seco tradicional y permiten una elevada transmisión unidireccional del agua al exterior, pero requieren menos control ambiental y reducen las pérdidas de rendimiento (Leighton et al., 2021)

La bolsa UMAi Dry se caracteriza por la capacidad de crear un ambiente controlado y seguro para el proceso de maduración en seco. Crea una barrera eficaz contra posibles contaminantes manteniendo la integridad de la carne. También está diseñado para adherirse mejor a la superficie de la carne, maximizando la transferencia de sabor y garantizando resultados uniformes. Comparando el método tradicional y con bolsa, el primer proceso requiere un control ambiental exhaustivo y da lugar a mayores pérdidas de peso (Leighton et al., 2021).

No hay riesgo de contaminación en las bolsas UMAi Dry. Para un envejecimiento en seco seguro y eficaz, se necesita el 75-80 % de la superficie de la carne este en contacto con la membrana de la bolsa para que tenga una buena adherencia (Figura 6).



Figura 6. Maduración en seco con bolsa UMAi.

2.3.2 Factores que afectan la maduración en seco

La maduración en seco es una técnica culinaria conocida por su capacidad para realzar la ternura y el sabor de la carne. Sin embargo, el éxito depende de la aplicación de la técnica en sí, así como de comprender de los factores que pueden influir en este proceso.

La interacción de variables como la temperatura, la humedad, el tiempo de maduración y la calidad inicial de la carne juegan un papel importante para determinar el resultado final. El estudio de estos factores (Tabla 3), permite comprender el mecanismo de los cambios bioquímicos que ocurren durante la maduración en seco, optimizando el proceso para lograr los resultados deseados.

Tabla 3. Factores que afectan la maduración en seco.

Factores	Descripción	Referencia
Tiempo	El tiempo de maduración determina la ternura de la carne y los atributos diferentes de flavor y olor que adquiere la carne a lo largo del proceso. La mayoría de los investigadores coinciden en que el período de maduración más habitual es entre 14 y 40 d, con recomendaciones de 70 d. Según este autor, el mejor resultado en la maduración se produce a los 21 d. La edad del animal es un factor importante para determinar el tiempo, entre más edad tenga el animal, mayor será el tiempo de maduración.	(Y. H. B. Kim et al., 2018) (Ferreira et al., 2018; Hulánková et al., 2018; USMEF, 2014) (DeGeer et al., 2009; Smith et al., 2014)
Temperatura	La temperatura es un parámetro importante durante el proceso. Cuanto la temperatura es más alta, más rápido son los cambios en textura, flavor, color, entre otras características en la	(Ahnström et al., 2006; Dashdorj et al., 2016; Y. H. B. Kim et al., 2018)

	carne, pero en estas condiciones se promueve el crecimiento bacteriano, desarrollando malos olores. Es por esto, que se recomiendan una temperatura de maduración de 0 y 5 °C.	
Humedad	La humedad relativa (HR) es crucial porque la humedad excesiva puede provocar el crecimiento de bacterias, causando sabores desagradables. Sin embargo, si la humedad es muy baja, no habrá ningún crecimiento microbiano y se perderá más peso de la carne por evaporación. También provocaría la pérdida de jugosidad en la carne. Durante el proceso de maduración, la HR puede variar entre el 49 y 87 %, según las guías de recomendaciones, la HR recomendada esta entre 75 y 85 %.	(Dashdorj et al., 2016; Y. H. B. Kim et al., 2018; USMEF, 2014)
Flujo de aire	La carne debe poder liberar la humedad necesaria para el proceso de secado, por lo que debe haber suficiente flujo de aire. La carne se secará más rápido y las pérdidas de recortes aumentaran si hay demasiado aire presente. Para la maduración en seco, se especifica que la velocidad adecuada esta entre 0.2 y 16 m/s sobre el producto y se recomienda un flujo de aire de 0.5 a 2.0 m/s.	(Dashdorj et al., 2016) (S. Kim et al., 2019; Lee et al., 2019; USMEF, 2014)

2.3.3 Efecto de la maduración en seco de la carne sobre la terneza, color, flavor, etc.

2.3.3.1 Terneza

La terneza es una característica multidimensional de la carne relacionada principalmente con su dureza y su desmenuzabilidad, se considera la principal propiedad de calidad de la carne (Cañeque & Sañudo, 2000). Este reconocimiento muestra un impacto directo en la conciencia mundial sobre la calidad de los productos cárnicos. Las sutilezas influyen en la experiencia sensorial del consumidor y tienen un impacto directo en la percepción y la satisfacción (Bianchi et al., 2004). Es un punto de partida importante para evaluar otras características de calidad de la carne. Hasta alcanzar un cierto nivel de ternura, la evaluación de otras cualidades como el sabor, la jugosidad y la textura pueden ser subjetivas o limitadas.

2.3.3.2 Jugosidad

La jugosidad está determinada por dos factores importantes: la capacidad de retención de agua y la cantidad de grasa intermuscular de la carne. Esto nos indica que la presencia de humedad y grasa afectan directamente en la percepción que se tenga jugosidad de la carne. El proceso de detección de jugosidad consta de dos pasos: la primera implica la liberación del jugo de la carne durante las primeras masticaciones creando una sensación de humedad y la segunda es una sensación persistente en la boca, influenciada por la estimulación de la grasa durante la salivación (Hocquette et al., 2010).

2.3.3.3 Flavor

El flavor corresponde a la combinación de sensaciones olfativas y gustativas experimentadas en el momento del consumo. Este término hace referencia tanto al sabor como al olor de los alimentos, ligado con la presencia de compuestos volátiles. A pesar de estar presente en cantidades muy pequeñas, estos compuestos químicos influyen en la aceptabilidad, sin afectar el valor nutritivo. Es un proceso que se inicia instantes antes de la introducción del bocado a la boca y que persiste durante la masticación, en particular la jugosidad y la textura conformando la aceptación sensorial del consumidor (Onega Pagador, 2005).

Durante el proceso de maduración en seco, los jugos son absorbidos por la carne y se produce la descomposición química de las proteínas y los componentes grasos, lo que le da a la carne un sabor a nuez y un sabor más fuerte (DeGeer et al., 2009).

2.3.3.4 Color

El color es una propiedad organoléptica importante, ya que es lo primero que nota el consumidor al elegir un producto y realizar la compra de carne (Baidal Freire, 2021). Esto se determina por la concentración de un pigmento que forma parte de las proteínas. Este pigmento se llama “Heme” y las dos proteínas que lo contienen en los organismos son la hemoglobina, que transporta el oxígeno a los pulmones de las células y la mioglobina, que almacena el oxígeno de las masas musculares (Becerril Herrera, 2004).

La concentración de la mioglobina está sujeta a diversos factores de producción como la especie, la raza, la edad el tipo de músculo y la dieta. El estado de oxidación o desnaturalización de la mioglobina se ve afectado por procesos postmortem, que incluyen la reducción, así como el tiempo de almacenamiento y las condiciones durante su comercialización (Sierra Sánchez, 2010).

Debido a las proteínas mioglobina y hemoglobina, se les puede atribuir el color rojo intenso del músculo. El color de la carne puede cambiar según el estado químico de la mioglobina (Baidal Freire, 2021):

- Mioglobina Reducida (Deoximioglobina Mb) – Rojo purpura.
- Mioglobina Oxigenada (Oximioglobina MbO₂) – Rojo brillante.
- Mioglobina Oxidada (Metamioglobina MMb) – Marrón, pardo carne.

En la Figura 7, se observa el fenómeno redox en los pigmentos de la carne, como se ha dicho antes. En condiciones donde no hay presencia de oxígeno, el pigmento se asemeja a la deoximioglobina o mioglobina reducida (Mb), que exhibe un tono rojo purpura. Sin embargo, al entrar en contacto con el aire, el pigmento experimenta oxidación y se convierte en oximioglobina (MbO₂), otorgando un color rojo brillante que resulta más atractivo para los consumidores. Tanto la mioglobina como la

deoximioglobina tienen la capacidad de reaccionar con el oxígeno, dando lugar a la formación de la forma oxidada del pigmento denominada metamioglobina (MMb), la cual presenta un color marrón oscuro que los consumidores perciben como una degradación del producto (Ochoa Florez, 2022).

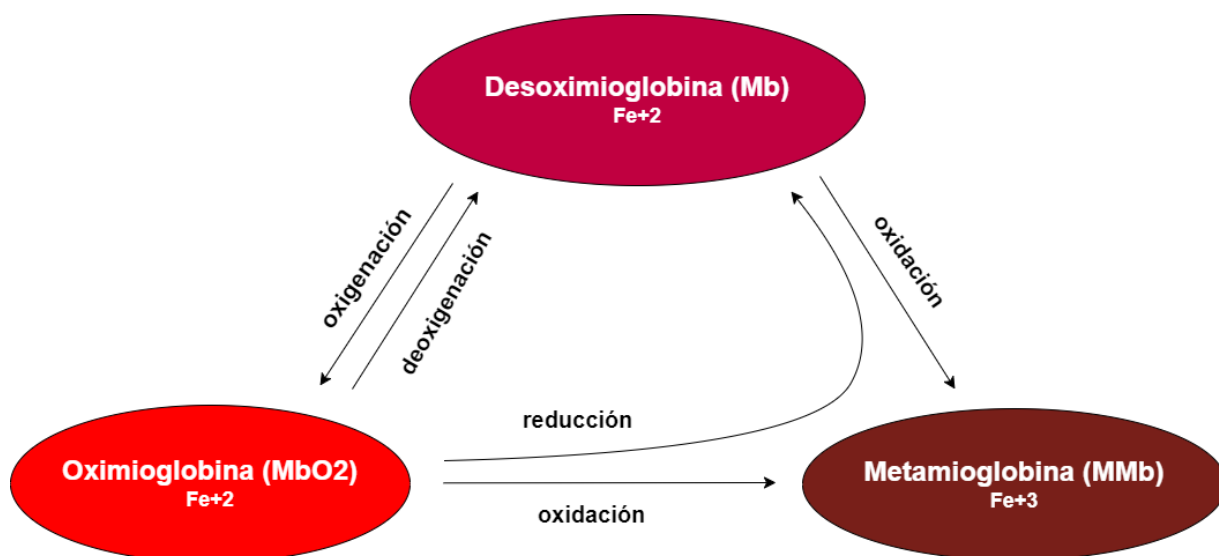


Figura 7. Oxido reducción de los pigmentos en la carne.

2.3.4 Proteólisis durante la maduración en seco

La proteólisis, un fenómeno clave en la maduración en seco de la carne donde las proteínas se descomponen en péptidos (cadenas cortas de aminoácidos) y aminoácidos (bloques básicos de las proteínas), juega un papel importante en la determinación de la ternura y el sabor del producto final. Este proceso ha sido objeto de extensas investigaciones (Tabla 4), mostrando diferencias significativas entre las distintas especies animales y las partes específicas utilizadas en la técnica de maduración en seco. Además, las condiciones específicas de este proceso, incluido el tiempo de maduración, la temperatura, la humedad relativa y entre otros, complican aún más el proceso.

La tabla 4 muestra algunos estudios recientes sobre la evaluación de la proteólisis de carnes maduras a diferentes condiciones.

Tabla 4. Evaluación de la proteólisis de carne madurada en diferentes animales a diferentes condiciones.

Especie	Corte	Condiciones de maduración en seco	Hallazgo más importante	Referencia
Porcino	Lomo	Temperatura: 1 °C Tiempo: 7 y 14 d HR: 80 % Flujo de aire: 0.5-1.5 m/s Sin envasar en bolsa UMAi Dry	Se obtuvo un contenido de humedad de la carne menor en maduración en seco (DA) y contenido de grasa mayor que lo reportado para la maduración al vacío (WA). El pH de la carne obtenida por DA fue significativamente más alto que en WA. La fuerza de corte de la carne resultó menor con el tratamiento DA en lugar del tratamiento WA, mientras que el índice de fragmentación miofibrilar se incrementó con el tratamiento DA.	(J.-H. Kim et al., 2018a)
Bovino	Lomo corto	Temperatura: 1 °C Tiempo: 30 d HR: 85 % Flujo de aire: 0.5 m/s Envasado con bolsa UMAi Dry	En la carne madurada en seco empacada en bolsa UMAi Dry se mostró un valor más alto respecto al pH, la capacidad de retención de agua, el IMF y digestibilidad, pero valores más bajos en luminosidad, enrojecimiento y amarillez, pérdida por cocción y fuerza de corte en comparación con la carne con maduración húmeda.	(J.-H. Kim et al., 2020)
Porcino	Lomo	Temperatura: 1 °C Tiempo: 0 y 30 d HR: 80 %	El contenido de grasa cruda, lípidos totales, colesterol y la fuerza de corte de la carne de lomo madurada fue significativamente mayor en el corte con dieta SL en comparación a los que	(Yang et al., 2021)

		Flujo de aire: No reportado Sin envasar en bolsa UMAi Dry Dieta: Suero de leche (SL) y Dieta basal (DB)	tuvieron una DB, mientras tanto, con DB se obtienen altos valores de proteína cruda. Igualmente, se observó que la pérdida por cocción, la dureza y la gomosidad disminuían entre más transcurría el tiempo de maduración en seco.	
Bovino	<i>Longissimus dorsi</i> (LD)	Temperatura: 2 °C Tiempo: 21 y 28 d HR: 75 % Flujo de aire: No reportado Sin envasar en bolsa UMAi Dry	El tiempo de maduración y el uso de coberturas de grasa animal y vegetal no afectaron el color y la fuerza de corte de la carne. Se redujo la pérdida de peso y aumentó las perdidas por cocción. El uso de coberturas de grasa y los días de maduración no influyeron en la aceptación general del consumidor.	(Frias Harriague & Porras Guardado, 2021)
Ovino	Pierna	Temperatura: 2.1 °C Tiempo: 0, 21 y 39 d HR: 76 % Flujo de aire: No reportado Sin envasar en bolsa UMAi Dry	Se obtuvo una fuerza de corte más alta en la maduración al vacío (1.9 y 2.1 kg) en comparación a la maduración en seco (1.7 y 1.8 kg). El pH mostró diferencias significativas entre los períodos de 21 y 39 d de maduración. Las pérdidas por cocción y totales fueron menores en la maduración en seco en comparación a la maduración al vacío. Se demostró que en 21 d son suficientes para su maduración tanto en seco como al vacío, ya que superando los 39 d se obtuvo un	(Correa Leites de Moraes et al., 2022)

			incremento en el pH y recuento total aerobio.	
Ovino	<i>M. longissimus lumborum</i> (LL) y <i>M. longissimus thoracis</i> (LT).	Temperatura: 1 °C Tiempo: 0, 7 y 14 d HR: 85 % Flujo de aire: 0.2 y 0.5 m/s Sin envasar en bolsa UMAi Dry	El pH se mantuvo constante durante la maduración en ambos cortes <i>M. longissimus lumborum</i> (LL) y <i>M. longissimus thoracis</i> (LT). Aunque el corte LT mostró una mayor pérdida de peso que el corte LL. La maduración en seco resultó en una disminución significativa en la fuerza de corte en el corte LL a los 7 d. Además, las propiedades sensoriales deseadas en los lomos de cordero se alcanzaron a partir de los 7 d de maduración en seco.	(Guuml;rbuuml;z et al., 2022)
Bovino	Sin especificar	Temperatura: 2 a 4 °C Tiempo: 60 d HR: 85 a 90 % Flujo de aire: No reportado Envasado con bolsa UMAi Dry	Se observaron cambios significativos en el color conforme aumentaba el tiempo de maduración en la maduración en húmedo (WA), en seco (DA) y seco envasado (DAU). Se tuvieron mayores pérdidas por humedad en las muestras DA y DAU en comparación a WA. La muestra WA tuvieron más pérdidas por cocción, pero con menor fuerza de corte que las carnes con DA y DAU.	(S. Kim et al., 2022)

3 OBJETIVOS

3.1 General

Evaluar el efecto del tiempo de maduración en seco de la carne de cerdo pelón mexicano (CPM) sobre los principales cambios proteolíticos.

3.2 Específicos

1. Determinar el efecto del tiempo de maduración en seco (bolsas UMAi Dry) sobre el contenido de colágeno total, la solubilidad de proteínas, el índice de fragmentación miofibrilar y la textura de la carne (cabeza de lomo) de CPM.
2. Determinar el perfil proteolítico (SDS electroforesis) de carne de cerdo pelón mexicano sometido a diferentes tiempos de maduración en seco.

4 JUSTIFICACIÓN

El genotipo del Cerdo Pelón Mexicano (CPM) es una especie con apariencia rústica y utiliza una gran cantidad de forrajes nativos, como son las hojas de Ramón (*Brosimum alicastrum*), Huaxin (*Leucaena leucocephala*), Tzitzilché (*Gymnopodium floribundum* Rolfe var. *Antigonoides*), Chichibé (*Aspidosperma spruceanum*), Jabín (*Piscidia piscipula* (L.) Sarg.), entre otros, raíces y tubérculos (maíz, calabaza, yuca, camote). Además, son animales que presentan resistencia a enfermedades endémicas y se adaptan al clima tropical de la Península de Yucatán, México.

El CPM es una importante fuente de proteína animal para la dieta de la población de comunidades rurales. Su carne muestra cualidades únicas de la raza, por ejemplo, altos niveles de grasa subcutánea y ácidos grasos. Se considera una carne de muy buena calidad, por la forma en que se crían los cerdos, se considera orgánica, única y tierna, una experiencia única muy diferente a la de otras razas de cerdo. En la Península de Yucatán, el CPM es considerado una especie en riesgo de pérdida genética, esto por la cruce y la reproducción desmedida entre razas, se tiene registro de pocos ejemplares puros del genotipo, si acaso por logro de pequeños criaderos o por la actividad de traspatio.

El eje central de la importancia del cerdo pelón son las comunidades rurales, por un lado, el promover el interés en la crianza de este genotipo de cerdo sienta las bases de un mercado centrado en el aprovechamiento y la producción de bienes a partir de la carne, generando un beneficio económico a familias implicadas en su crianza.

De la poca información se sabe que la carne del CPM es de buena calidad, pero se requiere incrementar su valor agregado como una estrategia para conservar el genotipo. En este sentido, la maduración en seco es una alternativa novedosa para la obtención de nuevos productos del CPM para ingresar a los nuevos mercados de alta gama.

En la maduración en seco, la carne se expone a una temperatura y humedad relativa controlada durante un período prolongado para aumentar considerablemente la ternura y el sabor. El tiempo de maduración es el factor que más influye en los cambios

de la proteólisis de la carne que conduce a cambios bioquímicos que dan lugar a una mayor ternura y una aceptación sensorial en los cortes, debido a la importancia de este tema nos obliga a realizar una investigación exhaustiva, especialmente cuando se considera el uso de tecnología de maduración en seco en especies sin precedentes en la maduración. Este estudio contribuye en el avance del conocimiento de los procesos proteolíticos que ocurren durante la maduración en seco de la carne de CPM.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Estrategia general de trabajo

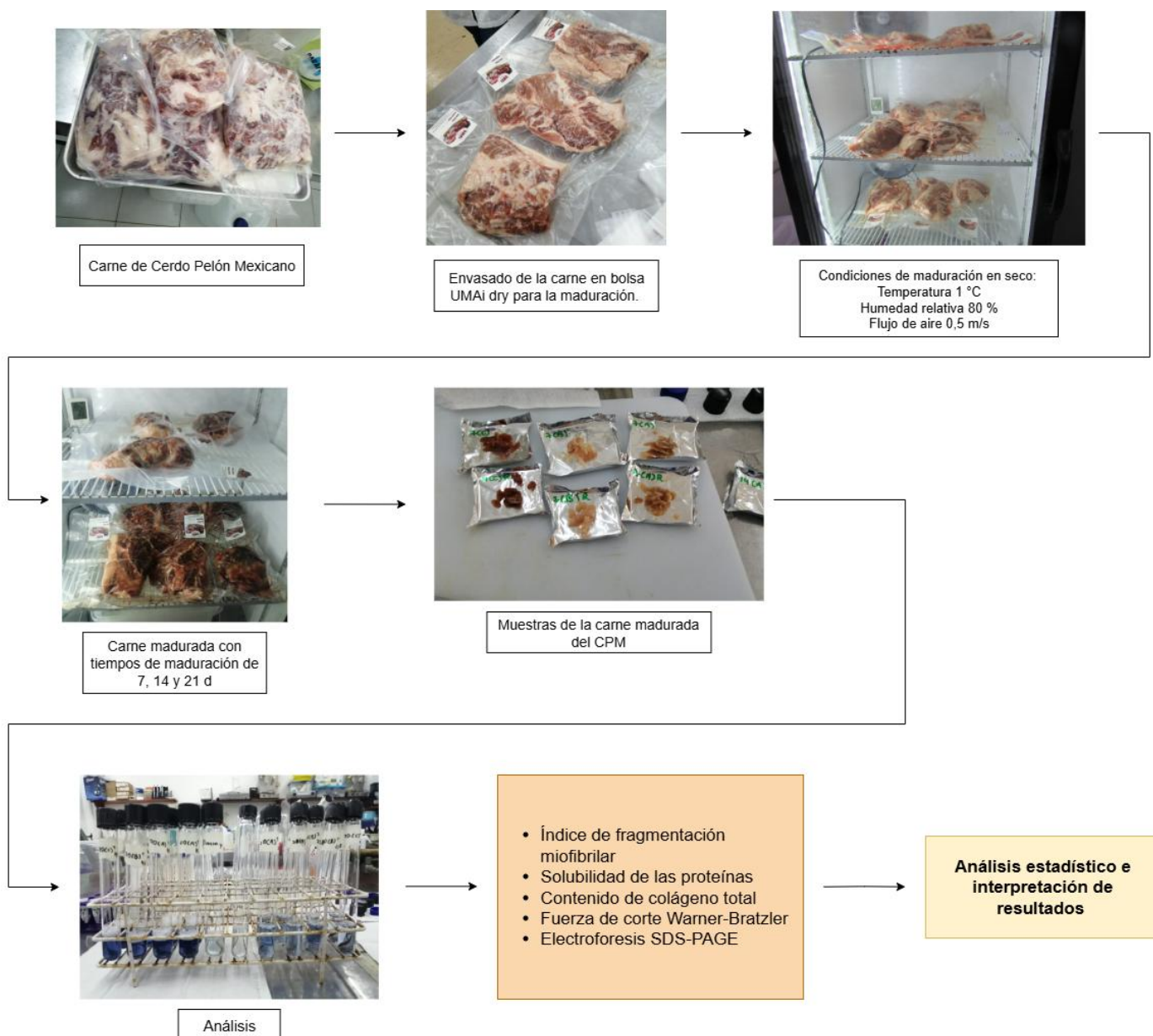


Figura 8. Estrategia general de trabajo.

5.2 Obtención del corte cabeza de lomo

Se obtuvieron 15 kg del corte cabeza de lomo de seis cerdos de la raza pelón mexicano, certificados por la Asociación Mexicana Especializada en Cerdos Criollos (AMECC) de la Ciudad de Mérida, Yucatán. Las muestras congeladas se colocaron en

una nevera con hielo y se transportaron al Laboratorio de Desarrollo de Alimentos del Instituto Tecnológico de Mérida para su uso.

De acuerdo con la información proporcionado por la AMECC desde los 12 kg de peso vivo hasta el sacrificio, la dieta de los animales CPM consistió en salvado de trigo, maíz molido y poca cantidad de harina de pasta de soya más vitaminas y minerales. La dieta se complementó con pasto y *Leucaena leucocephala ad libitum*, además de planta completa de plátano (dos veces por semana) y frutas locales de la región.

5.3. Maduración en seco y muestreo

En este estudio se utilizó el método de maduración en seco utilizando una bolsa UMAi Dry para madurar la carne de cabeza de lomo (Álvarez et al., 2021). Las muestras se descongelaron a 4 °C durante 24 h antes de aplicar el tratamiento de maduración. Las muestras de carne de CPM (nueve cortes de cabeza de lomo) se envasaron individualmente al vacío en bolsas de maduración permeables al oxígeno para asegurar el contacto entre la bolsa y la carne.

Las bolsas utilizadas para madurar la carne es un elastómero termoplástico de 2 mm fabricado de un polímero flexible y poliamida rígida (UMAi Dry® Short Loin de 40 x 70 cm, con tasa de transmisión de vapor de agua 800 g/15 µ/m²/24 h a 38 °C y 50 % de humedad relativa; transmisión de oxígeno de 2.3 mL/m²/d a 38 °C y 50 % de humedad relativa; UMAi Dry; Wayzata, MN) (Álvarez et al., 2021).

Las muestras envasadas se almacenaron sobre rejillas de acero inoxidable en una cámara frigorífica y se maduraron bajo oscuridad durante 7, 14 y 21 días a 1 °C ± 0.5, 80 ± 5 % de HR y una velocidad de flujo de aire entre 0.5 y 1.5 m/s. Durante la maduración, las muestras de carne se rotaron diariamente de posición de los estantes para minimizar la influencia de posición de la carne en la cámara frigorífica (Ustuner et al., 2021; Zhang et al., 2019).

En este estudio, también se envasaron al vacío bolsas Cryovac® tres muestras de cabeza de lomo sin madurar (control) y se congelaron a -20 °C hasta su análisis.

Al final de cada período de maduración, se retiró la grasa subcutánea y la capa superficial seca de la carne, se envaso al vacío y se almaceno a -20 °C hasta su análisis.

5.4. Métodos analíticos

5.4.1. Índice de Fragmentación Miofibrilar (IFM)

La evaluación de IFM de las muestras se realizó de acuerdo con el método descrito por Culler et al., (1978) con pocas modificaciones.

La carne libre de grasa y sin tejido conectivo visible (2 g) fue homogeneizado con 12 mL de una solución buffer IFM (20 mM de buffer de fosfato de potasio a un pH de 7.0 con 100 mM KCl, 1 mM EDTA, 1mM NaN₃, y 1 mM MgCl₂) a 16,000 rpm durante 4 min (T18 Ultra-Turrax®). Las muestras homogeneizadas fueron centrifugadas a 4,000 rpm a 2 °C durante 15 min para retirar el sobrenadante. Luego, el pellet se re-suspendió en 12 mL de buffer IFM y se centrifugó nuevamente siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente. El pellet resultante de la centrifugación anterior fue re-suspendido en 5 mL de buffer IFM (2 °C), se centrifugó y se recuperó el sobrenadante aforando a 6 mL con el buffer IFM para determinar el contenido de proteína con el método de Lowry (ver anexo). Luego, la concentración de proteína de la suspensión se ajustó a 0.5 mg/mL y se midió la absorbancia de la suspensión miofibrilar diluida de (1.64 a 3.10 veces) a 540 nm utilizando un espectrofotómetro (UV/VIS Spectrophotometer, Optizen POP, Corea del sur).

El valor del IFM se calculó utilizando la siguiente formula: IFM= 200 x Absorbancia a 540 nm.

5.4.2. Solubilidad de proteínas

La solubilidad de las proteínas miofibrilares en la carne se realizó de acuerdo con el metodo descrito por Bowker & Zhuang (2016).

Las muestras se cortaron en pequeñas secciones (0.8 g) y se aforaron con 14 mL de buffer de fosfato de potasio 0.025 M (4 °C) (pH= 7.2). La mezcla se homogeneizó a 14,000 rpm durante 3 min (T18 Ultra-Turrax®) para determinar el contenido soluble de proteínas sarcoplásmicas. Después de homogeneizar, la mezcla se mantuvo a 4 °C durante 20 h y luego se centrifugó a 4,000 rpm durante 15 min, se recuperó el sobrenadante y se aforó a 14 mL con el buffer 0.025 M fosfato de potasio (pH= 7.2) y se determinó la concentración de proteínas usando el ensayo de Lowry.

Se determinó la solubilidad de la proteína total (sarcoplásmica más miofibrilar) por duplicado. Las muestras se cortaron en pequeñas secciones (0.8 g) y se aforaron con 14 mL de buffer 0.05 M fosfato de potasio que contenía 0.55 M KI (4 °C) (pH= 7.2) y se homogeneizaron a 14,000 rpm durante 3 min (T18 Ultra-Turrax®). Después de homogeneizar, la mezcla se mantuvo a 4 °C durante 20 h y luego se centrifugó a 4,000 rpm durante 15 min, se recuperó el sobrenadante y se aforó a 14 mL con el buffer 0.05 M fosfato de potasio que contenía 0.55 M KI (pH= 7.2) y se determinó la concentración de proteínas usando el ensayo de Lowry.

La solubilidad de proteínas miofibrilares se expresó como mg/g y se calculó como la diferencia entre los valores de solubilidad de proteínas totales y sarcoplásmicas.

5.4.3. Determinación del contenido de colágeno total

Se determinó el contenido de colágeno total de la carne a partir de la cantidad detectada de hidroxiprolina, aminoácido presente casi exclusivamente en el colágeno. Como referencia de esta técnica, se utilizó el método propuesto por Hill (1966) con algunas modificaciones.

El principio se basa en una hidrólisis de las proteínas en medio ácido y caliente, que libera los residuos de hidroxiprolina de la proteína de la carne. La oxidación de hidroxiprolina por la acción de la cloramina T origina derivados de tipo pirrol, que reaccionan con un reactivo coloreado (p-DMAB, P-dimetilaminobenzaldehído) para dar un compuesto coloreado cuya absorbancia puede medirse en el espectrofotómetro.

Se pesaron 5 g de carne picada libre de grasa y tejido previamente descongelado (4 °C durante 24 h) y se mezclaron con 20 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 20 % en agua destilada, en tubos de ensayo de 50 mL y se agitaron en un vórtex (Vórtex continuo Science Med MX-S, Finland Technology) durante 5 min. La mezcla se colocó en una estufa a 100 °C durante 16 h para su hidrólisis. Después del tratamiento térmico, el contenido del tubo de ensayo se completó a un volumen de 100 mL con agua destilada y la solución se filtró a través de papel Whatman No. 42.

Se tomó una alícuota de 25 mL de la solución filtrada y se ajustó su pH a 6.5-7.0 añadiendo 21-22 mL de NaOH (10 % v/v en agua destilada). Después del ajuste de pH, la mezcla se aforó a 100 mL con agua destilada. Se tomó una alícuota de 1 mL de esta mezcla final y se depositó en un tubo de ensayo con 2 mL de alcohol isopropílico (C₃H₈O) y 1 mL de solución oxidante (que contenía 1 volumen de cloramina T al 10.5 % en agua destilada y 4 volúmenes de solución amortiguadora de pH= 6). La mezcla se agitó durante 30 s en un vórtex y luego se añadieron 3 mL de ácido perclórico (17.5 %) y 2 mL de P-dimetilaminobenzaldehído (5 % p/v en alcohol isopropílico), se homogeneizaron y se colocaron en un baño de agua con control de temperatura a 60 °C durante 20 min. Después de este tiempo, el tubo con la muestra se enfrió en un baño de agua a temperatura ambiente y se completó el volumen de la muestra a 12 mL con alcohol isopropílico. La densidad óptica de la muestra se midió a 560 nm usando un espectrofotómetro (UV/VIS Spectrophotometer, Optizen POP, Corea del sur) usando agua destilada como blanco, remplazando 1 mL de muestra por agua destilada y agregando los demás reactivos.

La concentración de colágeno total se expresó como mg/g de carne utilizando una curva de calibración preparada con varias concentraciones de Trans-4-hidroxi-L-prolina (5, 10, 15, 20, 30 y 40 ppm disueltos en alcohol isopropílico). El colágeno total se calculó multiplicando el contenido de hidroxiprolina por 7.25 (Cross et al., 1973).

5.4.4. Fuerza de corte Warner-Bratzler

Se colocaron muestras de carne (5 cm x 5 cm x 3 cm) en bolsas de plástico selladas (Ziploc®) y fueron cocidos dentro de un baño de agua (80 °C) (totalmente en inmersión) hasta que la temperatura central de la carne alcanzó los 80 °C durante

aproximadamente 10 min. Se retiró la muestra del agua caliente y se dejó enfriar durante 30 min a 25 °C. Se tomaron muestras cilíndricas de carne cocida (1.2 cm de diámetro y 1 cm de altura) utilizando un sacabocado. Las muestras cilíndricas se colocaron en bolsas al vacío para envasar y se almacenaron a 4 °C. Las muestras fueron transportadas en una nevera con hielo al CIATEJ unidad sureste.

El valor de la fuerza de corte se determinó perpendicular a la orientación de la fibra utilizando un analizador de textura Shimadzu EZ test-SX (Kioto, Japón) equipado con una célula de carga máxima de 500 N utilizando un accesorio de corte Warner-Bratzler a una velocidad de cruceta de 10 mm/s y analizados por el software Trapezium X.

La fuerza requerida para cortar las muestras se registró como fuerza máxima en Newtons (N).

5.4.5. Electroforesis

Extracción de proteína

La extracción de las proteínas de la carne de CPM del corte de cabeza de lomo se realizó mediante el método descrito por Laemmli (1970).

Se tomaron 5 g de carne picada (libre de grasa ni tejido conectivo) y se homogeneizaron con 50 mL de buffer frío de fosfato de potasio (0.03 M, pH 7.0) a 14,000 rpm durante 5 min utilizando el T18 Ultra-Turrax®. La mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min a 4 °C (utilizar hielo para evitar calentamiento) y se eliminó el sobrenadante. El pellet resultante se lavó con 50 mL de buffer de fosfato de potasio (0.03 M) con agitación en vortéx durante 30 s y se sometió nuevamente a la centrifugación a 3000 rpm durante 15 min a 4 °C y se volvió a eliminar el sobrenadante.

Al pellet se agregaron 50 mL de buffer de fosfato de potasio (0.1 M conteniendo 1.1 M KCl) y se homogeneizó durante 30 s en un vortéx. La mezcla se centrifugó 3000 rpm durante 15 min a 4 °C. Se recuperó el sobrenadante y se filtró utilizando papel filtro Whatman No. 1 (solución 1) y el pellet obtenido se disolvió nuevamente en 50 mL de buffer de fosfato 0.1 M contiene 1.1 M KCl, homogeneizado en vortéx durante 30 s y centrifugado a 3000 rpm durante 15 min a 4 °C. Se recuperó el sobrenadante y se filtró con papel filtro Whatman No. 1 (solución 2). Se combinaron las soluciones 1 y 2 y se

centrifugó (3,000 rpm durante 20 min a 4 °C) para eliminar partículas. Se recolectó el sobrenadante y se midió su volumen (obteniendo de 45 a 55 ml). El extracto de proteínas (miofibrilares) fue almacenado a -80 °C para el análisis SDS-PAGE. Se determinó el contenido de proteínas del extracto mediante el método de Lowry modificado.

Electroforesis en gel poliacrilamida con dodecilsulfato sódico/ sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

Para el perfil de proteínas de la carne por SDS-PAGE se utilizó un extracto de proteínas de cada muestra a una concentración de 0.5 mg de proteína total/mL de buffer. Previamente, el extracto de proteínas (en tubos Eppendorf) fueron desnaturalizadas a 95 °C durante 5 min en un termobloque digital con control de temperatura.

Se utilizó un sistema SDS-PAGE discontinuo, con un gel de poliacrilamida (separador) al 12 % (4.8 mL de una solución de acrilamida conteniendo 29.2 % de acrilamida y 0.8 % de bisacrilamida, 3 mL de Tris HCl 1.5 M pH= 8.8, 120 µL de SDS 10 %, 4 mL de agua destilada, 60 µL de persulfato de amonio 10 % y 10 µL TEMED) y un gel de apilamiento poliacrilamida al 4 % (664 µL de una solución de acrilamida, 504 µL de Tris HCl 0.5 M pH 6.8, 50 µL de SDS 10 %, 3.726 mL de agua destilada, 50 µL de persulfato de amonio 10 % y 10 µL TEMED).

Se realizó la corrida de un estándar (6 µL) de peso molecular de amplio rango (10 a 180 KDa) (PageRuler™ Prestained Protein Ladder) en cada gel, con el fin de determinar los pesos moleculares de las proteínas. Se utilizó una unidad de electroforesis en gel tetra vertical Mini-Protean® Tetra (Bio-Rad), cargando 15 µL de muestra (12 µL extracto de proteínas extraídas más 3 µL de buffer de carga, previamente desnaturalizado a 95 °C durante 5 min) y procesar los geles a un voltaje constante de 80 V durante 60 a 90 min. Tras la electroforesis, el gel se colocó en una *solución de fijación* (Solución stop) (Una mezcla de 20 mL de metanol, 10 mL de ácido acético glacial y 50 µL de formaldehído y luego aforado a 100 mL con agua estilada) bajo agitación durante 20 min (cubierto con papel aluminio), se retiró la solución

fijadora de forma manual, se lavó el gel en el mismo recipiente de 2 a 3 veces con etanol al 30 % (20 mL en cada lavado). Posteriormente, al gel se adicionó una solución de pretratamiento de tiosulfato de sodio al 0.02 % (~25 mL, 0.01 g de tiosulfato de sodio aforado en 50 mL de agua destilada) y se mantuvo bajo oscuridad durante 1 min. El gel fue teñido (20 min bajo oscuridad) con 60 mL de una solución de nitrato de plata (0.12 g de nitrato de plata disuelto en 30 mL de agua mili-q, 44 µL de formaldehído y se ha completo con agua mili-q), se agitó inmediatamente de forma manual, se retiró la solución de nitrato de plata de forma manual y el gel se lavó 2 veces con agua mili-q (20 mL) durante 20 s por cada lavado. El gel resultante se sometió a una solución de revelado (15 mL). La solución de revelado se preparó con 15 µL de formaldehído, 1.8 g de carbonato de sodio; 600 µL de tiosulfato de sodio (toda la solución fue aforado a 30 mL con agua destilada). El gel y la solución de revelado se agitó cuidadosamente de forma manual hasta que aparecieron las bandas (15-20 min, evitar que tengan bandas con apariencia quemada), se decantó la solución y al gel se le agregó la solución stop (*solución de fijación*) rápidamente para detener la reacción.

Análisis de bandas en software ImageJ

Para analizar las bandas de los geles de cada tratamiento, los geles (húmedos) se escanearon de forma individual mediante un escáner fotográfico (Epson Perfection V370). La imagen se obtuvo en formato TIFF (600 ppi) y se analizó utilizando el software de análisis de imágenes Image J 1.54 g National Institutes of Health, EUA.

Las imágenes se analizaron en blanco y negro, con un efecto de “invertido” (figura 9).

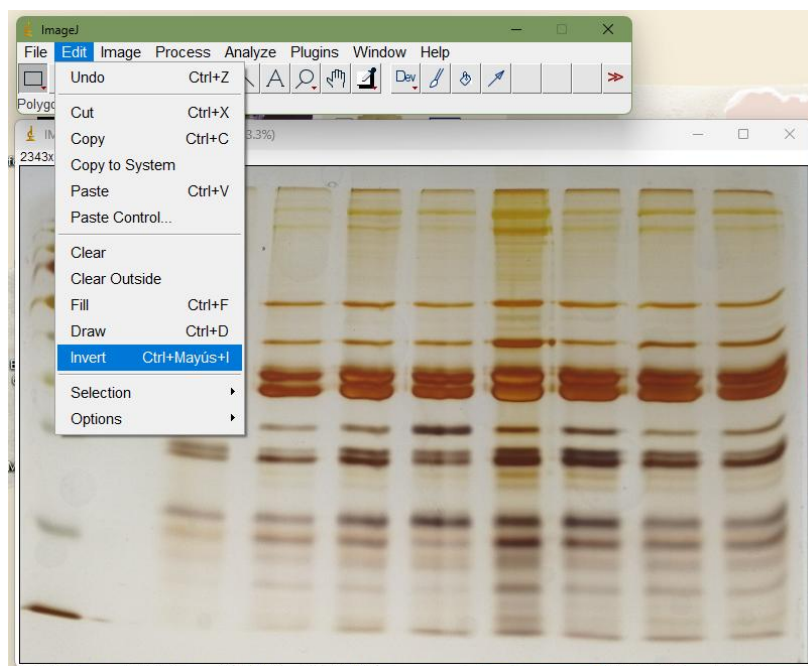
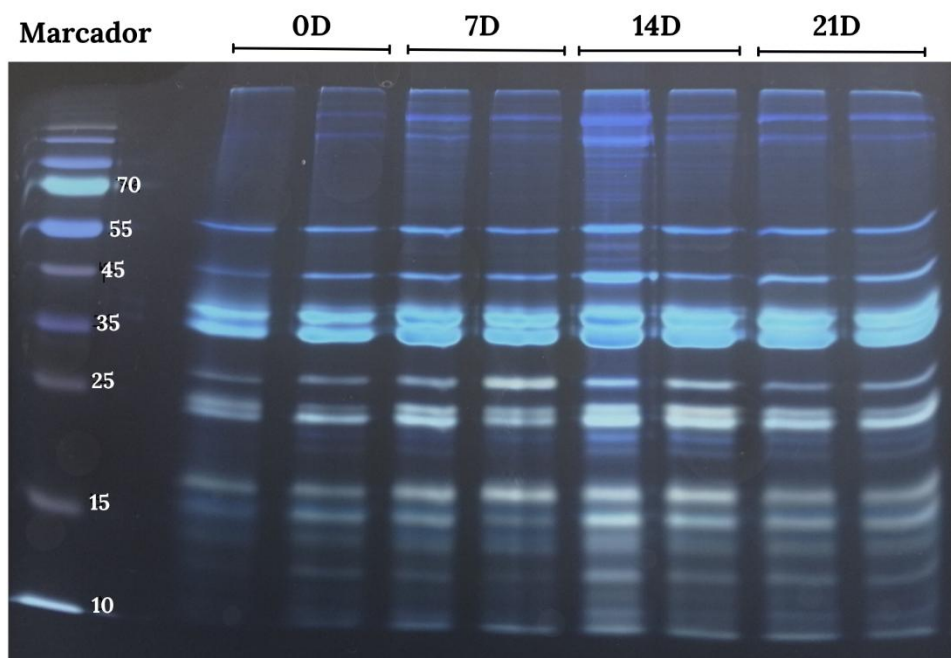


Figura 9. Proceso para invertir la imagen.

Las imágenes de los geles están constituidas por píxeles en escalas de grises, donde las bandas más oscuras corresponden a fragmentos de proteínas más grandes y las más claras a fragmentos de proteínas más pequeños.



Para la obtención de los datos se seleccionan las bandas de la muestra (vertical) usando la opción del recuadro en herramientas para seleccionar objetos. Después, se selecciona la opción “Analyze” de la barra de herramientas, luego “Measure” y se obtiene una ventana emergente para obtener la densidad total y luego se hace el mismo procedimiento para cada banda para calcular la densidad relativa de dicha banda (figura 11).

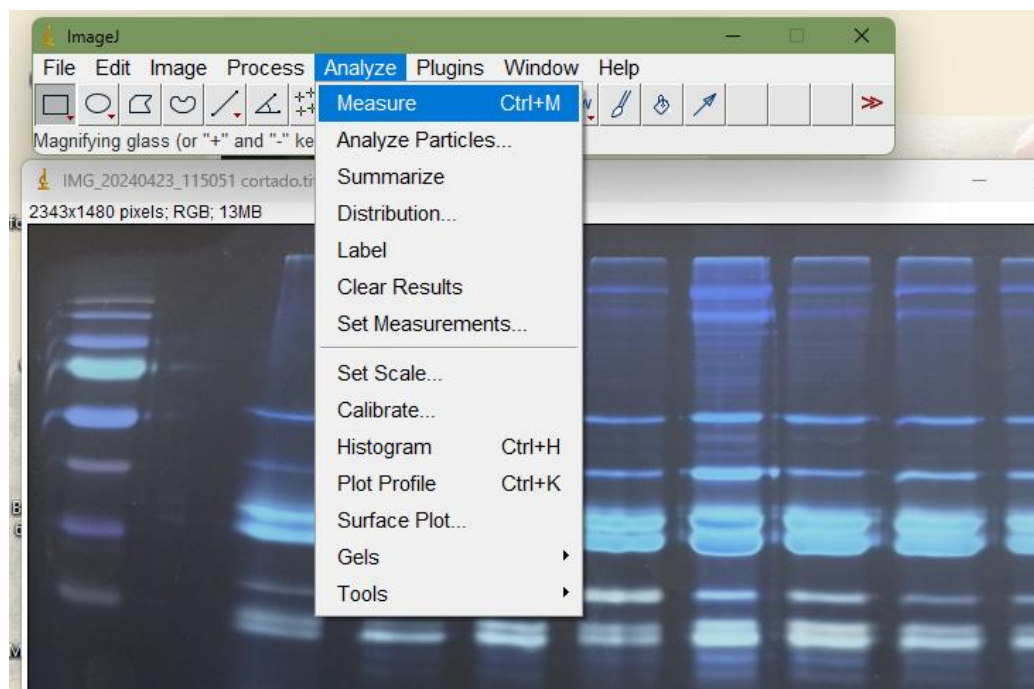
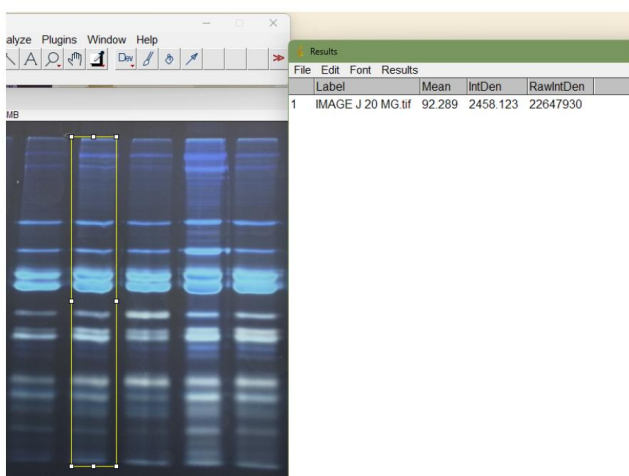
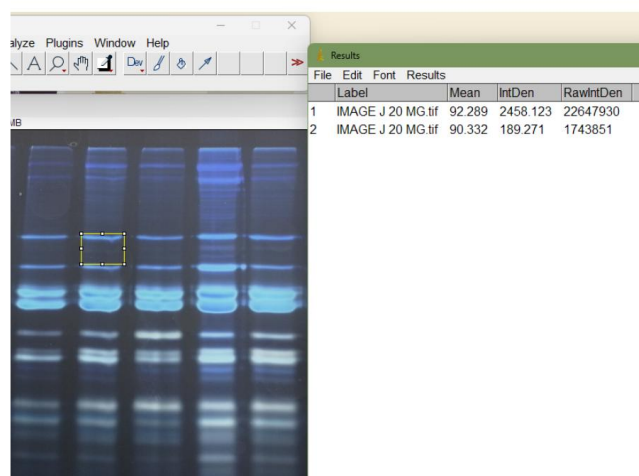


Figura 10. Obtención de tabla de datos

Corrida total



Por peso molecular



C. total	B1 OD	B3 7D	B6 14D	B7 21D
	28140377	24266012	31978419	31632983
individuales	B1 OD	B3 7D	B6 14D	B7 21D
70-55	949284	800467	1023035	1064040
55-45	889559	808234	924889	967261
45-35	3689351	3513251	4324920	4267890
35-25	858077	833832	1348192	895695
25-15	5302962	5494619	8034043	7116854
15.-10		2707589	4428996	4207254

DENSIDAD RELATIVA				
Marcador	B1 OD	B3 7D	B6 14D	B7 21D
70-55	= $(B7/$B$5)*100$	71674	3,1991419	3,36370427
55-45	3,16114813	3,33072447	2,89222866	3,05776095
45-35	13,1105244	14,4780733	13,524496	13,4918986
35-25	3,04927329	3,43621358	4,21594326	2,8315224
25-15	18,8446729	22,6432716	25,1233277	22,498207
15.-10	0	11,157948	13,849953	13,3002126

En la primera tabla de lado izquierdo son el total de pixeles* de las bandas de la corrida de la muestra y luego el valor total de pixeles de la banda correspondiente al intervalo de peso molecular. La tabla del lado derecho, se observa la fórmula usada para tener la densidad relativa por intervalo de bandas, usando la siguiente ecuación:

$$= \frac{\text{Total de pixeles por intervalo de peso molecular}}{\text{Suma Total de pixeles de todas las bandas de la corrida}} * 100$$

6.1. IFM

43

contenga miofibrillas con mayor fragmentación también se incrementa la absorción de la luz a dicha longitud de onda y su valor es considerado como un indicador de la terneza de la carne (Koohmaraie & Geesink, 2006a).

La figura 8 muestra la variación del índice IFM de la carne de CPM durante la maduración en seco de la cabeza de lomo de CPM. Se encontró que el valor de IFM (332.30) de la carne aumentó significativamente después de 7 d de maduración y se mantuvo con un valor similar de 340.65 hasta 21 d. Yu et al., (2021), evaluaron el efecto del tiempo de maduración sobre el IFM en carne de cerdo (*Longissimus thoracis et lumbarum*) conservada a 4°C durante 16 días post mortem. Los autores observaron un aumento notable del IFM, que paso de 80.92 ± 3.24 a los 2 d, 110.76 ± 4.18 a los 9 d y se estabilizó en 112.65 ± 3.95 a 16 d. Estos hallazgos corroboran que la proteólisis miofibrilar ocurre, en su mayoría, en la fase inicial del proceso de maduración, lo cual es causado por la actividad de enzimas proteolíticas endógenas, sobre todo las calpaínas. Estas últimas son las que se encargan de descomponer las proteínas estructurales del músculo.

El comportamiento descrito por (Yu et al., 2021) concuerdan con los resultados obtenidos en este trabajo de maduración en seco en carne de CPM, que evidencio un aumento significativo del índice de fragmentación miofibrilar (IFM) durante los primeros 7 d y luego una fase estable entre los días 7, 14 y 21. En los dos casos, la tendencia muestra una etapa inicial de actividad enzimática encargada de degradar las miofibrillas, seguida por una periodo de equilibrio estructural. Esto evidencia un proceso de ablandamiento inicial y posterior conservación de la textural del músculo.

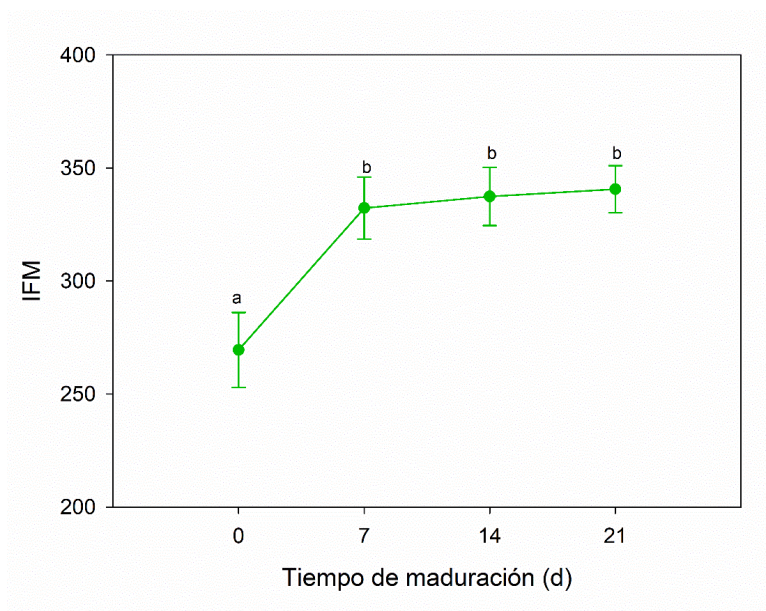


Figura 13. Variación de IFM de la carne de CPM madurada en seco a diferentes tiempos.

El incremento de la fragmentación tras 7 d de maduración podría estar asociado a la acción de las enzimas endógenas, las calpaínas y las catepsinas, que dan inicio a la hidrólisis de las proteínas miofibrilares (Chacón, 2004). Estas enzimas rompen los enlaces peptídicos a través de un método de hidrólisis, usando moléculas de agua para liberar aminoácidos, péptidos mas cortos y grupos carboxilos libres (Santo, 2009).

Las calpaínas particularmente la μ -calpaína y la m-calpaína, se encuentran en el citosol de las células musculares y necesitan cantidades particulares de calcio libre (3–50 μ M para μ -calpaína y hasta 800 μ M para m-calpaína) para su activación. Estas enzimas descomponen proteínas estructurales importantes, como nebulina, titina y desmina. Como resultado, las miofibrillas se rompen y la carne se vuelve más tierna. Su actividad es regulada por calpastatina, un inhibidor endógeno cuya presencia limita la proteólisis (Koohmaraie & Geesink, 2006b).

A medida que la maduración progresa y las reservas de calcio libre y la integridad estructural celular disminuye, la actividad de las calpaínas también disminuye. Las catepsinas (B, D, H y L), situadas en los lisosomas del musculo esquelético, tienen la capacidad de colaborar en la degradación de proteínas, sobre todo en entornos ácidos (pH 4.5- 5.5) o cuando el contenido lisosomal se libera al citosol después de la muerte.

A pesar de que su función se considera como un complemento al sistema calpaína-calpastatina, estas enzimas tienen la capacidad de intervenir en la proteólisis de proteínas miofibrilares durante etapas más avanzadas del proceso de maduración (Fulkerson & Donaghy, 2001).

Tras el sacrificio y la pérdida de sangre, cuando se detiene el suministro de oxígeno al músculo, este cambia a metabolismo anaeróbico, lo que produce ácido láctico. A lo largo de este proceso, cada molécula de glucosa se transforma en piruvato por medio del glucolisis. Luego, el piruvato se convierte en ácido láctico gracias al lactato deshidrogenasa, lo que posibilita que la producción de ATP sea constante mientras haya reservas de glucógeno. La acumulación de protones y ácido láctico provoca que el pH intramuscular disminuya, pasando cerca de 7.0 a un rango de 5.4-5.8 en las primeras 24 h post mortem, tanto en bovinos como en otras especies (Muroya, 2023). Esta acidificación tiene un impacto en las características de la carne, como el color, la textura y la habilidad para retener agua (Ge et al., 2021), y también de estimular la activación de enzimas proteolíticas. Las calpaínas dependientes del calcio son las comunes en condiciones neutras o ligeramente ácidas, mientras que las catepsinas se activan en entornos más ácidos (Muroya, 2023), lo cual demuestra que existe una conexión directa entre el pH post mortem y la actividad enzimática que controla la proteólisis de los músculos.

En resumen, los resultados de esta investigación indican que la actividad intensa de las calpaínas está vinculada directamente en el incremento del IFM durante los primeros días de la maduración en seco de la carne de CPM. En etapas posteriores, las catepsinas podrían tener un papel complementario. Esta actividad enzimática coordinada explica la progresiva mejora de la ternura durante el periodo de maduración, lo cual demuestra que las transformaciones bioquímicas y estructurales del músculo post mortem son fundamentales para el desarrollo de las propiedades sensoriales que se desean en la carne.

6.2. Solubilidad de proteínas

La solubilidad de proteínas es un método fundamental para determinar cómo las proteínas sufren cambios en su estructura y funciones debido a varios procesos, como la maduración de la carne post mortem. Este parámetro ayuda a diferenciar varias fracciones de proteínas, especialmente las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares, cuya solubilidad es afectada por el pH, la actividad enzimática endógena y la temperatura de almacenamiento en la carne (Feng et al., 2020).

La figura 9 muestra la variación en la solubilidad de las proteínas (sarcoplásmica, miofibrilar, proteína total) de la carne de CPM durante la maduración en seco. La solubilidad de la proteína sarcoplásmica de la carne experimentó un aumento de 22.26 en el día 0 hasta 42.89 mg/g en el día 21 de maduración en seco. De manera general, se observa que la solubilidad de la proteína miofibrilar resultó mayor a la solubilidad de la proteína sarcoplásmica durante 21 d de maduración. Se encontró una tendencia a incrementar la solubilidad de la proteína total y miofibrilar de la carne durante 21 d de maduración, observando diferencias significativas entre el día 0 (PT-203.81 y PM-179.06 mg/g) y 21 d (PT-238.03 y PM-205.07 mg/g).

Figura 14. Variación de la solubilidad de proteínas de la carne de CPM madurado en seco

Durante la maduración post mortem, la solubilidad de las proteínas es un indicador crítico de los cambios estructurales y funcionales que tienen lugar dentro de las fracciones proteicas musculares.

En el estudio realizado por (Feng et al., 2020) se evaluaron la solubilidad de la proteína total (TPS), las fracciones sarcoplásmicas (SPS) y la miofibrilar (MPS) en cinco músculos de res (semitendinoso (ST), *Longissimus torácico* (LT), romboides (RH), gastrocnemio (GN), infraespinoso (IN), psoas mayor (PM) y bíceps femoral (BF)) durante 14 días de maduración. Estos autores encontraron que el aumento de la solubilidad miofibrilar fue progresivo hasta el día 7, seguido de una estabilización o disminución, dependiendo del tipo de músculo. En LT, el valor de TPS aumentó de 123.76 ± 4.27 mg/g en el día 0 a 138.11 ± 4.29 mg/g en el día 14; el valor de MPS aumentó de 56.87 ± 2.45 a 70.06 ± 2.63 mg/g en el mismo periodo. Caso contrario que se observó en IN, donde TPS disminuyó de 127.94 ± 4.09 mg/g día 7 a 120.27 ± 4.35 mg/g día 14; la MPS disminuyó de 61.63 ± 2.60 a 54.39 ± 2.53 mg/g lo que sugiere una mayor susceptibilidad a la desnaturalización proteica. Por otro lado, la SPS mostro una variación mínima durante el periodo de maduración en todos los músculos evaluados, manteniéndose entre 65 y 68 mg/g, sugiriendo una relativa estabilidad en relación con el cambio estructural. Estos resultados muestran que la solubilidad proteica, en especial la proteína miofibrilar, están estrechamente relacionada con la degradación estructural del músculo y puede variar significativamente dependiendo del tipo de musculo ante la maduración (Feng et al., 2020).

De acuerdo con los resultados, demostraron que los cambios en la solubilidad de proteínas durante la maduración están directamente relacionados con la disminución del valor de pH y debido a las diferencias en las características estructurales dependiendo de cada músculo. Se observó que los músculos con un pH bajo y una mayor proporción de fibras oxidativas, como el infraespinoso (IN), presentaron una disminución más temprana y pronunciada en la solubilidad de la proteína total y miofibrilar, debido a procesos de desnaturalización proteica (Feng et al., 2020).

En la investigación de J.-H. Kim et al., (2018) analizo el impacto de la maduración en seco y húmedo en el lomo de cerdo, durante 7 y 14 días. En cuanto a la solubilidad de proteínas, los autores reportan que la carne sometida a maduración en seco mostro valores superiores de solubilidad proteica a comparación con la carne madurada en húmedo. La solubilidad de proteínas totales fue de 118.86 mg/g en la carne madurada en seco y 112.34 mg/g en la carne madurada en húmedo, lo que indica una liberación más alta de proteínas solubles cuando se expone al aire. También, el tiempo de maduración tuvo un impacto importante, los valores de solubilidad total aumentaron de 118.78 mg/g a 122.43 mg/g entre 7d a 14 d.

En cuanto a la solubilidad miofibrilar, vario de 39.37 mg/g a 45.81 mg/g entre los 7d y 14 d, corresponde con la función de las enzimas proteolíticas endógenas (como calpaínas y catepsinas) encargadas de descomponer los puentes estructurales en la miofibrilla. A pesar de que no se encontraron variaciones relevantes entre las dos técnicas (maduración en seco y húmedo), los valores de la carne madurada en seco se mantuvieron ligeramente más altos, lo cual indica que el entorno con menos humedad y más oxigenación proporciona una proteólisis más eficaz en ciertas circunstancias.

Por otra parte, la fracción sarcoplásmica permaneció en un rango estable de 76.8 a 79.2 mg/g, sin presentar cambios relevantes ni entre los métodos de maduración ni entre los tiempos analizados de 7 y 14 d. Esto era de esperar porque las proteínas sarcoplásmicas al estar compuestas principalmente por enzimas y proteínas solubles en agua, no sufre una degradación tan significativa durante la maduración como las proteínas miofibrilares.

Los resultados obtenidos por (J.-H. Kim et al., 2018b), son consistentes con los resultados obtenidos en esta investigación sobre la carne de CPM, donde la solubilidad de las proteínas y la total aumentaron gradualmente hasta llegar a cifras cercanas a 200 mg/g y 230 mg/g, de acuerdo a 21 d.

6.3. Determinación de colágeno

En la Figura 15, se muestra que en 0 d el valor inicial fue de xx mg/g mientras en 7 d se presentó una ligera disminución hasta estar cerca de xx mg/g, no presentaron diferencias significativas en ambos tiempos. A partir de 14 d, el contenido de colágeno total mostro un incremento significativamente mayor de xx mg/g. Durante 21 d de maduración, el colágeno total se mantuvo estable.

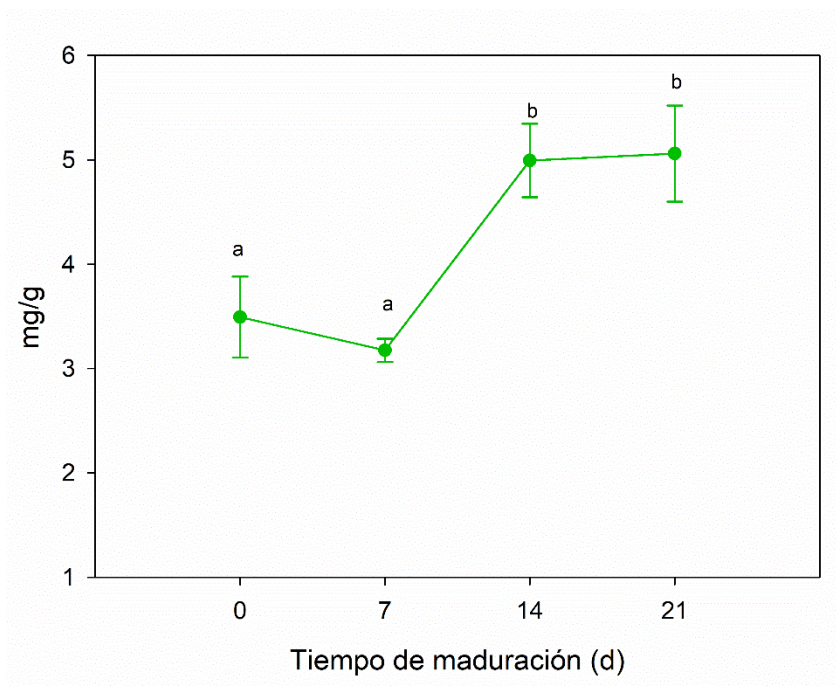


Figura 15. Variación del colágeno total de la carne de CPM madurada en seco a diferentes tiempos.

6.4. Fuerza de corte Warner-Bratzler

La textura de la carne es una de las características sensoriales más importantes que determinan la aceptabilidad del producto (Li et al., 2022). En lo general, la textura de la carne se evalúa de forma sensorial mediante prueba con consumidores, panelistas semi-entrenados y entrenados; sin embargo, también se disponen de métodos instrumentales para cuantificar la textura mediante la fuerza de corte Warner- Bratzler. En la práctica animal, la prueba de cizallamiento Warner- Bratzler (WBSF) es una de las pruebas instrumentales más comunes que permiten evaluar la ternura o dureza de la carne (Savell et al., 2023).

El dispositivo WBSF está compuesto por un bastidor de acero y una cuchilla con forma triangular. En el análisis, se coloca una muestra de carne estandarizada, cocida y cortada en dirección paralela a las fibras musculares sobre una plataforma. La cuchilla corta en dirección perpendicular a las fibras, lo que permite la medición de la máxima fuerza de cizallamiento. La dureza está directamente relacionada con el valor: a mayor fuerza mayor dureza (Novaković & Tomašević, 2017).

Un estudio reciente de Martinez et al., (2023) que utilizó cortes de res encontró valores de WBSF ≤ 28 N aseguran una carne “moderadamente tierna”, mientras que valores ≥ 40 N son considerados “más duros”.

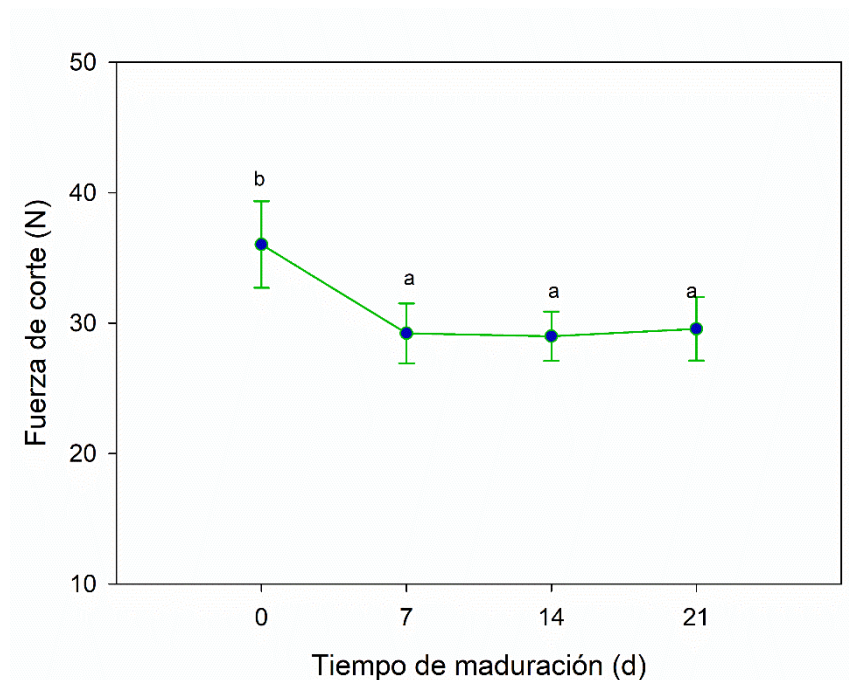


Figura 16. Variación de la fuerza de corte de la carne de CPM madurada en seco a diferentes tiempos.

En la figura 16, se observa la evolución de la fuerza de corte (N) en las muestras de la carne madurada. En 0 d la fuerza de corte fue (valor) siendo significativamente mayor a los días siguientes. A partir de 7 d la fuerza de corte disminuyó notablemente hasta valores cercanos a (valor) y manteniéndose estable en 14 y 21 d.

La disminución observada en la fuerza de corte se explica principalmente por procesos de proteólisis post mortem, donde las enzimas endógenas degradan proteínas del citoesqueleto miofibrilar, como son las desmina, titina y troponina T, debilitando la estructura muscular y mejorando la ternura de la carne (Joo et al., 2023). El sistema de calpinas (μ -calpina y m-calpina) se considera el principal responsable de la proteólisis. Estas enzimas degradan los filamentos miofibrilares, debilitando los discos Z, nexos entre miofibrillas y degradando proteínas estructurales (Joo et al., 2023; H. Shi et al., 2021).

6.5. Electroforesis

El análisis SDS-PAGE proporciona información sobre las características de estructura de la proteína y la degradación enzimática de la proteína durante el proceso de maduración, lo que está relacionado con la ternura, CRA y otras características de la calidad de la carne (Hwang et al., 2018).

En el día 0, hay una cantidad mas alta de proteínas con un peso molecular elevado (35-45 kDa); no obstante, a medida que la maduración avanza, se observa una disminución continua de estas fracciones, junto con un aumento en las proteínas con un peso molecular más bajo (10-15 kDa y 15-24 kDa). Estos cambios son un reflejo del proceso de proteólisis propio de la maduración, en el que las proteínas miofibrilares se descomponen en péptidos más pequeños a causa de la acción de enzimas endógenas como las catepsinas y calpaínas. Particularmente, se observa una acumulación más significativa de proteínas en el intervalo de 15-25 kDa a los 14 y 21 días, lo que sugiere un aumento en la descomposición de las estructuras miofibrilares. Este patrón coincide con lo que se ha reportado en la literatura, que indica que la maduración en seco estimula la descomposición de proteínas estructurales y contribuye a la producción de péptidos con un bajo peso molecular, los cuales están relacionados con una mejor calidad sensorial y ternura de la carne.

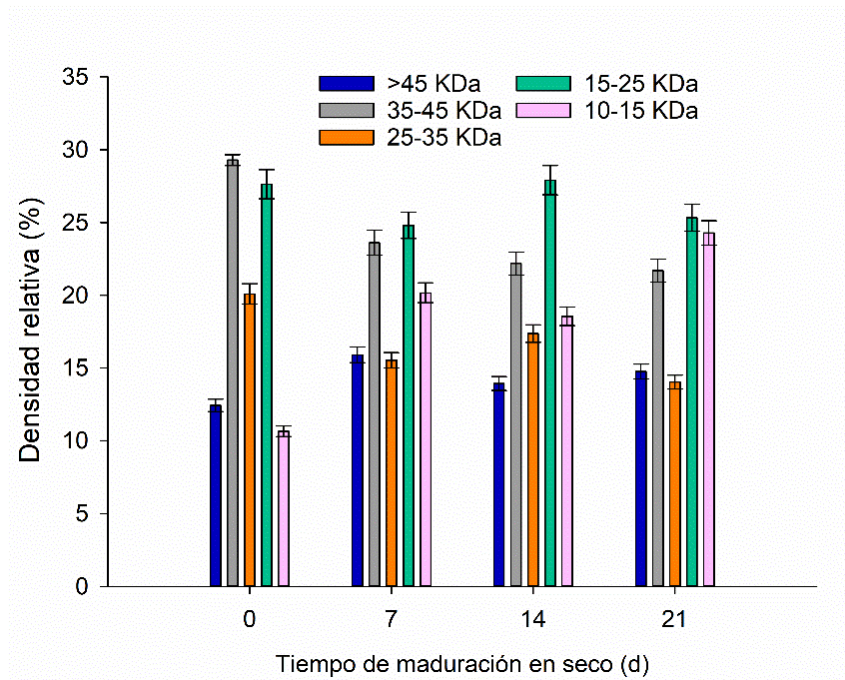


Figura 17. Variación de la electroforesis SDS- PAGE de la carne de CPM madurada en seco a diferentes tiempos.

7 CONCLUSIÓN

8 BIBLIOGRAFÍA

- Ahnström, M. L., Seyfert, M., Hunt, M. C., & Johnson, D. E. (2006). Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. *Meat Science*, 73(4), 674-679. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.03.006>
- Álvarez, S., Mullen, A. M., Hamill, R., O'Neill, E., & Álvarez, C. (2021). Dry-aging of beef as a tool to improve meat quality. Impact of processing conditions on the technical and organoleptic meat properties. En *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 95, pp. 97-130). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2020.10.001>
- Ángel Hernández, A., García Munguía, C. A., García Munguía, A. M., Ortiz Ortiz, J. R., Sierra Vásquez, Á. C., & Morales Flores, S. (2020). Sistema de producción del Cerdo Pelón Mexicano en la Península de Yucatán. *Nova Scientia*, 12(24). <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2234>
- Baidal Freire, C. D. (2021). *Efecto del tiempo de maduración de carne de res (Bos taurus x indicus) en las características sensoriales y vida útil aplicando salazón seca*. [Tesis, Universidad Agraria de Ecuador]. <http://181.198.35.98/Archivos/BAIDAL%20FREIRE%20CHRISTOPHER%20DAVID.pdf>
- Bautista Rodríguez, C. F. (2021). *Respuesta productiva del cerdo pelón mexicano (Sus scrofa) suplementadas con ensilaje de maíz (Zea mays) Chak Nal tel (Gallito rojo) y San Pablito blanco*. [Trabajo de grado para optar el título de Maestro en Ciencias en Agroecosistemas Sostenibles, Instituto Tecnológico de Chiná]. <https://rinacional.tecnm.mx/jspui/bitstream/TecNM/4123/1/10.-%20Tesis%20Bautista%20Cerdo%20Pelon%20Formato%2026-10-%202021.pdf>
- Becerril Herrera, M. (2004). Crecimiento y calidad de la canal de Cerdos Pelón Mexicano y York-Landrace en confinamiento y pastoreo. *Universidad Autónoma de Nayarit*.
- Bianchi, G., Bentancur, O., & Sañudo, C. (2004). Efecto del tipo genético y del tiempo de maduración sobre la terneza de la carne de corderos pesados. *Agrociencia*, 8(1), 41-50.
- Bowker, B., & Zhuang, H. (2016). Impact of white striping on functionality attributes of broiler breast meat. *Poultry Science*, 95(8), 1957-1965. <https://doi.org/10.3382/ps/pew115>
- Cañeque, V., & Sañudo, C. (Eds.). (2000). *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.
- Carnicas Discare. (2023, julio 31). *Dry aged: La maduración de la carne en seco*. <https://www.carnicasdiscarpe.com/dry-aged-la-maduracion-de-la-carne-en-seco/>
- Castro Marín, J. M. (2010, diciembre 23). Negocio en el cerdo pelón mexicano. *El Economista*. <https://www.eleconomista.com.mx/mercados/Negocio-en-el-cerdo-pelon-mexicano-20101222-0051.html>

Cauich, D. A., Moo-Huchin, V., Lemus-Flores, C., & Sierra Vásquez, A. (2022). PRODUCTIVE PERFORMANCE AND CARCASS QUALITY OF MEXICAN HAIRLESS PIG BREED CASTRATED MALES FED WITH MORINGA OLEIFERA AND BROSIMUM ALICASTRUM. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 32, 638-644.

Chacón, A. (2004). La suavidad de la carne: Implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al manejo y proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana*, 15(2), 225-243.

Correa Leites de Moraes, C., Gutiérrez Techera, T., & Lucas Torres, L. (2022). *Evaluación del tipo de maduración Dry y Wet durante 21 y 39 días sobre la calidad instrumental y sensorial de la carne de cordero* [Tesis de Grado, Universidad de la República]. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/37776/1/FV-35315.pdf>

Cross, H. R., Carpenter, Z. L., & Smith, G. C. (1973). EFFECTS OF INTRAMUSCULAR COLLAGEN AND ELASTIN ON BOVINE MUSCLE TENDERNESS. *Journal of Food Science*, 38(6), 998-1003. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1973.tb02133.x>

Culler, R. D., Jr, F. C. P., Smith, G. C., & Cross, H. R. (1978). RELATIONSHIP OF MYOFIBRIL FRAGMENTATION INDEX TO CERTAIN CHEMICAL, PHYSICAL AND SENSORY CHARACTERISTICS OF BOVINE LONGISSIMUS MUSCLE. *Journal of Food Science*, 43(4), 1177-1180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb15263.x>

Dashdorj, D., Tripathi, V. K., Cho, S., Kim, Y., & Hwang, I. (2016). Dry aging of beef; Review. *Journal of Animal Science and Technology*, 58(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s40781-016-0101-9>

De La Rosa, E. P., Hernández Cuevas, F. I., Castillo Loeza, D. E., López Barreto, M. F., & Becerril García, J. (2021). La lucha socioambiental de proyectos alternativos. El caso del cerdo pelón en Yucatán. *Ecología Política. Cuadernos de debate internacional*, 61, 74-79. <https://doi.org/10.53368/EP61FCbr03>

DeGeer, S. L., Hunt, M. C., Bratcher, C. L., Crozier-Dodson, B. A., Johnson, D. E., & Stika, J. F. (2009). Effects of dry aging of bone-in and boneless strip loins using two aging processes for two aging times. *Meat Science*, 83(4), 768-774. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.017>

Dzib-Cauich, D., Lemus-Flores, C., Bugarín-Prado, J. O., Ayala-Valdovinos, M. A., & Moo-Huchin, V. M. (2020). *Perfil de ácidos grasos en músculo Longissimus dorsi y expresión de genes asociados con metabolismo lipídico en cerdos pelón mexicanos y cerdos Landrace-Yorkshire*. Tecnológico Nacional de México.

Feng, Y.-H., Zhang, S.-S., Sun, B.-Z., Xie, P., Wen, K.-X., & Xu, C.-C. (2020). Changes in Physical Meat Traits, Protein Solubility, and the Microstructure of Different Beef Muscles during Post-Mortem Aging. *Foods*, 9(6), 806. <https://doi.org/10.3390/foods9060806>

Ferreira, F. M., Bernardo, A. P. S., Gomes, C. L., & Pflanzner, S. B. (2018). Effect of Aging Temperature on the Physicochemical Quality of Dry- And Wet-Aged Beef. *Meat and Muscle Biology*, 2(2), 121-121. <https://doi.org/10.22175/rmc2018.108>

-
-
- Frias Harriague, M., & Porras Guardado, C. A. (2021). *Evaluación de la maduración en seco con dos tipos de cobertura en el músculo Longissimus dorsi de vacas de descarte de la unidad de Ganado Lechero de Zamorano*. [Tesis de Titulación, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/db93f687-a80b-491a-b2fc-05c783c9adc6/content>
- Fulkerson, W. J., & Donaghy, D. J. (2001). Plant-soluble carbohydrate reserves and senescence - key criteria for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pastures: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41(2), 261. <https://doi.org/10.1071/EA00062>
- Ge, Y., Zhang, D., Zhang, H., Li, X., Fang, F., Liang, C., & Wang, Z. (2021). Effect of Postmortem Phases on Lamb Meat Quality: A Physicochemical, Microstructural and Water Mobility Approach. *Food Science of Animal Resources*, 41(5), 802-815. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2021.e37>
- Guuml rbuuml z, U. mit, Kahraman, H., Telli, A., Bicedil er, Y., & Doğruer, Y. (2022). Comparison of meat quality characteristics of dry aged lamb loins and optimization of dry aging process. *Veterinary Research Forum*, 13(1). <https://doi.org/10.30466/vrf.2020.116850.2869>
- Guuml; rbuuml;z, U., Kahraman, H., Telli, A., Bicedil;er, Y., & Doğruer, Y. (2022). Comparison of meat quality characteristics of dry aged lamb loins and optimization of dry aging process. *Veterinary Research Forum*, 13(1). <https://doi.org/10.30466/vrf.2020.116850.2869>
- Hernández Velázquez, V. (2019). *Efecto del nivel proteínico de la dieta en el crecimiento y hormonas reproductivas de la cerda lampiña tropical* [Tesis de Maestría, Colegios de Postgraduados]. http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/3368/Hernandez_Velazquez_V_MC_Agroecosistemas_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Hill, F. (1966). The Solubility of Intramuscular Collagen in Meat Animals of Various Ages. *Journal of Food Science*, 31(2), 161-166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1966.tb00472.x>
- Hocquette, J. F., Gondret, F., Baéza, E., Médale, F., Jurie, C., & Pethick, D. W. (2010). Intramuscular fat content in meat-producing animals: Development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. *Animal*, 4(2), 303-319. <https://doi.org/10.1017/S1751731109991091>
- Hulánková, R., Kameník, J., Saláková, A., Závodský, D., & Borilova, G. (2018). The effect of dry aging on instrumental, chemical and microbiological parameters of organic beef loin muscle. *LWT*, 89, 559-565. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.014>
- Hwang, Y.-H., Sabikun, N., Ismail, I., & Joo, S.-T. (2018). Comparison of Meat Quality Characteristics of Wet- and Dry-aging Pork Belly and Shoulder Blade. *Food Science of Animal Resources*, 38(5), 950-958. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e27>
- Jaramillo Recalde, A. C. (2016). *Efecto de dos métodos de maduración en las características físicas, microbiológicas y sensoriales del músculo Longissimus dorsi de res*.

-
-
- Jiménez, A. C. G., Martínez, K. M., Verdín, E. M. B., Prado, J. O. B., & Flores, C. L. (2021). Características de canal y perfiles bioquímicos sanguíneos en cerdos alimentados con diferentes niveles de pasta de aguacate (*Persea americana* mill.) / Carcass characteristics and blood biochemical profiles in finishing pigs fed with different levels of avocado paste (*Persea americana* mill.). *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 4(2), 2344-2359. <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n2-064>
- Joo, S.-T., Lee, E.-Y., Son, Y.-M., Hossain, Md. J., Kim, C.-J., Kim, S.-H., & Hwang, Y.-H. (2023). Aging mechanism for improving the tenderness and taste characteristics of meat. *Journal of Animal Science and Technology*, 65(6), 1151-1168. <https://doi.org/10.5187/jast.2023.e110>
- Kim, J.-H., Kim, J.-H., Yoon, D.-K., Ji, D.-S., Jang, H.-J., & Lee, C.-H. (2018a). A comparison of dry and wet aging on physicochemical and sensory characteristics of pork loin with two aging times. *Food Science and Biotechnology*, 27(6), 1551-1559. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0418-x>
- Kim, J.-H., Kim, J.-H., Yoon, D.-K., Ji, D.-S., Jang, H.-J., & Lee, C.-H. (2018b). A comparison of dry and wet aging on physicochemical and sensory characteristics of pork loin with two aging times. *Food Science and Biotechnology*, 27(6), 1551-1559. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0418-x>
- Kim, J.-H., Kim, T.-K., Shin, D.-M., Kim, H.-W., Kim, Y.-B., & Choi, Y.-S. (2020). Comparative effects of dry-aging and wet-aging on physicochemical properties and digestibility of Hanwoo beef. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(3), 501-505. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0031>
- Kim, S., Kim, G., Moon, C., Ko, K., Choi, Y., Choe, J., & Ryu, Y. (2022). Effects of Aging Methods and Periods on Quality Characteristics of Beef. *Food Science of Animal Resources*, 42(6), 953-967. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2022.e63>
- Kim, S., Lee, H. J., Kim, M., Yoon, J. W., Shin, D. J., & Jo, C. (2019). Storage Stability of Vacuum-packaged Dry-aged Beef during Refrigeration at 4°C. *Food Science of Animal Resources*, 39(2), 266-275. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e21>
- Kim, Y. H. B., Ma, D., Setyabrata, D., Farouk, M. M., Lonergan, S. M., Huff-Lonergan, E., & Hunt, M. C. (2018). Understanding postmortem biochemical processes and post-harvest aging factors to develop novel smart-aging strategies. *Meat Science*, 144, 74-90. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.031>
- Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006a). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1), 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.025>
- Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006b). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1), 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.025>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>

Lee, H. J., Yoon, J. W., Kim, M., Oh, H., Yoon, Y., & Jo, C. (2019). Changes in microbial composition on the crust by different air flow velocities and their effect on sensory properties of dry-aged beef. *Meat Science*, 153, 152-158. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.03.019>

Leighton, P., López-Campos, O., Segura, J., Evasiuk, L., Aalhus, J. L., & Prieto, N. (2021, agosto). *Potencial of in-the-bag dry ageing to improve the flavour profile of beef low value cuts*.

Lemus Flores, C., & Alonso Spilsbury, M. de L. (Eds.). (2005). *El cerdo pelón mexicano y otros cerdos criollos*. Universidad Autónoma de Nayarit: SAGARPA-CONACYT.

Li, X., Ha, M., Warner, R. D., & Dunshea, F. R. (2022). Meta-analysis of the relationship between collagen characteristics and meat tenderness. *Meat Science*, 185, 108717. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108717>

López-Maldonado, I. M. (2009). *Efecto del tiempo de maduración y edad cronológica sobre características organolépticas de carne de res de Puerto Rico*. [Trabajo de grado para optar el título de Maestro en Ciencias y Tecnología de los Alimentos.]. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayaguez.

Martinez, H. A., Miller, R. K., Kerth, C., & Wasser, B. E. (2023). Prediction of beef tenderness and juiciness using consumer and descriptive sensory attributes. *Meat Science*, 205, 109292. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109292>

Muroya, S. (2023). Postmortem skeletal muscle metabolism of farm animals approached with metabolomics. *Animal Bioscience*, 36(2), 374-384. <https://doi.org/10.5713/ab.22.0370>

Novaković, S., & Tomašević, I. (2017). A comparison between Warner-Bratzler shear force measurement and texture profile analysis of meat and meat products: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 85, 012063. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012063>

Ochoa Florez, D. E. (2022). *Actividad enzimática de las calpaínas, catepsinas y caspasas en el estrés oxidativo de la carne de cerdo durante la conversión y maduración*. [Monografía de Especialidad, Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD]. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/54192/deochoafl.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ogato, N. (s. f.). *1519, Hernán Cortés y el Cerdo en México – Diversidad Biológica y Cultural Trópico Americano*. Recuperado 22 de agosto de 2023, de http://etnoecologia.uv.mx/diversidad_biocultural/cerdo-pelon-mexicano/

Onega Pagador, M. E. (2005). *Evaluación de la calidad de carnes frescas: Aplicación de técnicas analíticas, instrumentales y sensoriales: memoria para optar al grado de doctor*. [Universidad Complutense], Servicio de Publicaciones.

Palanca Carnissers. (2017, mayo 25). *La maduración de la carne*. <https://www.palancacarnissers.com/la-maduracion-de-la-carne/>

Panella-Riera, N., Delpiazzo, R., Font-i-Furnols, M., & Gil, M. (2021, marzo 19). *Revalorización de la carne bovina mediante la maduración*. Interempresas. <https://www.interempresas.net/Industria-Carnica/Articulos/326877-Revalorizacion-de-la-carne-bovina-mediante-la-maduracion.html>

Pedraza Aguilar, T. M. (2019). *Origen, historia y características generales del Cerdo Pelón Mexicano*. [Tesis, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/47775/K%2066343%20Pedraza%20Aguilar%2C%20Tania%20Marisol.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Rosado Aguilar, J. A., Rodríguez Vivas, R. I., Bolio González, M. E., Guitiérrez Ruiz, E., Aguilar Cabellero, A. J., Ortega Pachego, A., Torres Acosta, J. F. de J., & Gutiérrez Blanco, E. (2022). El cerdo pelón mexicano: Alternativa alimenticia y principales zoonosis parasitarias. *Bioagrociencias*, 15(1), 47-55.

Samuel. (2019, diciembre 17). ¿QUÉ ES DRY AGED O MADURACIÓN DE LA CARNE? *BuenaCarne by Cárnicas Jurado*. <https://buenacarne.es/que-es-dry-aged-o-maduracion-de-la-carne>

Santo, J. (2009). *Proteínas: Estructuras fascinantes* (1.ª ed.).

Savell, J., Miller, R., & Wheeler, T. (2023). Standardized Warner-Bratzler shear force procedures for genetic evaluation. *Texas A&M University*.

Shi, H., Shahidi, F., Wang, J., Huang, Y., Zou, Y., Xu, W., & Wang, D. (2021). Techniques for postmortem tenderisation in meat processing: Effectiveness, application and possible mechanisms. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s43014-021-00062-0>

Shi, Y., Zhang, W., & Zhou, G. (2020). Effects of Different Moisture-Permeable Packaging on the Quality of Aging Beef Compared with Wet Aging and Dry Aging. *Foods*, 9(5), 649. <https://doi.org/10.3390/foods9050649>

Sierra Martínez, L. (2019). *Comercialización del Cerdo Pelón y sus productos derivados en la Península de Yucatán*. [Instituto Tecnológico de Conkal]. https://conkal.tecnm.mx/images/POSGRADO_NEW/REPOSITORIO%20INSTITUCIONAL%20DE%20TESIS%20Y%20TRABAJO%20TERMINAL/2017-2019_Leilani%20Sierra%20Mart%C3%ADnez.pdf

Sierra Sánchez, V. (2010). *Evolución post-mortem de parámetros indicativos de calidad en carne de vacuno efecto de la raza y el gen de la hipertrofia muscular*. Biblioteca de la Universidad de Oviedo.

Smith, A. M., Harris, K. B., Griffin, D. B., Miller, R. K., Kerth, C. R., & Savell, J. W. (2014). Retail yields and palatability evaluations of individual muscles from wet-aged and dry-aged beef ribeyes and top sirloin butts that were merchandised innovatively. *Meat Science*, 97(1), 21-26. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.12.013>

USMEF. (2014). *Guidelines for U.S. dry aged beef for international markets*. Meat Export Federation of USA. <https://www.usmef.org/guidelines-for-u-s-dry-aged-beef-for-international-markets/>

Ustuner, H., Ardicli, S., & Arslan, O. (2021). Determination of the alterations in quality parameters and consumer preference of dry-aged beef based on different periods of ageing using a purposive incubator. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 72(1), 2669. <https://doi.org/10.12681/jhvms.26749>

Vitale, M. (2016, febrero 15). *Maduración de la carne de vacuno: Cómo se realiza y factores que la afectan*. Interempresas. <https://www.interempresas.net/Industria-Carnica/Articulos/150611-Maduracion-de-la-carne-de-vacuno-como-se-realiza-y-factores-que-la-afectan.html>

Yang, F., Lee, C.-H., Jeon, M.-Y., Cho, W.-Y., & Seo, H. G. (2021). The Physicochemical and Sensory Properties of Whey-Fed Pork Loin after Salting, Dry Aging, and Sous Vide Cooking. *Journal of Chemistry*, 2021, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2021/6624269>

Yu, Q., Cooper, B., Sobreira, T., & Kim, Y. (2021). Utilizing Pork Exudate Metabolomics to Reveal the Impact of Aging on Meat Quality. *Foods*, 10(3), 668. <https://doi.org/10.3390/foods10030668>

Zhang, R., Yoo, M. J. Y., & Farouk, M. M. (2019). Quality and Acceptability of Fresh and Long-Term Frozen In-Bag Dry-Aged Lean Bull Beef. *Journal of Food Quality*, 2019, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2019/1975264>

9 ANEXOS

Índice de fragmentación miofibrilar (Preparación de buffers)

Buffer de fosfato de potasio 50 mM

Pesar 2.04 g de KH_2PO_4 (monobásico) y 1.74 de K_2HPO_4 (dibásico) en un vaso con 250 mL de agua destilada, mezclar completamente y finalmente, aforar a 500 mL con agua destilada.

Buffer de fosfato de potasio 20 mM (pH 7.0)

Tomar 200 mL de buffer de fosfato de potasio 50 mM y aforar a 500 mL con agua destilada.

Buffer de fosfato de potasio 20 mM (pH 7.0) que contiene 100 mM KCl, 1 mM EDTA, 1 mM NaN_3 y 1 mM MgCl_2

Pesar 3.7 g de KCl, 0.146 g EDTA, 0.0325 g NaN_3 y 0.0476 g de MgCl_2 en un vaso con 250 mL de buffer de fosfato de potasio 20 mM mezclar completamente y finalmente, aforar a 500 mL con buffer de fosfato de potasio 20 mM.

Almacenar los buffer a 4 °C en frascos de vidrio.

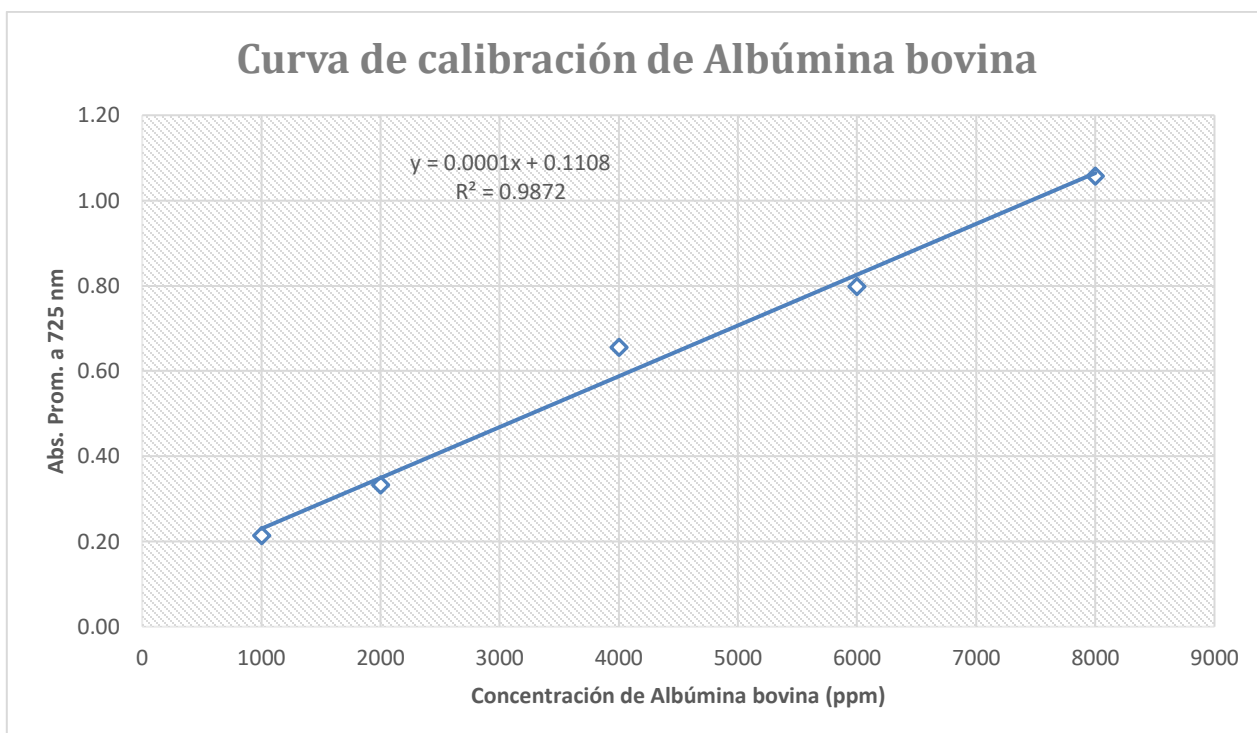
Metodo de Lowry (Preparacion de reactivos y procedimiento)

En un tubo de ensaye depositar 50 μL de muestra homogénea y mezclar con 950 μL de agua destilada; seguido de la adición de 3 mL de reactivo de Lowry's (Mezcla el reactivo A y B en proporción 100:1; **reactivo A**: 2% de Na_2CO_3 , 0.4% NaOH, 0.16% tartrato de sodio y potasio, 1% de dodecilsulfato sódico SDS, disuelto en agua destilada; **reactivo B**: 4% CuSO_4 disuelto en agua destilada). Incubar tubos con muestra a temperatura ambiente por 1 hora. Pasada la hora, adicionar a la mezcla 300 μL de reactivo Folin 1N y mezclar en vortéx. Los tubos se dejaron reposar a temperatura ambiente por 45 min y se leyó la absorbancia a 725 nm.

→ **Reactivo A**: Pesar 2 g Na_2CO_3 , 0.4 g NaOH, 0.16 g tartrato de sodio y potasio, 1 g de dodecilsulfato sódico SDS, disolver todos en vaso precipitado con 50 mL de agua destilada y luego aforar a 100 mL con agua destilada.

-
-
- **Reactivo B:** 0.4 g de CuSO_4 disuelto en 5 mL de agua destilada y aforado a 10 mL con agua destilada.
 - **Folin 1N**= 2.5 mL de Folin 2N + 2.5 mL de agua destilada.
 - **Reactivo de Lowry's modificado:** 99 mL de solución A + 1 mL de solución B.

Curva de calibración para determinación de proteínas (IFM y solubilidad de proteínas)



Solubilidad de proteínas (Preparación de buffers)

Buffer de fosfato de potasio 50 mM

Pesar 2.04 g de KH_2PO_4 (monobásico) y 1.74 g de K_2HPO_4 (dibásico) en un vaso con 250 mL de agua destilada, mezclar completamente y finalmente, aforar a 500 mL de agua destilada.

Buffer de fosfato de potasio 25 mM

Tomar 500 mL de buffer de fosfato de potasio 50 mM y aforar a 1 litro con agua destilada.

Buffer de fosfato de potasio 50 mM que contiene 0.55 M KI (yoduro de potasio)

Pesar 1.02 g de KH_2PO_4 (monobásico), 0.87 g de K_2HPO_4 (dibásico) y 22.8 g de KI en un vaso con 100 mL de buffer de agua destilada, mezclar completamente y finalmente, aforar a 250 mL de agua destilada.

Almacenar los buffers a 4 °C en frascos de vidrio.

Determinación de colágeno (Preparación de reactivos)

Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 7N al 20 %

20 mL de ácido sulfúrico aforar a 100 mL con agua destilada.

NaOH al 10 %

Disolver 10 g de NaOH en un vaso de precipitado con 50 mL de agua destilada y aforar a 100 mL con agua destilada.

Solución amortiguadora

Disolver 3.4 g de acetato de sodio anhidro, 3.65g de citrato sódico monohidratado y 0.55 g de ácido cítrico en un vaso de precipitado con 38.5 mL de alcohol isopropílico (propanol) y aforar a 100 mL con agua destilada.

Ácido perclórico al 17.5 %

25 mL de ácido perclórico (70 %), aforar a 100 mL con agua destilada.

*Almacenar en refrigeración

P-dimetilaminobenzaldehído (5 % en alcohol isopropílico)

Pesar 2.5 g de P-DAB, disolver en 25 mL de alcohol isopropílico y aforar con 50 mL del mismo alcohol. *Trabajar en fresco.

Cloramina T al 10.5 %

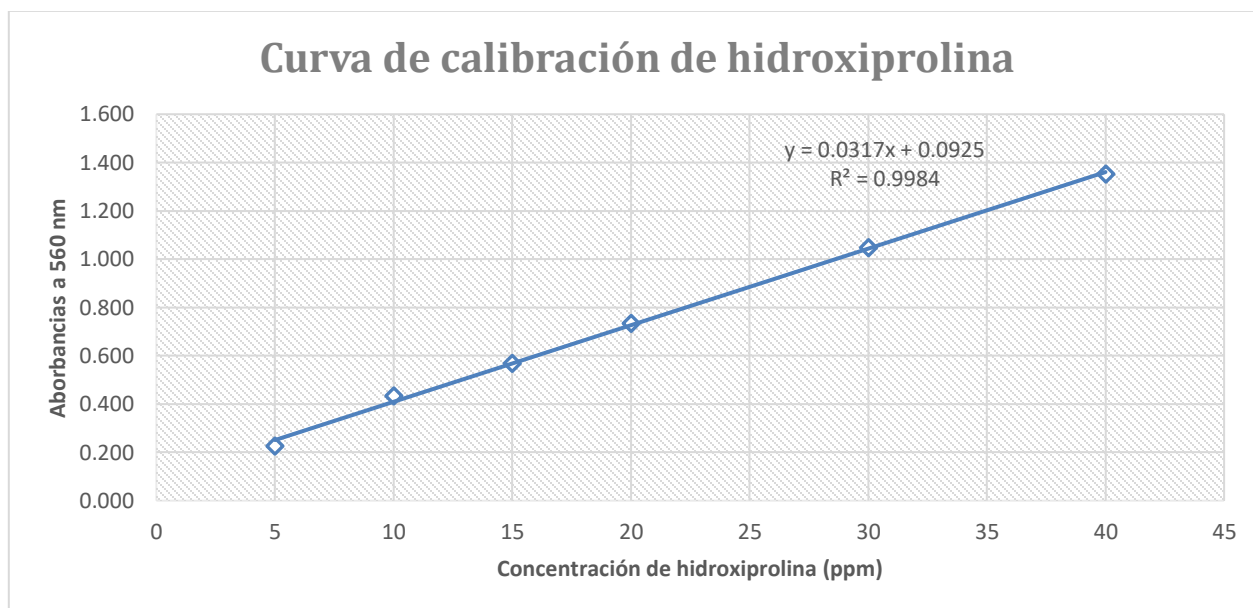
Pesar 10.5 g de Cloramina T, disolver en 50 mL con agua destilada y aforar en 100 mL con agua destilada.

*Proteger de la luz, refrigerar y trabajar en fresco.

Solución oxidante

5 mL de Cloramina T al 10.5 % y 20 mL de solución amortiguadora.

Curva de calibración para determinación del contenido de colágeno total



Electroforesis

Extracción de proteínas (Buffers)

Buffer de fosfato 0.03 M, pH 7.0.

Pesar 4.06 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) y disolver en 900 mL de agua destilada. El pH de la disolución es ajustado a 7.0 utilizando 1M de hidróxido de potasio (KOH). La solución es aforada a 1 L con agua destilada en un matraz volumétrico (almacenar en refrigeración).

KOH 1M

Pesar 5.6 g de hidróxido de potasio y aforar a 100 mL con agua destilada (almacenar a temperatura ambiente).

Buffer de fosfato 0.1 M, pH 7.0 con 1.1 M KCl

Pesar 13.6 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4), 5.0 g de KOH y 82.0 g de cloruro de potasio KCl y disuelto en 900 mL de agua destilada. El pH de la disolución fue ajustado a 7.0 utilizando 1M KOH y la solución es aforada a 1 L con agua destilada.

Preparación de geles (2)

I. Gel separador (12 %)

1. **Agua destilada 4 mL**
2. **Buffer 8.8 (1.5 M) 3 mL**
3. **Acrilamida 30 % 4.8 mL**
4. **Persulfato de amonio 10 % (0.1 g/1 mL de agua destilada, iniciador) 60 μL** . Se prepara el día de su uso en un tubo Eppendorf de 1.5 mL cubierto con papel aluminio.
5. **SDS (10 %) 120 μL**
6. **TEMED (catalizador) 10 μL**

II. Gel de apilamiento (4 %)

1. **Agua destilada 3,726 μL**
2. **Buffer 6.8 (0.5 M) 504 μL**
3. **Acrilamida (30 %) 664 μL**
4. **SDS (10 %) 50 μL**
5. **Persulfato de amonio 50 μL**
6. **TEMED 10 μL**

Procedimiento

1. Armar placas cuidadosamente colocándolas de arriba hacia abajo asegurándose que no haya filtraciones. Para esto, es importante sellar con papel parafilm el borde y esquinas inferiores de las placas y llenar el espacio entre las mismas con agua destilada. Escurrir el agua y secar con papel filtro.
2. Preparar gel de separación.
3. Verter gel de separación hasta alcanzar aproximadamente $\frac{3}{4}$ de altura.
4. Agregar 1 mL de alcohol isopropílico.
5. Esperar de 20 a 25 minutos a que polimerice el gel.

6. Escurrir alcohol isopropílico y secar con papel filtro.
7. Preparar gel de apilamiento.
8. Verter gel de apilamiento hasta el tope.
9. Colocar peine (separadores).
10. Esperar de 20 a 25 minutos a que polimerice el gel.

Nota: el gel puede guardarse en un recipiente con agua destilada y a temperatura de refrigeración el tiempo que sea necesario previo a la corrida electroforética.

Preparación de solución Acrilamida/bisacrilamida 30% (stock)

- Acrilamida 29.2 %
- Bis-acrilamida 0.8 %

Se pesaron los granulados de cada reactivo con base a su porcentaje; para este caso se elaboraron 100 mL de stock por lo que se pesaron 29.2 g y 0.8 g respectivamente. En un matraz con una barra magnética se disolvieron ambos reactivos aforados a 100 mL con agua destilada.

Buffer de corrida

Reactivos	5x	10x
Glicina (250 mM)	15 g	30 g
Tris HCl (25 mM)	72 g	144 g
SDS 0.1 %	5 g	10 g

Aforado a 1 L con agua destilada.

Buffer Tris 0.5 M (pH 6.8)

Pesar 30.285 g y aforar en 500 mL con agua destilada.

Buffer Tris 1.5 M (pH 8.8)

Pesar 90.855 g y aforar en 500 mL con agua destilada.

Buffer de carga Laemmli (3x) con β -mercaptoetanol

1.2 mL 0.5M Tris (pH 6.8) (0.60 g aforado en 10 mL con agua destilada).

2.5 mL Glicerol.
2 mL SDS 10 %.
0.5 mL β -mercaptoetanol.
3.8 mL agua destilada.
10 mL
Almacenar a -20 °C

Corrida electroforética

1. Ya polimerizados los geles, retirar los peines (separadores) y colocar en el primer pocillo 6 μ L de marcado (poner nombre??).
2. Dejamos un pocillo vacío después de vaciar el marcador para evitar revolver el marcador con las muestras y se coloca 15 μ L de las muestras en los pocillos siguientes y registramos el orden en la bitácora.
3. Armar la cámara interna de electroforesis Mini-Protean Tetra Cell (Brio-rad), colocamos los cristales en el empaque y se asegura con los broches de presión, colarlo en la cámara externar.
4. Preparar el buffer de corrida (10x), verter 80 mL en una probeta y aforar a 80 mL con agua destilada.
5. Cargar la cámara interna con el buffer de corrida hasta el borde y verter el buffer restante en la cámara externa hasta la línea marcada para 2 geles.
6. Correr electroforesis a 90 V durante 90-120 minutos.
7. Esperar hasta que el marcador electroforético (línea azul) alcance el final de las placas (no debe excederse).
8. Retirar cuidadosamente el gel, colocarlo en solución de fijación e incubar durante por lo menos 2 h en agitación.

Fijación

20 mL de metanol
10 mL de ácido acético
50 μ L de formaldehído



Aforar a 100 mL con agua
destilada

Después de la incubación, decantar la solución de fijación y guardarla para su uso posterior (como solución “stop” del revelado).

Lavar el gel de 2 a 3 veces con etanol al 30 % durante 20 minutos (por cada lavado).

*Ir preparando soluciones de pre tratamiento y tinción.

Pre tratamiento

Colocar gel en solución de Tiosulfato de Sodio al 0.02 % (0.01 g de Tiosulfato de Sodio aforado en 50 mL de agua destilada) y dejar en oscuridad (tapando con una nevera o papel aluminio) y agitación durante 1 min.

Decantar la solución de pretratamiento y guardarla para uso posterior (revelado).

Lavar 3 veces con agua destilada durante 20 s (por cada lavado).

Tinción con plata

Para 30 mL (1 gel)

- 0.06 g de Nitrato de Plata
- 22 μ L de formaldehído
- Aforar con agua destilada

Para 60 mL (2 geles)

- 0.12 g de Nitrato de Plata
- 44 μ L de formaldehído
- Aforar con agua destilada

Incubar 20 min en oscuridad (tapando con una nevera o papel aluminio) y agitación.

Decantar y lavar 2 veces con agua destilada durante 20 s (por cada lavado).

Revelado

- 1.8 g de Carbonato de Sodio
- 15 μ L de formaldehído
- 600 μ L de Tiosulfato de Sodio (solución de pre tratamiento)

Mezclar y aforar en 30 mL de agua destilada.

Incubar gel en solución y agitar cuidadosamente hasta que empiecen a aparecer las bandas.

Decantar y agregar solución “stop” (misma que se utilizó para la fijación).

*Proceso rápido para evitar que se queme el gel.