

## EFFECTO PROTECTOR DE 1,25-DIHIROXICOLECALCIFEROL EN LA ESTABILIDAD OXIDATIVA Y EN LA CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO.

López Hernández L. H.<sup>a,\*</sup>, Hernández Hernández I.<sup>b</sup>, González Mendoza M. E.<sup>a</sup>, Carrillo Esparza A. L.<sup>a</sup>, Cruz Estrella M. G.<sup>a</sup>

**a** Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal (CENIDFyMA), Programa Carne de Cerdo, km 1.0 carretera a Colón, Ajuchitlán, C.P. 76280, Colón, Querétaro, México.

**b** Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), Unidad Iztapalapa, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Biotecnología, San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina C.P. 09340, Delegación Iztapalapa, México, D.F.

\*[lopez.lhumberto@inifap.gob.mx](mailto:lopez.lhumberto@inifap.gob.mx)

### RESUMEN:

La adición de vitaminas en productos procesados tiene la finalidad de cubrir una deficiencia en la población. La carne de cerdo puede ser enriquecida vía dieta del animal con vitamina D3 o algún metabolito activo (1,25 dihidroxicolecalciferol (HyD)). El objetivo fue determinar el efecto protector de HyD contra la oxidación lipídica y en la calidad de la carne de cerdo. Se obtuvieron los lomos y grasa dorsal de 96 cerdos. Los Tratamientos fueron dietas convencionales con la inclusión de: 1) VitaminaE (250UI), 2) HyD (100,000UI) y 3) VitaminaE+HyD (250+100,000UI). Se determinó el color objetivo (CIELab) y subjetivo, pH, marmoleo, pérdida de agua por goteo (PAG), capacidad de retención de agua (CRA) y estabilidad oxidativa (capacidad reductora (FRAP) y oxidación (TBARS)). El uso de HyD disminuyó la PAG ( $P<0.023$ ) y mejoró la CRA ( $P<0.023$ ), el color subjetivo ( $P<0.001$ ) y marmoleo ( $P<0.008$ ). El valor de luminosidad (L) y de amarillos (b) disminuyó por el uso de HyD y HyD+VitE. La capacidad FRAP fue mayor ( $P<0.022$ ) para HyD, mientras que TBARS solo se redujo en la grasa dorsal ( $P<0.009$ ). Color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) y TBARS no se modificaron durante el almacenamiento en refrigeración. El enriquecimiento con HyD mejoró la calidad de carne de cerdo.

### ABSTRACT:

The addition of vitamins to processed products has the goal of correcting a nutritional deficiency in the population. Pork meat can be enriched by dietary supplementation with vitamin D3 or some active metabolite (1,25-dihydroxicholecalciferol (HyD)). The objective was to determine the protective effect of HyD against lipid oxidation and on pork meat quality. Loins and back fat samples from 96 pigs were taken. The treatments were conventional diets with the addition of: 1) Vitamin E (250IU), 2) HyD (100,000IU) and 3) Vitamin E+ HyD (250+100,000IU). Objective and subjective color, pH, marbling, drip loss (DL), water holding capacity (WHC) and oxidative stability parameters (reducing capacity by FRAP and oxidation by TBARS) were determined. The use of HyD decreased DL ( $P<0.023$ ), and improved the WHC ( $P<0.023$ ), subjective color ( $P<0.001$ ) and marbling ( $P<0.008$ ). The value of lightness (L) and yellowness (b) decreased with the use of HyD and HyD+VitE. FRAP capacity increased ( $P<0.022$ ) for HyD, while TBARS only decreased in back fat ( $P<0.009$ ). Color ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) and TBARS were not modified during refrigerated storage. The supplementation with HyD improved the quality of pork meat.

### Palabras clave:

Carne, Cerdo, Calidad.

### Keyword:

Meat, Pork, Quality.

Área: Cárnicos.

## INTRODUCCIÓN

La vitamina D está declarada en deficiencia para la población nacional (INSP, 2011), por ello, es comúnmente adicionada a los alimentos, pero poca es la información sobre la molécula usada (D2, D3 o algún metabolito secundario). Se sabe de la importancia de la vitamina D3 y sus metabolitos activos, 25-hidroxivitamina D3 (25OHD3, calcidiol) y 1,25-dihidroxivitamina D3 (HyD, calcitriol) por sus efectos directos o indirectos en la absorción de calcio y fósforo del estómago a los huesos, pero también se ha mostrado que esta vitamina tiene efectos favorables en otras áreas relacionadas con la salud como esclerosis múltiple, ciertos tipos de cáncer, activación inmune, etc. Debido a lo anterior, se ha sugerido que los niveles de consumo adecuados de Vitamina D3 deberían ser mayores a los recomendados actualmente. Se ha aclarado que no es únicamente la concentración de vitamina D3 en carne la que importa, sino también el nivel de 25OHD3 que es 1.5 a 5 veces más potente que D3. La carne de cerdo puede ser enriquecida vía dieta del animal con vitamina D3 o algún metabolito activo como HyD o 25OHD3 con el fin de proveer un aporte extra de esta vitamina (Purchas et al., 2006). Estudios en cerdos demuestran que una sobredosificación de vitamina D3 en el animal, causa signos de toxicidad repercutiendo en parámetros productivos como son el consumo y peso del animal (disminuyendo el rendimiento en canal), debido a la movilización en exceso de calcio. Hay que considerar que el uso de metabolitos secundarios como HyD no tienen un efecto tóxico a ciertas concentraciones equivalentes de D3; en estudios previos (Gabriel, 2012) la dosis suministrada al animal 40,000 UI de HyD no tuvo efectos en los parámetros productivos del animal (peso y consumo). En un trabajo relacionado al anterior (Hernández, 2012) se tuvieron evidencias de que algunos parámetros de calidad de carne eran mejorados, entre ellos destacó la posible actividad antioxidante al reducir las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en carne almacenada por más de 14 días. Por otro lado, con la suplementación con vitamina E al cerdo, además del efecto fisiológico, se reportaron beneficios extras en la carne al mejorar el color (L\* y a\*), disminuir las pérdidas de agua por goteo (PAG) y reducir la oxidación (Boler *et al.*, 2009). En base a lo anterior, si HyD tiene un efecto en calidad de carne, estos pueden ser mejorados o tal vez potenciados sinérgicamente con el uso de vitamina E.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Se utilizó un grupo de producción porcina del CENID Fisiología del INIFAP (96 cerdos de la craza Large White x Landrace) con un peso inicial al experimento de  $85 \pm 11.5$  kg. Los animales fueron aleatorizados por sexo y peso al inicio del experimento a uno de los tres Tratamientos (32 cerdos por Tratamiento). Los Tratamientos fueron suministrados a través de una dieta convencional: 1) Vitamina E (250 UI/kg), 2) HyD (100,000 UI/kg) y 3) Vitamina E + HyD (250 + 100,000 UI/kg). El tiempo de consumo fue de 38 días en promedio. Los animales fueron enviados a un rastro Tipo Inspección Federal (TIF) en el estado de Querétaro, siguiendo los protocolos de embarque, transporte y sacrificio de animales de abasto (NOM-033-ZOO-1995).

### Parámetros de calidad en rastro

Una vez obtenidas las canales después del sacrificio, se determinó el pH y la temperatura a los 45 min posteriores a la muerte del animal, y se registró el peso de la canal caliente. Se determinaron el pH y temperatura en el lomo a la altura de la 10<sup>a</sup> costilla en dirección caudal de la canal por punción, usando un electrodo de vidrio conectado a un medidor de pH HI 99163

(HANNA Instruments Inc., Romania). El medidor de pH se calibró a dos puntos pH 4 y pH 7 (Honikel, 1998).

### **Determinación de parámetros en carne y grasa de cerdo**

Después de 16 h de frío, se realizó el despiece de cada canal una planta procesadora TIF de carne de cerdo y se obtuvieron los dos lomos (*Longissimus dorsi*) de cada canal y la grasa dorsal sobre el lomo. Las muestras fueron transportadas en una hielera al Laboratorio de Carnes del CENIDFyMA. Se determinó el pH y temperatura en el lomo. Después se seccionó en al menos 4 chuletas (2.2 cm aprox. de espesor). La chuleta No. 1 fue expuesta al oxígeno durante 30 min en el lado de corte y se calificó el color y marmoleo con la escala subjetiva del NPPC (1996), así como el color objetivo ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) con colorímetro portátil MiniScan HunterLab con iluminante D65/10° (Hunter Inc., Virginia, USA). Con la chuleta No. 2 se determinó la capacidad de retención de agua por centrifugación según el método utilizado por Hamm (1975). La chuleta No. 3 se usó para la determinación de la pérdida de agua por goteo (PAG) a las 24 horas posteriores según el método descrito por Honikel (1998). La mitad de la chuleta No. 4 se utilizó para determinar FRAP según lo reportado por Descalzo *et al.* (2007). La curva estándar se realizó con Trolox. La otra mitad de la chuleta No. 4 se utilizó para determinar la oxidación lipídica, a partir del método de TBARS descrito por Raharjo *et al.* (1992) para carne, y el método de Pegg (2001) para grasa. Los resultados tanto para carne y grasa se calcularon a partir de una curva de calibración utilizando como estándar malondialdehído (MDA). Los parámetros de carne fresca antes mencionados fueron considerados como día 1.

### **Evaluación de la calidad de carne durante el almacenamiento**

Con el otro lomo de cada canal, se obtuvieron 4 chuletas, las cuales fueron colocadas en charolas de unicel individualmente y recubiertas con plástico PVC autoadherente con el fin de simular las condiciones de venta de supermercados. Las muestras fueron colocadas en una cámara de refrigeración a  $4\pm 0.2$  °C con luz fría encendida en intervalos de 15 min cada hora. Al azar se fue retirando una charola de cada canal a los días 3, 5, 7 y 9 días. En cada día de muestreo se determinó el pH, color objetivo ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) y oxidación por TBARS.

El diseño fue completamente al azar para tres tratamientos. Los resultados para calidad de carne y oxidación se analizaron mediante un análisis GLM considerando el efecto del tratamiento. Los resultados durante el almacenamiento fueron analizados mediante el procedimiento Mixed considerando los efectos mayores (Tratamiento y Días de almacenamiento) y el efecto de su interacción, ambos análisis se realizaron mediante el software estadístico SAS v.9.2 (SAS Institute Inc., Cary NC 2008).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Como se observa en el Cuadro I, el peso del animal en rastro y el rendimiento en canal se afectó ( $P<0.001$ ) por efecto de los tratamientos. La sobredosisificación de HyD en cerdos, a pesar de ser un metabolito con menor toxicidad, causó un efecto negativo, disminuyendo el peso en el animal (16 kg), mientras que en canal la pérdida fue de 10-11% en el rendimiento. En cuanto a los parámetros de calidad de carne, se observa que PAG, CRA, color y marmoleo por NPPC,  $L^*$  y  $b^*$  se modificaron ( $P<0.001$ ) por efecto de la inclusión de alguno de los Tratamientos. El uso de HyD disminuyó la PAG hasta 3.36%, posiblemente la interacción con vitamina E incrementó ligeramente la PAG en el tratamiento VitE+HyD (4.07%), y Vitamina E por si sola

tuvo una PAG de 4.53% en promedio. La CRA también incrementó ( $P < 0.26$ ) de un 13.6% para Vit E hasta un 23.4% para HyD; mientras que al incorporar ambas vitaminas la CRA solo aumentó hasta 16.31%. El color subjetivo fue más cercano a 3 de la escala NPPC para los tratamientos HyD y VitE+HyD (3.07 y 2.97 respectivamente) y diferentes ( $P < 0.001$ ) del color de las muestras con Vit E (2.65). El marmoleo se incrementó significativamente con el mismo comportamiento que para color, sin embargo, es difícil explicar el posible efecto de HyD en la deposición de grasa intramuscular en el lomo. En cuanto a  $L^*$ , con HyD se obtuvieron valores significativamente ( $P < 0.001$ ) mayores, lo que nos habla de carne más clara. Lo anterior es similar a lo reportado por Wilborn et al. (2004), donde con 80,000 IU/kg vitamina D3 por 51 días disminuyó la ganancia de peso diaria en el cerdo y se tuvieron menores porcentajes de PAG; difiere en cuanto al valor de  $L^*$ , donde fue menor (carne más oscura). Al incrementar el calcio celular se activa la ruta calcineurina, la cual promueve las fibras musculares rojas y por lo tanto mejora la calidad de la carne. Se necesita una alta concentración de vitamina D y largos periodos para que se lleve a cabo la alteración de las fibras musculares. Dosis de 500,000 UI/d de D3 por 5 días aumentaron la merma en canales frías, sugiriendo una mayor PAG (Wiegand et al., 2002), mientras que color, marmoleo y fuerza al corte no se afectaron. La actividad antioxidante medida por la técnica de FRAP indica diferencias por efecto de Tratamiento ( $P < 0.022$ ), donde la actividad es mayor con HyD (3.03 mg ETrolox/kg de carne), sin embargo, HyD con Vitamina E tiene un comportamiento igual al de vitamina E (2.40 y 2.42 mg ETrolox/kg de carne respectivamente). Para explicar mejor los resultados de HyD sería adecuado determinar los niveles endógenos alcanzados de HyD en carne y grasa. Con respecto a la oxidación en carne, los resultados no son concluyentes, posiblemente debido a la poca deposición de grasa intramuscular (marmoleo) y al tipo de grasa depositado. Sin embargo, la oxidación en grasa disminuyó ( $P < 0.009$ ) por efecto de la incorporación de HyD (2.647 mg MDA/kg de grasa). Cabe señalar que tanto Vit E como HyD son vitaminas liposolubles, por lo tanto podría esperarse su posible deposición en grasa y un mayor efecto antioxidante. En contraste con los resultados obtenidos, algunos estudios indican que la suplementación de vitamina E en la dieta de cerdos ha disminuido la PAG y estabilizado el color de la carne (Swigert, 2004). Rosenvold et al. (2002) demostró que la suplementación con vitamina E tuvo efectos negativos en la PAG, resultando en la reducción de la CRA. Guo et al. (2007) no encontraron diferencias en calidad de carne para  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , pH, color subjetivo, marmoleo y firmeza hasta con 200 IU/kg. Lo obtenido fue contrario a lo reportado por Dunshea et al. (2005), con 200mg/kg de vitamina sintética se necesita al menos 84 d para obtener una reducción en la oxidación lipídica en carne fresca de cerdo.

Cuadro I. Efecto del enriquecimiento con vitamina E y HyD en el rendimiento en rastro y características de calidad de la carne y grasa fresca de cerdo.\*

	Tratamientos			EEM†	Tratamiento (P <)
	Vit E	HyD	VitE+HyD		
Peso en pie	127.05	110.34	111.30	1.936	0.001
Rendimiento (%)					
Canal caliente	79.89	80.87	82.60	0.844	0.024
canal fría	79.37	80.47	82.21	0.840	0.016
pH	5.51	5.53	5.51	0.021	0.790
Pérdida de agua por goteo, <sup>1</sup> %	4.53	3.36	4.07	0.353	0.023
Capacidad de retención de agua, <sup>2</sup> %	13.57	23.38	16.31	2.967	0.026

Color subjetivo <sup>3</sup>	2.65	3.07	2.97	0.089	0.001
Marmoleo subjetivo <sup>3</sup>	1.64	2.17	1.92	0.148	0.008
Color objetivo <sup>4</sup>					
L	59.51	56.48	56.76	0.816	0.001
a	8.07	8.10	7.98	0.256	0.935
b	16.39	15.56	15.91	0.261	0.021
Capacidad antioxidante, <sup>5</sup> mg ETrolox/kg	2.42	3.03	2.40	0.195	0.022
Oxidación, <sup>6</sup> mg MDA/kg)					
Carne**	0.069	0.064	0.070	0.0056	0.716
Grasa dorsal**	2.928	2.647	2.774	0.0789	0.009

\*Medias de mínimos cuadrados. El peso inicial promedio de los cerdos fue de 85.68 kg con una desviación estándar de 11.35 kg. \*\* Efecto por covariable de temperatura a las 24 horas post-sacrificio (P < 0.05). † EEM = error estándar de la media. <sup>1</sup> Pérdida de agua por goteo (chuletas en suspensión en bolsa hermética a 4C) a las 24h *post-mortem*. <sup>2</sup> Capacidad de retención de agua añadida por centrifugación. <sup>3</sup> Color y marmoleo fueron calificados comparando con la escala subjetiva (NPPC, 1999). <sup>4</sup> Color objetivo después de 30 min de oxigenación con colorímetro y escala CIELab. <sup>5</sup> Capacidad antioxidante reductora por la técnica de FRAP. <sup>6</sup> Oxidación lipídica por la técnica de TBARS.

La estabilidad de color, pH y oxidación (TBARS) no tuvo diferencias significativas por efecto del tratamiento o en la interacción Trt\*Día de almacenamiento, lo cual indica que el efecto protector fue el mismo para cualquier tratamiento y que los parámetros solo se modificaron en función del tiempo (Cuadro II).

Cuadro II. Efecto del enriquecimiento con vitamina E y HyD durante el almacenamiento de carne molida de cerdo en atmósfera con oxígeno a 4°C sobre el pH, color objetivo y oxidación.\*†

	Días					EEM†	Día (P <)
	1	3	5	7	9		
pH	5.52 <sup>a</sup>	5.55 <sup>b</sup>	5.57 <sup>b</sup>	5.57 <sup>b</sup>	5.66 <sup>c</sup>	0.014	0.001
L, <sup>1</sup>	65.19 <sup>a</sup>	63.62 <sup>b</sup>	63.51 <sup>b</sup>	63.29 <sup>b</sup>	62.03 <sup>c</sup>	0.508	0.001
a, <sup>1</sup>	11.54 <sup>a</sup>	8.64 <sup>b</sup>	7.56 <sup>c</sup>	6.19 <sup>d</sup>	6.73 <sup>e</sup>	0.233	0.001
b, <sup>1</sup>	19.97 <sup>a</sup>	18.30 <sup>b</sup>	17.97 <sup>c</sup>	17.65 <sup>d</sup>	18.34 <sup>b</sup>	0.161	0.001
Oxidación, <sup>2,**</sup> mg MDA/kg	0.064 <sup>a</sup>	0.095 <sup>b</sup>	0.173 <sup>c</sup>	0.215 <sup>d</sup>	0.246 <sup>e</sup>	0.0062	0.001

\*Medias de mínimos cuadrados. †Efecto de Tratamiento (P>0.051) y efecto de la interacción Tratamiento\*Día (P>0.261). \*\* Efecto por covariable de temperatura a las 24 horas post-sacrificio (P < 0.05). †EEM = error estándar de la media. <sup>1</sup>Color objetivo después de 30 min de oxigenación con colorímetro y escala CIELab. <sup>2</sup>Oxidación lipídica por la técnica de TBARS.

## CONCLUSIONES

El uso de vitamina E más HyD no sustituye el efecto por separado de cada uno en la calidad de carne. La suplementación del metabolito activo de vitamina D (1,25-dihidroxicolecalciferol) a 100,000 IU en cerdos durante 38 días mermó la producción de carne, pero tuvo un efecto positivo en parámetros de calidad de carne fresca y un efecto protector en la estabilidad oxidativa de la grasa al disminuir los valores de oxidación reportados en TBARS.

## BIBLIOGRAFÍA

Boler D, Gabriel S, Yang H, Balsbaugh R, Mahan D, Brewer M, McKeith F, Killefer J. 2009. Effect of different dietary levels of natural-source vitamin E in grow-finish pigs on pork quality and shelf life. *Meat Science* 83:723-730.

- Descalzo A, Insani E, Biolatto A, Sancho A. 2007. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of argentine beef. *Meat Science* 70:35-44.
- Dunshea F, D'Souza D, Pethick D, Harper G, Warner R. 2005. Effects of dietary factors and metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Science* 71:8-38.
- Gabriel J. 2012. Evaluación de dos fuentes diferentes de vitamina D para influir en la calidad de la carne de cerdo. Tesis de Maestría, UNAM.
- Guo Q, Richert B, Burgess J, Webel D, Orr D, Blair M, Fitzner G, Hall D, Grant A, Gerrard D. 2006. Effects of dietary vitamin E and fat on pork quality. *JAS* 84:3089-3099.
- Hamm R. 1975. Water-holding Capacity of Meat. *Meat*. Cole D, Lawrie R (compiladores), The Avi Publishing Co., Westport.
- Hernández I. 2013. Efecto de la suplementación con vitamina D3 y 25-hidroxi- colecalciferol en la estabilidad oxidante de la carne de cerdo. Tesis Maestría UAM.
- Honikel, K. O. 1998. Reference methods for the assessment or physical characteristic of meat. *Meat science* 49:447-457.
- INSP. 2011. Comunicado de Prensa No./106/2011/ALAB.
- Pegg, R. 2001. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. D2.4.4-D2.4.18.
- Purchas R, Zou M, Pearce P, Jackson F. 2007. Concentrations of vitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D3 in raw and cooked NZ beef and lamb. *JFCA* 20:90-98.
- Raharjo S, Sofos J, Schmidt G. 1992. Improved Speed, Specificity and Limit of Determination of an Aqueous Acid Extraction Thiobarbituric Acid C18 Method for Measuring Lipid Peroxidation in Beef. *Journal Agric. Food Chem.* 40(11): 2182-2185.
- Rosenvold K, Laerke H, Jensen S, Karlsson A, Lundstrom K, Andersen H. 2002. Manipulation of critical quality indicators and attributes in pork through vitamin E supplementation, finishing feeding and pre-slaughter stress. *Met Science* 62:485-496.
- Swigert K, McKeith F, Carr T, Brewer M, Culbertson M. 2004. Effects of dietary vitamin D3, E and magnesium supplementation on pork quality. *Meat Science* 67:81-86.
- Wiegand BR, Sparks JC, Beitz DC, Parrish FC, Horst RL, Trenkle AH, Ewan RC. 2002. Short-term feeding vitamin D3 improves color but does not change tenderness of pork-loin chops. *Journal of Animal Science* 80:2116-2121.
- Wilborn, B. S., Kerth, C. R., Owsley, W. F., Jones, W. R., Frobish, L. T. 2004. Improving pork quality by feeding supranutritional concentrations of vitamin D3. *Journal of Animal Science* 82:218-224.