

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE ZOOTECNIA

**Incidencia del síndrome de hueso negro en pollos de
engorde y caracterización de parámetros sensoriales e
instrumentales asociadas a este defecto, en una planta
de proceso**

Joyce Rosse Carazo Chanto

Tesis presentada para optar por el título en el grado
académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con
énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2015

TRIBUNAL EXAMINADOR

Esta tesis fue aceptada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.

_____ Codirectora de tesis
Dra. Catalina Salas Durán.

_____ Codirector de tesis
M.Sc. Alejandro Chacón Villalobos.

_____ Miembro del tribunal
M.Sc. Rebeca Zamora Sanabria.

_____ Miembro del tribunal
Lic. Alonso Quirós Votobernales.

_____ Director de Escuela
M.Sc. Carlos Arroyo Oquendo.

_____ Sustentante
Joyce Rosse Carazo Chanto.

DEDICATORIA

A mi madre por darme su apoyo, amor y comprensión en todo momento, por trabajar siempre para darme mis estudios, por creer en mí y por estar siempre cuando la he necesitado.

A mi padre, que desde el cielo es mi guía y mi fuente de inspiración. Por haberme dado ese ejemplo de luchar y los valores que me inculcó desde niña.

Mis hermanos Leslie y Steve y a mi primo Christian por su cariño, apoyo, cuidados y luchar porque siempre saliera adelante. Espero que este logro sea motivo de orgullo.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre por todo el apoyo dado y el esfuerzo que realizó durante estos meses para poderme ayudar.

A mis tutores y revisores por toda su ayuda brindada en esta experiencia.

A las empresas participantes, DSM Nutritional Products y Corporación Multi Inversiones (CMI) - División Industrial Pecuaria (DIP) por abrirme sus puertas y permitirme realizar esta investigación.

Al Centro de Investigaciones en Nutrición Animal (CINA) y al Laboratorio Nacional de Materiales y Modelos Estructurales (LANAMME) de la Universidad de Costa Rica por su colaboración en los análisis realizados.

A Águeda por toda su ayuda todos estos años en infinidad de situaciones.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Contenido	Página
Tribunal Examinador.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Índice de Contenidos	v
Índice de Cuadros.....	vi
Índice de Figuras	viii
Índice de Anexos.....	x
Abreviaturas y su significado.....	xi
Resumen.....	1
Introducción.....	3
Objetivos general y específicos.....	4
1. Revisión de Literatura.....	5
2. Materiales y Métodos.....	13
3. Análisis estadístico.....	23
4. Resultados.....	26
5. Conclusiones.....	51
6. Recomendaciones.....	55
7. Referencias.....	56
8. Anexos.....	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Análisis de varianza para valor de la luminosidad de cada una de las muestras en fresco (color luego del deshuese).	27
2	Análisis de varianza para valor de la luminosidad de cada una de las muestras para el color post cocción.	28
3	Análisis de varianza para las relaciones de largo y ancho de los huesos con los valores de resistencia para todas las muestras.	33
4	Análisis de correlación entre largo, ancho y resistencia.	34
5	Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre el porcentaje de cenizas.	36
6	Análisis de correlaciones para todas las posibles relaciones	37
7	Subconjuntos homogéneos obtenidos del análisis de varianza a partir del rango costarricense.	40
8	Subconjuntos homogéneos obtenidos del análisis de varianza a partir del rango estadounidense.	41
9	Análisis de las correlaciones entre el agrado, la luminosidad y el rango costarricense.	42
10	Análisis de las correlaciones entre el orden y el agrado.	43
11	Calificaciones según agrado para cada fotografía presentada a los comensales.	44
12	Valores de media y moda para cada subgrupo.	45
13	Valores de media para el agrado cada muestra.	46
14	Anova para los valores agrado.	47
15	Resultados de la Prueba T para la relación entre los valores de luminosidad y los tratamientos.	48

Cuadro	Título	Página
16	Resultados de la Prueba T para la relación entre los valores de agrado y los tratamientos.	49
17	Clasificación de agrado por parte de los comensales en términos de Moda y Escala 10.	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Coloración que presenta el hueso y la carne adyacente debido al SHN.	6
2	Vista de un hueso afectado con SHN mediante un estudio histológico.	7
3	Modelo del Colorímetro Konica Minolta utilizado en este estudio.	11
4	Escala de aceptabilidad utilizada para la evaluación visual	12
5	Proceso de cocción de los huesos.	14
6	Colocación de la muestra en la “Máquina Universal” MTS Landmark	15
7	Proceso de la toma de mediciones de las características morfológicas del hueso	15
8	Proceso de la colocación de los crisoles en la mufla y el desecador	16
9	Diagrama del proceso utilizado en la determinación de la incidencia de SHN en la planta de proceso	18
10	Diagrama del proceso utilizado en la determinación del agrado	22
11	Clasificación del total de muestras según su valor de luminosidad presentado post cocción	29
12	Clasificación de las muestras del tratamiento fresco-cocinado según su valor de luminosidad presentado post cocción.	30
13	Clasificación de las muestras del tratamiento congelado-cocinado según su valor de luminosidad presentado post cocción	30
14	Relación del color post cocción con la resistencia para todas las muestras	32
15	Relación de la medida del largo de cada hueso con la resistencia para todas las muestras	33

Figura	Título	Página
16	Relación de la medida del ancho con la resistencia para todas las muestras	33
17	Relación entre el largo y ancho para todas las muestras	33
18	Diagramas de dispersión para las relaciones entre largo, ancho y resistencia	35
19	Relación entre el color post cocción y el % de cenizas	36
20	Representación gráfica, mediante diagramas de dispersión, de todas aquellas posibles relaciones	38
21	Análisis de correspondencias	39
22	Prueba de ordenamiento de las muestras	42
23	Valores de media para cada fotografía	45
24	Diagrama del proceso de sacrificio utilizado en la planta de proceso en la cual se realizó este estudio	67

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Título	Página
1	Diagrama del proceso de sacrificio utilizado en la planta de proceso en la cual se realizó este estudio	61
2	Calificaciones para cada muestra según la categoría dada por los comensales.	68
3	Cuestionario utilizado para el panel sensorial	70
4	Escalas basadas en las calificaciones de los costarricenses.	72

ABREVIATURAS Y SU SIGNIFICADO

Abreviatura	Significado
SHN	Síndrome Hueso Negro
25-OH-D3	25-hidroxicolecalciferol
Ca	Calcio
P	Fósforo
LANAMME	Laboratorio Nacional de Materiales y Modelos Estructurales

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la incidencia del síndrome de hueso negro en pollos de engorde y caracterizarlo mediante parámetros sensoriales e instrumentales. Los tratamientos consistieron en dos grupos: huesos frescos-cocinados y huesos congelados-cocinados.

A cada fémur se realizaron las siguientes mediciones: luminosidad en fresco y posterior a la cocción, medición del largo y ancho, determinación del punto de ruptura y determinación del porcentaje de cenizas. Con respecto a los valores de luminosidad post-cocción, se obtuvo diferencia significativa entre los dos tratamientos, fresco-cocinado y congelado- cocinado con un valor de $P < 0,0001$. En cuanto al punto de ruptura quedó evidenciada la ausencia de una relación significativa entre la resistencia y la coloración post cocción, así como también se demostró que no existe un efecto sobre la resistencia por parte de los tratamientos, con un nivel de confianza del 95%. Otras características como el largo y el ancho en relación a los valores de resistencia presentaron efectos significativos con valores de $P < 0,0001$. Por otro lado los resultados obtenidos en el análisis de determinación de cenizas determinaron que no existe efecto de los tratamientos sobre este porcentaje. Al relacionar el porcentaje de cenizas con el color (valores de L) post cocción para cada fémur, tampoco se obtuvo una relación significativa con un nivel de confianza de 95%.

Con respecto a la determinación de la aceptación o no aceptación de piezas afectadas por parte de los comensales, mediante el análisis de correspondencias y el análisis de conglomerados se evidenció que los costarricenses tienden a formar grupos homogéneos de las diferentes muestras según su agrado con diferencias significativas entre los tres subconjuntos (piezas aceptables, casi inaceptables e inaceptables). Por otro lado, en cuanto a las correlaciones entre el agrado, la luminosidad y el rango costarricense, se obtuvo que el agrado por las muestras está relacionado de forma significativa con el rango propuesto por los comensales costarricenses y se demostró que no

existe una relación significativa entre los valores de luminosidad del hueso posterior a la cocción y el rango establecido por los costarricenses, lo cual indica que el criterio para el rechazo de alguna muestra presentada no es la luminosidad. Otro de los análisis realizados a estas muestras fue la prueba de ordenamiento, donde se obtuvo como resultado una concordancia significativa y valores de correlación altos entre el orden y la aceptabilidad del producto cocinado por los consumidores, por lo cual se puede establecer una clasificación o escala con los valores costarricenses a partir de las calificaciones dadas a cada muestra por parte de los comensales; dicha clasificación puede contener tres grupos utilizando como criterio los valores promedios y los valores moda.

Según los resultados presentados se concluye que a partir de las muestras estudiadas, parámetros como el porcentaje de cenizas, el valor de L y la resistencia no permiten caracterizar el síndrome. Así mismo se puede concluir que los costarricenses tienden a un rechazo cuando se les presentan piezas con diferentes niveles de afectación, sin embargo este rechazo no está asociado a los valores de luminosidad del hueso post cocción.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día las empresas avícolas y aquellas relacionadas con el sector productivo buscan satisfacer las diferentes demandas que se les presentan en términos de calidad y disponibilidad de producto, sin dejar de lado la demanda del consumidor concientizado que busca garantías que le aseguren las buenas prácticas de bienestar animal. Esto ha ocasionado que se desarrolle un mayor control de diferentes parámetros zootécnicos, con la finalidad de satisfacer las demandas e incrementar la productividad de los animales.

En busca de satisfacer esas demandas, se ha procurado obtener constantes avances en genética y en las prácticas de manejo, lo cual ha producido que hoy en día las aves de engorde tengan un desarrollo más acelerado, saliendo a mercado en un menor tiempo. Sin embargo como señalan Pérez et al. (2011), esto ha repercutido en las características de los huesos, ocasionando la aparición de problemas como la necrosis de la cabeza del fémur, raquitismo, discondroplasia de la tibia y el síndrome de hueso negro.

Con la aparición de estos problemas mencionados anteriormente y el efecto que estos ocasionan en la calidad de la carne, se introduce la necesidad de tener un mayor control por lo cual se busca relacionar su presencia con algunos síntomas en las aves y con características observadas en el producto final. Dentro de los defectos que pueden afectar la calidad de la carne de pollo se encuentra el Síndrome de Hueso Negro, el cual tiende a ocasionar un oscurecimiento en el hueso y en la carne adyacente a este, lo cual puede ser motivo de la no aceptación de algún producto por parte de un consumidor (Korver, 2014).

El Síndrome de Hueso Negro, en Costa Rica es un tema que no se ha estudiado con detalle, por tanto se desconoce la percepción o agrado de un producto afectado en los consumidores, ni cuánta es la afectación que se tiene de este síndrome en los sistemas avícolas.

OBJETIVOS

a. General:

Evaluar la incidencia del síndrome de hueso negro en pollos de engorde manifestada en términos colorimétricos, para comparar los parámetros instrumentales de perfil de textura del hueso y de agrado sensorial de consumidores en muestras control y con el defecto.

b. Específicos:

1. Evaluar por métodos colorimétricos el nivel de presencia de hueso negro en fémur de pollos de engorde.
2. Evaluar el efecto de las operaciones de congelación y cocción sobre un posible aumento en la intensidad del defecto en contraste con muestras control a través de los parámetros de evaluación colorimétrica, perfil de textura, análisis de cenizas y evaluación sensorial.

1. REVISIÓN DE LITERATURA

Considerando que el consumo per cápita de carne de pollo en Costa Rica ronda los 23 kg al año y que existe un contingente de importación libre de arancel para alas y muslos de 510 toneladas en 2013 (Wattagnet, 2013), resulta importante determinar la incidencia del Síndrome de Hueso Negro. Esto con la finalidad de evitar que el mercado se vea inundado por piezas con carne oscura producto del SHN, ya que dentro de las características que se valoran para determinar la calidad de la carne de pollo se encuentran, según Gaytán (SF), la apariencia, el color, la textura o terneza y la capacidad de retención de agua, mientras que Soler et al. (2011) señalan como parámetros de calidad el color y el pH de la carne. Dejando en evidencia que la coloración de la carne es esencial en la determinación de la calidad, más si se habla del momento de la compra del producto donde los consumidores tiene solo esta herramienta como medio de evaluación.

1.1. Síndrome del Hueso Negro

El Síndrome del Hueso Negro, se puede definir según Cepero (2011) como una difusión de sangre desde la medula al exterior del hueso y musculatura. Arteaga et al. (2009) por su parte lo define como una patología que se manifiesta como una coloración oscura en el hueso y en la carne adyacente (como la observada en la Figura 1) luego del proceso de sacrificio de pollos de engorde.

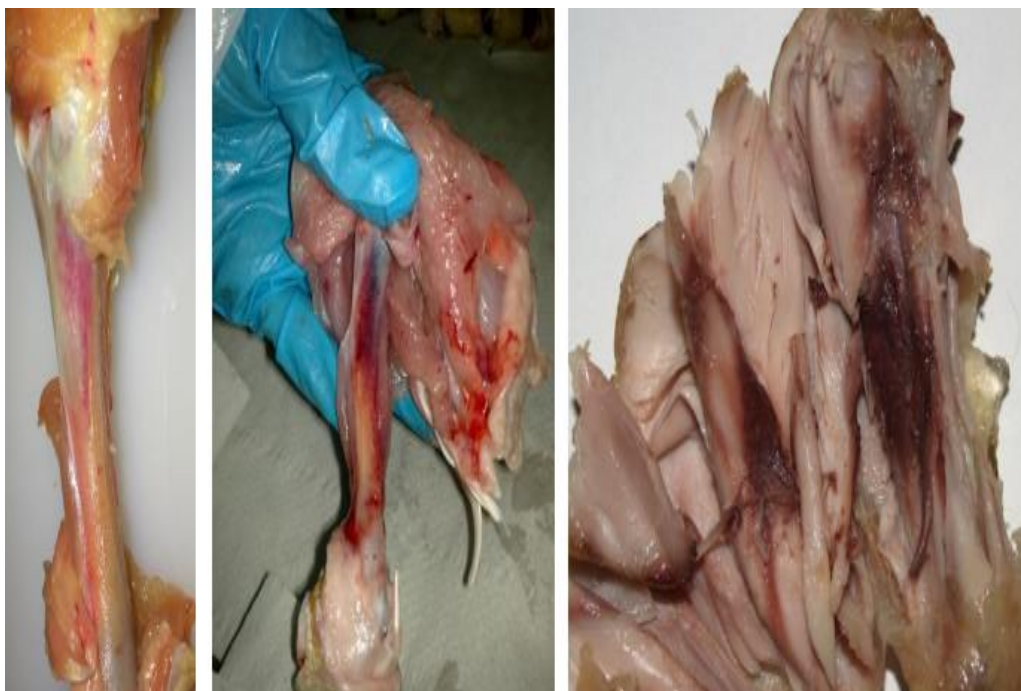


Figura 1. Coloración que presenta el hueso y la carne adyacente debido al SHN.

Fuente: Arteaga et al., 2009.

Williams et al. (2000) y Whitehead (2010), coinciden con el estudio de Cepero (2011), ya que asocian este síndrome a una filtración de sangre de la médula en la parte proximal del hueso, escape producto de zonas en la estructura del hueso cortical más porosas y con presencia de estructuras más delgadas en los extremos del hueso, estableciendo que la causa de este defecto sea un aumento en la porosidad y por ende la falta de mineralización del hueso.

Arteaga et al. (2009) y Mendieta (2012) coinciden con que la porosidad y la fragilidad ósea están relacionadas con la coloración de la carne de pollo adyacente al hueso; ya que la misma puede ser originada por una migración de pigmentos desde el hueso al tejido circundante, dando lugar así a una carne oscurecida que resulta muy poco atractiva a los consumidores y con una menor vida útil, ya que esta tiende a ser más susceptible a la oxidación. Lo anterior se debe a la pérdida de mioglobina y otras proteínas portadoras de hierro en el

músculo que originan una disminución de la estabilidad oxidativa al aumentar la presencia de agentes pro-oxidantes en los tejidos.

Por su parte Whitehead (2009) también señala que la causa podría deberse a problemas en la osificación intramembranosa, dado que en los pollos de engorde modernos la estructura del hueso cortical es más porosa. Lo anterior origina muchas rutas posibles para la difusión de la sangre desde la cavidad medular hacia la capa externa del periostio, como se puede comprobar mediante estudios histológicos, como el que se presenta en la Figura 2, concluyendo así que en la porción del hueso contigua a la placa de crecimiento proximal, hay presencia de difusión de sangre dado que el hueso es mucho más delgado. Esto a pesar de que la diáfisis aún permanece fuerte y con capacidad de soportar el peso del ave. Por tanto por medio de los estudios histológicos se pueden diagnosticar el SHN con un mayor grado de acierto.

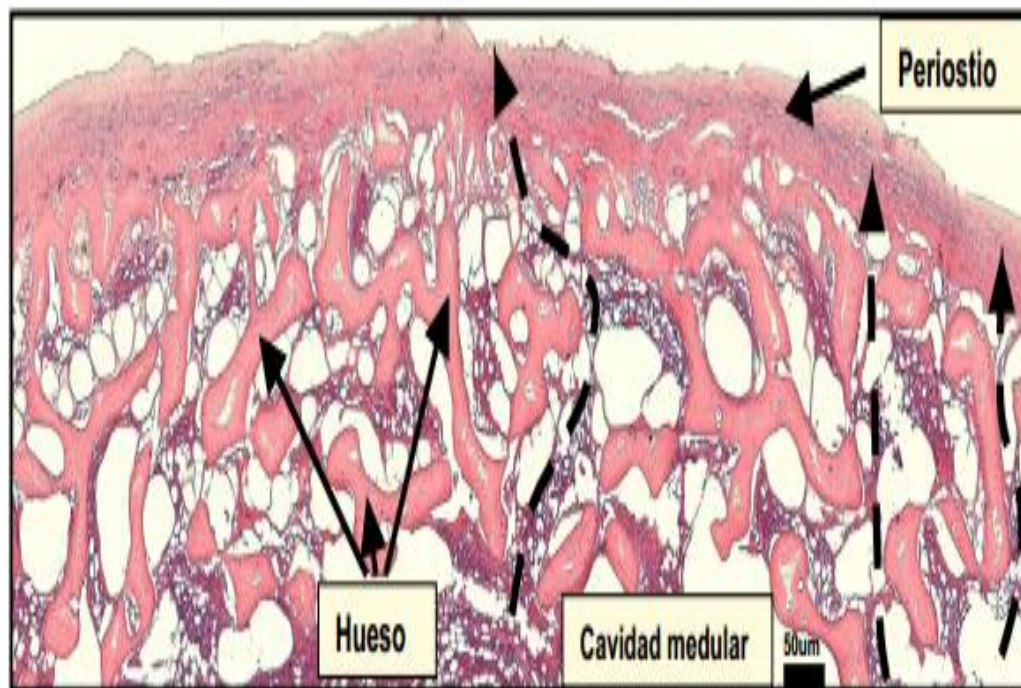


Figura 2. Vista de un hueso afectado con SHN mediante un estudio histológico.

Fuente: Whitehead (2009)

Williams et al. (2000) en su estudio, también analiza la porosidad como una posible causa de la presencia de SHN, sin embargo él adjudica el incremento en el grado de porosidad al impacto que representa la genética de las aves, ya que estas son sometidas a una selección continua para lograr parvadas de rápido crecimiento, donde sus osteoblastos no tiene la capacidad de acoplarse al ritmo acelerado de desarrollo, originando en consecuencia una estructura ósea más porosa.

Para Korver (2014), el origen de este problema puede deberse al hecho de que al tener que enfrentar la necesidad de incrementar la rentabilidad y cubrir las necesidades de los mercados. La industria avícola genera aves con una tasa de crecimiento más acelerada, lo cual ocasiona una afectación en el desarrollo óseo en pollos jóvenes, siendo estos los más susceptibles a este síndrome ya que estos no son capaces de realizar una adecuada mineralización ósea en su período de vida, el cual bajo las condiciones de producción de Costa Rica ronda los 38 días. Cepero (2011), señala que el SHN es ocasionado por una predisposición genética, recalcando al igual que Korver (2014), que este es producto de un crecimiento acelerado y por tanto un proceso de osificación deficiente lo cual causa una capa cortical del hueso poroso. Además Cepero (2011) asocia la presencia de este defecto a factores nutricionales como un mayor requerimiento de calcio y de 25-OH-vitamina D3. En la conclusión, según lo aportado por los autores anteriormente citados, la causa más probable para el fenómeno quizás sea la alta tasa de crecimiento.

Por otro lado, según Baldo et al. (2013) el oscurecimiento en la coloración se intensifica luego de procesos como el congelamiento y la cocción, lo cual concuerda con lo mencionado por Whitehead (2009) en su artículo sobre el SHN donde se indica que el proceso de congelamiento fuerza a que salga más sangre a través de estos huesos que por las características del SHN tendrían a ser más porosos, alojándose esta sangre cerca de la carne, por ende se dé un aumento en la coloración oscura.

El Síndrome de Hueso Negro ha sido identificado como una de las características que limitan el consumo y disminuyen la vida útil de los muslos de pollo en algunos países (Arteaga et al., 2009). Anudado a lo anterior donde se manifiesta la problemática del síndrome como un problema de calidad de producto y posible rechazo del mismo, Whitehead (2009) señala que al incrementarse la aparición de este problema, podrían aparecer problemas de bienestar animal en las aves, debido al desarrollo de alteraciones patológicas causadas por defectos estructurales en los huesos, originando con ello un nuevo punto por el cual resulta importante esclarecer soluciones para disminuir la incidencia del SHN.

Para poder esclarecer las soluciones a este defecto es necesario antes que todo comprender de una mejor manera la causa del SHN y para esto es necesario conocer cómo se da el desarrollo o el crecimiento de los huesos; dicho proceso como señala Mendieta (2012), ocurre cuando aumenta la longitud ósea mediante el proceso de crecimiento endocondrial, en donde los condrocitos primero se multiplican y luego se acumulan y dan paso a las células formadoras de hueso llamadas osteoblastos, que producen un hueso esponjoso.

Según el mecanismo por el cual se da el desarrollo óseo, en múltiples estudios como medida para bajar la incidencia del “hueso negro” algunos autores indican que la vitamina D, en forma de 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃) tiene un impacto en la reducción y que además mejora los rendimientos de las aves en condiciones de altas densidades, dado que este metabolito tiene acción sobre el metabolismo de calcio y fósforo en el organismo del ave, minerales esenciales para la formación del hueso (Pérez et al., 2011). Recomendación indicada también por Oviedo (2009) en su estudio, donde se señala que el SHN se puede mermar al evitar una deficiencia de vitamina D₃ y que esto a su vez previene una hipocalcemia e hipofosfatemia.

Para diagnosticar algún lote de producción con SHN, se debe tener presente que hay una serie de problemas a lo largo del flujo de proceso que pueden causar una confusión y producir un mal diagnóstico, como lo son, según Cepero (2011) hemorragias por alguna fractura cercana a la zona, ya sean ocasionadas en la captura o al colgar el ave en los ganchos, problemas de voltajes en el aturdimiento, así como también mayores tiempos y temperaturas en el escaldado.

Por su parte Whitehead (2009) señala algunas condiciones podrían tener una sintomatología similar al SHN como lo son la necrosis de cabeza del fémur osteomielitis bacteriana (cuando es asociada a *Staphylococcus aureus*) y el raquitismo, el cual es caracterizado por una calcificación de los huesos tardía y deficiente originando huesos blandos y gomosos.

Dado que las diferentes etapas del flujo de proceso pueden originar un sesgo en el diagnóstico del SHN, en el Anexo 1 se describe el procedimiento que tuvieron las aves antes y después de su llegada a la planta basados en la experiencia en planta y la colaboración de Rojas (2014), con la finalidad de esclarecer que en el sacrificio de las aves no se cometieron posibles lesiones que pudiesen causar una confusión y por tanto producir un mal diagnóstico.

Al determinar el nivel de afectación que ha producido el Síndrome de Hueso Negro sobre el consumo de carne de pollo en otras latitudes; casas comerciales y diferentes autores se han dado a la tarea de analizar el nivel de presencia de esta problemática y el impacto que tiene sobre el agrado de los consumidores.

Por su parte Arteaga et al. (2009) en su estudio señala que procesadores avícolas a nivel mundial indican que hasta el 30% de los huesos de muslo de pollo presentan oscurecimiento en la carne adyacente al fémur tras el cocinado, lo cual origina un impacto negativo en la aceptación por parte del consumidor, el cual aunque no es capaz de identificar el SHN como tal, reconocen que esta

decoloración es algo muy poco atractivo y, a veces, la principal razón para no consumir piezas que contengan hueso.

Aldana (2011), señala que en países como Francia, España e Italia la incidencia de hueso negro es una problemática latente que origina un mayor rechazo cuando los muslos de pollo con hueso son comercializados congelados, ya que el congelamiento es uno de los factores que incrementa la coloración oscura en la carne.

Para determinar la incidencia del síndrome en una producción aviar se recomienda utilizar protocolos donde se puede trabajar con un colorímetro (como el observado en la Figura 3), el cual permite determinar la coloración de distintos objetos a partir de una fórmula como la L^*a^*b , o bien se podría realizar mediante una valoración visual basándose en la escala de aceptabilidad observada en la Figura 4 (DSM Nutritional Products, 2012), donde se clasifican las piezas en tres grupos según su luminosidad aceptada por los consumidores estadounidenses en aceptables (piezas con luminosidades mayores a 40 L), casi inaceptables (piezas con luminosidades en un rango entre 35 y 40 L) e inaceptables (piezas con luminosidades menores a 35 L).



Figura 3. Modelo del Colorímetro Konica Minolta utilizado en este estudio.
Fuente: sensing.konicaminolta.us

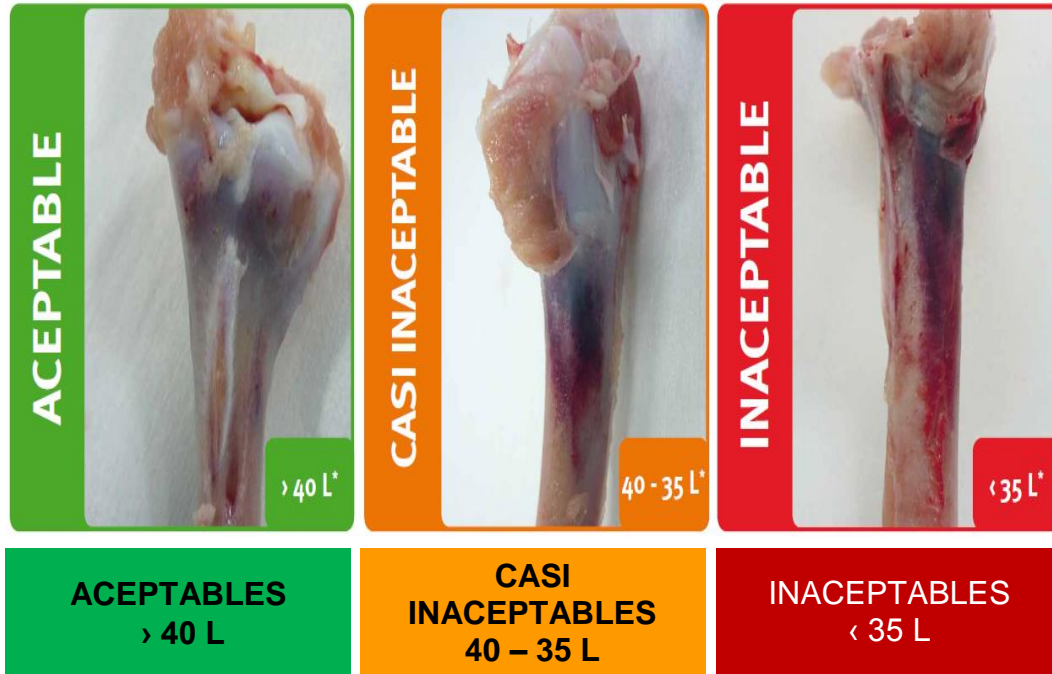


Figura 4: Escala de aceptabilidad utilizada para la evaluación visual.

Fuente: DSM, 2012

Debido a que en el país no existen estadísticas sobre cuál es el nivel de afectación que se tiene en las plantas procesadoras con el síndrome de hueso negro, resulta importante estudiar más a fondo las repercusiones que tiene en el consumo de carne de pollo, ya que como lo señalan Singla et al. (2010), la aceptación del consumidor depende de la apariencia del producto, el cual es visto como de baja calidad al presentar manchas de sangre, volviendo más susceptibles al oscurecimiento a piezas con alto nivel de suministro de sangre como son aquellas que conforman el tren posterior de las aves, lo cual recalca la necesidad y la relevancia de este estudio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Pruebas efectuadas para determinar la incidencia y caracterizar el SHN en la planta de proceso.

A continuación se describe el procedimiento realizado en cada uno de los 12 muestreos semanales realizados, para un total de 600 fémures muestreados en los cuales se evaluó la incidencia del síndrome de hueso negro:

2.1.1 Color:

El estudio se inició con la recolección en la planta de proceso de un total de 50 muestras (huesos frescos) por semana a los cuales, mediante un Colorímetro Konica Minolta CR 400, se les midió su luminosidad con la escala L*a*b. Posterior a esto, el mismo día del muestreo 25 muestras se llevaron a cocción en un horno por 20 minutos a 60°C, una vez transcurrido ese tiempo se procedió a medir una vez más la luminosidad de los huesos, esta vez ya cocinados. Una vez determinada la luminosidad post-cocción las muestras se guardaron en frío a una temperatura de -5°C para ser transportadas y determinarles su punto de ruptura y su porcentaje de cenizas.

Las restantes 25 muestras se congelaron a una temperatura aproximada de -20°C por un periodo de ocho días, esto con la finalidad de determinar si la congelación tiene algún efecto en la acentuación del oscurecimiento de las muestras, en comparación con las muestras tratadas en fresco. Pasado este período las muestras se llevaron a cocción en un horno por 20 minutos a 60°C y una vez ya cocinadas se les determinó su luminosidad. Posterior a la determinación de la luminosidad post-cocción, al igual que las 25 muestras anteriores, estas se guardaron a una temperatura de -5°C para transportarlas y determinarles su punto de ruptura y su porcentaje de cenizas.



Figura 5. Proceso de cocción de los huesos.

2.1.2 Punto de ruptura:

Para determinar el procedimiento mediante el cual se realizaría la prueba fue necesario realizar diversos ensayos preliminares, donde se concluyó que las características morfológicas de las diferentes muestras imposibilitan una correcta colocación y esto por ende hace que el equipo no tenga una adecuada distribución de las cargas y sea inadmisibles realizarla mediante una prueba de compresión, que según la teoría sería más precisa, ya que ejercería la fuerza en una dirección similar a la que se somete el hueso por parte del animal.

Sin embargo para determinar el punto de ruptura de las muestras cocinadas de ambos tratamientos (fresco-cocinado y congelado-cocinado), estas fueron llevadas al LANAMME, dónde se colocaron en una Máquina Universal MTS Landmark, la cual cuenta con una capacidad de carga de 2,5 toneladas de fuerza. Los resultados de esta prueba se obtuvieron mediante un punto de fallo por flexión; colocándose la muestra según se presenta en la Figura 6.



Figura 6. Proceso de la colocación de los huesos en la MTS Landmark.

2.1.3 Medidas morfológicas:

Por otro lado a todas las muestras obtenidas se les determinó cuales eran sus medidas de ancho y largo, mediante un pie de rey digital, midiendo los huesos según se muestra en la Figura 7, esto con la finalidad de determinar si estas medidas morfológicas permiten caracterizar el SHN.



Figura 7. Proceso de toma de mediciones de las características morfológicas del hueso.

2.1.4 Porcentaje de cenizas:

La determinación del porcentaje de cenizas, se realizó en el Centro de Investigación de Nutrición Animal (CINA), para lo cual se tomó el peso inicial de las muestras y de los crisoles que las contenían antes de ser llevados a una mufla que alcanzaría una temperatura de 550 °C, por un periodo de 24 horas.

Una vez que las muestras eran retiradas de la mufla se llevaban a un desecador un periodo de dos horas, esto para que los crisoles que contenían los residuos de los huesos (es decir las cenizas) se enfriaran hasta llegar a una masa constante sin que la muestra absorbiera humedad del medio ambiente, con la finalidad de no afectar el peso final de estas muestras por efecto del calor.

Cuando los crisoles tenían la temperatura adecuada para ser pesados, se obtuvo el peso final de los crisoles junto con la muestra contenida, por medio de una balanza analítica; y a partir de estos pesos mediante una operación de diferencia de masas se estableció el porcentaje de cenizas presente en cada crisol.



Figura 8. Proceso de colocación de los crisoles en la mufla y el desecador.

2.1.5 Determinación de la incidencia y caracterización del síndrome:

Una vez finalizadas las pruebas anteriores, se procedió a realizar la posible determinación del nivel de incidencia, medición que podemos definir como la medida epidemiológica que expresa de mejor forma la aparición de nuevos casos, donde para establecer el valor de incidencia se inicia con poblaciones de susceptibles libres del evento en las cuales se observa la presentación de casos nuevos a lo largo de un periodo de seguimiento (Moreno et al. 2000).

Según Moreno et al. (2000), existen dos tipos de incidencias, siendo según las definiciones dadas, la incidencia acumulada, la que se adapta o exprese de una mejor forma a los resultados obtenidos en este estudio, ya que ésta expresa únicamente el volumen de casos nuevos ocurridos en una población durante un periodo.

Definiéndola Moreno et al. (2000), como la probabilidad de desarrollar el evento, es decir, la proporción de individuos de una población que, en teoría, desarrollarían una enfermedad si todos sus miembros fuesen susceptibles a ella y ninguno falleciese a causa de otras enfermedades. Para calcularla en el numerador se coloca el número de individuos que desarrollan la enfermedad durante el periodo de estudio (llamados casos nuevos) y en el denominador el número de individuos libres de la enfermedad al comienzo del periodo y que, por tanto, estaban en riesgo de padecerla.

Por otro lado con los datos de luminosidad y los resultados de cada una de las pruebas realizadas mediante una serie de análisis estadísticos se procedió a establecer una posible caracterización del síndrome.

A continuación, en la Figura 9 se describe el proceso experimental seguido para esta etapa en forma de diagrama.

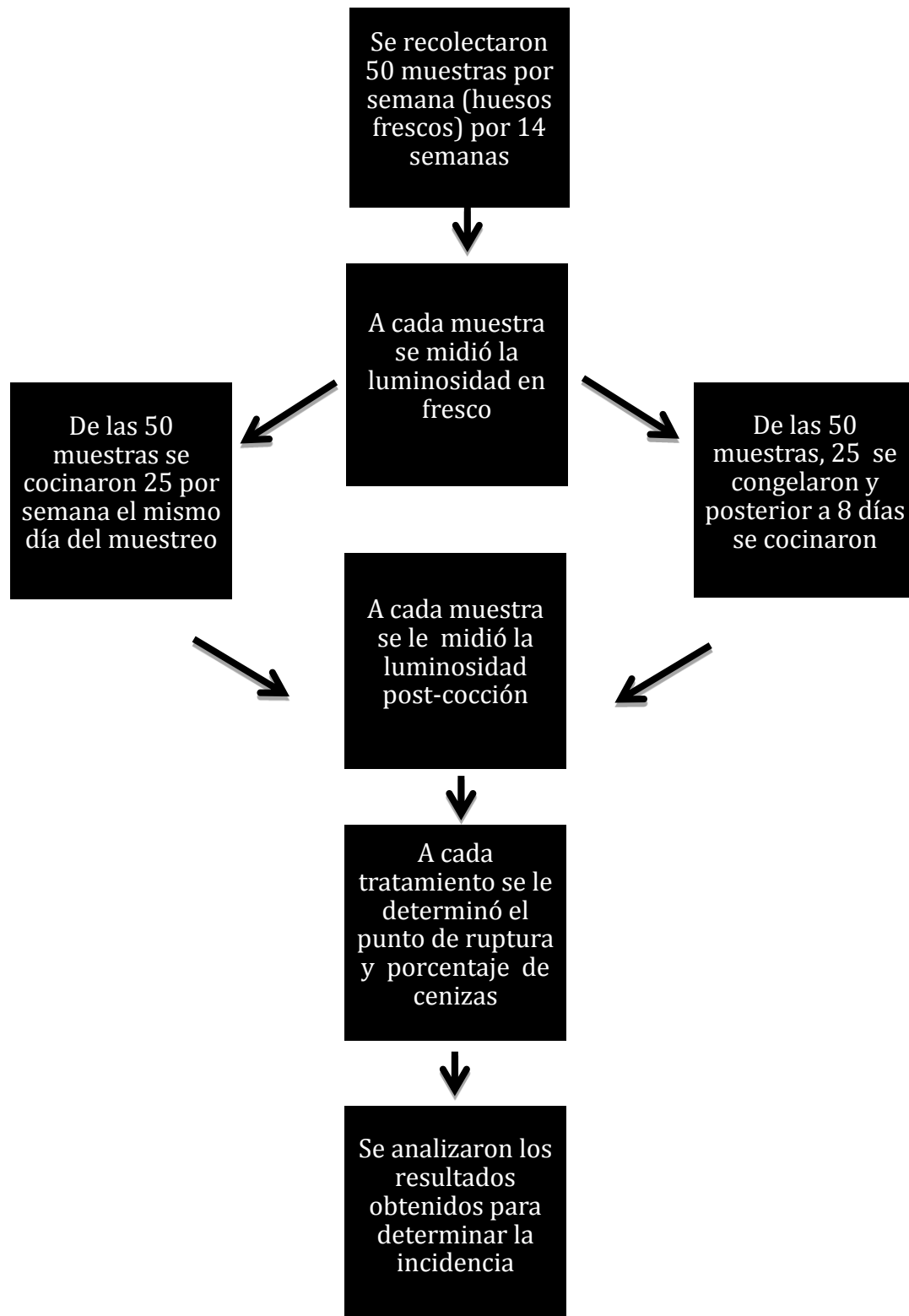


Figura 9. Diagrama del proceso utilizado en la determinación del efecto de la cocción y el congelamiento sobre el SHN.

2.3 Evaluación del agrado de los consumidores hacia las piezas posiblemente afectadas por del SHN

A continuación se describe el procedimiento utilizado para establecer el agrado general al presentarles diferentes afectaciones del síndrome a 130 comensales.

2.3.1 Color:

Se recolectaron en la planta de proceso cinco muestras (piezas enteras, es decir muslo y cadera con carne) por semana para un total de 50 piezas, a las cuales, mediante un Colorímetro Konica Minolta CR 400, primeramente se les midió la luminosidad de la carne cruda. Una vez obtenida la luminosidad en crudo de las cinco muestras tomadas por semana, tres fueron cocinadas el mismo día del muestreo y las dos restantes fueron congeladas por un periodo de ocho días a una temperatura aproximada de -20 °C. Luego de cumplido este tiempo las piezas congeladas se cocinaban de la misma forma que las piezas no congeladas. Las cantidades de muestras que era cocinadas el día del muestreo y las congeladas por una semana eran alternadas de una semana a otra, con la finalidad que transcurridas las 10 semanas se tuvieran dos grupos o tratamientos compuestos de la siguiente forma: 25 muestras frescas-cocinadas y 25 muestras congeladas-cocinadas.

Cada una de las piezas (tanto las frescas como las congeladas por una semana) fueron cocinadas en una olla freidora por 15 minutos a una temperatura aproximada de 170 °C, con la finalidad de recrear la situación a la que el consumidor acostumbra consumir este producto. Una vez transcurrido el tiempo de cocción a cada muestra de ambos tratamientos, se le midió la luminosidad del hueso y de la carne adyacente a este hueso.

2.3.2 Material para el panel sensorial:

Una vez obtenidas las luminosidades post-cocción se procedió a recolectar una serie de fotografías desde diversos ángulos de cada una de las piezas de ambos tratamientos, las cuales serían las herramientas que se presentarían a los comensales del panel sensorial. Luego de la toma de las fotografías, se procedió a determinar el punto de ruptura y el porcentaje de cenizas de cada muestra a presentar en el panel sensorial, con la finalidad de caracterizar cada fémur utilizado.

Una vez obtenidos los datos y los diferentes juegos de fotografías, estas últimas fueron seleccionadas basándose en aquellas que representaran de forma más fidedigna el nivel de afectación que tenían los fémur para establecer cuáles serían presentadas al panel sensorial, es decir se seleccionaron aquellas que por la nitidez y calidad de la fotografía podrían representar de una mejor manera las características de luminosidad y coloración que tenían el hueso y la carne adyacente al mismo para las diferentes piezas.

El panel sensorial se realizó con 130 comensales adultos, en la Universidad de Costa Rica, de forma individual, donde los participantes determinaron su agrado mediante las fotografías de huesos de muslo con diferentes grados de luminosidad seleccionadas del punto anterior. Para la presentación de las muestras (fotografías), se estableció un código de tres dígitos seleccionado totalmente al azar a cada una, de manera que no revele ninguna información sobre el tratamiento del que proviene cada hueso; estos códigos asignados a cada tratamiento experimental siempre fueron los mismos, lo que varió de persona a persona fue el orden de presentación de las imágenes, tal y como lo recomienda Zamora (2013) en la elaboración de un panel sensorial.

Además junto con las muestras como recomienda Zamora (2013) a cada persona participante se presentó un cuestionario (el cual está disponible en el Anexo 2) donde debían clasificar en tres grupos según su agrado las imágenes presentadas, asignarle a cada imagen mediante escalas no estructuradas su agrado, donde cada escala medía diez centímetros iniciando en cero centímetros con el calificativo de “Desagradable” y llegando hasta “Agradable” a los diez centímetros, pasando por un punto medio que será “Indiferente” en cinco centímetros. Al final del cuestionario también debían indicar un orden de aceptación o agrado para las fotografías ordenándolas de mayor a menor agrado.

2.3.3 Determinación del agrado:

Una vez finalizado el panel sensorial se procedió a analizar las calificaciones dadas por cada uno de los comensales a las diferentes muestras, con la finalidad de determinar el nivel de agrado que presentaron los participantes para los diferentes niveles de afectación del SHN. Este análisis se realizó mediante una serie de pruebas estadísticas como lo son:

- Análisis de correspondencias
- Análisis de varianza
- Análisis de correlaciones
- Prueba T

En la Figura 10, a continuación, se describe el proceso experimental seguido para esta etapa en forma de diagrama.

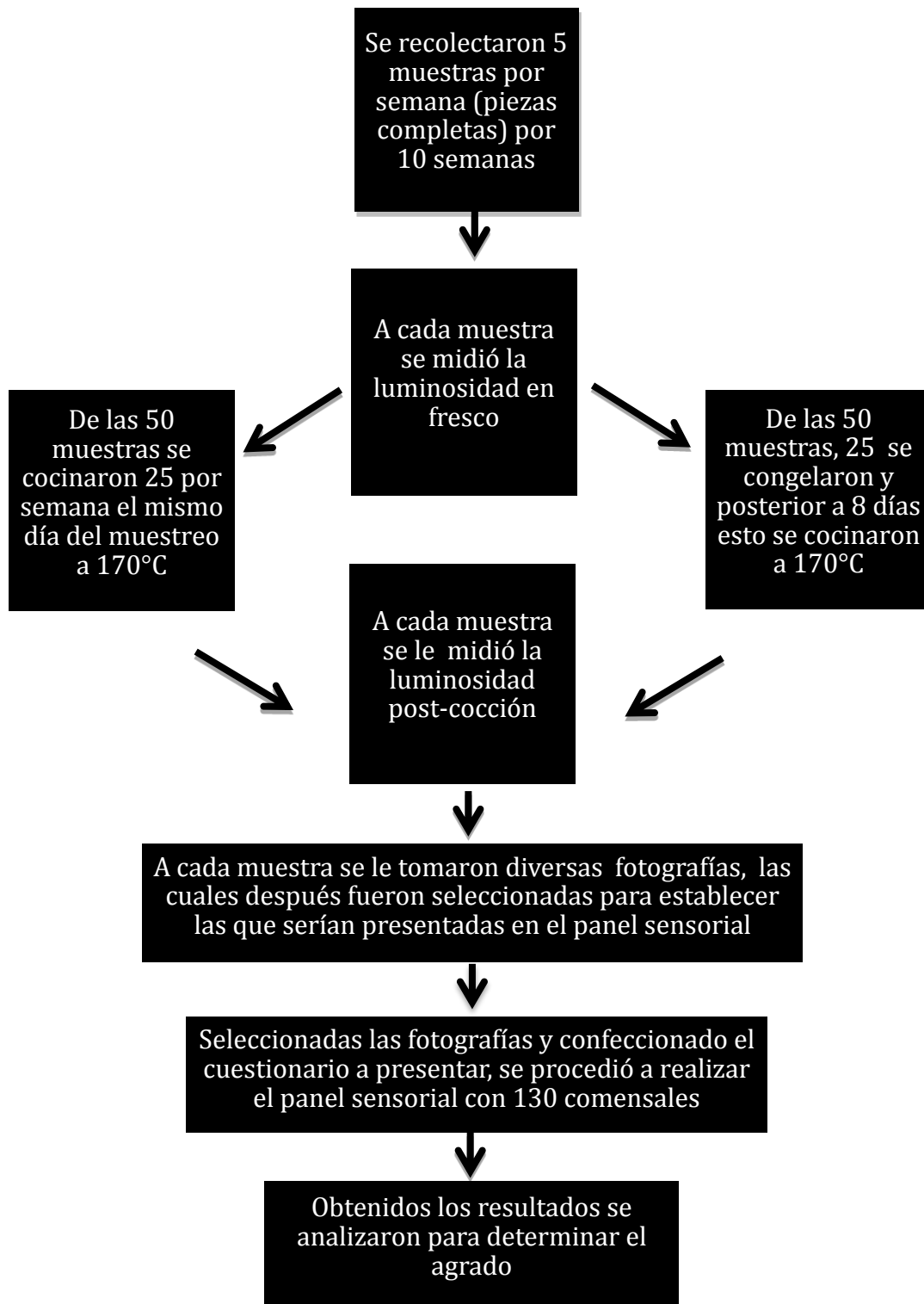


Figura 10. Diagrama del proceso utilizado en la determinación del agrado

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.1 Pruebas efectuadas para determinar la incidencia y caracterizar el SHN en la planta de proceso.

Tratamientos (o definición de factores): Se contó con dos tratamientos, siendo estos fresco-cocinado y congelado-cocinado

VARIABLES A EVALUAR: Dentro de las variables que se valoraron se encuentran: color/luminosidad, punto de ruptura, porcentaje de cenizas y algunas características morfológicas como lo son el largo y el ancho.

Unidad Experimental: La unidad experimental fue representada por cada hueso de modo que el ensayo contará con un total de 50 unidades experimentales por semana, por un periodo de 12 semanas.

Descripción del análisis de varianza: El análisis de varianza de los resultados obtenidos en el ensayo se realizó por medio de un diseño de bloques completamente al azar, comparando entre sí los tratamientos y siguiendo el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + S_j + e_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = respuesta asociada a la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento.

μ = media poblacional.

T_i = efecto del i-ésimo tratamiento.

S_j = efecto del j-ésimo bloque o semana.

e_{ij} = error experimental asociado a la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento.

Además del análisis de varianza que se le realizó a los tratamientos, para las diferentes variables se determinó su coeficiente de correlación lineal (r).

Los cálculos estadísticos se realizaron por medio del software estadístico InfoStat® versión 2013, utilizando un nivel de confianza del 95%.

Descripción del análisis a realizar para aquellas fuentes de variación que resulten significativas: Se aplicó la prueba de comparación múltiple Tukey con el fin de determinar el grado de diferencia entre los tratamientos.

3.2. Evaluación del agrado de los consumidores hacia las piezas posiblemente afectadas por del SHN

Tratamientos (o definición de factores): Los tratamientos correspondieron a la presentación de muestras que representen el efecto del proceso fresco-cocinado y congelado-cocinado.

VARIABLES A EVALUAR: Se evaluó el agrado por el color que presento el hueso y agrado por el oscurecimiento de la carne adyacente al hueso.

Unidad Experimental: En este caso cada participante del panel sensorial representó una unidad experimental diferente.

Descripción del análisis de varianza: El análisis de varianza de los resultados obtenidos en el ensayo se realizó por medio de un diseño de bloques completamente al azar, comparando entre sí los tratamientos y siguiendo el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = respuesta asociada a la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento.

μ = media poblacional.

T_i = efecto del i-ésimo tratamiento.

B_j = efecto del bloque j-ésimo

e_{ij} = error experimental asociado a la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento.

Durante la evolución del agrado de los consumidores además de realizar análisis de varianzas, se procedió a realizar otras pruebas estadísticas como pruebas T, análisis de correspondencias y de correlaciones. Dichos cálculos estadísticos, se llevaron a cabo por medio del software estadístico IBM SPSS Statistics 19.0, utilizando un nivel de confianza del 95%.

Descripción del análisis a realizar para aquellas fuentes de variación que resulten significativas: Se aplicó la prueba post hoc de Tukey con el fin de determinar el grado de diferencia entre los tratamientos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Pruebas efectuadas para determinar la incidencia y caracterizar el SHN en la planta de proceso.

Para determinación de la incidencia, como se mencionó en la metodología del este documento, es necesario primeramente identificar cual es número de piezas u objeto de estudio afectados y sanos sobre el total de los analizados, para poder establecer porcentualmente la incidencia o presencia, en este caso del SHN.

Sin embargo dado los análisis realizados para el total de muestras tomadas en este estudio, se imposibilita la determinación de la incidencia; dado que la clasificación de las muestras en afectadas o sanas realizada mediante la prueba de luminosidad, únicamente puede ser tomada como una referencia de una posible afectación del SHN para este estudio, ya que no se relacionaron los rangos de luminosidad utilizados para la clasificación del nivel de afectación con análisis histológicos, los cuales son una prueba más irrefutable del nivel de afectación real que pudieron presentar los huesos analizados.

Dado que no se conocería el nivel de incidencia como tal, al no poder relacionar a ciencia cierta la luminosidad de los huesos con sus características histológicas, se procedió a determinación del porcentaje de piezas oscurecidas, posiblemente al estar afectadas por el SHN, que no serían aceptadas por los consumidores basándonos en la escala de rangos de luminosidad dictados por la aceptabilidad del mercado estadounidense, (Figura 4), para las condiciones de este estudio como se mencionará más adelante en este documento. Por otro lado para intentar caracterizar el síndrome se realizaron una serie de análisis de varianza y correlaciones entre las diferentes características medidas para cada una de las muestras de los diferentes grupos.

Como primer paso en esta fase se realizó un análisis de varianza para el valor de la luminosidad en fresco, es decir, antes de someter los fémures a cualquier otro proceso, para el total de huesos muestreados en ambos tratamientos, con la finalidad de descartar la presencia de algún sesgo a la hora de seleccionar las muestras en la línea de deshuese. Lo cual como se puede observar en el Cuadro 1 los valores de la luminosidad de ambos grupos no presentan diferencias significativas, por tanto se concluye que no se produjo sesgo alguno en la selección de las muestras que conformarían los tratamientos.

Cuadro 1. Análisis de varianza para valor de la luminosidad de cada una de las muestras en fresco (color luego del deshuese).

Tratamiento	Promedio	Valor de P
Fresco-cocinado	53,7980	0,5085
Congelado- cocinado	53,2981	

Así mismo para estos valores de luminosidad de las piezas en fresco se realizó una clasificación en tres grupos (aceptable, casi inaceptable e inaceptable) tomando como referencia la misma escala que se utiliza en el mercado estadounidense (Figura 4) y el resultado obtenido fue que todas las piezas muestreadas, sin importar a cual fuese el grupo de tratamiento al que pertenecían, antes de someterse a cocción o bien al congelamiento y cocción presentaban valores de luminosidad aceptables, es decir, valores superiores a 40 L, por lo cual si se analizan únicamente las muestras en fresco (es decir sin someterlas a cocción o congelamiento) se concluiría que el nivel de piezas afectadas sería cero, sin embargo la situación cambia como se observa en los resultados obtenidos, al someter los huesos a procesos como la cocción y la congelación, los cuales según la literatura consultada en el inicio de este documento, son potenciadores del oscurecimiento de las piezas afectadas por el SHN.

Cuando a estas mismas piezas se les realizó un análisis de varianza con los valores de la luminosidad posterior a la cocción de cada uno de los tratamientos, con la finalidad de determinar si existía un efecto potenciador del oscurecimiento de los fémur con el congelamiento como se expresa en la literatura; por lo que según los resultados presentados en el Cuadro 2, se puede observar que si existe una diferencia significativa entre los valores de luminosidad post cocción de ambos grupos, lo cual indica que las piezas que además de someterse a la cocción son sometidas a un congelamiento de ocho días tienen valores de luminosidad más bajos, con un promedio de L igual a 29,82; reflejando esto que el congelamiento tiene un efecto potenciador del oscurecimiento en las muestras de este tratamiento, originando piezas más oscuras que cuando se cocinan en fresco.

Cuadro 2. Análisis de varianza para valor de la luminosidad de cada una de las muestras para el color post cocción.

Tratamiento	Promedio	Valor de P
Fresco-cocinado	35,8560	< 0,0001
Congelado- cocinado	29,8162	

Una vez descartado cualquier sesgo que se pudiese generar en el muestreo y conociendo que efectivamente según lo menciona la literatura el congelamiento tiene un efecto potenciador en el oscurecimiento de las piezas afectadas, lo cual se observó en el cuadro anterior. Se procedió a graficar el total de las muestras en grupos a partir del valor de L que presentaron, con el objetivo de identificar cual sería el nivel de piezas oscurecidas, debido a una posible afectación por el SHN para este estudio, reflejando como se puede observar en la Figura 11 que para el total de muestras (es decir ambos tratamientos) el 62% de las muestras estudiadas obtuvieron valores de L menores a 35, por tanto si se usara la misma escala estadounidense (Figura 4) se catalogarían como inaceptables, es decir,

piezas afectadas posiblemente en un mayor grado. También se observa como solo un 21% de estas muestras quedarían en el criterio de aceptables (definiendo aceptables como aquellas muestras que tienen un valor de luminosidad de 40 L y por tanto a partir de esta escala utilizada como parámetro de referencia se considerarían como muestras no afectas por el SHN) y un 17% se catalogaría como parcialmente afectadas.

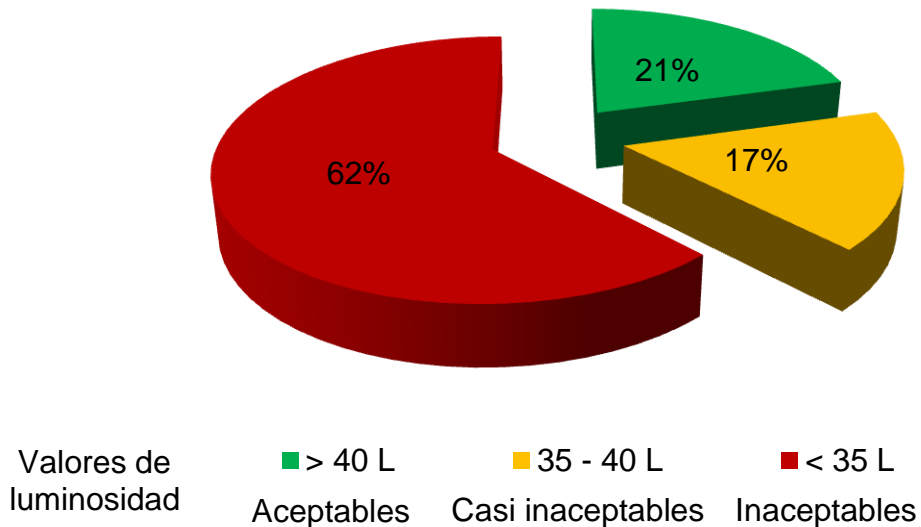


Figura 11. Clasificación del total de muestras según su valor de luminosidad presentado post cocción.

Por tanto a partir de la Figura 11 se puede concluir que el nivel de piezas con algún grado de oscurecimiento producto posiblemente del síndrome de hueso negro del total de piezas analizadas es del 79%, esto según los valores de luminosidad reportados.

En las Figuras 12 y 13 se puede observar cuales fueron los porcentajes de muestras en cada rango de luminosidad, para cada tratamiento, es decir, en la Figura 12 se pueden observar que para el tratamiento que contenía las muestras frescas-cocidas el 30% de las mismas caerían en una categoría de aceptables, mientras que la Figura 13 podemos ver el tratamiento congelado-

cocinado, en el cual solo un 11% de las muestras se podrían considerar en la misma categoría, es decir que tienen un valor de L mayor a 40.

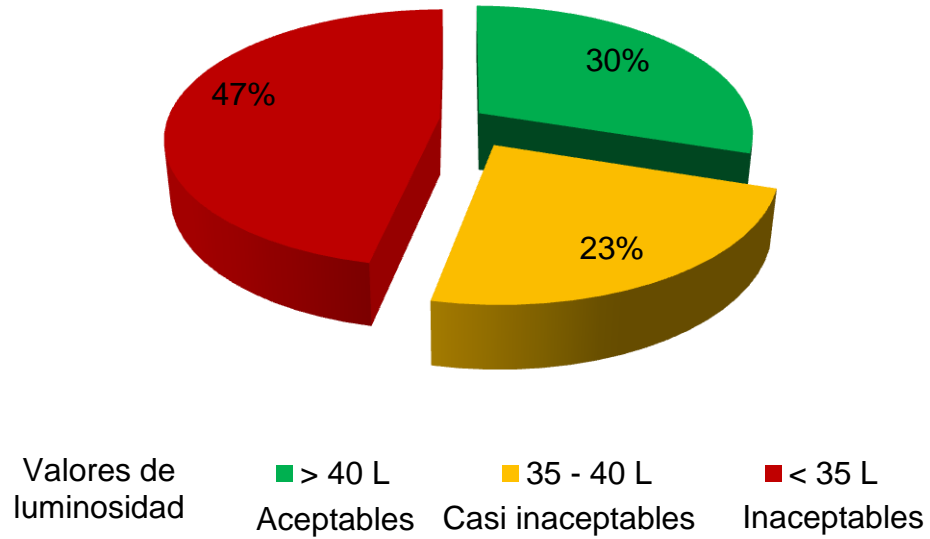


Figura 12. Clasificación de las muestras del tratamiento fresco-cocinado según su valor de luminosity presentado post cocción.

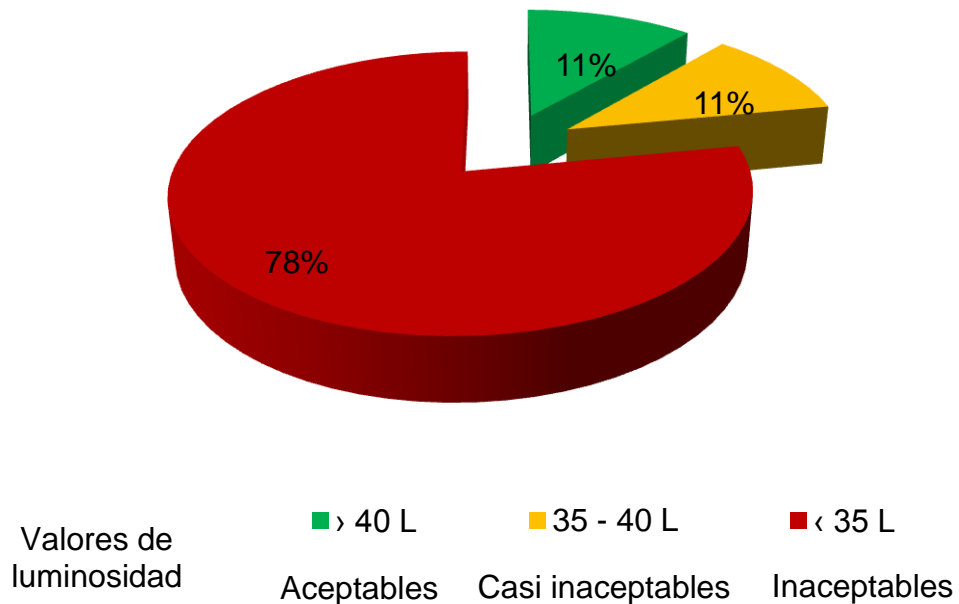


Figura 13. Clasificación de las muestras del tratamiento congelado-cocinado según su valor de luminosity presentado post cocción.

Otro de los parámetros que fueron medidos para cada una de las muestras fue el punto de ruptura o resistencia, en busca de establecer una relación entre los valores bajos de fuerza ejercida con huesos con un grado de oscurecimiento mayor, es decir, que presentaran valores de L menores, por tanto fuesen piezas más oscuras. Sin embargo los valores de P obtenidos no fueron significativos para esta hipótesis, dejando como conclusión que la resistencia no tiene ningún efecto o relación con los valores de L que presentaron las muestras posterior a la cocción, resultado que también se evidencia en la Figura 14 donde al realizar un gráfico de dispersión, los datos presentan un patrón de agrupamiento, lo cual deja como conclusión que la resistencia está asociada a otra serie de características del hueso más allá de la relación con el oscurecimiento producto del síndrome. Así mismo según los resultados obtenidos se concluye que no existen diferencias significativas para cada uno los tratamientos al que pertenecía cada muestra y la fuerza ejercida para obtener el punto de ruptura. Por lo cual se podría indicar que para las condiciones del estudio la fuerza promedio necesaria a aplicar fue de 25,04 kN, valor de resistencia que no puede ser interpretado como alto o bajo, dado que posterior a una búsqueda exhaustiva de información, al ser un tema poco estudiado no se encontró algún estudio publicado donde se diera referencia sobre los valores de fuerza requeridos para obtener el punto de ruptura de piezas afectadas por el SHN.

Con lo cual se podría concluir que tanto las muestras frescas como las congeladas presentaron una composición de su matriz o estructura ósea similar, originando que ambos grupos tengan una misma fortaleza y que las coloraciones o luminosidades son distintas entre ambos grupos o tratamientos producto del efecto de la congelación sobre las piezas, al originar una mayor salida de la sangre medular hacia la carne causando un mayor oscurecimiento.

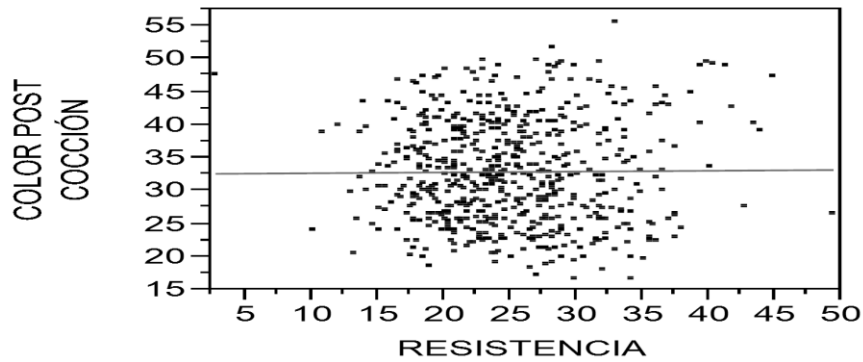


Figura 14. Relación del color post cocción con la resistencia para todas las muestras.

Dado que quedó evidenciada la ausencia de una relación entre la resistencia y la coloración post cocción y de un efecto sobre la resistencia por parte de los tratamientos, con un nivel de confianza del 95%, se realizaron análisis de varianza con los resultados obtenidos para otras características del largo y el ancho en relación a los valores de resistencia, resultando un efecto significativo con valores de P de 0,0001, a pesar de presentar coeficientes de determinación (R^2) bajos, como se puede observar en el Cuadro 3 a continuación y el grafico de dispersión de las Figuras 15 y 16, donde se refleja que estas características (ancho y largo) tienen un mayor efecto en el valor de resistencia del hueso que el efecto que pudo generar la congelación y la cocción de las piezas.

Lo cual indica a partir de estos resultados que la fuerza necesaria para obtener el punto de ruptura está ligado a características morfológicas y de estructura del hueso y no a la coloración post algún procesamiento. Justificando el por qué no se cumple la hipótesis que de huesos más oscuros tendrían valores de resistencia menores que aquellas piezas que poseían valores de L mayores a 40, es decir huesos más claros, se podría decir que la fortaleza del hueso estará dada por osificación del hueso (Whitehead,2009) y no por su coloración.

Cuadro 3. Análisis de varianza para las relaciones de largo y ancho de los huesos con los valores de resistencia para todas las muestras.

Relación	R ²	Valor de P
Relación del largo con la resistencia	0,27	0,0001
Relación del ancho con la resistencia	0,19	0,0001

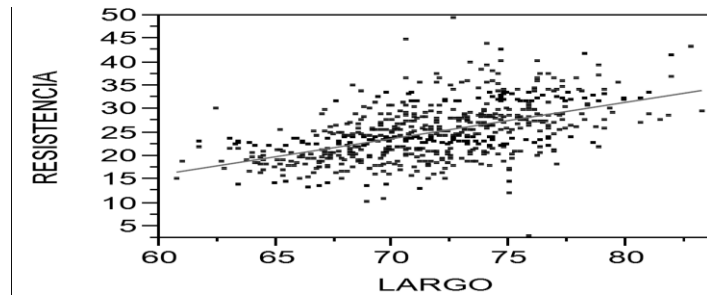


Figura 15. Relación de la medida del largo de cada hueso con la resistencia para todas las muestras.

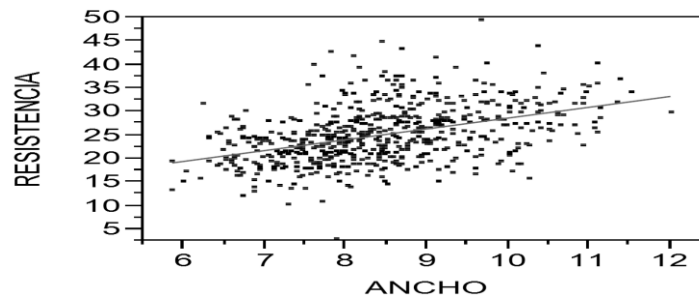


Figura 16. Relación de la medida del ancho con la resistencia para todas las muestras.

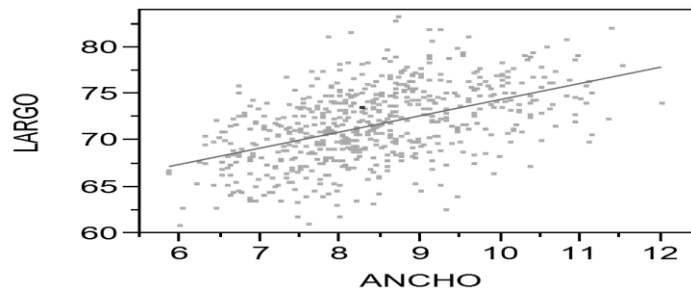


Figura 17. Relación entre el largo y ancho para todas las muestras.

Así mismo como se puede observar en la Figura 17, existe una relación significativa con un valor de P de 0,001 entre el largo de hueso y su ancho, esto a pesar de tener un R^2 de 0,2378, por tanto se concluye que ambas características pudieron interferir al mismo tiempo en los valores de fuerza para obtener el punto de ruptura para cada uno de los fémures analizados, como se demuestra en el análisis de correlación presente en el Cuadro 4 y la Figura 18, donde se observa que existe una asociación entre estos tres parámetros, dicha relación se puede explicar por medio del mecanismo de crecimiento o desarrollo óseo descrito por Whitehead (2009) donde se explica que al momento que los condroclastos, condrocitos y osteoclastos dan el largo del hueso, estos se ensanchan mediante un proceso simultáneo de osificación en el interior de la membrana, donde los osteoblastos se depositan gradualmente en la malla ósea, por tanto el largo y el ancho son originados casi de forma simultánea y están relacionados entre sí por medio de este mecanismo.

Cuadro 4. Análisis de correlación entre largo, ancho y resistencia.

Variable	Variable	Correlación	N	Inferior 95%	Superior 95%	Signif Prob
Ancho	Largo	0,4863	598	0,4225	0,5452	<0,001
Resistencia	Largo	0,5201	598	0,4591	0,5763	<0,001
Resistencia	Ancho	0,4339	598	0,3665	0,4968	<0,001

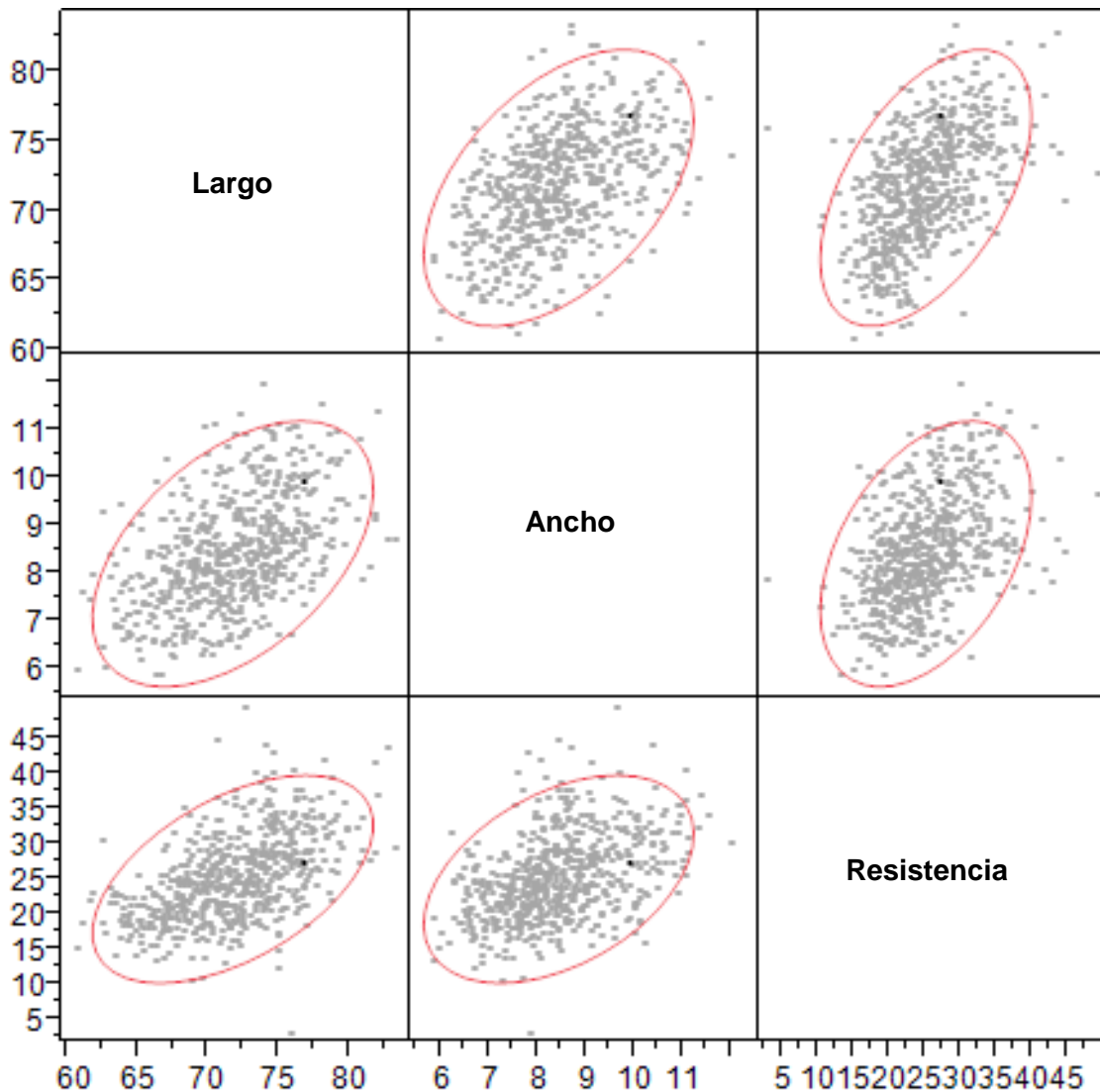


Figura 18. Diagramas de dispersión para las relaciones entre largo, ancho y resistencia.

Con respecto al análisis de determinación de cenizas que se le realizó a cada muestra, según los datos presentados en el Cuadro 5, a continuación, se observa que el tratamiento o grupo al que pertenecían las muestras no tiene efecto sobre el porcentaje de cenizas, es decir que según los valores de cenizas obtenidos es indiferente la separación por tratamientos, dando un valor de P de 0,9790 con un nivel de confianza de un 95% y valores de porcentajes de cenizas promedio con una diferencia de 0,0038% entre cada tratamiento. Lo

cual deja en evidencia que ambos tratamientos cuentan con una conformación ósea similar. Dado que el peso de las cenizas, después de un proceso como el llevado a cabo en este trabajo, sería igual a la parte mineral del hueso, parte dictada por la composición de su estructura o matriz.

Cuadro 5. Análisis de varianza para el efecto del tratamiento sobre el porcentaje de cenizas.

Tratamiento	Porcentaje de cenizas promedio	Valor P
Fresco-cocinado	14,5091	0,9790
Congelado- cocinado	14,5053	

Al porcentaje de cenizas también se le realizó un análisis de varianza para determinar su relación con el color (valores de L) post cocción para cada fémur, sin embargo al momento de realizar este análisis se obtuvo una relación no significativa con un valor de P de 0,4567 con un nivel de confianza de 95%, relación que puede ser a su vez observada en la Figura 19 a continuación donde se denota una patrón de los valores por agruparse hacia una zona central, lo cual indica que la luminosidad de las muestras esta dictada por el efecto que puede tener la congelación sobre el potenciamiento del oscurecimiento y no la estructura ósea de las muestras.

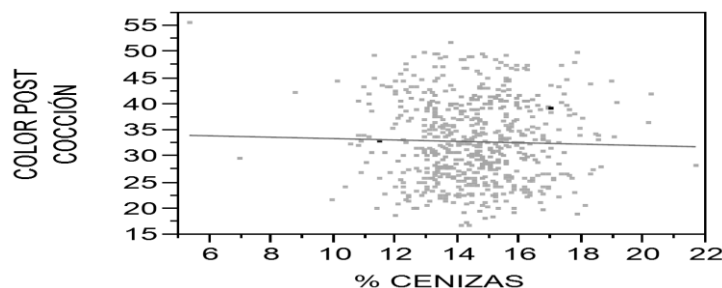


Figura 19. Relación entre el color post cocción y el porcentaje de cenizas.

Al momento de realizar un análisis multivariado para todas aquellas las posibles relaciones, entre los diferentes parámetros medidos para cada una de las muestras se obtienen valores significativos para tres de ellas como se observan en el Cuadro 6 y la Figura 20, las cuales serían la relación entre la resistencia versus color fresco, la relación entre la diferencia entre color fresco y cocinado versus color fresco y la relación entre la diferencia entre color fresco y cocinado versus color post cocción. Sin embargo, se concluye que para las características de este estudio al presentar éstas valores de correlación bajos, éstas relaciones podrían ser tomadas como un referente (al ser significativas) y no como una característica propia de piezas afectadas por el Síndrome de Hueso Negro.

Cuadro 6. Análisis de correlaciones para todas las posibles relaciones.

Variable	Variable	Correlación	N	Inferior 95%	Superior 95%	Valor P
Color post cocción	Color fresco	0,0541	598	-0,0262	0,1337	0,1865
% Cenizas	Color fresco	0,0323	598	-0,0480	0,1122	0,4310
% Cenizas	Color post cocción	-0,0305	598	-0,1104	0,0498	0,4568
Resistencia	Color fresco	0,3309	598	0,2575	0,4004	<0,0001
Resistencia	Color post cocción	0,0094	598	-0,0709	0,0895	0,8193
Resistencia	% Cenizas	-0,0135	598	-0,0936	0,0688	0,7419
Diferencia en coloración entre fresco y cocinado	Color fresco	0,3723	598	0,3012	0,4394	<0,0001
Diferencia en coloración entre fresco y cocinado	Color post cocción	-0,9066	598	-0,9199	-0,8912	<0,0001
Diferencia en coloración entre fresco y cocinado	% Cenizas	0,0420	598	-0,0383	0,1217	0,3055
Diferencia en coloración entre fresco y cocinado	Resistencia	0,1311	598	0,0515	0,2091	0,0013

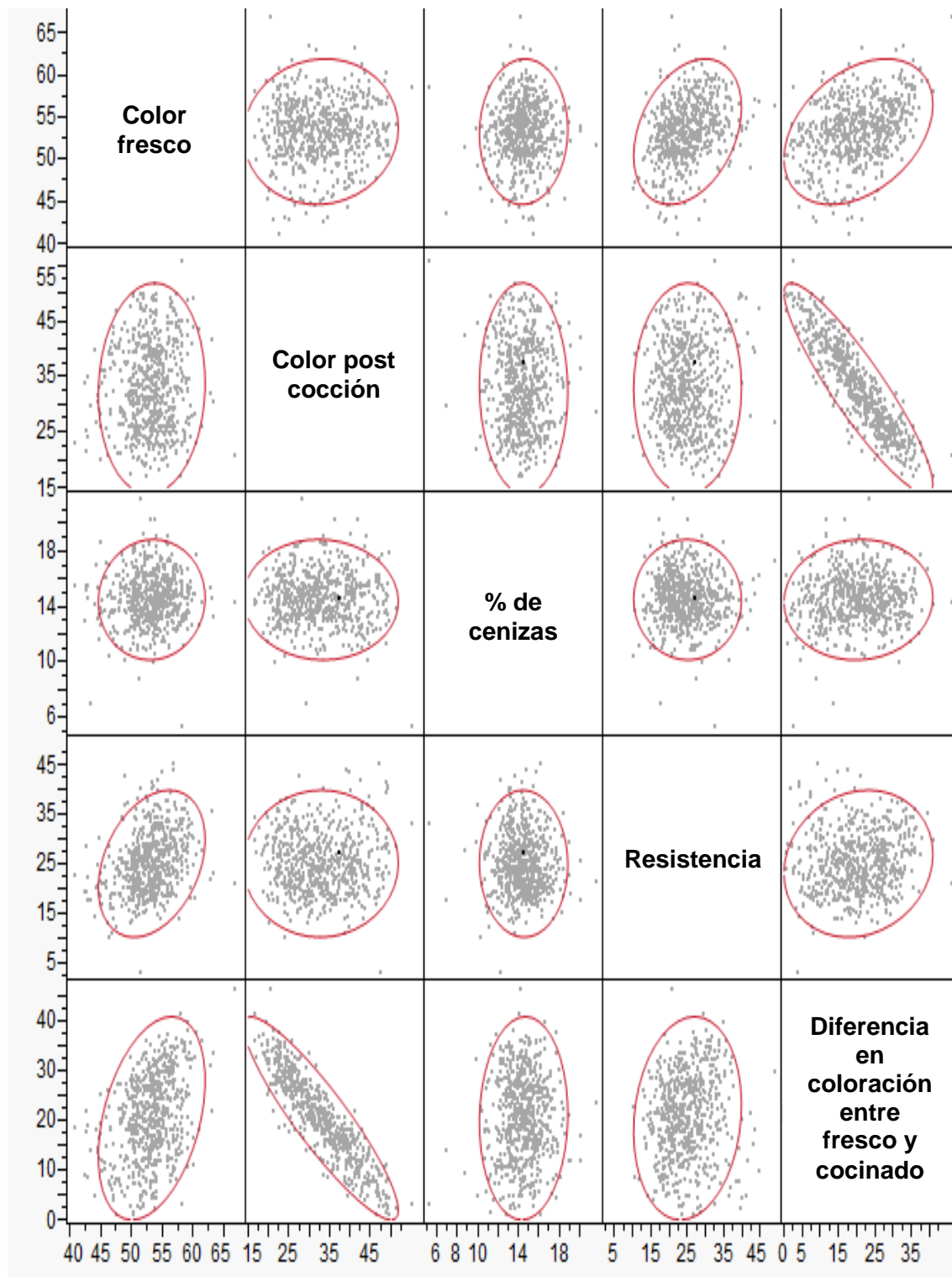
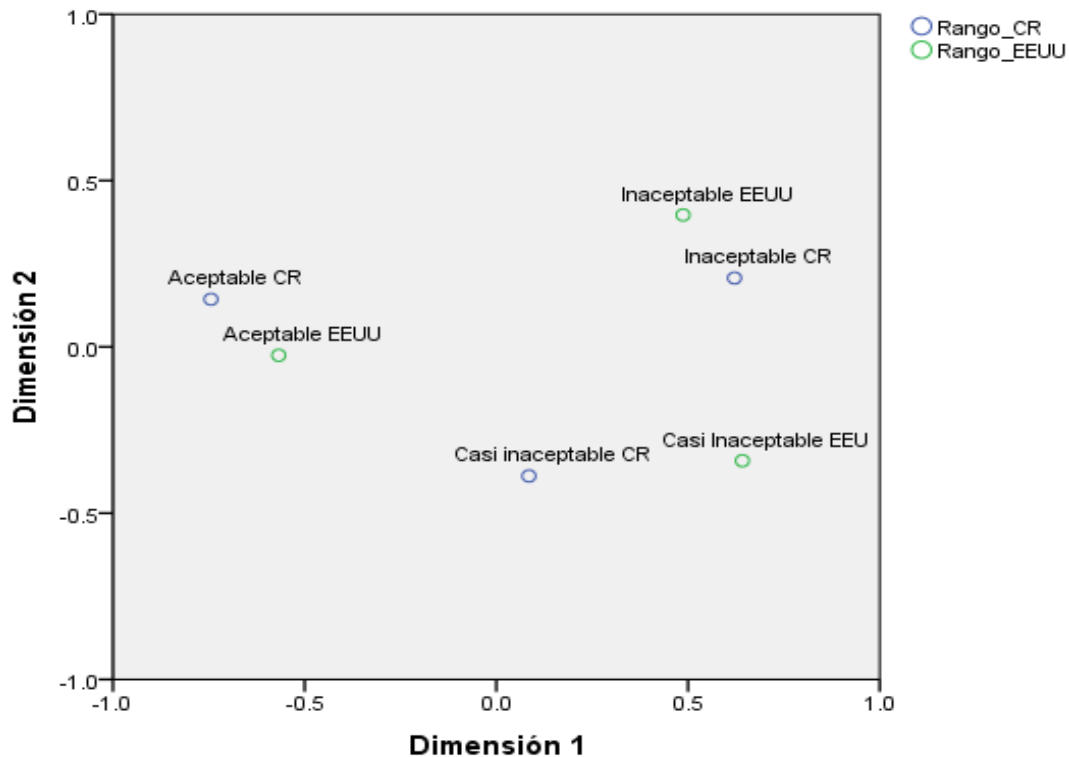


Figura 20. Representación gráfica, mediante diagramas de dispersión, de todas aquellas posibles relaciones.

4.2 Evaluación del agrado de los consumidores hacia las piezas posiblemente afectadas por del SHN

Para analizar los datos obtenidos por medio del panel sensorial con comensales para el agrado de las piezas con diferentes defectos asociados, se partió realizando un análisis de correspondencias, el cual se puede observar en la Figura 21, donde se denota como los comensales costarricenses tienden a separar y formar grupos homogéneos de las diferentes muestras dentro del rango expuesto, dejando en claro que el consumidor tiene establecidas cuáles son sus características preferidas o idóneas para un producto.



* Léase rango_CR, como el rango de los comensales costarricenses.

** Léase rango_EEUU, como el rango de los comensales estadounidenses.

Figura 21. Análisis de correspondencias.

El hecho que los comensales tendieran a formar grupos para clasificar las muestras presentadas también se puede corroborar al realizar un análisis de varianza, cuyas pruebas post hoc generaron los subconjuntos homogéneos. A continuación en el Cuadro 7 se presentan los resultados obtenidos a partir de esta prueba, donde se evidencia que bajo tres criterios de prueba Scheffe, Gabriel y Hochberg, el resultado de agrupamiento de las muestras entre los tres grupos de datos (inaceptable CR, casi inaceptable CR y aceptable CR) es significativo, por tanto se puede concluir que los comensales son susceptibles a la presencia del defecto y pueden diferenciarlo, esto basándose en los agrupamientos realizados por los comensales costarricenses y los valores de luminosidad post-cocción de cada muestra.

Cuadro 7. Subconjuntos homogéneos obtenidos del análisis de varianza a partir del rango costarricense.

Prueba	Rango CR	N	Media	Valor P
Scheffe	Inaceptable CR	278	1,557 ^a	< 0,05
	Casi inaceptable CR	244	4,768 ^b	
	Aceptable CR	259	8,005 ^c	
Gabriel	Inaceptable CR	278	1,557 ^a	< 0,05
	Casi inaceptable CR	244	4,768 ^b	
	Aceptable CR	259	8,005 ^c	
Hochberg	Inaceptable CR	278	1,557 ^a	< 0,05
	Casi inaceptable CR	244	4,768 ^b	
	Aceptable CR	259	8,005 ^c	

^{abc} Columnas con distinta letra dentro de una misma prueba diferentes entre sí (p < 0,05)

Sin embargo si los conjuntos o grupos de muestras de los costarricenses se analizan usando el rango americano de luminosidad, los resultados no se tienden a agrupar en tres subconjuntos como se reflejaba en el cuadro anterior, dado que en este caso no se presenta una diferencia significativa entre los

valores de luminosidad de las muestras agrupadas como inaceptables y casi inaceptables como se presenta en el Cuadro 8. Con lo que se puede establecer el indicio de que los costarricenses están realizando un correcto agrupamiento de las muestras pero que su criterio no se basa en la luminosidad de los huesos, como si lo hacen los estadounidenses mediante la escala disponible en la Figura 4 de la página 12.

Cuadro 8. Subconjuntos homogéneos obtenidos del análisis de varianza a partir del rango estadounidense.

Prueba	Rango CR	N	Media	Valor P
Scheffe	Casi inaceptable EEUU	198	3,495 ^a	
	Inaceptable EEUU	195	3,813 ^a	< 0,05
	Aceptable EEUU	391	5,782 ^b	
Gabriel	Casi inaceptable EEUU	198	3,495 ^a	
	Inaceptable EEUU	195	3,813 ^a	< 0,05
	Aceptable EEUU	391	5,782 ^b	
Hochberg	Casi inaceptable EEUU	198	3,495 ^a	
	Inaceptable EEUU	195	3,813 ^a	< 0,05
	Aceptable EEUU	391	5,782 ^b	

^{ab} Columnas con distinta letra dentro de una misma prueba diferentes entre sí ($p < 0,05$)

En el Cuadro 9 se presentan los resultados obtenidos de las correlaciones entre el agrado, la luminosidad y el rango costarricense, donde se observa como el agrado (obtenido a partir de las calificaciones dadas por cada comensal) por las muestras está relacionado con el rango propuesto por los comensales costarricenses y también se demuestra que no existe una relación significativa entre los valores de luminosidad del hueso posterior a la cocción y el rango establecido por los costarricenses; lo cual refuerza el indicio ya mencionado, de que el criterio para el rechazo de alguna muestra presentada no es la luminosidad del hueso.

Cuadro 9. Análisis de las correlaciones entre el agrado, la luminosidad y el rango costarricense

	Luminosidad	Agrado	Rango CR
Luminosidad	1	784	-
Agrado	0.277**	1	781
Rango CR	-	-0.824**	1

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

Luminosidad en producto cocinado

Valores sobre la diagonal = N

Valores bajo la diagonal = correlación de Pearson

Una vez demostrado que la clasificación realizada por los costarricenses no se relaciona con los valores de luminosidad posterior a la cocción, se procedió a realizar una prueba de ordenamiento de las muestras, dando como resultado una concordancia con esa escala de aceptabilidad en producto cocinado propuesta por los consumidores nacionales como se puede observar en la Figura 22, así mismo las características de orden y agrado presentaron valores de correlaciones altas, las cuales se encuentran resumidas en el Cuadro 10.

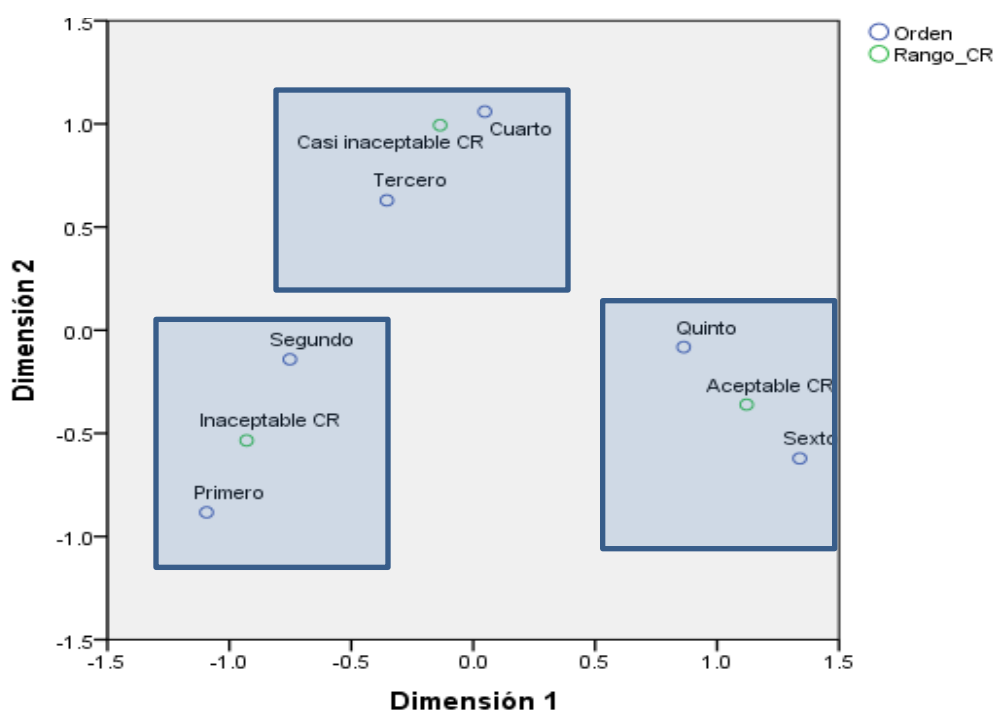


Figura 22. Prueba de ordenamiento de las muestras.

Cuadro 10. Análisis de las correlaciones entre el orden y el agrado.

	Orden	Agrado
Orden	1	784
Agrado	0.740**	1

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

Luminosidad en producto cocinado

Valores sobre la diagonal = N

Valores bajo la diagonal = correlación de Pearson

Al obtener una correlación alta entre el orden y el agrado del consumidor y descartándose una relación del agrado con los valores de luminosidad, se puede establecer una clasificación o escala con los valores costarricenses a partir de las calificaciones dadas a cada muestra por parte de los comensales; la misma puede contener tres grupos tomando como referencia ya sea los valores promedios o los valores moda. En el Cuadro 11 se presentan las calificaciones agrupadas en diferentes formas o valores estadísticos para cada fotografía presentada a los comensales.

Cuadro 11. Calificaciones según agrado para cada fotografía presentada a los comensales.

Imagen	Media	Mediana	Moda	Máximo	Mínimo	Desviación estándar	N total
356	5,10	5,00	5,00	10,00	0,00	3,37	38
475	2,47	1,50	0,00	10,00	0,00	2,73	49
998	2,94	2,85	0,00	9,70	0,00	2,58	54
A10	4,36	5,00	5,00	10,00	0,00	2,81	49
AC6	5,44	5,50	5,00	10,00	0,00	3,11	34
CSD	4,69	5,00	0,00	10,00	0,00	3,63	29
CT1	6,51	6,50	5,00	10,00	0,00	2,66	40
ECG	6,82	7,50	5,00	10,00	0,00	2,54	33
F74	3,45	2,25	0,00	10,00	0,00	3,26	50
G11	1,60	1,20	0,00	5,50	0,00	1,68	50
JCC	5,65	5,50	5,00	10,00	0,00	2,93	24
K89	5,94	6,50	10,00	10,00	0,00	3,42	46
LCC	5,71	5,10	9,00	10,00	0,00	3,16	20
MP1	5,40	5,00	5,00	10,00	0,00	3,06	35
MTV	4,60	4,30	0,00	10,00	0,00	3,12	31
Ñ58	6,95	7,50	7,50	10,00	0,00	2,57	35
RCA	6,21	6,40	10,00	10,00	0,00	3,36	41
RTS	4,60	4,50	0,00	10,00	0,00	2,84	48
SCC	6,00	6,00	6,00	10,00	0,50	2,69	29
T55	4,17	4,00	0,00	10,00	0,00	2,98	47

En el Cuadro 12 se resumen cuáles serían las calificaciones a encontrar en cada uno de los subgrupos según cual sea el valor estadístico a utilizar, ya sea la media tomando en cuenta la desviación estándar para cada grupo o bien los valores moda.

Cuadro 12. Valores de media y moda para cada subgrupo.

Condición	Media	Desv.Estándar	Moda
Aceptable	8,0046	1,9800	10
Casi Inaceptable	4,7724	1,7876	5
Inaceptable	1,5466	1,9093	0

Si se analiza la información presentada en los dos cuadros anteriores vemos cómo partir de los valores de moda indicados para cada fotografía, se pueden agrupar las muestras en tres grandes grupos, sin tener el inconveniente que presenta la media o promedio donde se tiende a castigar los valores, lo cual, puede colocar una misma fotografía en dos grupos distintos (esto dado al +/- que aporta la desviación estándar). A continuación se presenta la Figura 23 donde se puede observar a detalle la variación de los valores media para el total de muestras, en el cual se refleja que no existe una separación clara para poder establecer los tres grupos a partir de esta característica.

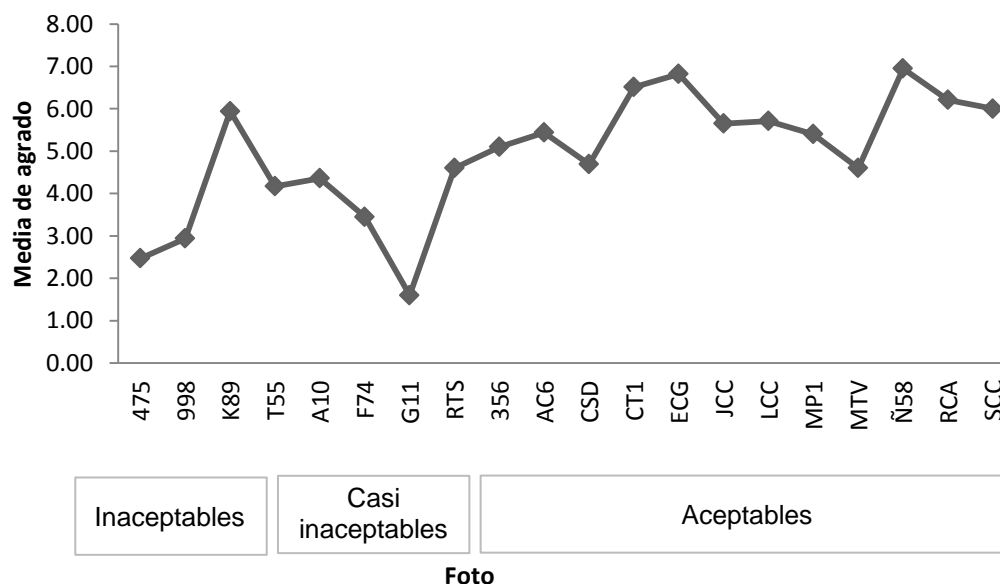


Figura 23. Valores de media para cada fotografía.

En el Cuadro 13, se observa el agrupamiento de las muestras a partir de los valores promedio para el agrado, obteniendo grupos de muestras con diferencias significativas entre ellos (los cuales se encuentran resaltados) y grupos sin diferencia alguna.

Cuadro 13. Valores de media para el agrado de cada muestra.

Prueba	Foto	N	Subconjunto para alfa = 0,5					
			1	2	3	4	5	
Scheffe ^{a,b}	G11	50	1,6000					
	475	49	2,4653	2,4653				
	998	54	2,9352	2,9352	2,9352			
	F74	50	3,4540	3,4540	3,4540	3,4540		
	T55	47	4,1745	4,1745	4,1745	4,1745	4,1745	
	A10	49	4,3551	4,3551	4,3551	4,3551	4,3551	
	MTV	31		4,6000	4,6000	4,6000	4,6000	
	RTS	48		4,6042	4,6042	4,6042	4,6042	
	CSD	29		4,6931	4,6931	4,6931	4,6931	
	356	38		5,1000	5,1000	5,1000	5,1000	
	MP1	35		5,4000	5,4000	5,4000	5,4000	
	AC6	34			5,4353	5,4353	5,4353	
	JCC	24			5,6500	5,6500	5,6500	
	LCC	20			5,7050	5,7050	5,7050	
	K89	46				5,9370	5,9370	
	SCC	29				6,0034	6,0034	
	RCA	41				6,2073	6,2073	
	CT1	40					6,5075	
	ECG	33					6,8152	
	Ñ58	35					6,9457	
Sig			0,647	0,503	0,636	0,649	0,635	

Estos datos fueron extraídos del Anexo 2, donde se pueden observar las diferentes calificaciones para cada muestra según la categoría (aceptable, casi inaceptable e inaceptable) la cual fue clasificada por los comensales.

Al realizar un Anova a los valores de agrado de cada muestra en el Cuadro 14, se muestra como hay una diferencia significativa entre los grupos presentados, sin embargo no es así cuando se analizan los datos presentes en cada grupo.

Cuadro 14. Anova para los valores agrado.

	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1741,462	19	91,656	10,69	0,000
Dentro de grupos	6532,856	762	8,573		
Total	8274,317	781			

Por otro lado a las muestras tomadas para la realización de la determinación del nivel de agrado por parte de los consumidores, también se les analizó de manera estadística los valores de luminosidad y agrado general. Dando como resultado mediante la prueba de T y la prueba de muestras independientes, observadas en el Cuadro 15, que los valores de luminosidad para ambos tratamientos presentan una diferencia significativa con un $P < 0,005$, teniendo unas medias de luminosidad para aquellas muestras congeladas-cocinadas de 35,19 y para las frescas-cocinadas de 49,08. Lo cual demuestra que factores como la congelación y la cocción tienen un efecto sobre los valores de la luminosidad que las muestras afectadas por el SHN, tendiendo a aumentar el oscurecimiento de la carne adyacente al hueso, como lo indican diferentes autores (Arteaga et al. 2009, Whitehead 2010). Siendo así el efecto del congelamiento mayor, es decir, que aquellas piezas que fueron congeladas y cocinadas presentan una luminosidad menor o bien lo que es igual un

oscurecimiento de la carne mayor, que aquellas que fueron solamente cocinadas.

Cuadro 15. Resultados de la Prueba T para la relación entre los valores de luminosidad y los tratamientos.

Tratamiento		N	Media	Des. Estándar	Media de error estándar
Congelado-					
cocinado		24	35,1921	4,08806	0,83447
Fresco-cocinado		23	49,0761	5,698	1,19912

Prueba de Levene de calidad de varianzas

F	Sig.	t	gl	Sig. bilat.	Diferencia de medias	Difer. de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
							Inferior	Superior
0,914	0,344	-8,936	45	0,000	-12,88400	1,4418	-15,78793	-9,89007

En cuanto al análisis del agrado general para estas muestras, la prueba de T y la prueba de muestras independientes, observadas en el Cuadro 16, demuestran que para ambos tratamientos hay una diferencia significativa con un $P < 0.005$, teniendo valores de medias de agrado iguales a 3,6319 para aquellas muestras congeladas-cocinadas y de 5,8588 para las frescas-cocinadas. Lo cual demuestra que en efecto las muestras sometidas a ambos factores (congelación y cocción) tienen una menor aceptación por parte del consumidor; lo cual permite realizar una separación de las muestras afectadas según el agrado reportado por parte de los consumidores en las calificaciones dadas, ya sea en términos de moda o medias como se presenta en el Cuadro 17.

Cuadro 16. Resultados de la Prueba T para la relación entre los valores de agrado y los tratamientos.

Tratamiento	N	Media	Des. Estándar	Media de error estándar
Congelado-cocinado	389	3,6319	3,054886	0,15489
Fresco-cocinado	396	5,8588	3,1007	0,15582

Prueba de Levene de calidad de varianzas

F	Sig.	t	gl	Sig. bilat.	Difer. de medias	Difer. de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
							Inferior	Superior
0,098	0,755	-10,136	783	0,000	-2,22722	0,21973	-2,65855	-1,79589

Cuadro 17. Clasificación de agrado por parte de los comensales en términos de Moda y Escala 10.

Termino de Agrado	Clasificación	Piezas	Proporción relativa (%)
Escala 10	Aceptable	18	36
	Casi inaceptable alto	17	34
	Casi inaceptable bajo	8	16
	Inaceptable	7	14
Moda	10	13	26
	5	21	42
	0	16	32

A partir de la información adquirida en términos de media y moda, se procedió a realizar una clasificación de los datos obtenidos en el panel sensorial, dando como resultado que un 36% de las piezas se podrían catalogar como aceptables en términos de promedio, sin embargo si las mismas calificaciones dadas por

los comensales se analizan desde el punto de la moda solo el 26% se podría considerar aceptables, como se detalla en el Cuadro 17 donde se presentan las agrupaciones realizadas.

Por medio de estos datos del Cuadro 17 se realizaron dos escalas con los agrados de los costarricenses, las cuales pueden ser observadas en el Anexo 4. Estas escalas presentadas, mantienen la relación que se detalla en el cuadro 16, donde se indica que aquellas muestras pertenecientes al tratamiento congelado-cocinado va a obtener una calificación de agrado menor, tendiendo por lo general a ocupar los últimos lugares de las escala, caso opuesto a lo que ocurre con el tratamiento fresco-cocinado, el cual presentada un nivel de agrado mayor y por ende ocuparía lugares más altos en la escala.

Al quedar demostrado que en el mercado costarricense el síndrome de hueso negro es un parámetro de calidad, que les permite diferenciar las piezas que son o no de su agrado. Estas escalas disponibles en el Anexo 4 donde se agrupan las muestras según las calificaciones dadas por los comensales a partir del agrado promedio y a partir del valor de moda; pueden ser utilizadas como punto de referencia para determinar si la calidad de la carne de pollo, producida en esta planta de proceso, es el agrado de los consumidores. Ya que la presencia del SHN como se demostró mediante este estudio ocasiona que los comensales tiendan a presentar un rechazo o una disminución en el consumo de aquellas piezas que se producen con hueso. Lo cual afianza una vez más la importancia de este trabajo que al no tener antecedentes a nivel nacional se desconocía cual era la posición de los costarricenses al respecto.

5. CONCLUSIONES

Según los resultados, se concluye que los valores de luminosidad obtenidos en este estudio pueden ser utilizados como una herramienta de referencia para evaluar la condición de las muestras, sin embargo al no contrastar los rangos de luminosidad utilizados para clasificar las muestras con pruebas que demuestren la estructura ósea de las mismas, estos valores no pueden ser utilizados por si solos para diagnosticar la presencia o ausencia del SHN, por tanto se deben de acompañar de estudios histológicos, con la finalidad de establecer una relación entre los rangos de luminosidad y el nivel de afectación que tienen las muestras.

Por tanto según lo anterior la escala de luminosidad disponible en la Figura 4, sirve como herramienta de referencia y no como herramienta diagnóstica del SHN.

Basados en los resultados obtenidos de las muestras de huesos analizadas, se observa como un factor como la congelación tiene un efecto en el oscurecimiento de la carne adyacente al hueso en las piezas afectadas por el SHN, obteniendo valores de luminosidad menores en aquellas muestras del tratamiento congelado-cocinado, las cuales fueron sometidas a bajas temperaturas por una semana, fenómeno que de igual manera se presenta en las piezas del tratamiento congelado-cocinado muestreadas para la determinación del agrado por parte de los comensales; lo cual concuerda con lo citado en la revisión de literatura para este documento.

Según el análisis de los valores L para cada muestra tomada (tanto aquellas que fueron solo hueso como las que eran piezas completas), posterior a la cocción también existe una tendencia hacia el oscurecimiento, tendiendo en la mayoría de los casos a valores de luminosidad menores a 35 L, para ambos tratamientos y en ambos grupos de muestras.

Con los resultados estadísticos obtenidos para las muestras de huesos y las muestras de piezas completas utilizadas en este estudio se concluye que en efecto hay una diferencia significativa entre las luminosidades de ambos tratamientos estudiados, dado el efecto potenciador sobre el oscurecimiento que tiene la congelación, lo cual origina valores de luminosidad más bajos que los obtenidos para las muestras cocinadas en fresco.

Según los valores obtenidos en este estudio para los fémures se concluye que pruebas como la determinación del punto de ruptura y la determinación del porcentaje de cenizas, no caracterizan ni se asocian con la presencia o ausencia del defecto, dado que median otros factores en sus valores.

A partir de las muestras tomadas en la primera parte de este estudio, se obtiene que posterior a la cocción hay un nivel de piezas oscurecidas, posiblemente por una afectación del SHN, de un 79%, es decir que en este porcentaje se alojan aquellos huesos cuya luminosidad posterior a la cocción sin importar su tratamiento, fuese menor a 35 L.

Al analizar los datos obtenidos en la determinación del agrado hacia el SHN por parte de los comensales, se observa una tendencia marcada a clasificar las muestras en grupos según su agrado, sin embargo esta clasificación no tiene asociación significativa con los valores de luminosidad de hueso de cada muestra presentada.

Según las calificaciones de agrado de cada muestra que dieron los comensales costarricenses, existe una diferencia significativa entre ambos tratamientos, lo cual demuestra que en efecto hay una inclinación o un mayor agrado por aquellas muestras del tratamiento fresco-cocinado, es decir muestras que en la mayoría de los casos presentan valores de luminosidad mayores a 40 L.

A pesar de que el agrado de los consumidores y los valores de luminosidad no tienen una asociación significativa, existe una tendencia de una menor aceptación a aquellas piezas diagnosticadas como positivas (con valores de L menores a 35) para SHN.

Según los resultados obtenidos se puede concluir que el ordenamiento por parte de los consumidores se debe posiblemente al tamaño de la zona oscurecida y no al nivel de oscurecimiento de la carne producto del síndrome.

Dado que existe una alta correlación entre las calificaciones dadas a cada muestra y el agrado de los comensales, se concluye que se puede establecer una escala de clasificación a partir de un rango costarricense.

Por otro lado, se concluye que por medio de este proyecto se logró determinar una escala referencia para el agrado de los consumidores, mediante la cual se pueden observar y evaluar en términos de moda y en términos de mediana, cuales piezas tenderían a ser del agrado de los costarricenses.

Por medio de los resultados obtenidos y el trabajo realizado se concluye que es importante continuar las investigaciones acerca del SHN, ya que este trabajo refleja que los efectos que produce este síndrome en la calidad de la carne de pollo tienden a originar una no aceptación por parte de los costarricenses hacia aquellos productos o piezas de pollo que presentan oscurecimiento en la carne producto del SHN u otras lesiones. Por tanto resulta conveniente estudiar más a fondo el tema con la finalidad de conocer más sobre las causas y mecanismos para disminuir la afectación que produce.

6. RECOMENDACIONES

Se recomienda redefinir el objetivo general del estudio, dado que mediante las pruebas realizadas no es posible realizar la determinación de la incidencia del síndrome, pero es posible conocer cuál sería el porcentaje de piezas con un nivel de oscurecimiento que no es del agrado de los consumidores.

Para realizar un diagnóstico y establecer el nivel de incidencia de piezas afectadas por el SHN se recomienda realizar análisis histopatológicos de los huesos a estudiar.

Se recomienda validar las escalas de luminosidad a utilizar como referencia en la presencia o ausencia del SHN con correlaciones entre la luminosidad y el estado de la estructura ósea (determinada por estudios histológicos). Así mismo se invita a establecer una relación entre el agrado de los consumidores por piezas posiblemente afectadas y el estado de la estructura ósea de las muestras.

Se recomienda, dada la tendencia del consumidor a clasificar las muestras según su agrado, realizar un análisis de impacto en el costo de la dieta y los beneficios que puede tener la utilización de metabolitos de vitamina D₃, en cuanto a la disminución del oscurecimiento de las piezas de pollo con hueso con el congelamiento y la cocción que produce el síndrome, dado una deficiente formación de la estructura ósea.

Dado las condiciones bajo las cuales se realizó este estudio, se recomienda ejecutar más pruebas de ruptura y determinaciones de porcentaje de cenizas para esclarecer si efectivamente estas pruebas pueden caracterizar la presencia o ausencia del SHN.

Para determinar una mejor caracterización de este síndrome se recomienda analizar parámetros zootécnicos de las aves a estudiar como: el peso, la edad, el sexo, la alimentación y la línea genética, esto para esclarecer si alguna de estas características pueden presentar alguna relación significativa con la presencia del SHN y permitan realizar un patrón de comportamiento productivo de las aves cuando se presente o no el hueso negro.

7. REFERENCIAS

ALDANA D. 2011. Black Bone (Red Bone). DSM Nutritional Products.

ARTEAGA M., y SOTO M. 2009. El Síndrome del Hueso Negro y su influencia en la calidad de la carne. Selecciones Avícolas, Marzo 2009. Disponible en: <http://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2009/3/4612-el-sindrome-del-hueso-negro-y-su-influencia-en-la-calidad-de-la-carne.pdf>. Consultado el 15 de mayo del 2014

BALDO G., ALMEIDA P., ALVES M., NÄÄS I., GARCIA R., CALDARA F., GAVILAN C. 2013. Black bone syndrome in chicken meat. Brasil. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-635X2013000400005&script=sci_arttext. Consultado el 15 de mayo del 2014

CEPERO R. 2011 Problemática actual de la calidad de la canal de pollo. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Valencia, España

DSM NUTRITIONAL PRODUCTS. 2012. ¿Son aceptables los huesos de sus aves?

GAYTÁN. SF. Factores que afectan la calidad de la carne de pollo. Colegio de postgraduados Campus Córdoba. Disponible en: http://usapeec.org.mx/publicaciones/presentaciones/pdf/factores_que_afectan_la_calidad_de_la_carne_de_pollo.pdf consultado el: 4 de octubre de 2015

KORVER D. 2014. Comunicaciones personales. University of Alberta

- MENDIETA A. 2012. Implementación de HyD [Hidroxicolecalciferol (25-OH-D3)] en la dieta de pollos de engorde como profilaxis de osteopatías, enfatizando en el síndrome del hueso negro, Granja Trinidad-1, Tip-Top industrial. Universidad Nacional Agraria. Facultad de Ciencia Animal. Departamento de Veterinaria. Managua, Nicaragua
- MORENO A., LÓPEZ S. y CORCHO A. 2000. Principales medidas en epidemiología. México. Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S003636342000000400009&script=sci_arttext. Consultado el 02 de diciembre del 2015
- OVIEDO E. 2009. Aspectos nutricionales que influyen sobre la incidencia de problemas de patas en pollos de engorde. XXV curso de especialización FEDNA. Madrid 5 y 6 de noviembre del 2009. North Carolina State University
- OVIEDO E. 2012. Problemas Locomotores en Pollos de Engorde. Department of Poultry Science. North Carolina State University. Disponible en: <http://www.fenavi.org/congreso2012/images/documentos/memorias/9-EdgarOviedo-Colombia.pdf>. Consultado el 28 de mayo del 2014
- PÉREZ A., SOTO, M., MARTIN,E., FOLEGATTI,E., y LLAURADÓ, L. 2011. Efecto del 25-hidroxicolecalciferol (Rovimix® Hy-D®) sobre los resultados productivos y la calidad del hueso y la carne de pollos broiler en condiciones normales o de estrés. XLVIII Simposio Científico De Avicultura. Santiago de Compostela, España.
- ROJAS J. 2014. Comunicaciones personales. Encargado de Calidad en la planta de proceso la empresa DIP-CMI (División Industrial Pecuaria-Corporación Multi Inversiones)

SINGLA S., KORVER D. Y BETTI M. 2010 Factors responsible for discoloration of bone-in broiler chicken thighs. University of Alberta. Disponible en: <http://www.poultry.ales.ualberta.ca/en/TechnologyTransfer/~media/alespoultry/ResearchPrograms/NewValueAddedProducts/Documents/2-singla-2010.pdf> consultado el 10 de octubre del 2015

SOLER M., MATEOS M., SAFÓN E., SOLER P. y GARCÉS C. 2011. Caracterización del color y relación con el pH de pechuga de pollo durante el procesado de las canales en matadero. Facultad de Veterinaria. Universidad CEU Cardenal Herrera. Valencia, España. Disponible en: http://www.wpsaaeca.es/aeca_imgs_docs/1_caracterizacion_del_color_y_relacion_con_el_ph_de_pechuga_de_pollo_durante_el_procesado_de_las.pdf
Consultado el: 4 de octubre de 2015

WATTAGNET. 2013. Costa Rica: Pollo y huevo dedicados básicamente al consumo interno. Disponible en: <http://www.wattagnet.com/articles/15306-costa-rica-pollo-y-huevo-dedicados-ba-sicamente-al-consumo-interno>
Consultado el 25 de junio del 2014

WHITEHEAD C. 2009. Factores nutricionales que influyen en los problemas óseos actuales de los broilers. Del 29 de setiembre al 2 de octubre del 2009. XLVI Simposio científico de avicultura. Disponible en: http://www.wpsaaeca.es/aeca_imgs_docs/fact_nutricionales_problemas_oseos_broilers_whitehead_46_symp_aeca_texto.pdf Consultado el 29 de mayo del 2014

WHITEHEAD C. 2010. Update on current European broiler bone problems. 21st Annual Australian Poultry Sciences Symposium. Sydney, Australia.

WILLIAMS B., SOLOMON S., WADDINGTON D., THORP B., y FARQUHARSON C. 2000. Skeletal development in the meat-type chicken. *British Poultry Science* 41, 141-149.

ZAMORA L. 2013. Evaluación de la inclusión de harina de camarón en la alimentación de gallinas ponedoras comerciales y su efecto en el desempeño productivo de las aves y las características del huevo. Tesis de Licenciatura. Universidad de Costa Rica. Escuela de Zootecnia.

8. ANEXOS

8.1 Anexo 1

Descripción del proceso de sacrificio en la planta de proceso.

Descripción del proceso de sacrificio en la planta de proceso.

- **Recolecta de las aves:** Se recolectaban aves con una edad de 38 a 42 días en promedio y un peso de entre dos y tres kilogramos, con un tiempo de ayuno de 8 a 12 horas al momento de la recolecta.
- **Recibo y pesaje de la materia prima:** Al llegar a la planta, los camiones se pesaban en la báscula, para determina el peso neto de las aves descontando las taras del camión y las jabas.
- **Descarga de materia prima:** Una vez en el andén, las jabas que contenían las aves se bajaban del camión en perchas de 8 jabas, las cuales eran colocarlas en el patio de espera de acuerdo con el orden de ingreso de los camiones a la planta.
- **Espera en andén de pollo en pie:** Durante el periodo previo al colgado, las aves se mantenían en el andén en condiciones de ventilación y luminosidad adecuadas para evitar el stress, la deshidratación y la asfixia de las aves.
- **Inspección Ante-Mortem:** Mediante inspección visual se descartaba la presencia de algún problema en cuanto a apariencia, viveza, normalidad de plumaje y ausencia de secreciones.
- **Colgado Aves en Línea 1:** De acuerdo con el orden de ingreso, cada percha de 8 jabas se colocaban sobre la banda para que los operarios las colgaban.
- **Relajamiento:** Una vez las aves colgadas en el transportador aéreo, se les rozaba la pechuga en una banda de caucho, para generarles un estado de relajamiento y evitar el aleteo y estrés.
- **Estimulación cloacal:** Antes de ingresar al área de aturdido las aves recibían una estimulación cloacal mediante una ducha de agua, con el fin de lograr mayores niveles de evacuación del tracto intestinal y lograr una mayor conductividad de la electricidad.
- **Aturdido:** El aturdimiento de las aves se realizó para causar un estado de insensibilización sin causarle la muerte del pollo. El voltaje utilizado era de 40-80 volts con una frecuencia de 800 a 1200 Hz (Rojas, 2014).

- **Degollado:** Estando el pollo en estado insensible, el operario con una ligera tracción movía la cabeza hacia abajo y hacia un lado para exponer de mejor forma la yugular y poderla seccionar.
- **Desangre:** Se debía realizar en un tiempo mayor a 90 segundos, para que el ave evacue la mayor cantidad de sangre posible al ingresar a los escaldadores.
- **Escaldado:** El escaldado del pollo se daba a través de su inmersión en agua a una temperatura de 57 y 59°C, con el objetivo de abrir los folículos de las plumas y facilitar su desprendimiento.
- **Desplume:** El desprendimiento de las plumas del pollo se realizaba a través de cabezales con dedos de goma multi-rotativos que iban girando en forma inversa conforme el ave transitaba por la desplumadora.
- **Eliminación de la cabeza:** Esta se lograba conforme se producía el arrastre del pollo en la línea, la cabeza era aprisionada entre dos guías de una armazón de acero inoxidable y mediante una tracción dada por la línea en movimiento la cabeza era desprendida del cuerpo del ave.
- **Corte de Patas:** Este corte era realizado con un equipo provisto de sierras circulares colocadas en ángulo perpendicular a la articulación tibio-tarsal.
- **Descolgado de patas:** Las patas eran descolgadas de los ganchos a través de un sistema mecánico rotativo.
- **Escaldado y pelado de patas:** Era un sistema mecánico cerrado y con un eje giratorio en el que se rociaban las patas con agua a 58°C.
- **Colgado de aves en línea 2:** Al efectuarse el corte de las patas, el pollo era liberado y caía a una mesa donde uno a uno era colgado en los ganchos de la línea 2.
- **Corte y extracción de cloaca:** Se realizaba mediante una máquina cortadora de cloacas, la cual removía la cloaca y la bolsa de Fabricius.
- **Corte de abdomen:** Era realizado por una máquina abridora de abdomen de corte transversal, la cual realizaba una incisión en la piel abdominal.
- **Revisión de cloaca y abdomen:** Mediante inspección visual, se verificaba que el corte de la cloaca y el abdomen se hubieran efectuado; de no

ser así, se bajaba de la línea el pollo no conforme y lo regresaba a la mesa de colgado para que iniciara el ciclo nuevamente.

- **Evisceración:** La evisceración del pollo se lograba a través del MAESTRO (abreviación de Mean Avanced Evisceration System for Total Release of Organs), que es un sistema que combina la evisceradora, el transportador de Paquetes, bandejas y el Topic (separador de hígados y corazones). Este equipo evisceraba los intestinos y menudos del pollo, los cuales eran revisados por el inspector.
- **Lavado exterior:** A la salida del eviscerador cada canal pasaba a través de una cortina de agua a presión, que contenía hipoclorito en una concentración de 20-50 ppm, para remover contaminantes en la superficie de la canal.
- **Inspección post-mortem:** Se inspeccionaba en forma visual y por palpación cada una de las canales, apartando aquellas que presentaran alguna irregularidad.
- **Reproceso de canales:** Se reprocesaban las canales que fueron determinadas mediante inspección post-mortem con decomiso parcial.
- **Revisión del eviscerado:** El operario en esta revisión procedía a extraer cualquier residuo visceral que haya quedado en la cavidad para que la canal continúe en su avance en la línea de proceso.
- **Lavado de interiores y exteriores de canales:** Mediante una lavadora tipo circular las canales iniciaban el proceso de lavado.
- **Inspección de contaminación fecal visible:** Se verificaba mediante inspección visual la presencia o ausencia de contaminación fecal visible.
- **Descolgado de canales:** Las canales ingresaban al área de enfriadores y eran descolgadas en el tanque del pre-chiller.
- **Enjuague y pre enfriado en chiller:** La fase de enjuague y pre-enfriado en este primer chiller tenía por objetivos disminuir la temperatura de las canales, inicio del cerrado de los poros y bajar la carga microbiana. El agua del pre-chiller se mantenía a una temperatura entre 8 y 12 °C y con una solución desinfectante de hipoclorito con una concentración entre 20 y 50 ppm.

- **Desinfección y enfriado en chiller:** El objetivo de esta fase era enfriar las canales a una temperatura igual o menor a los 4,4°C y reducir la carga microbiana.
- **Ecurrido mecánico de canales:** En un proceso continuo, las canales ingresaban por el tobogán desde el chiller al tumbler de escurrido para eliminar los excesos de agua contenidas en los pliegues y cavidades.
- **Clasificación y colgado de canales en línea 3:** Los operarios colgaban las canales en la tercera línea aérea, para que fueran transportadas a la sala de procesamiento.
- **Inmersión de canales en ácido peracético:** Las canales ingresaban a un tanque de inmersión de desinfección, que utilizaba ácido peracético a una concentración de 90-180 ppm y agua a una temperatura $\leq 10^{\circ}\text{C}$; con el fin de bajar la carga microbiana de las canales.
- **Ecurrido de canales en línea aérea, pesado y clasificación:** Una vez que las canales eran colgadas, se producía un escurrido por goteo durante el tránsito hacia la sala de proceso. Durante el recorrido, las canales pasaban por un puente de pesaje aéreo que pesaba cada una para efectos de productividad y control interno.
- **Troceado de canales:** El troceado era realizado de dos formas, mediante un sistema de módulos integrados en una línea conocida como Partidora Automática, o bien mediante el corte manual con la sierra de disco.
- **Deshuese manual y mecánico:** El deshuesado era realizado mediante dos formas: manual y mecánica. En la forma manual el objetivo era producir deshuesados de primera necesidad como filetes de pechuga. Mientras que el mecánico consistía en procesar mecánicamente todas las carcasas y otras materias primas como alas, pescuezos, recortes para producir una pasta carnosa conocida como carne deshuesada mecánicamente.
- **Enfriamiento de menudencias:** Las menudencias eran enviadas a la sala de enfriamiento a través tuberías de acero inoxidable a cada chiller previamente definido o por traslado en cestas plásticas en el caso de las patas.

- **Empaque de canales, deshuesados y partes:** Los productos preparados eran empacados de acuerdo con las necesidades planteadas previamente por el cliente y en todos los casos, los productos eran identificados mediante etiquetas con la trazabilidad del lote.
- **Pesado de producto terminado:** Todos los productos empacados, trazados e identificados eran pesados y registrados por tipo, enviados a la cámara de almacenamiento de producto fresco terminado.
- **Almacenamiento de producto terminado:** esta fase se utilizaba para recuperar cualquier pérdida (aumento) de temperatura que hayan sufrido los productos en la sala de procesamiento por encima del límite crítico establecido igual o menor a los 4,4°C.
- **Congelado de producto terminado:** Los productos que por demanda del mercado requieran una presentación congelada, una vez pesados, registrados y almacenados temporalmente en la cámara de producto fresco terminado (por periodo no mayor a 72 horas), eran trasladados al túnel de congelado, para que en un proceso de 24 horas y un descenso de temperatura de cámara de los -28°C logren un estado de congelamiento total que aumente su vida útil a 1 año.
- **Mantenimiento de producto congelado:** Estos productos eran trasladados a una cámara con una temperatura interna de -18°C.
- **Despacho de productos terminados:** Todos los productos eran despachados en transportes refrigerados a 4,4°C



Figura 24. Diagrama del proceso de sacrificio utilizado en la planta de proceso en la cual se realizó este estudio

8.2 Anexo 2

Calificaciones para cada muestra según la categoría dada por los comensales

Imagen	Aceptable							Casi inaceptable							Inaceptable						
	Media	Mediana	Moda	Máximo	Mínimo	Desvi. estándar	N total	Media	Mediana	Moda	Máximo	Mínimo	Desvi. estándar	N total	Media	Mediana	Moda	Máximo	Mínimo	Desv. estándar	N total
356	8,35	8,85	10,00	10,00	5,00	1,78	14	4,64	4,80	5,00	8,80	0,00	2,31	14	1,20	1,25	0,00	2,50	0,00	0,86	10
475	6,75	8,00	9,00	9,00	2,00	3,30	4	4,92	5,00	5,00	10,00	2,00	2,13	13	0,93	0,55	0,00	4,00	0,00	1,20	32
998	6,54	7,00	3,50	9,70	3,50	2,48	7	4,74	5,00	5,00	7,50	0,00	1,57	14	1,40	1,00	0,00	5,00	0,00	1,49	33
A10	9,00	9,25	10,00	10,00	7,00	1,22	6	4,75	5,00	5,00	8,00	0,00	1,79	31	1,03	0,75	0,00	2,30	0,00	0,88	12
AC6	7,77	8,00	6,00	10,00	5,50	1,58	12	5,94	5,25	5,00	9,00	4,50	1,55	8	2,62	2,20	0,00	10,00	0,00	2,64	13
CSD	8,43	10,00	10,00	10,00	3,50	2,34	9	5,80	5,70	4,50	7,50	4,50	1,19	8	1,15	0,25	0,00	5,00	0,00	1,61	12
CT1	7,74	8,50	8,50	10,00	1,80	1,96	24	5,31	5,50	5,00	9,00	0,00	1,99	13	1,83	0,00	0,00	5,50	0,00	3,18	3
ECG	8,30	8,80	9,00	10,00	4,80	1,49	21	4,86	5,00	5,00	6,00	2,50	0,91	10	1,00	1,00	0,00	2,00	0,00	1,41	2
F74	7,74	8,30	10,00	10,00	2,00	2,41	13	4,11	4,00	2,00	7,00	2,00	1,64	9	1,25	1,00	0,00	4,50	0,00	1,37	28
G11	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	0,00	1	3,12	3,50	3,50	5,50	0,00	1,65	11	1,07	1,00	0,00	5,50	0,00	1,41	38
JCC	6,75	7,25	10,00	10,00	0,00	3,00	12	5,26	5,25	5,00	8,50	1,30	2,03	10	1,00	1,00	0,00	2,00	0,00	1,70	2
K89	8,20	9,00	10,00	10,00	0,00	2,36	24	5,33	5,00	5,00	10,00	3,00	1,89	11	1,61	1,30	0,00	5,00	0,00	2,36	11
LCC	8,69	9,00	9,00	10,00	5,20	1,48	9	3,65	3,70	3,70	4,50	2,50	0,66	6	2,80	2,00	0,00	5,50	0,00	1,70	5
MP1	8,08	8,50	10,00	10,00	5,00	1,64	13	5,15	5,00	2,50	10,00	2,50	2,20	13	1,89	2,00	2,00	5,00	0,00	2,00	9
MTV	8,75	9,00	9,00	10,00	6,00	1,23	8	4,77	4,65	4,30	5,70	3,80	0,75	6	2,59	3,00	0,00	7,00	0,00	11,00	17
Ñ58	8,10	8,00	7,50	10,00	5,00	1,38	25	4,83	5,10	7,00	7,00	0,00	2,32	8	1,00	1,00	0,00	2,00	0,00	1,41	2
RCA	8,47	9,60	10,00	10,00	3,00	2,09	24	4,28	4,50	3,00	5,50	3,00	1,03	9	1,59	1,00	1,00	5,00	0,00	1,51	8
RTS	7,53	8,00	10,00	10,00	3,70	2,27	11	4,44	5,00	5,00	7,50	0,00	1,72	21	2,53	1,70	0,00	10,00	0,00	2,72	15
SCC	8,01	8,25	7,50	10,00	5,50	1,28	12	4,64	5,00	3,80	7,70	1,00	1,97	10	3,60	4,40	0,50	6,00	5,00	2,51	6
T55	7,90	8,00	8,00	10,00	3,50	1,96	10	4,99	5,00	5,00	8,50	2,00	1,45	17	1,62	0,75	0,00	5,00	0,00	1,79	20

8.3 Anexo 3

Cuestionario utilizado para el panel sensorial.

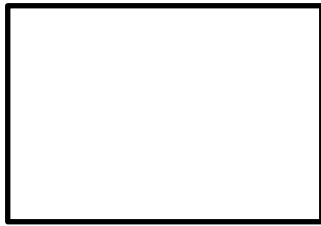
Si te gusta consumir carne de pollo... Su opinión nos interesa.

Datos personales:

Edad: _____ Ocupación: _____ Lugar de residencia: _____

Cuestionario:

1. Por favor escriba el número de siguientes fotografías en alguna de las casillas que se presentan a continuación según sea su agrado:



INACEPTABLE



CASI INACEPTABLE



ACEPTABLE

2. Para las anteriores fotografías por favor indíquenos su nivel de agrado marcando una **X** en la zona de la línea donde usted cree que se representa mejor su opinión.

<input type="checkbox"/>	Desagrado indiferente Agrado
<input type="checkbox"/>	Desagrado indiferente Agrado
<input type="checkbox"/>	Desagrado indiferente Agrado
<input type="checkbox"/>	Desagrado indiferente Agrado
<input type="checkbox"/>	Desagrado indiferente Agrado
<input type="checkbox"/>	Desagrado indiferente Agrado

3. Por último por favor ordene esas mismas fotografías desde la que le resulta más agradable hasta la que más le desagrada






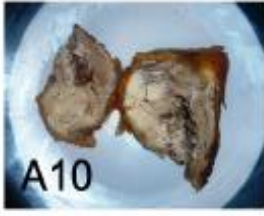





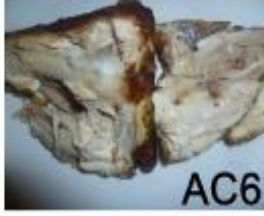








GRACIAS POR SU AYUDA

8.4 Anexo 4

Escalas basadas en las calificaciones de los costarricenses.

Fotografías Progresivas Según Agrado Promedio

Inaceptable (0-3,46 azul), Casi inaceptable (2,98-6,56 blanco), Aceptable (6,02-10 Rojo)

 G11	 475	 998	 F74
Media: 1,60 L=38,54	Media: 2,47 L=32,79	Media: 2,94 L=29,62	Media: 3,45 L=37,33
 T55	 A10	 MTV	 RTS
Media: 4,17 L=37,77	Media: 4,36 L=36,28	Media: 4,60 L=49,46	Media: 4,60 L=38,88
 CSD	 356	 MP1	 AC6
Media: 4,690 L=50,56	Media: 5,10 L=45,14	Media: 5,40 L=43,92	Media: 5,44 L=50,77
 JCC	 LCC	 K89	 SCC
Media: 5,65 L=47,04	Media: 5,71 L=46,65	Media: 5,94 L=30,03	Media: 5,44 L=50,77
 RCA	 CT1	 ECG	 Ñ58
Media: 6,21 L=49,27	Media: 6,51 L=44,11	Media: 6,82 L=48,12	Media: 6,95 L=52,73

Fotografías Progresivas Según Moda

Moda=0 (Azul) Moda=5 (Rojo) Moda=10 (Verde)

