

UNIVERSIDAD DE SONORA

División de Ciencias Químico Biológicas y de la Salud

Departamento de Ciencias Químico Biológicas

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANO DE
EXTRACTO DE HOJAS DE *Agave angustifolia* Haw ADICIONADOS EN
HAMBURGUESAS DE CERDO

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

Presenta:

Ana Lucía Ortega Ruíz

Hermosillo, Sonora

Abril de 2015

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

VOTOS APROBATORIOS

Los miembros del jurado calificador del examen profesional de
_____ hemos revisado detenidamente su
trabajo escrito titulado

_____ y encontramos que cumple con los requisitos para la presentación de su examen profesional. Por tal motivo recomendamos se acepte dicho trabajo como requisito parcial para la obtención de título de_____.

Atentamente:

Dr. Humberto González Ríos
Presidente del Jurado

Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo
Secretario

Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda
Vocal

M. C. Dalila Canizales Rodríguez
Suplente

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios porque sin Él en mi vida jamás habría podido lograr lo que hasta hoy, por darme fuerzas para superar los obstáculos y por llenarme de su paz al disfrutar las alegrías de la vida. Agradezco a mis padres y hermanos quienes han dado todo por mí, ustedes son el motor de mi vida, son quienes han guiado y corregido mi camino, son mi todo y jamás podré agradecerles lo suficiente por su amor, apoyo y confianza incondicional.

A mi *Alma mater*, la Universidad de Sonora por permitirme crecer en ella como profesionista en la vida científica y por crear en mi persona una ética profesional invaluable.

A mis maestros y a mi comité de tesis integrado por la Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo, Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda y la M. C. Dalila Canizales Rodríguez por su tiempo y cooperación en este trabajo.

Además, gracias al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C., por recibirme como tesista y permitirme formar parte del programa de iniciación a la investigación.

Por último, agradezco de manera especial al Dr. Humberto González Ríos, quien como director de esta tesis, me brindó todo su apoyo, disponibilidad, tiempo y paciencia desinteresada para la realización de este proyecto y mi crecimiento profesional.

“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa”.

Mahatma Gandhi.

DEDICATORIAS

A Dios. A quien no solamente le dedico este trabajo, sino también, cada día de mi vida y en quien confío haga de mí una profesionista de bien, una científica comprometida y dedicada, una mejor persona y una excelente mujer.

A mis padres. Armando y Raquel de Ortega les dedico este trabajo que está hecho por y para ustedes, en manera de agradecimiento por todos aquellos esfuerzos sobrehumanos que han hecho para que yo pudiera realizar mi sueño. Por consentirme, cuidarme, y corregir mis errores, por hacer de mí la persona que soy e inculcarme ante todo la honestidad, la amabilidad y el amor. Los adoro.

A mis hermanos. Armando y Giselle, mis dos amores, mis ejemplos a seguir, mis segundos padres. Todo el esfuerzo puesto en este trabajo es por ustedes, por todo lo que han hecho por mí, por sus consejos, por su apoyo, por darme a conocer que un hermano o una hermana es un mejor amigo, alguien en quien confiar incondicionalmente y que siempre estará para sacarte una sonrisa. Les dedico este trabajo también a sus hijos, quienes han hecho de mi vida otro mundo, y me han hecho darme cuenta que unas personitas pueden causar una felicidad enorme.

A mi novio. Jesús Ruíz, quien con sus consejos, paciencia y amor me ayudó a sobrellevar los momentos difíciles durante la realización de este trabajo y disfruté conmigo los momentos más felices. Te agradezco mi amor por todo lo que has hecho por mí, por todas las alegrías que has causado en mi vida, porque no importa que tan difícil sea el día, tú simplemente lo haces mejor. Este trabajo en gran parte también es tuyo, gracias por tu apoyo incondicional, eres un excelente novio, compañero y amigo. Jamás podré agradecerte todas tus atenciones y tu apoyo para que yo realizara exitosamente mi labor científica. Te amo.

A mis amigas y amigos. Quienes con su apoyo, ánimos y energía me ayudaron en muchos momentos. De manera especial a Maby Rodríguez, Paulina Olea, Paulinita Hdez., Maydolly Patiño; mis amigas Sara Mexía, Viviana Elías, Diana Sánchez y a mis mejores amigos Rodrigo Bustamante y Gonzalo Gutiérrez, y a todas las personas que directa o indirectamente han recorrido conmigo parte de este camino. Los quiero mucho y gracias por todo.

A la M.C. Nidia Vanessa Valenzuela Grijalva. Quien no solo me brindó sus consejos, ayuda, apoyo y conocimientos si no también una bonita amistad, muchísimas gracias por todo.

A mis compañeros de CIAD. Livier, Edwin, Lalo, Rey David, Andrés, Luis y Hugo, gracias por sus consejos y muy preciada amistad.

A la familia Mexía Arrieta. Mi familia de Hermosillo, a quienes les estaré eternamente agradecida por acogerme en su familia como un miembro más. Por apoyarme y animarme en todo momento y sobre todo, por acompañarme en todo el trayecto de mi carrera y tesis. Los quiero mucho.

CONTENIDO

VOTOS APROBATORIOS.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
DEDICATORIAS.....	iii
CONTENIDO	v
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
OBJETIVOS	1
Objetivo General	1
Objetivos Específicos	1
RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	4
ANTECEDENTES.....	6
Composición y Valor Nutricional de la Carne de Cerdo	6
Calidad de la Carne de Cerdo	7
Factores de Calidad de la Carne Fresca	8
Características Físicoquímicas	8
Características Microbiológicas	10
Características Sensoriales	12
Tecnologías de Conservación de Carnes Frescas	13
Refrigeración	13
Uso de Antioxidantes y Antimicrobianos en la Industria Cárnica.....	14
Mecanismo Antioxidante.....	17
Antimicrobianos	18
Mecanismo Antimicrobiano.....	19
Alternativas Naturales para la Conservación de Productos Cárnicos	20
Extractos de Fuentes Naturales.....	20
El Género Agave.....	22
Subproductos del Agave.....	23
Actividades biológicas de <i>Agaves</i>	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27

Materiales y Reactivos	27
Material Vegetal.....	27
Reactivos.....	27
Preparación del Extracto	27
Preparación de las Hamburguesas	28
Tratamientos Experimentales.....	28
Determinaciones Físicoquímicas	29
Determinación de pH.....	29
Determinación de Color Objetivo	29
Determinación de la Oxidación de Lípidos (TBARS).....	30
Porcentaje de Metamioglobina (% MetMb)	30
Determinaciones Microbiológicas.....	31
Cuenta Total de Mesófilos y Psicrófilos Aerobios.....	31
Determinaciones Sensoriales.....	31
Diseño Experimental y Análisis Estadístico	32
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
Determinaciones Físicoquímicas	33
Determinación de pH.....	33
Determinación de Color Objetivo	35
Determinación de la Oxidación de Lípidos (TBARS).....	38
Porcentaje de Metamioglobina (MetMb).....	40
Determinaciones Microbiológicas.....	43
Cuenta Total de Mesófilos y Psicrófilos Aerobios.....	43
Determinaciones Sensoriales.....	47
Pérdida de olor y sabor a fresco	47
Color superficial y Porcentaje de decoloración	50
CONCLUSIONES	55
RECOMENDACIONES.....	56
BIBLIOGRAFÍA.....	57
ANEXOS.....	72

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Valores medios (\pm error estándar) de los parámetros de color L*, a* y b* de hamburguesas de puerco por tratamiento durante su almacenamiento en refrigeración.	36
2	Valores medios (\pm error estándar) de los atributos sensoriales pérdida de olor y pérdida de sabor a fresco, de hamburguesas cocinadas (72°C) de cerdo por tratamiento durante su almacenamiento en crudo (4°C).	48

LISTA DE FIGURAS

Tabla		Página
1	Anatomía del <i>Agave</i> .	23
2	Comportamiento del pH de las hamburguesas de cerdo durante su almacenamiento en refrigeración.	34
3	Oxidación lipídica (mg de malonaldehído/kg de carne) en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración.	39
4	Porcentajes de formación de metamioglobina en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración.	41
5	Cuentas mesofílicas (Log10 UFC/g) en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración.	44
6	Cuentas psicofílicas (Log10 UFC/g) en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración.	46
7	Calificaciones promedio de color superficial en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración. 1: rojo rosado, 2: rojo rosado pálido, 3: rosa pálido, 4: rosa pálido grisáceo, 5: café pálido grisáceo.	51
8	Calificaciones promedio de decoloración en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración. 1: nada, 2: 1-10%, 3: 11-20%, 4: 21-60%, 5: 61-100%.	52
9	Curva estándar de 1, 1, 3, 3-tetrametoxipropano.	72

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la adición de un extracto etanólico de *Agave angustifolia* Haw (AAH) sobre la calidad y vida de anaquel de hamburguesas de cerdo en refrigeración.

Objetivos Específicos

- 1) Evaluar el efecto de la adición del extracto de AAH sobre la calidad fisicoquímica y sensorial de las hamburguesas de cerdo.
- 2) Evaluar el efecto de la adición del extracto de AAH sobre la calidad microbiológica de las hamburguesas de cerdo.

RESUMEN

Como alternativa al uso de antioxidantes y antimicrobianos de origen sintético se promueve la utilización de sustancias de origen natural. Una opción es el uso de fitoquímicos presentes en subproductos agroindustriales. Ejemplo de esto, es el empleo de hojas de *Agave angustifolia* Haw (AAH), donde sus compuestos con actividad antioxidante y antimicrobiana pueden ser extraídos mediante solventes como el etanol y ser empleados en la industria de los alimentos. En este estudio se evaluó la adición del extracto AAH en hamburguesas de cerdo, las cuales fueron almacenadas a una temperatura de 4 °C con luz simuladora a la de un supermercado durante 10 días. Se evaluó la actividad antioxidante y antimicrobiana en las hamburguesas tratadas con el extracto de agave. Se analizaron parámetros fisicoquímicos tales como pH, color objetivo, TBARS y metamioglobina (MetMb), además, se realizaron determinaciones microbiológicas como cuenta total de mesófilos y psicrófilos aerobios. Se llevaron a cabo determinaciones sensoriales por parte de un panel entrenado donde se evaluó color superficial, porcentaje de decoloración, además de pérdida de olor y sabor a fresco. Se realizó un análisis de varianza con arreglo factorial de 5X4 donde el primer factor a analizar fue el tiempo de almacenamiento correspondiente a los días de evaluación 0, 3, 6, 8 y 10 y el segundo factor, los tratamientos experimentales (BHT, ácido gálico, AAH y tratamiento Control). Las hamburguesas de cerdo tratadas con el extracto AAH presentaron estabilidad en todos los parámetros de color objetivo analizados (L^* , a^* y b^*), el extracto ayudó a mantener estable el parámetro a^* a través del tiempo de almacenamiento, con un promedio de 10.08. Por otra parte, los valores de TBARS en las hamburguesas con extracto AAH fueron estables hasta el día 6 de almacenamiento lo que indicó efectividad antioxidante del extracto. En el caso del análisis de metamioglobina, el extracto AAH mantuvo valores indicativos de baja oxidación a lo largo del periodo de almacenamiento, aún por debajo de los observados con los tratamientos BHT y ácido gálico (AG). Así mismo, el extracto AAH mostró mayor capacidad antimicrobiana en bacterias psicrófilas hasta el día 6 de almacenamiento en comparación de los demás tratamientos. Sin embargo, después de este día todos los tratamientos tuvieron cuentas superiores a los 6 LOG de UFC., por otra parte, las hamburguesas tratadas con el extracto AAH mostraron características sensoriales favorables, donde la pérdida de olor a fresco generó cambios significativos hasta el día 10 de almacenamiento, siendo catalogada por el panel como una carne con poca pérdida de olor a fresco. Así mismo, en el análisis de color superficial se muestra como las hamburguesas tratadas con el extracto AAH obtuvo valores medios (2.0-3.5)

lo que indica que los panelistas percibieron un color entre rojo rosado pálido y rosa pálido, estrechamente relacionado con el porcentaje de decoloración obtenido (1-20%) a partir del sexto día de almacenamiento en refrigeración hasta el último día de análisis (día 10). Este estudio reveló que el extracto etanólico proveniente de hojas de *Agave angustifolia* Haw tiene el potencial para ser usado como aditivo antioxidante y/o antimicrobiano de origen natural en alimentos bajo condiciones de refrigeración (4°C).

INTRODUCCIÓN

Algunos años atrás, la carne de cerdo era poco consumida debido a que se desconfiaba de su valor nutrimental y estaba estrechamente relacionada con enfermedades y parásitos. Sin embargo, en la actualidad el avance de la tecnología en el sector porcícola ha desarrollado técnicas eficientes para que la carne de cerdo sea un alimento libre de riesgos a enfermedades y con una calidad nutricional mejorada (Meinert *et al.*, 2008).

La estructura de participación estatal en la producción de carne de cerdo en nuestro país ubica a Jalisco y Sonora como los principales actores en la producción nacional. Durante el 2011, la producción en Sonora fue de 223.1 mil toneladas, ubicándose así en el segundo lugar a nivel nacional, lo que equivale al 18.9% del total nacional con un incremento anual de 4.6% (Pérez, 2012).

El incremento en la producción y consumo de carne de cerdo a nivel nacional, demuestra el interés por parte del consumidor en adquirir carne de cerdo y sus derivados. Así mismo, la exigencia del consumidor por productos de calidad también ha incrementado, por lo cual existe la necesidad de mantener parámetros de calidad aceptables (Cortés *et al.*, 2011).

Los principales parámetros de calidad que determinan la aceptación de los productos cárnicos por parte de los consumidores son su terneza, jugosidad, sabor y color (Grunert *et al.*, 2004). Sin embargo, éstas características pueden verse afectadas por diferentes factores *antemortem* y *postmortem*, así mismo, los atributos organolépticos son de gran importancia para el consumidor cuando se habla de carne fresca. El consumidor asocia, como atributos de calidad de la carne los ya mencionados anteriormente. Mientras que la industria cárnica centra más la atención en factores fisicoquímicos como lo son el pH, la capacidad de retención de agua (CRA), textura, estabilidad oxidativa y presencia de olores y sabores anómalos, por mencionar algunos (Lee *et al.*, 2012).

Para preservar estos parámetros de calidad la industria cárnica ha implementado tradicionalmente además de la refrigeración, el uso de compuestos antioxidantes. Los compuestos antioxidantes pueden ser de origen sintético o natural. Los sintéticos como el butilhidroxianisol (BHA), terbutil hidroxiquinona (TBHQ) y butilhidroxitolueno (BHT) y propilgalato

(PG) han sido ampliamente utilizados en carnes y productos cárnicos (Formanek *et al.*, 2001). Sin embargo, la demanda por antioxidantes naturales, especialmente los provenientes de plantas, se ha incrementado en los años recientes debido al creciente rechazo entre los consumidores por los compuestos sintéticos por su posible y potencial efecto tóxico y daños a la salud (Juntachote *et al.*, 2006; Naveena *et al.*, 2008).

Las plantas son una fuente generosa de sustancias bioactivas. Los compuestos bioactivos obtenidos en forma de extractos de los diferentes componentes de las plantas (tallos, hojas, semillas y frutos) han sido evaluados como agentes antioxidantes y antimicrobianos para preservar y mejorar la calidad de los productos cárnicos, y han mostrado efectos positivos en la inhibición de la oxidación lipídica y el deterioro microbiano cuando han sido probados *in vitro* y en diversos sistemas cárnicos (Negi, 2002; Shah *et al.*, 2014).

El *Agave angustifolia* Haw, es utilizado para la producción de una bebida alcohólica destilada conocida como mezcal Bacanora. Para la elaboración de esta bebida, únicamente se utiliza la piña o “cabeza” del agave dejando de lado las hojas de la planta, las cuales quedan como residuo o subproducto (Gutierrez-Coronado *et al.*, 2007). En el estado de Sonora se tiene accesibilidad a esta planta, ya que se puede encontrar fácilmente en los agostaderos de la Sierra de Sonora, siendo un total de 35 municipios de la Sierra situados en la región de la Denominación de Origen del Bacanora (SAGARPA, n/e).

En estudios previos (Ahumada-Santos, 2013) han reportado que las hojas del *Agave angustifolia* Haw poseen compuestos bioactivos, y también se ha demostrado que estos extractos son capaces de retardar la oxidación lipídica y proteica en carne molida de res (Pollorena, 2012), por lo cual pudieran ser utilizados con dicho fin en otras matrices cárnicas. Por lo anterior, la presente investigación evaluó el potencial antioxidante y antimicrobiano de un extracto proveniente de las hojas del AAH al ser adicionado en carne molida de cerdo.

ANTECEDENTES

Composición y Valor Nutricional de la Carne de Cerdo

La carne roja de mayor consumo mundial es la carne de cerdo, cuya demanda en las últimas décadas ha experimentado un fuerte incremento. Ello se ha debido a los cambios en los patrones de consumo derivados del aumento de ingresos en los países en desarrollo con economías de rápido crecimiento (FAO, 2011). Siendo los principales productores de carne de cerdo China y la Unión Europea, con 49.5 y 22.8 millones de toneladas respectivamente (Pérez, 2012).

Existen diversos compuestos que constituyen el músculo, dentro de los que se incluyen: ácidos grasos libres, glicerol, triglicéridos, fosfolípidos, compuestos nitrogenados no proteicos, grupos amino y vitaminas. También existen otros componentes como glucógeno, ATP, mioglobina y algunos minerales presentes en pequeñas cantidades. Sin embargo, el componente más importante desde el punto de vista cuantitativo son las proteínas que constituyen cada fibra. Éstas, se encuentran clasificadas en cuatro diferentes grupos. Las proteínas miofibrilares representan el 60% del contenido proteico total, las proteínas sarcoplásmicas representan el 29%, las proteínas estromales el 6% y las proteínas granulares el 5% (Hui *et al.*, 2006).

Ahora, en un enfoque más sencillo, la composición proximal de la carne consta aproximadamente de 1% de cenizas (compuesta principalmente por elementos como potasio, fósforo, sodio, cloro, magnesio, calcio y hierro), 1% de carbohidratos (principalmente glucógeno ante-mortem y ácido láctico post-mortem), 5% de lípidos, 21% compuestos nitrogenados (en su mayoría proteínas), y el resto (72%) es agua (Hui *et al.*, 2001).

De los componentes químicos antes mencionados, el contenido de grasa es el que presenta mayor variación en cuanto a composición, dicha variación se debe principalmente a factores como: edad, sexo, raza, dieta y el tipo de corte (Warriss, 2010). De la composición lipídica de la carne, menos del 50% corresponde a ácidos grasos saturados y hasta un 70% de ácidos grasos insaturados en algunas especies. En carne de res, el contenido de ácidos grasos insaturados varía entre 50-52% (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001).

Los ácidos grasos saturados predominantes en carne de cerdo son: ácido mirístico (14:0), palmítico (16:0) y esteárico (18:0); mientras que dentro de los principales ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) se encuentran el linoleico y α -linoleico y el ácido graso monoinsaturado (MUFA) más predominante es el ácido oleico (18:1n-9) (Knipe, 2000). La presencia de PUFAs y MUFAs en la dieta es considerada benéfica para la salud. Por ejemplo, los isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado (CLA, por sus siglas en inglés) han sido los más estudiados debido a sus efectos biológicos. Sin embargo, en el caso de los cerdos el CLA no se encuentra de forma natural en la carne como en el caso de los rumiantes, por lo que éste debe ser incorporado como aditivo desde la alimentación del animal.

En sí, podemos asegurar que la carne de cerdo es un alimento con un alto valor nutricional, sin embargo, su contenido de ácidos grasos insaturados la hace propensa a la oxidación y desarrollo de sabores y olores anómalos. No obstante, son precisamente los lípidos de la carne de cerdo presentes en el tejido muscular, en proporción no mayor de 3 a 5%, quienes proporcionan características de jugosidad, ternura y buen sabor, además de ser indispensables en la elaboración de productos cárnicos ya que aportan palatabilidad y textura, siendo las características anteriormente mencionadas, claves indispensables en la calidad de ésta carne (Gimferrer, 2012).

Calidad de la Carne de Cerdo

Por lo que se refiere a calidad de la carne de cerdo esta es brindada por diversos factores, entre los más destacados se encuentra la ternura, jugosidad, sabor, color y olor (Grunert *et al.*, 2004); sin embargo, calidad es un concepto con muchos aspectos y su definición depende de la interpretación de cada persona que utilice este término. Por lo cual no deja de ser una definición un tanto compleja y dinámica (Papanagiotou *et al.*, 2012), a su vez se cree que las preferencias y decisiones del consumidor dependen de la interacción entre las expectativas de éste y el objetivo que se tiene sobre la calidad del producto en cuestión (Meinert *et al.*, 2008).

Para la carne fresca, atributos como el color, la cantidad de grasa, la ternura, jugosidad y sabor son vitales para la decisión y fidelización de la compra. Por otra parte, en la carne procesada la atención se centra en factores como el pH, la capacidad de retención de agua,

estabilidad oxidativa y ausencia de sabores anómalos (Coma *et al.*, 1999) ahora bien, para conservar dichos atributos tanto en carne fresca como en carne procesada, el control de la calidad es vital.

Este cuidado se enfoca principalmente en dos aspectos: inhibir el crecimiento de la flora patógena y de descomposición (Guerrero *et al.*, 1995) y en evitar efectos negativos sobre características de calidad como el color, la textura y el sabor (Ogden *et al.*, 1995; Minor-Pérez *et al.*, 2002). Sin embargo, en el caso particular de la carne de cerdo dichas características se ven afectadas de manera usual, debido a que es considerado un alimento altamente perecedero por sus componentes, como su contenido de agua, su contenido de ácidos grasos insaturados, entre otros, lo cual hace a la carne de cerdo más susceptible a procesos oxidativos y con tendencia a la contaminación microbiana (Guerrero, 1993; Lee *et al.*, 2012). Por lo cual, se tienen que mantener estándares para prevenir la pérdida de calidad de este tipo de carne y sus derivados y marcar como puntos críticos los factores que la afectan.

Factores de Calidad de la Carne Fresca

La industria cárnica se ha encargado de satisfacer las demandas de calidad que el cliente desea encontrar en la carne y sus productos. Esto lo ha hecho desarrollando métodos y técnicas que permiten un mejor manejo y conservación de la misma. Estos métodos incluyen la refrigeración y congelación, los cuales se han implementado desde hace varios años, dando así un valor agregado a la carne y ha permitido conservar en mejores condiciones las características de calidad como el color, sabor, textura, etc. Mantener estos atributos de calidad en las mejores condiciones no sólo asegura la satisfacción del consumidor, sino que además permite que la carne no sea afectada para su uso tecnológico, pues estos parámetros de calidad influyen sobre la microestructura del músculo afectando también la integridad de la carne (Banović *et al.*, 2009).

Características Fisicoquímicas

Dentro de las características de calidad más importantes en carne fresca se encuentran, la oxidación lipídica y cambios en el color (Faustman *et al.*, 2010). En las primeras etapas de conversión del músculo en carne el pH es muy importante, pues este puede afectar el color. Además el color también es importante pues es la primera impresión que el consumidor obtiene del alimento. Tanto el color como los lípidos de la carne pueden verse afectados por reacciones de oxidación que llevan al desarrollo de colores y olores desagradables, así como la formación de compuestos que afectan negativamente la calidad de la carne y sus productos (Warriss, 2010).

Color de la carne. El color de la carne depende de la cantidad y estado químico de los pigmentos hemoglobina y mioglobina; en porcinos, el color normal de la carne es rojo rosado brillante, y en algunos músculos adquiere tonalidades claras (Lawrie *et al.*, 1998).

La mioglobina es una proteína con un grupo hemo, que puede verse afectada por los procesos de oxidación, afectando finalmente el color de la carne. La oxidación del átomo central de hierro (Fe^{2+} - Fe^{3+}) en el grupo hemo de la mioglobina es la responsable de los cambios en la coloración de la carne. Cuando el animal se encuentra vivo la carne presenta color púrpura, el cual se debe principalmente al pigmento llamado mioglobina. Ésta, a través de un proceso de oxigenación pasa al estado oximioglobina, impartiendo el color rojo cereza característico en carnes frescas. La oximioglobina (Fe^{2+}) mediante un proceso de oxidación cambia a metamioglobina (Fe^{3+}), produciéndose un color marrón el cual es rechazado por parte de los consumidores (Faustman *et al.*, 2010).

Existen otros factores que también afectan el color de la carne, entre los que se encuentra la estructura de la superficie y la propagación de grasa intramuscular. Tanto la grasa intra como extra-muscular, son susceptibles a las reacciones de oxidación y deterioro produciendo compuestos que afectan la calidad de la carne (Judge *et al.*, 1989).

Oxidación lipídica de la carne. Los lípidos son constituyentes de muchos alimentos, entre ellos la carne. Estos, son un grupo de biomoléculas orgánicas formadas básicamente por carbono, hidrógeno y oxígeno, además pueden contener fósforo, nitrógeno y azufre. Todos los lípidos están formados por ácidos grasos saturados e insaturados y la composición de los

mismos determina sus propiedades físicas, estabilidad y valor nutricional. Los ácidos grasos son susceptibles a degradarse por medio de un proceso de oxidación autocatalítico, y esta susceptibilidad está en función del grado de insaturación (Xiong y Decker, 1995).

La oxidación de los lípidos es una de las principales causas de pérdida de calidad de la carne durante su almacenamiento y procesado. La oxidación se asocia también a cambios en el color, pérdida de la calidad nutricional (vitaminas liposolubles como A y E, ácidos grasos esenciales linoleico y linolénico); pérdida de la calidad comercial, cambios organolépticos (olores y sabores a rancio, colores anormales) y pérdida de la seguridad alimentaria debido a la formación de compuestos tóxicos (Vivas, 2000).

El mecanismo de oxidación de los lípidos, se divide en tres etapas (iniciación, propagación y terminación). La fase de iniciación involucra la abstracción de una molécula de hidrógeno del ácido graso (LH) en presencia de ciertos catalizadores, con la consecuente formación de radicales libres ($L\cdot$). En la etapa de propagación, los radicales libres formados reaccionan con el oxígeno para formar un radical peróxido de lípido ($LOO\cdot$), el cual también puede reaccionar después con otra molécula lipídica para formar hidroperóxidos ($LOOH$). La terminación ocurre cuando los radicales hidroperóxidos que son compuestos altamente reactivos comienzan a reaccionar entre sí. Los productos finales de la oxidación lipídica son compuestos de cadena corta como aldehídos o ésteres (Nawar, 1996).

Características Microbiológicas

Los alimentos deteriorados son aquellos dañados por agentes microbianos, físicos o químicos de forma que son inaceptables para el consumo humano y esto sucede especialmente en alimentos como las carnes quienes son consideradas potencialmente deteriorables (Húngaro *et al.*, 2014). Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) no están limitadas a actuar en un solo grupo de edad o país y cada vez se convierten en un problema mayor en la economía de la mayoría de los países en las últimas décadas (Kopper *et al.*, 2009).

La carne de cerdo es un alimento altamente perecedero por su composición química y características biológicas (Guerrero, 1993) y cuando se trata de carne molida el riesgo de

contaminación microbiana es aún mayor ya que en este estado posee una superficie más amplia para ser atacada por microorganismos (Izarzugaza, n/e). La carne debido a su elevada actividad de agua (Aw) y valor nutritivo se clasifica dentro de los alimentos altamente susceptibles al ataque de microorganismos y de igual forma la mayoría de los productos elaborados con ella (Frazier y Westhoff, 2003). Aunque el músculo como tal, es prácticamente estéril (sólo antes del sacrificio), los diversos alimentos preparados a base de carne ofrecen las condiciones que los microorganismos necesitan para su desarrollo incluyendo, aquellos involucrados en daños y enfermedades alimentarias. La contaminación de los microorganismos a los alimentos se lleva a cabo por diferentes medios, dentro de los cuales se encuentra la manipulación humana principalmente (Arango y Restrepo, 2002).

La contaminación de la carne se debe a causas externas durante las operaciones de desangrado, desuello y durante la obtención de la canal, en estas operaciones, los microorganismos proceden principalmente del exterior del animal (piel, pezuñas y pelo) y del túbulo intestinal de éste (Hui *et al.*, 2006). Los cuchillos, los paños, el aire, así como las manos y la ropa de los operarios pueden actuar como fuentes intermedias de contaminación. Durante las operaciones posteriores de manipulación de la carne, la contaminación puede tener su origen en las carretillas, en las cajas y en otros recipientes que se utilizan para el transporte y procesado de la carne. El equipo especializado, como son las picadoras, las embutidoras, empaquetadoras y los ingredientes que se emplean para elaborar determinados productos cárnicos (por ejemplo las tripas y las especias), es posible que aporten importantes cantidades de microorganismos perjudiciales (Frazier y Westhoff, 2003).

La carne fresca como tal, posee tanto flora deteriorativa, y en algunas ocasiones bacterias patógenas. Así mismo, dentro de la flora bacteriana se encuentra una gran variedad de géneros tales como *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.*, *Listeria spp.*, *Staphylococcus spp.*, pero a su vez se encuentran bacterias Gram-negativas como *Escherichia spp.*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas spp.* (Douglas *et al.*, 2001). No obstante, la carne se almacena en condiciones de refrigeración lo que implica el crecimiento de bacterias únicamente tolerantes al frío como es el caso de *Pseudomonas spp.*, *Listeria spp.*, entre otras (Frazier y Westhoff., 2003). El crecimiento excesivo de estas bacterias causa mucosidad en la superficie de la carne, sabores indeseables y cambios en el color (Frazier y Westhoff, 2003).

Ante el alcance a todo este tipo de información y las especificaciones sanitarias brindadas en la NOM-034-SSA-1993 donde especifica el límite máximo para mesófilos aerobios (5 000 000 UFC/ g), *Salmonella spp* (ausente en 30 g de muestra) y *Staphylococcus aureus* (100 UFC/ g) además del conocimiento general sobre aditivos para la prevención de estas afectaciones en la carne y pérdidas en la economía cárnica, las personas están interesadas en el consumo de alimentos libres de patógenos con un bajo contenido de aditivos químicos y que a su vez tengan propiedades sensoriales aceptables. Es de gran importancia consumir alimentos inocuos y también conocer distintas opciones de conservación de alimentos (De la fuente *et al.*, 2010), como lo es el uso de extractos de plantas con propiedades bioactivas, aunado a su vez, al aprovechamiento de recursos regionales considerados previamente como desechos.

Características Sensoriales

La calidad sensorial de la carne está definida por las características que el consumidor percibe como deseables, estas incluyen tanto las características visuales y sensoriales como las de seguridad alimentaria. Importantes características sensoriales incluyen, el color externo, la cantidad, color y distribución de la grasa, así como la ausencia de exceso de agua en el empaque donde se presentan estos productos (Glitsch, 2000).

Olor y sabor. La apreciación del olor está dada por la mayor o menor existencia de productos o componentes químicos hidrosolubles o liposolubles presentes en el tejido adiposo y el tejido muscular, estos se presentan con mayor evidencia al cocinar las carnes, en cuyo caso además de la solubilidad en medio salino y calor, se observará la volatilización de ciertas sustancias como carbonilos, algunos nucleótidos y ciertos ácidos grasos (Villena, 2005).

El sabor es solamente perceptible en carnes cocinadas, y se manifiestan en este estado olores y sabores con mayor facilidad para su detección. Muchas veces se utiliza la expresión flavour, para referirse a la conjunción sensorial del olor y del sabor de un alimento (Glitsch, 2000). Tanto el olor como el sabor de la carne, son más pronunciados cuando provienen de animales machos viejos, de alimentación variada, así como también en carnes maduradas (Villena, 2005). El olor y el sabor son las sensaciones más difíciles de definir objetivamente y la

determinación de estas características depende principalmente de los paneles de catadores (Williams y Atkins, 1983).

Tecnologías de Conservación de Carnes Frescas

Existen varias tecnologías implementadas en la industria de la carne para mantener o mejorar sus características de calidad durante su comercialización. En éste apartado, sólo haremos énfasis en la refrigeración y el uso de compuestos antioxidantes y antimicrobianos por ser tema de estudio en la presente investigación.

Refrigeración

El almacenamiento en refrigeración se lleva a cabo a temperaturas no muy superiores a las de congelación. Se puede emplear como principal medio de conservación de alimentos o como procedimiento para su conservación temporal, mientras no se aplique otro tratamiento para su preservación. La mayoría de los alimentos más perecederos, entre los que se incluye la carne, se pueden mantener almacenados bajo refrigeración durante un tiempo limitado (alrededor de 15 días) sin que su naturaleza original experimente modificaciones importantes. Con ello, no se evitan las modificaciones de la carne debidas a enzimas y a microorganismos, pero si se retardan considerablemente (Frazier y Westhoff, 2003).

Los parámetros a tener en cuenta en relación con el almacenamiento bajo refrigeración son: temperatura, humedad relativa, tamaño del corte, velocidad de aire, etc. La temperatura empleada para refrigeración de las canales debe ser entre 0–4°C, la humedad relativa recomendada dentro de la cámara de refrigeración debe ser de 80-85 % para evitar una mayor pérdida de humedad. (Judge *et al.*, 1989). El tamaño del corte influye también en el proceso de refrigeración, ya que un tamaño de corte mayor tarda más en alcanzar en su centro geométrico la temperatura de refrigeración. En cuanto a la velocidad del aire, esta se recomienda que sea de 2-3 m/s (Hui *et al.*, 2006).

Los métodos empleados tradicionalmente para conservar las carnes frescas como refrigeración, congelación, etc., parece ser que no satisfacen la demanda de carne por parte de los consumidores (Warriss, 2010). Por lo tanto se han empleado métodos que combinados con los tradicionales prolongan la vida de anaquel de este tipo de productos (McCarthy *et al.*, 2001). Dentro de los métodos que han surgido se encuentra la aplicación de antioxidantes, los cuales han demostrado aumentar la vida de anaquel de las carnes frescas (Kong *et al.*, 2010).

Uso de Antioxidantes y Antimicrobianos en la Industria Cárnica

Antioxidantes. Los antioxidantes tanto sintéticos como naturales han sido empleados como conservadores de los alimentos desde hace tiempo. Sin embargo, recientemente se ha buscado incrementar el uso de antioxidantes de origen natural, debido a que son más seguros y saludables que los sintéticos (Hui *et al.*, 2006). Los antioxidantes son sustancias que en pequeñas cantidades son capaces de prevenir o retardar la oxidación de materiales oxidables como las grasas, aceites, alimentos crudos o procesados (Vivas, 2000). Éstos, son considerados como aditivos alimentarios, por ser añadidos intencionalmente a los alimentos sin el propósito de cambiar su valor nutritivo ni modificar sus características para la elaboración de productos. Los antioxidantes no pueden añadirse a los alimentos a menos que se haya demostrado que no produzcan manifestaciones agudas o crónicas de efectos tóxicos (Climent, 2000). El uso de sustancias antioxidantes como aditivos alimenticios está regulado por instancias gubernamentales, en el caso de Estados Unidos, por la FDA.

Antioxidantes sintéticos. Algunos de los antioxidantes sintéticos empleados en carne y sus productos son los compuestos fenólicos como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terbutil hidroxiquinona (TBHQ) y ésteres de ácido gálico, como propil galato (PG). Estos antioxidantes han sido utilizados ampliamente en la industria alimentaria. Los límites de aplicación permitidos son del 0.02%, con respecto al contenido de grasa en el alimento (Pokorny *et al.*, 2001). Sin embargo, se ha restringido el empleo de ciertos antioxidantes sintéticos debido a que existen estudios que relacionan estos compuestos con posibles riesgos en la salud, principalmente efectos cancerígenos (McCarthy *et al.*, 2001).

Antioxidantes naturales. Los antioxidantes naturales son obtenidos a partir de varias fuentes vegetales. La mayoría de los compuestos activos presentes en estas fuentes son compuestos fenólicos. Dentro de este grupo se encuentran el tocoferol, flavonoides, diversos ácidos fenólicos y saponinas (Pokorny *et al.*, 2001).

Compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos o polifenoles son especies orgánicas que poseen en su estructura al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos unidos a él. Sin embargo, esos grupos funcionales pueden estar sustituidos por ésteres, glucósidos, etc., (Escarpa y González, 2001). Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos más grandes de los metabolitos de las plantas. Una gran cantidad de moléculas que presentan estructura polifenólica han sido identificadas en plantas superiores y cientos de ellas se encuentran en plantas comestibles (Manach *et al.*, 2004). Los polifenoles son constituyentes regulares de la alimentación humana. Las fuentes más ricas son las frutas, bebidas como el té (negro y verde), café, vino y los jugos de frutas, y en menor grado hortalizas, cereales y leguminosas (Scalbert *et al.*, 2002).

Estas moléculas son metabolitos secundarios de las plantas y se biosintetizan a través de la ruta del ácido shikímico (Vermerris y Nicholson, 2006). Hay una gran variabilidad en su estructura y presencia en las plantas. Los polifenoles son muy diferentes en tamaño y este grupo incluye tanto a los polifenoles simples como los ácidos hidroxibenzoicos, así como a los polímeros más complejos como lo son los taninos de alto peso molecular (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

Ácidos fenólicos. El nombre de ácidos fenólicos, en general describe a los fenoles que poseen un ácido carboxílico funcional. Los ácidos fenólicos contienen dos esqueletos de carbono que los distinguen en: ácidos hidroxicinámicos y ácidos hidroxibenzoicos. Aunque el esqueleto básico es el mismo, el número y posiciones de los grupos hidroxilos en el anillo aromático hacen la diferencia (Robbins, 2003).

Los ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos son abundantes en los alimentos y pueden representar cerca de la tercera parte de los compuestos fenólicos en nuestra dieta (Tomás-Barberán y Gil, 2008). Estos compuestos pueden encontrarse como ésteres o en forma libre, los cuales, pueden estar solubles y acumulados en las vacuolas o bien insolubles como

componentes de la pared celular (Yang *et al.*, 2001). Los ácidos hidroxicinámicos constituyen el grupo más ampliamente distribuido de compuestos fenólicos. Dentro de ellos hay cuatro estructuras básicas que existen en su forma natural las cuales corresponden a los ácidos cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico (Escarpa y González, 2001). Dentro de los ácidos hidroxibenzoicos se encuentran el ácido gálico, protocatéquico, siríngico y varílico. La distribución de estos ácidos en las plantas comestibles es generalmente muy bajo, con la excepción de algunas frutas rojas como rábano y cebolla, que pueden tener concentraciones de varias decenas de miligramos por kilogramo de peso fresco (Manach *et al.*, 2004).

Flavonoides. Los flavonoides son polifenoles que tienen el esqueleto del difenilpropano (C6-C3-C6). Las diferencias individuales dentro de cada grupo resultan desde la variación en número y arreglo de los grupos hidroxilos, así como de la naturaleza y extensión de alquilación y/o glicosilación. Dentro de los flavonoides se encuentran, las antocianinas, flavonoles, etc., (Karakaya, 2004).

Las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, están constituidos por una molécula de antocianidina que es la aglicona a la que se une un azúcar por medio de un enlace glucosídico (Vermerris y Nicholson, 2006). Estos compuestos están disueltos en las vacuolas de los tejidos epidérmicos de flores y frutos, los cuales imparten los colores rosa, rojo, azul o púrpura. En la dieta humana, las antocianinas se encuentran en el vino tinto, algunos cereales y en algunas hortalizas de hoja y raíces, pero son más abundantes en las frutas (Tomás-Barberán y Gil., 2008). Las antocianinas se encuentran principalmente en la cáscara, excepto en algunos frutos como la cereza y la fresa localizadas principalmente en la pulpa (Manach *et al.*, 2004).

Los flavonoles son una clase de flavonoides que presentan la estructura 3-hidroxi-flavona. Su diversidad radica en las diferentes posiciones que acomodan los grupos -OH fenólicos. Los principales flavonoles son las catequinas, las cuales son abundantes en el té y el chocolate. En la uva y el chocolate, las catequinas son mayoritariamente catequina y epicatequina. Las proantocianidinas son flavonoles poliméricos (de 4 a 11 unidades), que están presentes en materiales vegetales tales como las semillas de la uva (Yang *et al.*, 2001). La quercetina es el principal flavonol en la dieta humana, se encuentra presente en muchas frutas, hortalizas y bebidas (Tomás-Barberán y Gil., 2008). Es particularmente abundante en cebolla (0.3 mg/g peso fresco) y en el té (10-25 mg/L). La quercetina usualmente se encuentra como 0-

glicósidos, siendo la D-glucosa el residuo de azúcar más frecuente en su estructura. Más de 170 diferentes glicósidos de quercetina han sido identificados (Yang *et al.*, 2001).

Saponinas. Las saponinas son glucósidos, compuestos químicos cuyas estructuras están constituidas por un núcleo soluble en grasa (aglicona), que puede ser ya sea un esteroide triterpenoide (C-30) o neutral o alcanóide (C-27) unida a una o más cadenas laterales de azúcares solubles en agua (glicona) a través de enlaces éster al núcleo aglicona en diferentes sitios de carbono. Las saponinas triterpenoides predominan en la soya, alfalfa y quillaja, mientras que las saponinas esteroides predominan en la yuca, tomate y avena (Kaneda *et al.*, 1987). Entre los diversos efectos biológicos que presentan las saponinas se encuentran la actividad hemolítica y la actividad antibacteriana. Algunas saponinas son benéficas, mientras que otras son consideradas peligrosas para los animales. Los efectos biológicos de las saponinas se ven afectados por factores como el tipo de núcleo de la saponina, el número de cadenas laterales del azúcar y el tipo de grupos funcionales (Hassan *et al.*, 2010).

Mecanismo Antioxidante

La mayoría de los antioxidantes, ya sean sintéticos o de origen natural, que actualmente se emplean en alimentos, tienen en su estructura grupos fenólicos o hidroxilo. Estos grupos son los responsables de la capacidad antioxidante, atrapando metales o mediante la donación de electrones para la estabilización de radicales libres (Decker *et al.*, 2000). Los antioxidantes pueden intervenir en diferentes etapas del proceso de oxidación, dependiendo de su modo de acción. Son considerados antioxidantes primarios aquellos capaces de donar un átomo de hidrógeno a un radical libre, convirtiéndolo en un producto estable. Además, este tipo de antioxidantes pueden reaccionar con radicales peróxidos o alcoxi para detener la reacción en cadena y la descomposición de hidroperóxidos (Yanishlieva, 2001). Los radicales formados por el antioxidante durante las etapas anteriores pueden reaccionar con otros radicales, para formar compuestos no radicales. Alternativamente, radicales provenientes del antioxidante se pueden estabilizar mediante resonancia (Yanishlieva, 2001).

Antimicrobianos

Antimicrobianos sintéticos. En la industria cárnica se han desarrollado una gran variedad de estrategias para reducir el deterioro bacteriano dentro de ellas se encuentran: manejo adecuado de la canal; lavado con agua a diferentes temperaturas y presiones; remoción de los microorganismos recortando la superficie contaminada; etc., sin embargo también existen algunos métodos químicos, como la desinfección con cloro, ácidos orgánicos y también los nitritos aplicados a diferentes productos ha demostrado reducir el crecimiento microbiano (Hui *et al.*, 2001).

Descontaminación con cloro y ácidos orgánicos. La incorporación de cloro en el agua de lavado de la canal ha demostrado reducir el crecimiento microbiano. Los niveles de cloro utilizados se encuentran en el rango de 20-40 ppm y su efectividad también depende de la temperatura y pH del agua. Se ha reportado que la adición de cloro a 100 ppm presenta reducción significativa de 2 log UFC/cm² (Warriss, 2010). Algunos ácidos orgánicos como el ácido acético han sido utilizados a diferentes concentraciones (1%, 2%, 4% y 5%) para evitar el crecimiento bacteriano. En un estudio donde se aplicó 1% de este ácido en la superficie de canales de res, se observó una reducción de *E. coli* desde 5 a 2.2 log UFC/cm² y *Salmonella wentworth* hasta 1.5 log UFC/cm² (Hui *et al.*, 2001). También se ha reportado la combinación de ácido acético con ácido láctico e incluso con ácido propiónico. En general, los lavados con ácidos pueden reducir la población bacteriana hasta 2 log UFC/cm² utilizándolos en apropiadas combinaciones (Fung *et al.*, 2001).

Uso de nitratos y nitritos. La adición de nitritos en la carne es la responsable del desarrollo del tradicional color y sabor curado. Sin embargo estos, presentan otro beneficio mayor, como retardar el crecimiento de *Clostridium botulinum* y de la producción de su toxina. Se han propuesto diferentes mecanismos por medio de los cuales los nitritos inhiben el crecimiento de *C. botulinum* dentro de ellos se encuentran, a) Formación de sustancias inhibitorias entre los nitritos y componentes de la carne, b) Los nitritos o sus compuestos intermediarios pueden actuar como oxidantes o reductores de enzimas intracelulares o ácidos nucleicos, c) Reacción de los nitritos con la membrana celular limitando el intercambio metabólico o transporte de sustancias (Sofos *et al.*, 1979).

Antimicrobianos naturales. Debido a la preocupación de los consumidores acerca del uso de antibióticos, pesticidas, hormonas y aditivos químicos que están asociados con el procesamiento convencional de los alimentos, los alimentos orgánicos y naturales han tenido un crecimiento explosivo (Devcich *et al.*, 2007). Un gran número de estudios han demostrado que los extractos naturales de plantas y frutas como romero, té, clavo, albahaca, orégano, extracto de semilla de uva, corteza de pino, arándano, entre muchos otros, tienen efecto antimicrobiano sobre patógenos alimentarios (Xi *et al.*, 2011). Por ejemplo Shan *et al.* (2009) reportaron que los extractos de semillas de uva disminuyeron la carga microbiana final e inhibieron la oxidación lipídica de carne de puerco durante su almacenamiento por más de 9 días.

En otro estudio realizado por Over *et al.* (2009) se reportó que el té verde aplicado a 3000, 6000 y 9000 ppm y combinado con ácidos orgánicos presenta un efecto significativo *in vitro* sobre el crecimiento de patógenos alimentarios. También se ha reportado que la aplicación de concentrado de arándano (10% peso/peso) en carne de res molida reduce el crecimiento de *L. monocytogenes* de 8.0-5.5 log UFC/g a 21 °C después de 7 días (Qiu y Wu, 2007). La mezcla de varios ingredientes disponibles comercialmente, incluida la mezcla de limón/cereza/vinagre aplicada al 1.5% en jamón y carne de pavo, inhiben el crecimiento de *L. monocytogenes* (Glass y Sindelar., 2010).

Mecanismo Antimicrobiano

Plantas, hierbas y especias, así como sus aceites esenciales, contienen un gran número de sustancias con propiedades que inhiben la actividad metabólica de bacterias, mohos y levaduras (Cowan, 1999). Los compuestos antimicrobianos de las plantas se encuentran generalmente en el aceite esencial obtenido a partir de sus hojas, flores, bulbos, rizomas y frutos. Estos compuestos pueden ser letales para las células microbianas o simplemente servir como inhibidores de la producción de metabolitos (Doores, 1993).

Los posibles mecanismos de acción de los ácidos orgánicos sobre los microorganismos incluyen: reducción directa del pH del sustrato o medio de crecimiento debido a un aumento en la concentración de protones, el descenso en el pH interno de la célula por ionización de la molécula de ácido no disociada o por la interrupción de transporte de sustrato, debido a una

alteración en la permeabilidad de la membrana celular (Raybaudi-Massilia *et al.*, 2009). Además de inhibir el transporte de sustratos, los ácidos orgánicos también pueden inhibir la oxidación de NADH, eliminando así el suministro de agentes reductores de los sistemas de transporte de electrones (Davidson, 2001). Dado que la parte no disociada de la molécula del ácido es la responsable de la actividad antimicrobiana, la eficacia a un pH dado depende en gran parte de la constante de disociación (pKa) del ácido (Beuchat, 2000).

Alternativas Naturales para la Conservación de Productos Cárnicos

En años recientes se han descubierto diversas fuentes naturales que representan alternativas para evitar el deterioro oxidativo y microbiano de diversos productos cárnicos, dentro de dichas alternativas se encuentran los antioxidantes y antimicrobianos provenientes de numerosas fuentes como los extractos de especias, hierbas, frutas y verduras, etc. (Kong *et al.*, 2010).

Extractos de Fuentes Naturales

Se ha reportado que muchos extractos de plantas ricos en compuestos fenólicos, han demostrado tener efectos positivos en la inhibición de la oxidación lipídica y deterioro microbiano de diversos sistemas cárnicos, por ejemplo, extractos de romero (Lund *et al.*, 2007), hojas de olivo (Hayes *et al.*, 2009), y recientemente extractos de frutas como jugos de granada (Vaithiyathan *et al.*, 2011), extractos de uva blanca (Jongberg *et al.*, 2011), etc. Sin embargo, se buscan nuevas fuentes más económicas como los subproductos agroindustriales con el fin de tener un completo aprovechamiento de la materia prima.

Cáscara de mango. La cáscara de mango es un subproducto importante obtenido durante la transformación de los productos de mango tales como pulpa y polvo de mango. En un estudio realizado por Ajila *et al.* (2007), se determinó el contenido de compuestos fenólicos y

la capacidad antioxidante de extractos de cáscara de mango, utilizando acetona como solvente. Para esto, se determinó el contenido de fenoles totales, antocianinas y carotenoides. Los resultados mostraron que las cáscaras provenientes de mangos más maduros tenían mayor contenido de antocianinas y carotenoides, mientras que en las provenientes de mangos menos maduros, presentaron un alto contenido de fenoles. Por otro lado, la capacidad antioxidante evaluada mediante el establecimiento de IC_{50} varió entre 1.39-5.24 μ g EAG.

En otro estudio realizado por Vega-Vega (2011), se evaluó la capacidad antioxidante de cáscara, semilla y pulpa de mangos de diferentes variedades. En la cáscara se encontraron valores de fenoles totales que variaron desde 29.4-424.5 mg EAG/g PS y para flavonoides desde 21.93-235.63 mg EQ/g PS en los diferentes extractos y variedades analizadas. Concluyendo que los subproductos de mango son fuentes importantes de compuestos funcionales.

Residuos de la industria del vino. Los residuos de la industria del vino representan aproximadamente el 30% del volumen de uva total utilizado en la producción. Estos subproductos, como las semillas y las cáscaras, son ricos en compuestos fenólicos los cuales son responsables de su alta capacidad antioxidante. Los flavonoles son los compuestos fenólicos más abundantes en la cáscara, mientras que los flavan-3-ol en la semilla (Cheynier *et al.*, 2000).

Se probó el efecto de extractos de semilla y cáscara de uva sobre la oxidación lipídica, color, pH y características sensoriales de carne de pollo cruda y cocinada, almacenada a -18 °C. Los resultados de esta investigación mostraron que estos extractos son efectivos para inhibir la oxidación lipídica de la carne siendo estos comparables con antioxidantes sintéticos como el BHT. A su vez, los extractos causaron mejoras en el color de la misma, reflejadas en el análisis instrumental y sensorial de las muestras cocinadas. Por último, en las evaluaciones sensoriales de olor y sabor, se obtuvieron buenos resultados comparables también con los antioxidantes sintéticos. Se concluyó que los subproductos del procesado de uvas son efectivos para retardar la oxidación lipídica de carne de pollo (Selani *et al.*, 2011).

Subproductos del procesado de aguacate. El procesado de aguacates, genera una importante cantidad de subproductos tales como las cáscaras y las semillas. Estos, son ricos en compuestos bioactivos con capacidad antioxidante y antimicrobiana. Rodríguez-Carpena *et al.* (2011) realizaron un estudio donde aplicaron extractos de subproductos de dos variedades de aguacate (“Hass” y “Fuerte”) para inhibir la oxidación de lípidos, proteínas y estabilización del color de hamburguesas de puerco almacenadas en refrigeración. Los resultados encontrados mostraron que los extractos de subproductos de aguacate redujeron la pérdida del color rojo y aumentaron la luminosidad de las hamburguesas, siendo más efectivos los obtenidos de la variedad “Fuerte”. Por otro lado, las hamburguesas tratadas con los extractos, presentaron menor formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y los extractos de la variedad “Hass” inhibieron la formación de carbonilos proteicos al día 15.

El Género Agave

En México los Agaves son importantes por el uso que se les ha dado desde la antigüedad. En la actualidad, este recurso recobra vigencia desde el punto de vista socioeconómico y agroecológico por los beneficios que brinda tanto a habitantes del sector rural como al medio ambiente donde se desarrolla, así como también por los múltiples usos de que es objeto (García-Herrera, 2010).

Las plantas de Agave tienen hojas largas y fibrosas, de forma lanceolada y por lo general crecen en zonas áridas. El género comprende más de 200 especies, de las cuales, el 75% se encuentra en México, considerado como el centro de origen (García-Mendoza, 2002).

Los Agaves se han utilizado desde hace mucho tiempo como plantas medicinales y en la elaboración de artesanías. Actualmente, su principal uso es en la producción de bebidas alcohólicas destiladas como el tequila, sotol, mezcal y bacanora. El bacanora, es un destilado hecho 100% de Agave silvestre, fermentado y destilado (Gutiérrez-Coronado *et al.*, 2007). Según Salazar y Mungaray (2009), se estima una producción anual de 240 mil litros de esta bebida, así como también reportan que este Agave se recolecta en 34 municipios del estado de

Sonora. Esta bebida se elabora a partir de la cabeza (también llamada piña) del *A. angustifolia* Haw y el resto de la planta (hojas) se consideran subproductos.

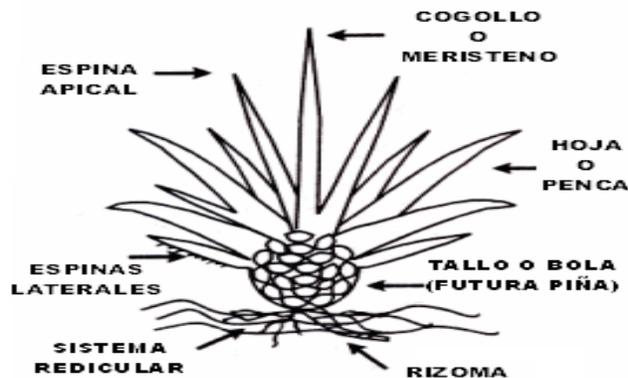


Figura 1. Anatomía del Agave.

Subproductos del Agave

La industria procesadora de bebidas alcohólicas procedentes de *Agaves* demanda una gran cantidad de estos anualmente, y debido a que las hojas representan hasta el 50 % de la planta y no son utilizadas para la producción de las bebidas, se genera un volumen similar de hojas que conforman los residuos agrícolas, los cuales no son aprovechados (Iñiguez *et al.*, 2001). En los últimos años, la sobreproducción de las bebidas mencionadas produce pérdidas de más de 100,000 toneladas de residuos anuales (Narváez y Sánchez, 2009).

Las hojas retiradas y catalogadas como subproductos, podrían ser utilizadas para obtener un beneficio adicional (Paredes *et al.*, 2009; Escamilla, 2012). En este sentido, es necesario realizar investigaciones sobre el uso de los residuos producidos durante la cosecha y la industrialización de la planta de *Agave*, ya que estos representan un grave problema ambiental (Paredes *et al.*, 2009). De esta manera estos subproductos representan una fuente potencial y económica para la obtención de constituyentes químicos con diversas actividades biológicas (Chen *et al.*, 2009; Kaneria *et al.*, 2009; Ahumada *et al.*, 2013).

Los subproductos del agave, al igual que los alimentos de origen vegetal, poseen una gran cantidad de compuestos fitoquímicos. Estos compuestos no son nutrimentos esenciales para la vida de la planta ya que son producidos como metabolitos secundarios (compuestos orgánicos sintetizados por la plantas), sin embargo, al ser moléculas biológicamente activas, pueden tener efectos positivos al momento de su consumo. Dentro de estos compuestos fitoquímicos presentes en el *Agave* se encuentran saponinas, terpenos y flavonoides principalmente.

Actividades biológicas de Agaves

Los subproductos de agaves han mostrado tener diversas actividades biológicas, entre las cuales destacan la actividad antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, antiinflamatoria, antihipertensiva, inmunomodulador, antiparasitaria, anticancerígena. Estos efectos son atribuidos a los compuestos bioactivos presentes en los Agaves, como por ejemplo, saponinas, flavonoides, terpenoides, glucósidos, esteroides, taninos, fructanos y policosanol (Ahumada-Santos *et al*, 2013; García-Herrera *et al*, 2010).

Actividad antimicrobiana. Uno de los efectos más sobresalientes de los extractos de *Agave* es su actividad antimicrobiana, debido a la capacidad inhibitoria de ciertos extractos de agave sobre bacterias gram-positivas y gram-negativas. Diversos autores demostraron que la aplicación de extractos de *A. sisalana* sobre algunos microorganismos, como *E. coli*, *S. Typhi*, *S. aureus* y *P. aeuginosa*, presentaron un efecto inhibitorio sobre las bacterias estudiadas. Este comportamiento es tribuido a compuestos identificados en los extractos, como saponinas, glucósidos, terpenoides, esteroides, flavonoides y taninos (Riberio *et al.*, 2013; Ade-Ajayi *et al.*, 2011; Hammuel *et al.*, 2011). Acorde a lo anterior, Verastegui *et al.* (1996 y 2008), García *et al.* (1999), Ahumada-Santos *et al.* (2013) y Rizwan *et al.* (2012) encontraron algunos de los compuestos antes mencionados en distintos extractos de *A. lecheguilla*, *A. picta*, *A. intermixta*, *A. impressa*, *A. ornithobroma*, *A. rzedowskiana*, *A. tequilana*, *A. schidigera*, *A. angustifolia* y *A. attenuata*, presentaron inhibición en el crecimiento de algunos microorganismos como *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. marcescens*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. dysenteria* y *C. perfringens* por mencionar algunos.

El efecto antimicrobiano de estos compuestos bioactivos puede explicarse en base al carácter básico de los mismos, que permiten su interacción con proteínas de membrana para formar compuestos estables y solubles en agua. La formación de estos compuestos provoca un daño a la membrana celular, provocando fuga de iones y pérdidas de componentes celulares entre las que se encuentran las proteínas intracelulares lo que conduce a la muerte celular (Elmarie y Johan, 2001; Pandima *et al.*, 2010). A su vez, se sugiere que este comportamiento puede ser debido a su bajo peso molecular e hidrofobicidad, lo cual permite penetrar con mayor facilidad la membrana bacteriana en comparación con moléculas de alto peso molecular (Brul y Coote, 1999).

Actividad antioxidante. La capacidad antioxidante de extractos de Agave ha quedado evidenciada a través de distintas evaluaciones. Ben Hamissa *et al.* (2012) encontraron la presencia de polifenoles y flavonoides en extractos de *A. americana*, atribuyéndosele la capacidad antioxidante, ya que se observó una correlación positiva entre los compuestos y la actividad antioxidante evaluada por técnicas como DPPH y poder reductor. De la misma manera, Rizwan *et al.* (2012) observaron actividad antioxidante de extractos de *A. attenuata*, evaluadas mediante distintas pruebas como DPPH, Inhibición del ácido linoleico y poder reductor, a su vez se encontró que una concentración de 0.1 mg/ml fue capaz de inhibir entre 73.97-61.41 del radical DPPH según el extracto evaluado.

La actividad antioxidante observada es atribuida a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides identificados en este extracto. Dentro del mismo contexto, Ahumada-Santos *et al.* (2013) y Riberio *et al.* (2013) al evaluar distintas pruebas de capacidad antioxidante como DPPH, ABTS, ORAC y blanqueamiento del β -caroteno, sobre extractos de *A. tequilana*, *A. ornithobroma*, *A. impressa*, *A. rzedowskiana*, *A. schidigera*, *A. angustifolia* y *A. sisalana* encontraron dicha actividad, siendo atribuida a los triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas y glucósidos identificados en los Agaves en estudio. Se sugiere que la capacidad antioxidante de extractos naturales está determinada en gran medida por los compuestos fenólicos presentes, así como también el tipo de solvente utilizado para realizar la extracción (Aliakbarian *et al.*, 2009; Ahumada *et al.*, 2013). El modo de acción de estos compuestos, dependerá de su capacidad para donar un electrón o protón, procedentes de sus grupos funcionales y de la

posición en que se encuentren en el anillo aromático (Cushnie y Lamb, 2005; Perron y Brumaghim, 2009).

Extractos de Agave en productos cárnicos. Existe un solo reporte de investigación (Pollorena, 2012) en el que se exploró la capacidad antioxidante y antimicrobiana de extractos de Agave al ser adicionados en carne molida de res. En dicho estudio, se evaluó la estabilidad oxidativa, microbiológica y sensorial de hamburguesas de res adicionadas con un extracto acuoso de *Agave angustifolia* (EA) durante su almacenamiento en refrigeración durante 10 días, y se comparó con hamburguesas adicionadas con BHT y ácido gálico (AG).

Los resultados del estudio anterior, indican que los principales cambios en la calidad de las hamburguesas se observaron al día 5, donde el AG fue más efectivo para mantener la calidad de estas, mientras que el EA y BHT mostraron propiedades similares, retardando la pérdida de calidad hasta por dos días con respecto al control. Sin embargo, ninguno de los tratamientos probados fue efectivo para retardar el crecimiento de microorganismos mesófilos y psicrófilos en las hamburguesas. Pollorena (2012) concluyó que el extracto de Agave, representa una alternativa natural para ser utilizada como retardante en el deterioro de la carne molida, por lo cual se sugiere seguir realizando investigaciones en otras fuentes cárnicas o con variaciones en las dosis utilizadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y Reactivos

Material Vegetal

Las hojas de *Agave angustifolia* Haw se obtuvieron directamente de plantaciones nativas del Rancho La Basura, municipio de Ures y dentro de la región con Denominación de Origen Bacanora (planta utilizada para la producción de la bebida alcohólica conocida como bacanora).

Reactivos

El ácido tricloroacético (TCA), ácido-2-tiobarbitúrico (TBA) y 1, 1, 3, 3-tetrametoxipropano son reactivos provenientes de la casa comercial J.T. Baker, mientras que el fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4) y fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) fueron suministrados por la marca Sigma - Aldrich. El agar cuenta estándar se obtuvo de la marca Difco™ para la cuenta de mesófilos y psicrófilos aerobios. Además, se utilizó ácido gálico y butilhidroxi-tolueno como parte de los tratamientos.

Preparación del Extracto

Para la obtención del extracto, se utilizaron hojas frescas de *Agave angustifolia* Haw en estado adulto (7-9 años), siguiendo la metodología propuesta por Ahumada-Santos *et al.*, (2013), con algunas modificaciones. Primeramente, las hojas de *Agave* fueron cortadas en pequeñas porciones y liofilizadas (Labconco, Freezone 6L). Posteriormente, se molieron las hojas (Krupps,

model GX4100, México) y se tamizaron mediante el uso de una malla número 40 correspondiente a 0.420 milímetros. La técnica de extracción se realizó pesando 1 g de polvo de las hojas para posteriormente ser mezclado con 10 mL del solvente (etanol) mediante el uso de un homogenizador (Ultra Turrax T25, IKA-Werke, USA). La mezcla obtenida fue sonicada (BRANSON, 2510R-DTH, USA) y sometida a centrifugación (Eppendorf, model 5810R, Hamburg, Germany) a 10000 RPM por 30 min a 20°C, una vez terminada esta etapa el sobrenadante obtenido se filtró para así repetir el proceso de filtración con el sedimento. Al extracto obtenido se le retiró el solvente, por medio de un evaporador rotatorio (Buchi 011, Switzerland) a presión reducida. Por último, una vez evaporado el solvente, el extracto obtenido se liofilizó y resuspendió en agua desionizada para finalmente ser congelado a -35°C.

Preparación de las Hamburguesas

En la preparación de las hamburguesas se utilizó pierna de cerdo la cual fue adquirida de un productor local y obtenida bajo normatividad TIF con un tiempo aproximado de 24 h *postmortem*. Primeramente, se molió la carne (Molino Hobart 4152) hasta su completa homogenización. Una vez molida la carne, se dividió en cuatro porciones iguales, posterior a esto se les asignó el tratamiento correspondiente a cada porción y se llevó a cabo la elaboración de las hamburguesa.

Tratamientos Experimentales

Una vez dividida la carne homogenizada en 4 partes, a cada porción se le asignó aleatoriamente uno de los siguientes tratamientos:

- 1) Control (C), adición de 2% de agua pura.
- 2) Adición de 100 ppm de ácido gálico (AG).
- 3) Adición de 100 ppm de BHT.
- 4) Adición de 1450 ppm del extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH), donde la estimación de la cantidad del extracto AAH a adicionar se determinó tomando como referencia el contenido de fenoles totales (FT) de dicho extracto (42

mgEAG/ g de extracto), siendo al menos 60 mgEAG la cantidad requerida a adicionar (Muñoz *et al.*, 2002).

Los tratamientos fueron incorporados en la carne molida de manera manual, mezclándose durante 5 minutos.

Cada hamburguesa fue de un peso aproximado de 70 g. Las hamburguesas se moldearon mediante el uso de una caja petri (10 cm diámetro y 1 cm de grosor). Se obtuvo un total de 125 hamburguesas (25 por tratamiento). Cada hamburguesa fue colocada en platos individuales de polipropileno y empacadas con una película de PVC permeable al oxígeno y a la humedad, se almacenaron en refrigeración durante 10 días a 4 °C en presencia de luz, tomando como tiempo de muestreo los días 0, 3, 6, 8 y 10.

Determinaciones Fisicoquímicas

Determinación de pH

El pH fue medido mediante un potenciómetro Hanna modelo 211. Se homogenizaron aproximadamente por un minuto, 3 gramos de cada muestra con 27 mL de agua destilada mediante el giro de un magneto en una placa magnética (Placa magnética y de calentamiento CORNING PC- 420 Stirrer/Hot Plate), y los resultados se leyeron directamente en la escala del potenciómetro.

Determinación de Color Objetivo

El color se midió con un colorímetro (KONIKA MINOLTA CR – 400) en contacto con la superficie de cada muestra cárnica. La medición de color incluyó la determinación de los valores L*, a*, b*. Donde: L*, representa la luminosidad o palidez de la carne y se rige bajo una escala

de 0 a 100, donde cero es un negro total y 100 representa un blanco perfecto. Para el caso de a^* , se maneja en una escala positiva, que es representada por el color rojo, a negativo que es representada por el color verde. El valor de b^* determina el color amarillo cuando los valores son positivos y azul cuando los valores son negativos (Cassens *et al.*, 1995).

Determinación de la Oxidación de Lípidos (TBARS)

La oxidación de lípidos se realizó mediante la determinación de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), según la técnica descrita por Pfalzgraf (1995). La técnica consistió en la homogenización de 5 gramos de muestra de carne con 15 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10% (Homogenizador Ultra Turrax T25, IKA-Weke) a 11,000 rpm durante 1 minuto, manteniendo los tubos en hielo para evitar que en la mezcla ocurriera un aumento en la temperatura, posteriormente, la mezcla se filtró por medio de un papel filtro (Watman 42) con una gran capacidad de retención de 2.5 μm . Una vez obtenido el filtrado se tomaron 2 mL y se adicionaron en un tubo en conjunto con 2 mL de la solución 20 mM de ácido-2-tiobarbitúrico (TBA) recién preparada. Después los tubos se sometieron a homogenización en un Vortex marca Daigger por 30 segundos para posteriormente calentarlos a 97 °C por un tiempo de 20 minutos en baño maría para permitir el desarrollo de la reacción colorimétrica. Después, los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se llevo a cabo la lectura de la absorbancias de cada muestra en un espectrofotómetro (Spectronic Genesis 5, Termo Electrón Corporation) a 531 nm. Los resultados se expresaron como mg de malonaldehído por Kg de carne (MDA/kg de carne), y se calcularon mediante una curva estándar de 1,1,3,3-tetrametoxipropano.

Porcentaje de Metamioglobina (% MetMb)

La preparación de la muestra se realizó mediante la metodología descrita por Lee (1998) y durante todo el manejo se utilizó hielo para evitar el aumento de temperatura en la muestra. Se tomaron 2 g de la muestra cárnica y se colocaron en un tubo de polipropileno para centrifuga con capacidad de 50 mL, posteriormente se adicionaron 20 mL de buffer de fosfato 40 nM a una temperatura promedio de 8°C y un pH de 6.8. Después se homogenizó la muestra

(Homogenizador Ultra Turrax T25, IKA-Weke) a 11,300 rpm por 30 segundos. Los tubos se introdujeron en la centrifuga (Beckman J2-21) a 5000 rpm por 30 minutos a una temperatura de 4°C.

Una vez terminado el tiempo de centrifugación el sobrenadante fue filtrado (Papel filtro Watman 42). Después el sobrenadante filtrado se midió la absorbancia a 525, 572 y 700 nm, en un espectrofotómetro (Spectronic Genesis 5, Termo Electrón Corporation).

El porcentaje de MetMb fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{MetMb} = \{1.395 - [(A_{572} - A_{700}) / (A_{525} - A_{700})]\} \times 100$$

Determinaciones Microbiológicas

Cuenta Total de Mesófilos y Psicrófilos Aerobios

En cada tiempo de muestreo se tomó una hamburguesa correspondiente a cada tratamiento, las cuales fueron abiertas asépticamente para poder ser homogenizadas con un abatelenguas estéril y se tomaron 10 g de la pieza. Ésta porción fue homogenizada con 90 mL de solución reguladora de fosfatos (NOM-110-SSA1-1994) durante 1 min para preparar la dilución inicial. Posteriormente se realizaron diluciones por duplicado (10^{-1} – 10^{-5}), de las cuales se tomó 1 mL de la solución madre para ser homogenizada en cajas petri con 15-20 mL de agar cuenta estándar estéril, técnica descrita por la NOM-110-SSA1-1994 para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Una vez que el agar solidificó en las cajas petri, éstas fueron incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 h para la cuenta de mesófilos y a 5°C durante 7 días para psicrófilos. Las cuentas de las bacterias se expresaron como \log_{10} de unidades formadoras de colonias UFC/g de muestra (NOM-092-SSA1-1994).

Determinaciones Sensoriales

Las hamburguesas de cerdo fueron evaluadas por un panel entrenado de 8 personas utilizando un método de análisis cuantitativo-descriptivo para los diferentes atributos. Se realizaron dos sesiones previas a la evaluación para entrenar a los panelistas con los atributos a evaluar y la escala utilizada. Se evaluaron atributos como pérdida de olor y sabor a fresco en hamburguesas cocinadas (72 °C, temperatura interna), así como también color y decoloración de la superficie de las hamburguesas frescas (crudas) a través de una escala de cinco puntos (AMSA, 2005). En la escala de pérdida de olor y sabor a fresco, se evaluó la intensidad de olores y sabores asociados con el deterioro de la carne: 1= Nada; 2= Ligero; 3= Poco; 4= Moderado y 5= Extremo. Por otra parte, en la escala de color superficial se evaluaron las tonalidades que puede tomar la carne durante su almacenamiento: 1= rojo rosado; 2= rojo rosado pálido; 3= rosa pálido; 4= rosa pálido grisáceo y 5= café pálido grisáceo. Por último, en la escala de decoloración, se evaluó el porcentaje de decoloración en la superficie de las hamburguesas: 1= Nada; 2= 1-10%; 3= 11-20%; 4= 21-60% y 5= 61-100% (Hayes *et al.*, 2010).

La evaluación de olor y sabor a fresco se llevó a cabo utilizando luz roja en el ambiente. Para la evaluación de estos atributos se les proporciono $\frac{1}{4}$ de una hamburguesa cocinada, así como también agua y galleta entre cada muestra para reducir rastros de la muestra anterior. Por otra parte, para la evaluación de color y decoloración superficial se utilizó luz blanca ambiental y se les proporcionó a los panelistas paletas de color y decoloración comparativas.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza para un diseño completamente al azar con arreglo factorial 5X4. El primer factor analizado fue el tiempo de almacenamiento (cinco niveles) y el segundo factor fueron los tratamientos experimentales (cuatro niveles). El modelo estadístico incluyó los efectos fijos de los factores principales y su interacción. Las diferencias entre medias se analizaron utilizando la prueba Tukey-Kramer a un nivel de significancia del 5% ($P \leq 0.05$). Todos los datos se procesaron en el paquete estadístico NCSS versión 2007.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinaciones Fisicoquímicas

Determinación de pH

Los valores de pH se muestran en la Figura 1. Donde se puede observar el efecto de la interacción de día por tratamiento ($P \leq 0.05$). Los valores correspondientes al tratamiento AAH muestran un comportamiento estable al paso de los primeros 6 días de almacenamiento, el cual tiene un pH promedio de 5.53. Sin embargo, las hamburguesas tratadas con dicho extracto presentan un aumento al día 8 de análisis (5.91), mientras que en el último día de almacenamiento los valores de pH se mantuvieron en 6.62. Para el caso de las hamburguesas tratadas con ácido gálico (AG) se muestra un pH uniforme entre los primeros 3 días de análisis (pH = 5.5, valor promedio), posteriormente ocurrió un aumento que se mantuvo estable en un promedio de 5.97 durante los días 6 y 8 de análisis para concluir al día 10 con un pH de 6.55. Por otro lado, el efecto de la adición de BHT en la matriz cárnica sobre el pH fue diferente durante los días de almacenamiento, manteniéndose estable únicamente durante los primeros 3 días donde mostró un pH promedio de 5.55, así pues al avance de los días posteriores de almacenamiento se encontró un aumento a través del tiempo (5.76, 6.13 y 6.70 para los días 6, 8 y 10 respectivamente). Referente a las hamburguesas control, no se observaron diferencias durante los primeros 3 días de análisis (día 0, 3 y 6) (5.62, valor promedio) siendo hasta el día 8 donde la diferencia se tornó significativa con valor de pH de 6.41 para finalizar el tiempo de almacenamiento con un pH de 6.59.

En estudios realizados por Candogan (2002) se analizó el comportamiento del pH en hamburguesas de carne crudas en condiciones de almacenamiento refrigerado donde se utilizó pasta de tomate (TPA) como aditivo. En dicho artículo se menciona el uso de TPA en diferentes concentraciones (5, 10 y 15%) donde aquellas hamburguesas de carne con 5% de adición de pasta de tomate mostraron un aumento del pH conforme al paso del tiempo de almacenamiento. En lo que corresponde a las hamburguesas de carne con TPA al 10 y 15% se observaron aumentos significativos en el pH durante los días 3 y 6 de estudio lo cual no es favorable en comparación con los valores de pH de las hamburguesas de cerdo tratadas con el

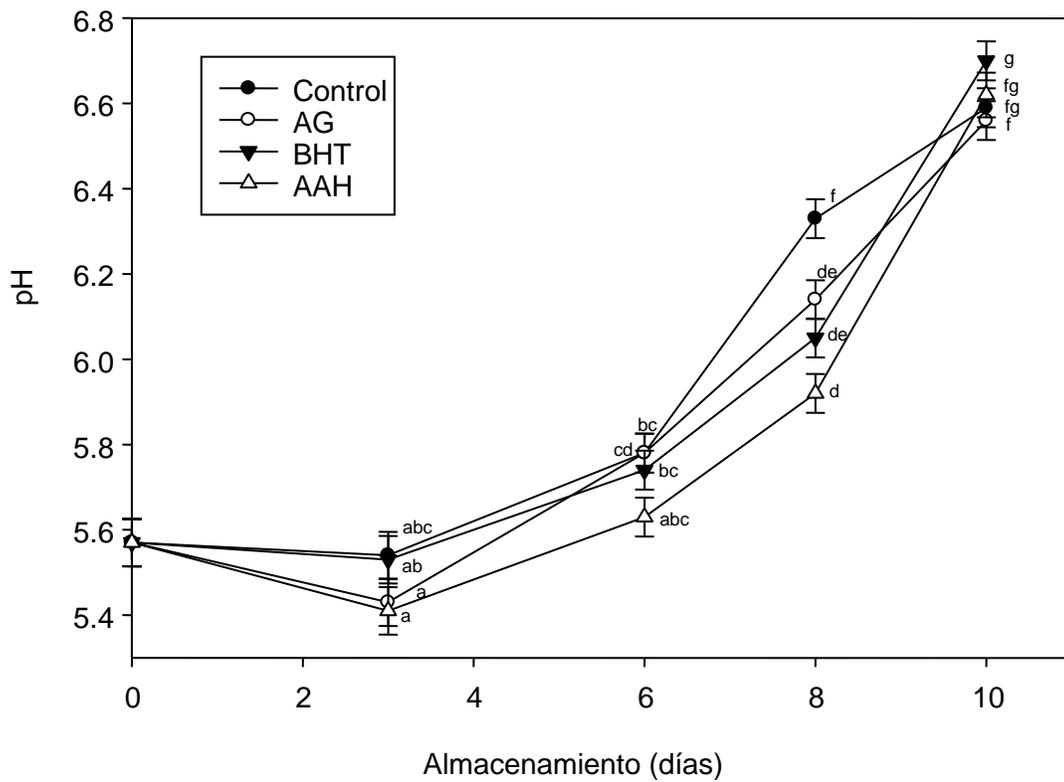


Figura 2. Comportamiento del pH de las hamburguesas de cerdo durante su almacenamiento en refrigeración. Donde: Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxitolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

extracto de AAH, ya que el aumento de estos valores fue significativo hasta el día 6 de almacenamiento.

El cambio en el pH puede ser atribuido al crecimiento microbiano durante el almacenamiento en refrigeración, el cual puede crear una capa viscosa en la superficie de las hamburguesas de cerdo (Candogan, 2002) y por tanto una apariencia desagradable, sin embargo, se sabe que la adición de extractos de origen natural en hamburguesas ha demostrado disminuir el pH, debido principalmente a la naturaleza ácida de los mismos (Pollorena, 2012), lo que le atribuye al extracto de AAH la propiedad de disminuir la velocidad con la que aumenta el pH en hamburguesas de cerdo en almacenamiento.

Determinación de Color Objetivo

Los parámetros de color L^* , a^* y b^* evaluados en las hamburguesas de cerdo bajo condiciones de almacenamiento se presentan en la Tabla 1. Dichos parámetros muestran efecto de la interacción de los días de almacenamiento por tratamiento ($P \leq 0.05$). El primer parámetro evaluado fue L^* (Luminosidad), cuyos valores descendieron durante el periodo de almacenamiento. Los valores obtenidos al inicio del almacenamiento (día 0) muestran que los tratamientos Control, AG y BHT presentaron valores de luminosidad similares (59.1 ± 0.3 ; $P \geq 0.05$), mientras que los valores de L^* para el tratamiento AAH fueron más bajos (57.8 ± 0.3). Al final del tiempo de almacenamiento se puede observar que las hamburguesas tratadas con los controles positivos (AG y BHT) y aquellas a las que se les incorporó el extracto AAH mantuvieron valores más altos de L^* (55.3 ± 0.3 , valor promedio) en comparación con el Control (53.5 ± 0.3).

El segundo parámetro analizado fue a^* (rojo), estos valores muestran que al inicio del almacenamiento (día 0) las hamburguesas Control y aquellas tratadas con AG se comportaron de manera similar (10.7 ± 0.2 y 10.4 ± 0.2 , respectivamente), mientras que las hamburguesas tratadas con BHT y el extracto AAH presentaron valores cercanos entre sí (BHT= 11.4 ± 0.2 y AAH= 11 ± 0.2). Sin embargo en el día 10 de almacenamiento se presentaron valores significativamente similares para el caso de las hamburguesas Control y las tratadas con BHT y

Tabla 1. Valores medios (\pm error estándar) de los parámetros de color L*, a* y b* de hamburguesas de cerdo por tratamiento durante su almacenamiento en refrigeración.

Parámetro Tratamiento	Almacenamiento (días)				
	0	3	6	8	10
L* (Luminosidad)					
Control	58.9 ^{de} \pm 0.3	56.6 ^c \pm 0.3	57.4 ^{cd} \pm 0.3	54.2 ^{ab} \pm 0.3	53.5 ^a \pm 0.3
AG	59.7 ^e \pm 0.3	56.4 ^c \pm 0.3	58.2 ^d \pm 0.3	56 ^{bc} \pm 0.3	55.4 ^{bc} \pm 0.3
BHT	58.6 ^{de} \pm 0.3	57.5 ^{cd} \pm 0.3	58 ^d \pm 0.3	55.1 ^b \pm 0.3	54.8 ^b \pm 0.3
AAH	57.8 ^{cd} \pm 0.3	56.4 ^c \pm 0.3	59 ^{de} \pm 0.3	55.8 ^{bc} \pm 0.3	55.6 ^{bc} \pm 0.3
a* (rojo)					
Control	10.7 ^{cde} \pm 0.2	7 ^a \pm 0.2	7.7 ^{ab} \pm 0.2	11.6 ^e \pm 0.2	11.2 ^{de} \pm 0.2
AG	10.4 ^{cd} \pm 0.2	8.8 ^b \pm 0.2	7.9 ^{ab} \pm 0.2	10.8 ^{cde} \pm 0.2	9.9 ^{cd} \pm 0.2
BHT	11.4 ^e \pm 0.2	8.4 ^b \pm 0.2	8.3 ^{ab} \pm 0.2	10.5 ^{cde} \pm 0.2	11.3 ^{de} \pm 0.2
AAH	11 ^{de} \pm 0.2	9.5 ^c \pm 0.2	7.2 ^a \pm 0.2	11.5 ^e \pm 0.2	11.2 ^{de} \pm 0.2
b* (amarillo)					
Control	11.7 ^{ab} \pm 0.3	13 ^{bc} \pm 0.3	12.4 ^b \pm 0.3	13.7 ^{cd} \pm 0.3	12.5 ^b \pm 0.3
AG	11.5 ^{ab} \pm 0.3	11.3 ^a \pm 0.3	13.1 ^{bc} \pm 0.3	13 ^{bc} \pm 0.3	12.6 ^b \pm 0.3
BHT	12.2 ^{ab} \pm 0.3	11.5 ^{ab} \pm 0.3	13.1 ^{bc} \pm 0.3	11.7 ^{ab} \pm 0.3	12.4 ^b \pm 0.3
AAH	12.7 ^b \pm 0.3	11.9 ^{ab} \pm 0.3	12.9 ^{bc} \pm 0.3	14.1 ^e \pm 0.3	12 ^{ab} \pm 0.3

^{abcde} Medias con diferente literal dentro de hilera o columna, indica diferencia significativa (P<0.05).

Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxi-tolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

AAH (11.23 ± 0.2 , valor promedio) siendo únicamente las hamburguesas con el tratamiento de AG las cuales disminuyeron su valor final de a^* (9.9 ± 0.2).

Por último se analizó el parámetro b^* el cual corresponde a la tonalidad amarilla, los valores obtenidos en el análisis de éste parámetro son similares entre tratamientos tanto al inicio como al final del tiempo de almacenamiento de las hamburguesas. El cual mostró al inicio un promedio de valor de b^* entre tratamientos de 12.02 ± 0.3 y al término del almacenamiento (día 10) un valor promedio de 12.4 ± 0.3 .

En estudios realizados por Carpenter *et al.*, (2007) se observó que los parámetros de color (Luminosidad L^* , b^* y a^*) en hamburguesas de carne de cerdo crudas no variaron al añadir semillas de uva y extracto de gayuba, similar a lo sucedido con las hamburguesas tratadas con el extracto AAH del presente trabajo.

Otras investigaciones, como el estudio realizado por Cheah *et al.*, (2000), en donde se estudió la estabilidad de carne picada de res bajo condiciones de almacenamiento (4 ± 1 °C) se reportó que los valores de a^* mostraron un aumento, más no los valores de L^* y b^* ya que estos no fueron afectados por la adición de un extracto de raíz llamada galangal (*Alpinia galanga*), en contraste a esto, las hamburguesas de cerdo tratadas en la actual investigación muestran estabilidad en todos los parámetros de color (L^* , a^* y b^*).

Los consumidores consideran el color de la carne como un factor de calidad decisivo para la compra, razón por la cual mantener los parámetros de color estables es de suma importancia para la industria de la carne (Serna, 2009). El color rojo característico de la carne es dado por la proteína mioglobina, la cual al pasar por un proceso de oxidación llega a convertirse en metamioglobina aportando a la carne un color marrón (Faustman *et al.*, 2010) desagradable a la percepción del consumidor. Los valores de a^* (color rojo) para carne de cerdo deben de encontrarse en un rango por encima de 10 (Nam *et al.*, 2006), por tanto, un valor menor a éste, indica una demeritación de este parámetro, es decir, una oxidación de la proteína mioglobina a consecuencia de la oxidación de los lípidos presentes en la carne de cerdo (Faustman *et al.*, 2010). Para evitar este efecto y por lo tanto el rechazo por parte del consumidor, la industria cárnica busca implementar el uso de antioxidantes naturales como alternativa a los antioxidantes sintéticos, a los cuales se les atribuyen diversos efectos secundarios dañinos para la salud (Naveena *et al.*, 2008). En este sentido el empleo de

extractos de plantas como el extracto AAH cumple con la función de mantener el color de la carne ya que se puede inferir que la actividad del extracto AAH en las hamburguesas de cerdo favoreció el control del parámetro a^* a través del tiempo de almacenamiento con un promedio de 10.08.

Determinación de la Oxidación de Lípidos (TBARS)

Los valores de TBARS se muestran en la Figura 2, donde se encontró un efecto significativo ($P \leq 0.05$) de la interacción tratamiento por día de almacenamiento. Estos valores son expresados en cantidad de mg de malonaldehído/ kg de carne. La cantidad de mg MDA/ kg de carne durante los días de almacenamiento de las hamburguesas tratadas con el extracto AAH se mantuvieron estables durante los primeros 6 días de almacenamiento (0.472 mg MDA/ kg, valor promedio), sin embargo fue hasta los últimos días de análisis donde se presentó un aumento (1.648 y 3.572 mg MDA/ kg para los días 8 y 10 respectivamente). Para el caso de las hamburguesas con el tratamiento de BHT se presentó semejanza los días 0 y 3 de almacenamiento (0.026 y 0.345 mg MDA/ kg respectivamente) de igual manera no ocurrió un cambio significativo entre el día 3 y 6 (0.345 y 0.654 mg MDA/ kg respectivamente) ($P \geq 0.05$), en cambio para los días 8 y 10 el aumento se manifestó significativamente.

Por otro lado, las matrices cárnicas a las que se les añadió ácido gálico (AG) tuvieron un comportamiento estable durante los 3 días de almacenamiento (0.131 mg MDA/ kg, valor promedio) con un pequeño aumento el día 6 de análisis (0.582 mg MDA/ kg), a diferencia de las hamburguesas tratadas con el extracto de AAH y BHT las cuales presentaron diferencia en los valores de TBARS a partir del día 8 de almacenamiento, las hamburguesas adicionadas con AG muestran dicho cambio significativo hasta el último día de almacenamiento (día 10) (2.698 mg MDA/ kg). Por último, las muestras control se comportaron de manera constante hasta el día 3 (0.238 mg MDA/ kg, valor promedio) y mostraron un aumento consecutivo a partir del día 6 hasta el final del tiempo de almacenamiento (2.429 mg MDA/ kg, valor promedio).

En otros sistemas cárnicos, como en pollo, se emplearon antioxidantes de origen natural tal como una mezcla de orégano, miel y salvia (Sampaio *et al*, 2012). Se observó un retardo de la oxidación lipídica a partir del día 4 de análisis bajo condiciones de almacenamiento similares a las mostradas en nuestra investigación, en contraste con los resultados del actual estudio, las

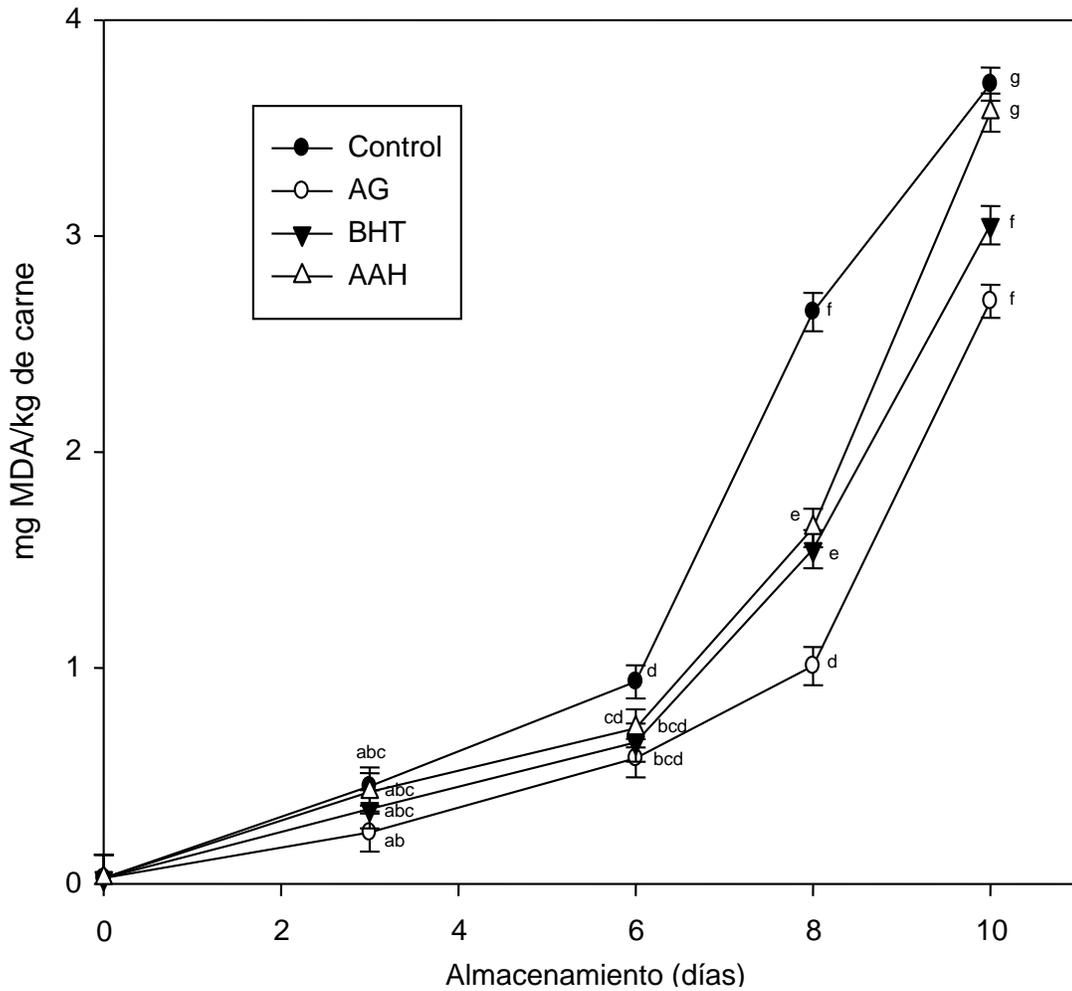


Figura 3. Oxidación lipídica (mg de malonaldehído/kg de carne) en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración. Donde: Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxi-tolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

hamburguesas tratadas con AAH muestran diferencias significativas a partir del día 8 de análisis.

En otra investigación realizada por Vargas-Sánchez *et al.* (2014), donde se evaluó el efecto antioxidante de un extracto de origen natural (extracto etanólico de propóleos, EEP) en hamburguesas de bovino durante su almacenamiento (2 °C, en condiciones de oscuridad), los resultados indican que la incorporación de este extracto rico en compuestos fenólicos (75.4 mg EAG/mg extracto seco) presentó valores de TBARS (>0.5 mg MDA/ kg) menores a los encontrados en este experimento (1.6 mg MDA/ kg), aún cuando el extracto de propóleos (EEP) mostró una mejor actividad antioxidante (Aox), la producción y uso de EEP es costoso y no redituable en comparación con el extracto AAH derivado de subproductos de la industria del Bacanora.

En la presente investigación al tratarse de carne molida, ésta tiene una mayor susceptibilidad a la oxidación lipídica de la matriz de interés, ya que no solamente se adiciona la grasa, sino que también, dicha grasa se encuentra mucho más expuesta al incrementar la superficie de contacto en comparación con cortes comerciales (Gómez, 2013). La cantidad de ácidos grasos insaturados presentes en la carne de cerdo aumenta su inestabilidad debido a su tendencia a sufrir reacciones de oxidación (Guerrero, 1993; Lee *et al.*, 2012; Xiong y Decker, 1995), y por lo tanto, provoca diversos cambios que afectan negativamente la calidad de la carne (Vivas, 2000). El comportamiento de las hamburguesas a las cuales se les adicionó el extracto AAH presentaron estabilidad hasta el día 6 de almacenamiento y se observó un aumento en los mg MDA/ kg hasta el día 8 de análisis debido al retraso en la formación de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA, por sus siglas en inglés). Lo anterior indica que aún cuando se ha reportado que la carne de cerdo es más susceptible a la oxidación lipídica, esto no sucedió cuando se agregó el extracto AAH ya que su actividad antioxidante (Aox) fue efectiva.

Porcentaje de Metamioglobina (MetMb)

Los valores de metamioglobina, expresados en porcentaje, se muestran en la Figura 3; donde se encontró un efecto significativo ($P \leq 0.05$) de la interacción tratamiento por día de almacenamiento.

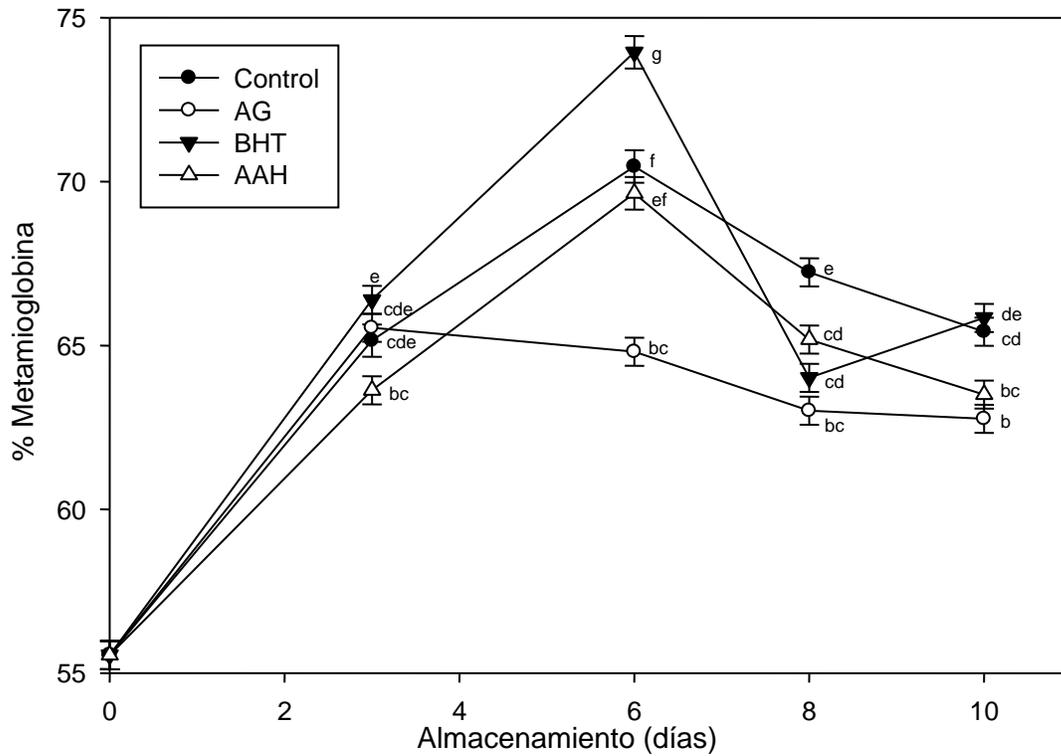


Figura 4. Porcentajes de formación de metamioglobina en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración. Donde: Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxi-tolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

Los valores finales correspondientes a las hamburguesas tratadas con el extracto AAH, fueron 65.18 y 63.50% para los días 8 y 10 respectivamente, con lo que respecta al comportamiento de las hamburguesas tratadas con ácido gálico (AG) sus valores finales correspondieron a 63.01% para el día 8 y 62.76% para el día 10 de almacenamiento. Las hamburguesas del tratamiento BHT obtuvieron valores de 64.02 y 65.85% durante los últimos dos días de análisis (día 8 y 10) mientras que las hamburguesas control mostraron valores de 67.23% y 65.42% esos mismos días de almacenamiento. Conforme a lo anterior, se pueden observar valores más bajos para el grupo AAH (63.50%) respecto al control positivo BHT (65.85%) y grupo control (65.42%) al último día de almacenamiento.

Estudios realizados por Lawrence *et al.*, (2004) analizaron la actividad del lactato de potasio y lactato de calcio en la carne, y mencionan que dichos aditivos mejoran la calidad de la carne al incrementar la estabilidad del color y disminuir la formación de metamioglobina. A su vez Knock *et al.*, (2006), reportaron que el efecto del lactato de sodio en el color de la carne cruda de cerdo es limitado. Sin embargo, al comparar el promedio de los dos últimos días de almacenamiento de las hamburguesas tratadas con el extracto de AAH, en los últimos dos días de análisis, contra los valores obtenidos para las hamburguesas del grupo control, se observa una diferencia 2% a favor del extracto AAH.

La mioglobina, principal pigmento de la carne, por medio de un proceso de oxidación se convierte en metamioglobina, conocida por brindar a la carne un color marrón desagradable para el consumidor (Faustman *et al.*, 2010), razón por la cual se promueve el uso de antioxidantes en los alimentos, preferentemente de origen natural, tal es el caso del extracto AAH para retardar la velocidad de oxidación lipídica y/o protéica. Debido a que se observó que el extracto AAH retarda el proceso de oxidación de la proteína mioglobina y por lo tanto, ayuda a la prolongación del color en la carne, podemos considerar que el uso del extracto etanólico de *Agave angustifolia* Haw como alternativa de aditivo de origen natural es conveniente para prolongar la vida de anaquel de la carne en condiciones de almacenamiento.

Determinaciones Microbiológicas

Cuenta Total de Mesófilos y Psicrófilos Aerobios

Para el caso de mesófilos aerobios, los cuales se presentan en la Figura 4, únicamente se presentó efecto de tiempo, es decir, las hamburguesas presentaron aumento en las cuentas mesofílicas (Log₁₀ UFC/ g) al paso del tiempo de almacenamiento para todos los casos (hamburguesas tratadas con BHT, AG, AAH y hamburguesas control).

Gómez (2013) realizó un estudio en el cual se analizó el efecto de antimicrobianos naturales (nisina 3%; lactato de sodio- 3%; lactato de potasio- 3%; acetato- lactato- 1%) en hamburguesas de res almacenadas en refrigeración y observó un incremento en la cantidad de UFC de mesófilos aerobios para todos los tratamientos durante el almacenamiento, sin embargo, en el caso de dicho estudio, Gómez menciona un menor incremento de UFC de mesófilos aerobios en las hamburguesas a las cuales se les adicionó antimicrobianos en comparación al testigo a lo largo del tiempo de estudio.

La carne fresca pertenece a uno de los grupos de alimentos de mayor riesgo para el desarrollo microbiano debido a su composición, elevada humedad y pH ligeramente ácido. Los microorganismos psicrófilos son generalmente los que contaminan superficialmente la carne fresca en refrigeración. Estos, son responsables de la alteración de la carne, entre los géneros predominantes se encuentran las *Pseudomonas*, *Achromobacter* y *Flavobacterium*. Como ya se mencionó antes, la carne molida es, desde el punto de vista microbiológico, más susceptible que los productos cárnicos enteros y embutidos, ya que diversos factores hacen de ésta carne un sustrato accesible para el crecimiento de microorganismos patógenos (Fernández *et al.*, 2006). Así mismo, algo similar ocurrió en este estudio con las hamburguesas de cerdo tratadas con el extracto AAH, ya que los valores de UFC/ g incrementaron conforme al paso del tiempo, sin embargo, se pudo observar que los valores para este tratamiento fueron menores en comparación a los demás tratamientos a lo largo del tiempo de almacenamiento, aunque al final del análisis (día 10) estas hamburguesas presentaron la misma cantidad de mesófilos aerobios que las hamburguesas control. Cabe señalar, que estos resultados pueden deberse que el área

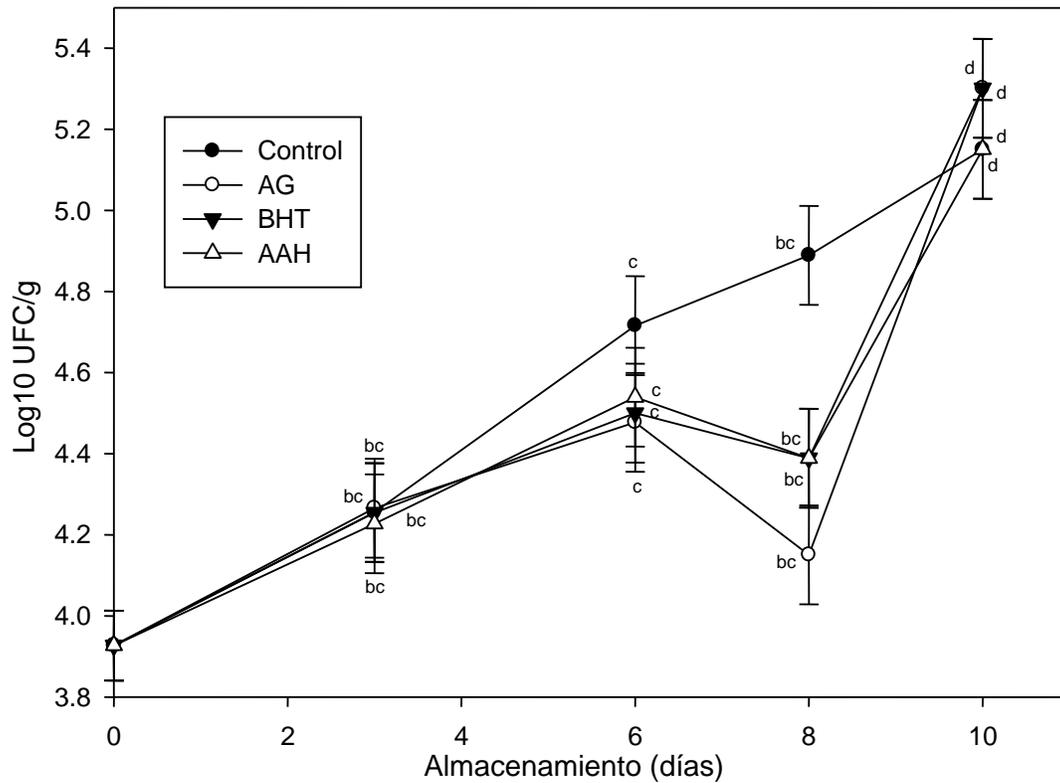


Figura 5. Cuentas mesofílicas (Log10 UFC/g) en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración. Donde: Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxi-tolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

superficial expuesta al entorno en la carne molida es mayor, facilitando la penetración y disponibilidad de oxígeno a los microorganismos para su crecimiento (Jay, 1978).

Las UFC de los psicrófilos aerobios se muestran en la Figura 5. Estos valores son expresados en Log₁₀ UFC/ g en donde se puede observar el efecto de la interacción de día de almacenamiento por tratamiento. Los valores correspondientes a las hamburguesas con el extracto AAH presentaron valores constantes hasta el día 6 de almacenamiento (4.34 Log₁₀ UFC/ g, valor promedio) e incrementaron significativamente para el día 8 de análisis, permaneciendo constante hasta el final del estudio (8.37 Log₁₀ UFC/ g, valor promedio de los días 8 y 10). Por lo que se refiere a las hamburguesas tratadas con BHT, tuvieron un comportamiento similar al extracto AAH, teniendo únicamente un aumento significativo el día 8 y permaneciendo constante para el final del tiempo de almacenamiento (8.45 Log₁₀ UFC/ g, valor promedio de los días 8 y 10). Los valores correspondientes al tratamiento de ácido gálico (AG) aumentaron durante todo el tiempo de almacenamiento iniciando con 1.87 Log₁₀ UFC/ g al día 0 y terminando con 8.52 Log₁₀ UFC/ g al día 10. De igual manera, las hamburguesas control presentaron aumento durante todo el tiempo de estudio, sin embargo, al día 8 de almacenamiento se observó un aumento altamente significativo (8.42 Log₁₀ UFC/ g) para permanecer constante hasta el final del análisis (8.59 Log₁₀ UFC/ g).

En este experimento, las hamburguesas de cerdo adquiridas de un productor local, mostraron una calidad microbiológica inicial de 1.87 Log₁₀ UFC/ g de muestra en bacterias psicrófilas lo que se considera aceptable dentro de la NOM-034 (5 000 000 UFC/ g), sin embargo, se pudo observar en las hamburguesas de cerdo a las cuales se les adicionó el extracto AAH que el contenido de psicrófilos aerobios aumentó durante el paso del tiempo, de igual forma que lo hicieron las hamburguesas control. Así mismo, los investigadores Cheah *et al.*, (2000) obtuvieron resultados similares a los presentados en el actual estudio, donde utilizaron extractos de la raíz galangal (*Alpinia galanga*) en carne de cerdo cocinada y cruda, se observó la ausencia del efecto antimicrobiano en la carne cruda y efectividad en carne cocinada. Además, Resurreccion y Reynolds (1990), reportaron en su estudio no haber diferencia en los recuentos microbianos en superficie de salchichas almacenadas a 4 °C, a las cuales les fue adicionado un extracto de romero y tocoferol.

Como se ha mencionado anteriormente, las bacterias psicrófilas son las responsables de la descomposición de alimentos almacenados en refrigeración, debido a su capacidad para

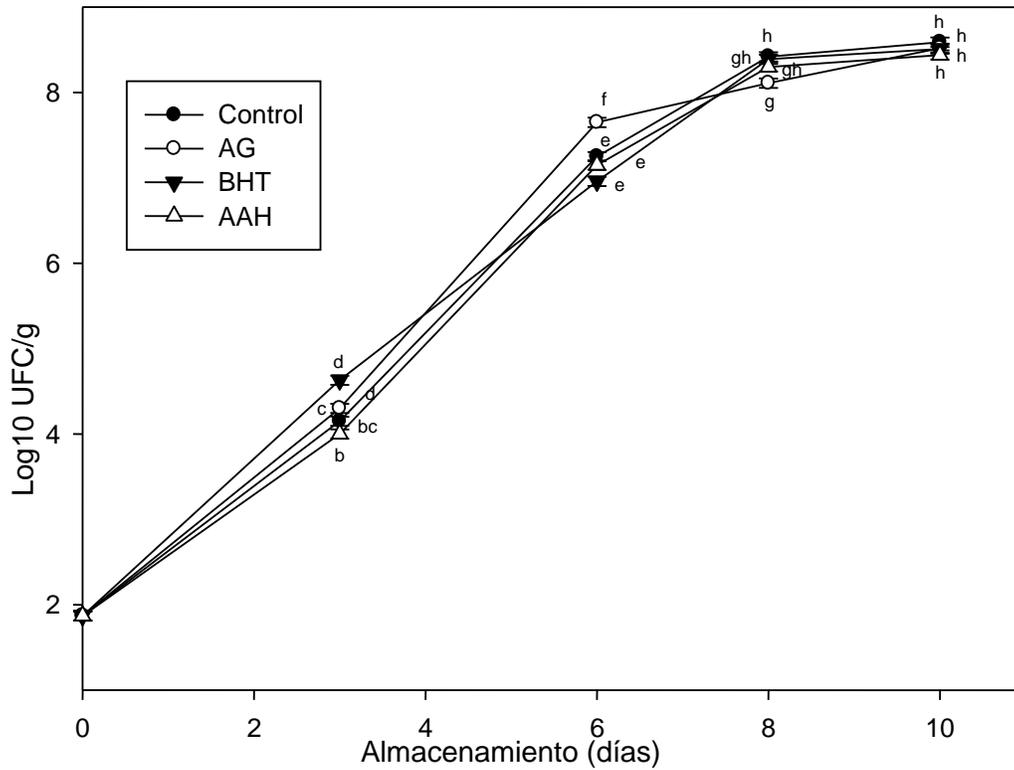


Figura 6. Cuentas psicrófilas (Log10 UFC/g) en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración. Donde: Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxi-tolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

resistir bajas temperaturas, donde dicha descomposición es reflejada por superficies viscosas en la carne, sabores y olores anómalos y cambios de color (Frazier y Westhooff, 2003), razones por las cuales este trabajo evaluó una alternativa para prevenir dicha problemática.

Actualmente no existe una normativa que indique el límite para las bacterias psicrófilas presentes en alimentos (Hernández, 2013), sin embargo, el extracto AAH mostró una capacidad antimicrobiana para bacterias psicrófilas similar a los demás tratamientos utilizados en el presente estudio. Aunado a lo anterior, podemos concluir que el extracto AAH tiene mayor efecto en inhibir el crecimiento de psicrófilos aerobios que de mesófilos aerobios. Dichos resultados resultan favorables para el extracto AAH, ya que su uso se destina para la prolongación de la vida de anaquel de hamburguesas en almacenamiento, es decir, hamburguesas en las que el factor bacteriano a prevenir es el crecimiento de bacterias psicrófilas.

Determinaciones Sensoriales

Pérdida de olor y sabor a fresco

Los valores de pérdida de olor a fresco se encuentran en la Tabla 2, donde se observa un efecto de la interacción tiempo de almacenamiento por tratamiento ($P \leq 0.05$). Se encontró una estabilidad del olor de las hamburguesas hasta el último día de análisis, es decir, los panelistas no detectaron cambios significativos en la pérdida de olor a fresco hasta el día 10 de almacenamiento ($P \geq 0.05$). En tal día se encontraron diferencias entre los tratamientos probados, siendo los tratamientos BHT y AAH los cuales presentaron los valores más elevados (3.06 y 3.12, respectivamente) catalogado por los panelistas como poca pérdida de olor a fresco. En particular, en el día 10 de almacenamiento se observa que el ácido gálico (AG) fue el antioxidante que conservó mejor el olor a fresco, pues obtuvo valores más bajos (1.45), el cual fue similar a lo obtenido en las hamburguesas control (1.78).

En el estudio realizado por Hernández (2013) se analizó el comportamiento Aox de ácido ferúlico (AF) y ferulato de etilo (FE) en hamburguesas de res durante 7 días de almacenamiento en refrigeración. En dicho estudio se observó que en el séptimo día de análisis los panelistas calificaron la pérdida de olor a fresco de las hamburguesas con los tratamientos

Tabla 2. Valores medios (\pm error estándar) de los atributos sensoriales Pérdida de Olor y Pérdida de Sabor a fresco, de hamburguesas cocinadas (72 °C) de cerdo por tratamiento durante su almacenamiento en crudo (4 °C).

Parámetro	Día de almacenamiento				
	0	3	6	8	10
Pérdida de Olor a fresco					
Control	1 ^a \pm 0.1	1.11 ^{bc} \pm 0.1	1.21 ^{bc} \pm 0.1	1.45 ^{bc} \pm 0.1	1.78 ^c \pm 0.1
AG	1 ^a \pm 0.1	1.19 ^{bc} \pm 0.1	1.19 ^{bc} \pm 0.1	1.35 ^{bc} \pm 0.1	1.45 ^{bc} \pm 0.1
BHT	1 ^a \pm 0.1	1.16 ^{cd} \pm 0.1	1.24 ^{bc} \pm 0.1	1.23 ^{bc} \pm 0.1	3.06 ^d \pm 0.1
AAH	1 ^a \pm 0.1	1.3 ^{bc} \pm 0.1	1.67 ^{bc} \pm 0.1	1.44 ^{bc} \pm 0.1	3.12 ^d \pm 0.1
Pérdida de Sabor a fresco					
Control	1 ^a \pm 0.08	1.08 ^{abc} \pm 0.1	1.14 ^{abc} \pm 0.09	1.4 ^{abcd} \pm 0.1	
AG	1 ^a \pm 0.08	1.12 ^{abc} \pm 0.1	1.17 ^{abc} \pm 0.08	1.45 ^{abcd} \pm 0.1	
BHT	1 ^a \pm 0.08	1.09 ^{abc} \pm 0.1	1.23 ^{abc} \pm 0.09	1.14 ^{abc} \pm 0.1	
AAH	1 ^a \pm 0.08	1.21 ^{abc} \pm 0.1	1.8 ^{bcd} \pm 0.08	1.51 ^{bcd} \pm 0.1	

^{abcd} Medias con diferente literal dentro de hilera o columna, son diferentes ($P < 0.05$).

Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxi-tolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

1= Nada; 2= Ligero; 3= Poco; 4= Moderado y 5= Extremo.

anteriormente mencionados, con valores considerados entre 2.0 y 3.0, es decir, ligera y poca pérdida de olor a fresco, comportamiento similar al de las hamburguesas de cerdo tratadas con el extracto AAH al décimo día de almacenamiento. Por lo anterior, podemos deducir que el extracto AAH conservó por más tiempo el olor a fresco que las hamburguesas tratadas con AF y FE.

En un estudio similar al presente trabajo experimental, donde se evaluó la adición de un extracto acuoso de hojas frescas de *Agave angustifolia* Haw (EA) (1500 ppm) se encontró que al día 7 de almacenamiento las hamburguesas adicionadas con el extracto EA fueron percibidas por los panelistas con ninguna pérdida de olor a fresco, lo cual concuerda con lo ocurrido con las hamburguesas tratadas con el extracto AAH para el día 8 de almacenamiento.

Para el caso de pérdida de sabor a fresco, se encontró un efecto de la interacción tratamiento por día de almacenamiento ($P \leq 0.05$), sin embargo, los mayores cambios se observaron el día 0 respecto al resto de los días de análisis donde se muestra que a partir del 3er día de estudio la pérdida de sabor a fresco se mantuvo constante (1.20, valor promedio para todos los tratamientos en los días correspondientes).

Diversos autores han reportado que la pérdida de olor y sabor a fresco se encuentra estrechamente relacionada con la formación de TBARS (Trindade *et al.*, 2009; Sánchez-Escalante *et al.*, 2003). Por consiguiente, Martínez *et al.* (2006) reportaron que la carne de cerdo con valores de TBARS superiores a 1, fueron calificadas por un grupo de panelistas como carne con olor inaceptable. En el presente estudio las hamburguesas tratadas con el extracto AAH presentaron valores de TBARS cercanos a 1, hasta el día 8 de almacenamiento, mismo día que los panelistas catalogaron a dicha carne con una ligera pérdida del sabor a fresco. Esta contradictoria puede ser consecuencia de un posible enmascaramiento del sabor desagradable por el uso del extracto AAH.

Los antioxidantes adicionados a la carne ejercen su efecto protector al inhibir la oxidación de la mioglobina y los ácidos grasos (Djanane *et al.*, 2001), dos mecanismos diferentes pero relacionados entre sí. Al emplear antioxidantes en la matriz cárnica se espera una protección del rojo brillante característico de la carne fresca y retarda la aparición de olores y sabores de desagradables, razón por la cual se puede asumir que el extracto AAH presentó una actividad antioxidante en la matriz cárnica de cerdo que se tradujo en un retraso en la detección de olores y sabores anómalos por parte del panel entrenado.

El olor y sabor ácido desagradable que se genera en las hamburguesas mantenidas durante largos periodos de refrigeración, se deben a alteraciones causadas por *Pseudomonas* y bacterias acidolácticas (Uribe, 2009). En sí la carne es señalada como un excelente medio para favorecer el crecimiento bacteriano (Torus, 2005), donde los microorganismos mencionados anteriormente crecen más rápido en comparación a otras especies competidoras, mientras la carne se encuentre en refrigeración. Consecuente a esto, se ha implementado el uso de antioxidantes como alternativa para evitar la contaminación y desarrollo de microorganismos capaces de producir peróxidos (Sánchez, 2008) y demás compuestos volátiles generadores de olores desagradables intensos (Hayes, 1993). Por lo tanto, resulta favorable el uso del extracto AAH por su capacidad para retardar el crecimiento de bacterias productoras de características sensoriales inaceptables como es el caso del mal olor y sabor, además de ser un aditivo amigable con el organismo humano por su origen natural y una opción factible para la industria ya que actualmente se propone la producción de alimentos cada vez más seguros, además de duraderos (Bailey, 1988).

Color superficial y Porcentaje de decoloración

Los valores de color superficial se muestran en la Figura 6; donde se presentó efecto de tratamiento y día de almacenamiento ($P \leq 0.05$), sin embargo, no se encontraron diferencias en la interacción (tratamiento por tiempo de almacenamiento). Respecto al efecto de tratamiento, las hamburguesas del grupo control presentaron calificaciones más bajas ($P \leq 0.05$) que el resto de los tratamientos, a lo largo del almacenamiento en refrigeración. Aún cuando sucedió tal efecto, las muestras pertenecientes a los tratamientos con Aox presentaron valores medios (en la escala de 2.0 a 3.5) lo que indica que los panelistas percibieron un color entre rojo rosado pálido y rosa pálido (AMSA, 1995), es decir, no demeritó este atributo sensorial. De manera general, las hamburguesas de cerdo correspondientes a todos los tratamientos fueron percibidas por los panelistas a lo largo del periodo de almacenamiento como hamburguesas con un color entre rojo rosado pálido y rosa pálido.

Publicaciones como la realizada por Bech-Larsen y Scholderer (2007) indican como la adición de compuestos fenólicos en alimentos pueden aportar beneficios en la preservación del

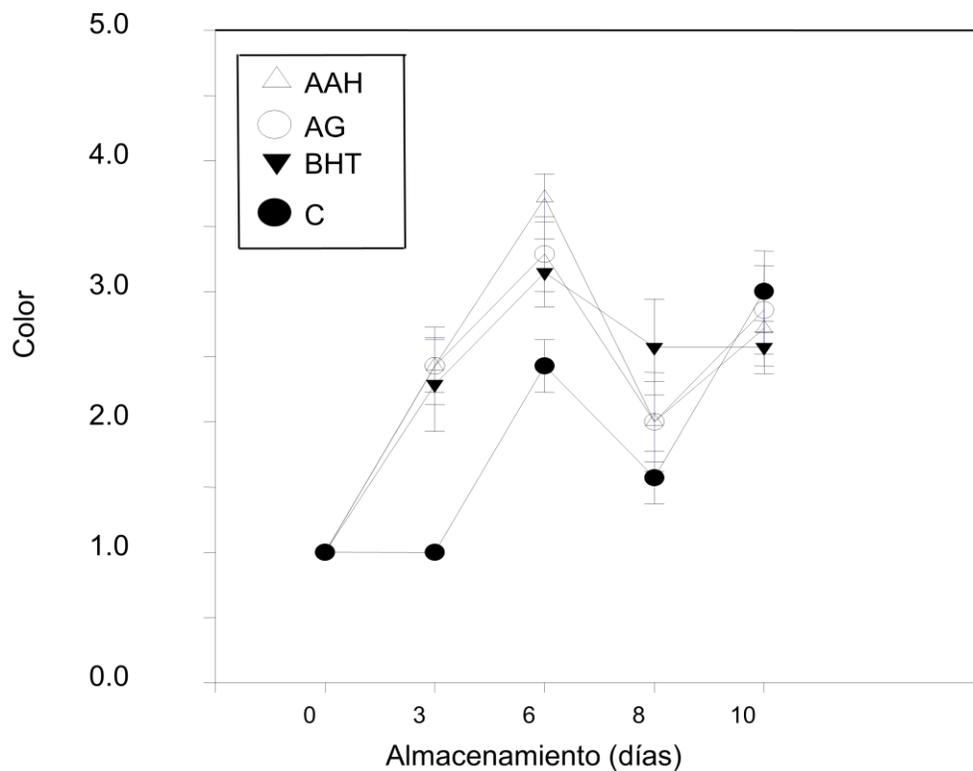


Figura 7. Calificaciones promedio de color superficial en hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración. 1: rojo rosado, 2: rojo rosado pálido, 3: rosa pálido, 4: rosa pálido grisáceo, 5: café pálido grisáceo. Donde: Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxi-tolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

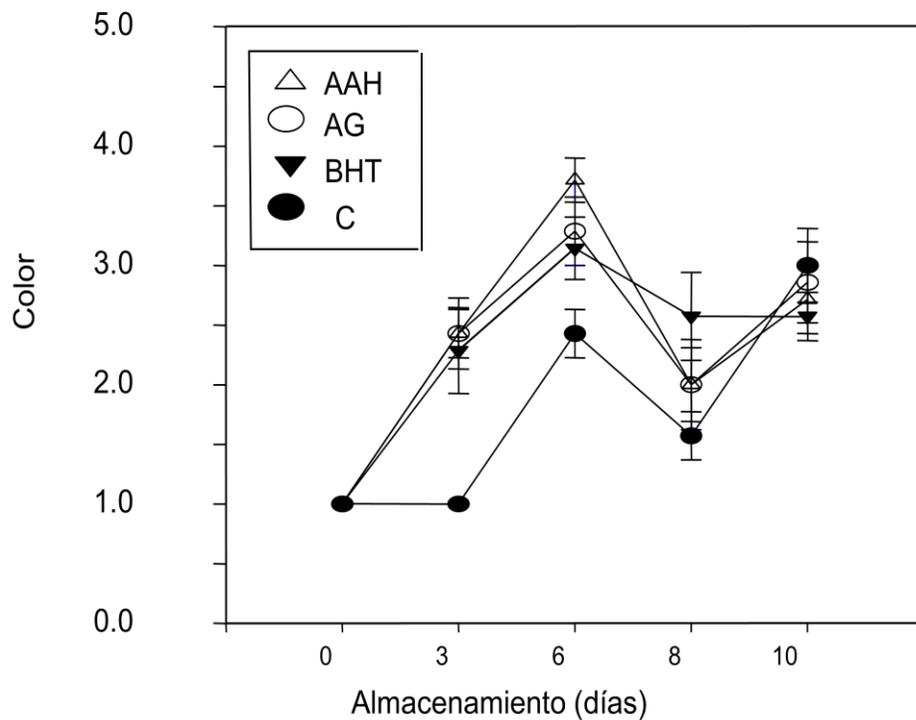


Figura 8. Calificaciones promedio de decoloración de hamburguesas de cerdo, durante su almacenamiento en refrigeración. 1: nada, 2: 1-10%, 3: 11-20%, 4: 21-60%, 5:61-100%. Donde: Control= 2% de agua pura; Ácido gálico (AG)= 100 ppm; Butilhidroxi-tolueno (BHT)= 100 ppm; Extracto etanólico de hoja fresca de *Agave angustifolia* Haw (AAH)= 1450 ppm.

color. Tal es el caso de las hamburguesas tratadas con el extracto AAH, ya que los valores de color superficial llegaron hasta un color rosa pálido durante el último día de almacenamiento (día 10), el cual está relacionado directamente con la pérdida de color o decoloración equivalente a un 16% (valor promedio). Por consiguiente, los valores de color superficial de las hamburguesas de cerdo con el extracto AAH son considerados como aceptables para el consumidor.

Como ya se mencionó anteriormente, el porcentaje de decoloración está estrechamente relacionado con los valores de color superficial, de tal manera que la Figura 7. Muestra similitud con resultados de color superficial. En dicha gráfica se presenta el efecto de tratamiento y tiempo de almacenamiento ($P \leq 0.05$) respecto a la decoloración, y de igual forma no se encontraron diferencias en la interacción (tratamiento por tiempo de almacenamiento). Respecto al efecto de tratamiento, las hamburguesas de todos los tratamientos presentaron un comportamiento similar ($P \geq 0.05$) a partir del sexto día de almacenamiento en refrigeración hasta el día 10 (último día de análisis), presentando valores medios (en la escala de 2.0 a 3.5) lo que indica que los panelistas percibieron una decoloración del 1 al 20%, es decir, no demeritó este atributo sensorial (AMSA, 1995)

En un estudio realizado por Sánchez-Escalante *et al* (2003), encontraron que todas las muestras utilizadas para su estudio mostraron pérdida de color durante el almacenamiento, que se retrasó en distinta medida por el tratamiento con los diferentes antioxidantes, donde el más efectivo fue la combinación de ácido ascórbico con romero ($P \leq 0.05$) obteniendo 0% de decoloración al día 8 de almacenamiento, mientras que las muestras con extracto AAH estudiadas en este trabajo experimental mostraron de 1 a 10% de decoloración al día 8 de análisis. Estas diferencias pueden deberse a que en el estudio realizado por Sánchez-Escalante *et al* (2003) los antioxidantes fueron probados en hamburguesas de res, a diferencia del extracto AAH donde se utilizaron hamburguesas de cerdo, esta discrepancia puede deberse a la diferencia de la composición lipídica entre la carne de res y la de cerdo (Hernández, 2013).

Por otra parte, Polloreña (2012) expresa en su investigación como las hamburguesas de res tratadas con un extracto acuoso de *Agave angustifolia* Haw (EA) mostraron aumento en su decoloración al avance del tiempo de almacenamiento, donde su muestra control al día 7 de estudio obtuvo valores entre 61-100% y el extracto EA mostró valores entre 21-60%, mientras que en el actual análisis las hamburguesas de cerdo control obtuvieron valores entre 11-20% y las hamburguesas con el extracto AAH valores entre 1-10%.

Independientemente de su calidad nutritiva, la carne y los productos cárnicos serán consumidos si resultan apetecibles. Es decir que estos presenten características sensoriales aceptables para el consumidor como olor, sabor, color, etc. A pesar de que el factor limitante en la vida útil de la carne fresca es la carga microbiana, el consumidor la elige por el aspecto que ofrece, principalmente por su color. Tales propiedades sensoriales son demeritadas debido a la influencia de las reacciones de oxidación de la mioglobina y la grasa de la carne que se presentan durante periodos largos de almacenamiento en refrigeración (Djanane *et al.*, 2002). Por tanto, se considera favorable la actividad del extracto AAH sobre la calidad de la carne molida de cerdo, al saber que la carne molida tiende a desarrollar el color café más rápidamente que la carne en cortes enteros (Ho *et al.*, 1996), y pudiendo observar la prolongación del color característico de la carne fresca que se presentó durante el desarrollo de este estudio, las hamburguesas no fueron demeritadas ya que los valores fueron aceptables, de manera que el extracto AAH cumplió el objetivo de su función como antioxidante.

CONCLUSIONES

En base a los resultados observados en el presente estudio, se concluye lo siguiente:

La adición del extracto etanólico de *Agave angustifolia* Haw (AAH) a las hamburguesas de cerdo, permitió retardar los cambios de color y la oxidación lipídica de la carne de forma similar a los compuestos BHT y ácido gálico, durante su almacenamiento en refrigeración.

Los panelistas no detectaron cambios importantes en los atributos sensoriales, pérdida de olor y sabor a fresco, de las hamburguesas a consecuencia de los tratamientos. Sin embargo, se destacaron calificaciones bajas a lo largo del período de refrigeración, lo que indicó un leve deterioro del olor, sabor y color sensorial.

Por otra parte, microbiológicamente, el extracto de AAH sólo mostró capacidad para retardar el crecimiento de las bacterias psicrófilas.

Los resultados en su conjunto, muestran un moderado efecto antioxidante del extracto de AAH al ser adicionado a Hamburguesas de cerdo, por lo que se requiere seguir realizando investigación con extractos obtenidos en diferentes condiciones, o con un extracto de mayor pureza, manipulando distintas concentraciones de uso, así como la fuente cárnica.

RECOMENDACIONES

Es necesario continuar con la evaluación del efecto antioxidante y antimicrobiano del extracto de AAH en otras matrices cárnicas y productos cárnicos bajo diferentes condiciones de refrigeración, o bien, en combinación con otras tecnologías de conservación que ayuden a entender su comportamiento como antioxidante y antimicrobiano.

Continuar con el estudio de diferentes extractos de hojas de *Agave angustifolia* Haw, un subproducto agroindustrial proveniente de la producción del Bacanora, de manera que se prueben distintas concentraciones para obtener la concentración óptima que conserve los parámetros de calidad y por lo tanto, prolongue la vida útil de la carne.

Además, se recomienda también el desarrollo de futuras investigaciones que evalúen otros parámetros para determinar la capacidad antioxidante y antimicrobiana del extracto AAH como el análisis de oxidación de proteínas y microorganismos patógenos. Así mismo, es recomendable realizar futuras investigaciones que nos indiquen a que se debe la capacidad antioxidante y antimicrobiana del extracto AAH en matriz cárnica y que compuestos son los principales que ejercen tal función.

BIBLIOGRAFÍA

- Ade-Ajayi, A. F., Hammuel, C., Ezeayanaso, C., Ogabiela, E. E., Udiba, U. U., Anyim, B., Olabanji, O. (2011). Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of *Agave sisalana* Perrine juice (waste). *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3 (7), 180-183.
- Ahumada-Santos Y. P., J. Montes-Avila, M. J. Uribe-Beltrán, S. Díaz-Camacho, G. López-Angulo, R. Vega-Aviña, J. A. López-Valenzuela, J. B. Heredia, and F. Delgado-Vargas. (2013). Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activities of six *Agave* species from Sinaloa, Mexico. *Industrial Crops and Products*, 49, 143-149.
- Ajila, C. M., Naidu, K. A., Bhat, S. G., & Rao, U. J. S. (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food chemistry*, 105(3), 982-988.
- Aliakbarian, B., Dehghani, F., Perego, P. (2009). The effect of citric acid on the phenolic contents of olive oil. *Food Chemistry*, 116 (3), 617–623.
- AMSA. (1995). *Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Fresh Meat*. American Meat Science Association. U. S. A.
- Arango, C. M., Restrepo, D. A. (2002). *Microbiología de la Carne*. Retrieved from <http://es.scribd.com/doc/8717475/Cap-1-Microbiología-de-La-Carne>
- Bailey, M. E. (1988). Inhibition of warmed-over flavor, with emphasis on Maillard reaction products. *Meat Science*, 59, 187-191
- Banović, M., Grunert, K. G., Barreira, M. M., & Fontes, M. A. (2010). Consumers' quality perception of national branded, national store branded, and imported store branded beef. *Meat Science*, 84(1), 54-65.

- Bech-Larsen, T., Sccholderer, J. (2007). Functional foods in Europe: consumer research, makert experiences and regulatory aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 18(4), 231-234.
- Ben Hamissa, A. M., Seffen, M., Aliakbarian, B., Casazza, A. A., Perego, P., & Converti, A. (2012). Phenolics extraction from *Agave americana*(L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor. *Food and Bioproducts Processing*, 90(1), 17-21.
- Beuchat, L. R. (2000). Use of Sanitizers in Raw Fruit and Vegetable Processing. *Fundamental Aspects and Applications*, Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers Inc., 63–78.
- Brul, S., & Coote, P. (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International journal of food microbiology*,50(1), 1-17.
- Candogan, K. (2002). The effect of tomato paste on some quality characteristics of beef patties during refrigerated storage. *Eur Food Technology*, 215, 305-309.
- Carpenter, R., O'Grady, M. N., O'Callaghan, Y. C., O'Brien, N. M., Kerry, J. P. (2007). Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. *Meat Science*, 76, 604-610.
- Cassens, R. G., Demeyer, D., Eikelenboom, G., Honikel, K. O., Johanson, G., Nielsen, T. (1995). Recommendations of referent methods for assessment of meat colour. In: *Proceedings of the 41st International Congress of meat science and technology*, San Antonio, US.A. August, 20-25.
- Cheah, P.B., Hasim, N. H. A. (2000). Natural antioxidant extract from galangal (*Aplinia galangal*) for minced beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1565-1571.
- Chen, P. Y., Kuo, Y. C., Chen, C. H., Kuo, Y. H., Lee, C. K. (2009). Isolation and immunomodulatory effect of homoisoflavones and flavones from *Agave sisalana* Perrine exEngelm. *Molecules*, 14, 1789–1795.

- Cheyrier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J. M., Sarni-Manchado, P., & Fulcrand, H. (2006). Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 298-305.
- Climent, J. (2000). *Caracterización del Potencial Antioxidante de Diferentes Extractos de Origen Vegetal. Aplicación en Alimentos*. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Universidad Miguel Hernández.
- Coma, J., Piquer, J., & Companys, G. V. (1999). Calidad de carne en Porcinos: Efecto de la Nutrición. XV curso de especialización avances en nutrición y alimentación animal. 1-4.
- Cortés, T. G. F., Mora, F. J. S., García, M. R., Ramírez, V. G. (2011). Study of pork consumption in the metropolitan area of the Valley of Mexico, 20(40), 1-3.
- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582.
- Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
- Davidson, P. M., Branen, A. L. (2001). *Antimicrobials in Foods (50-200)*. New York, USA: Marcel Dekker Inc.
- Decker, E. A., Faustman, C., López-Bote, C. J. (2000). *Antioxidants in Muscle Foods: Nutritional Strategies to Improve Quality (449-500)*. USA: Ed Wiley-Interscience.
- Devcich, D. A., Pedersen, I. K., & Petrie, K. J. (2007). You eat what you are: Modern health worries and the acceptance of natural and synthetic additives in functional foods. *Appetite*, 48(3), 333-337.
- Doores, S. (1993). Organic acids. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 95-95.

- Douglas, L., Farid, M., Hui, Y. M., Nip, W., Rogers, R., Young, O. (2001). Microbiology of Meats. Meat Science and Applications, 7.
- Elmarie, V. W., & Johan, C. P. (2001). Purification and identification of active antibacterial component in *Carpobrotus edulis*, 87-91.
- Escamilla, T. L. L. (2012). Potential of Plants from the Genus *Agave* as Bioenergy Crops. Bioenergy Research, 5, 1-9.
- Escarpa, A., & González, M. C. (2001). Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 427(1), 119-127.
- FAO, (2011). Pérdidas y desperdicios de alimentos en el mundo. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/016/i2697s/i2697s.pdf>
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., & Suman, S. P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86(1), 86-94.
- Fernández, A., Izquierdo, P., Valero, K., Allara, M., Piñero, M., García, A. (2006). Effect of time and storage temperature on microbiological quality of hamburger meat. *Revista Científica*, 16(4), 428-437.
- Formanek, Z., Kerry, J. P., Higgins, F. M., Buckley, D. J., Morrissey, P.A., Farkas, J. (2001). Addition of synthetic and natural antioxidants to alpha-tocopheryl acetate supplemented beef patties: Effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. *Meat Science*, 58, 337-341.
- Frazier, W. C., Westhoff, D. C. (2003). *Microbiología de los Alimentos*.
- Fung, E. T., Thulasiraman, V., Weinberger, S. R., & Dalmaso, E. A. (2001). Protein biochips for differential profiling. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(1), 65-69.

- García, D. M., Saenz, T. M., Puerta, R., Quilez, A., Fernández, A. M. (1999). Antibacterial activity of *Agave intermixta* and *Cissus sicyoides*. *Fitoterapia*, 70 (1), 71-73.
- García-Herrera, E. J., Méndez-Gallegos, S. J., Talavera-Magaña, D. (2010). El género *Agave* spp. en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 5, 109-129.
- García-Mendoza, A. (2002). Distribution of *Agave* (Agavaceae) in Mexico. *Cactus and Succulent Journal*, 74(4), 177-187.
- Gimferrer, N. (2012). La carne de cerdo. Retrieved from <http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/carnes-huevos-y-derivados/2012/07/18/211485.php>
- Glass, K., & Sindelar, J. (2010). Controlling *Listeria monocytogenes* in natural, ready-to-eat meat and poultry products. American Meat Institute Foundation. Retrieved from <http://amif.org/ht/a/GetDocumentActivity/i/62610>, Accessed 28.12. 10.
- Glitsch, K. (2000). Consumer perceptions of fresh meat quality: cross-national comparison. *British Food Journal*, 102(3), 177-194.
- Gómez, L., Ponce-alquicira, E., Ernlund, R., Rubio, M. S. (2013) Effects of natural antimicrobials on microbiological stability, pH, aspect and sensory properties of ground beef patties stored under refrigeration. *Rev Mex Cienc Pecu*, 4(3), 255-270.
- Grunert, K. G., Bredahl, L., Brunson, K. (2004). Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector. A review. *Meat Science*, 66, 259-272.
- Guerrero, I., Mendiola, R., Ponce, E. y Prado, A. (1995). Inoculation of lactic acid bacteria on meat substrates as a means of decontamination. *Meat Science*, 40, 397-411.
- Guerrero, L.I. (1993). Productos cárnicos. *Biotecnología Alimentaria*, 225-262.

- Gutiérrez-Coronado, M., Acedo-Félix, E., Valenzuela-Quintanar, A. (2007). Industria del Bacanora y su Proceso de Elaboración. *Journal of Food*, 5(5), 394-404.
- Hammuel, C., Ezeayanaso, C., Ogabiela, E. E., Udiba, U. U., Anyim, B., & Olabanji, O. (2011). Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of Agave sisalana Perrine juice (waste). *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology* Vol, 3(7), 180-183.
- Hassan, S. M., Haq, A. U., Byrd, J. A., Berhow, M. A., Cartwright, A. L., Bailey, C. A. (2010). Haemolytic and Antimicrobial Activities of Saponin-rich Extracts from Guar Meal. *Food Chemistry*, 119, 600–605.
- Hayes, P. R. (1993). *Microbiología e higiene de los alimentos*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 369 p.
- Hayes, J. E., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M. N., O'Brien, N. M., Kerry, J. P. (2009). The Effect of Lutein, Sesamol, Ellagic Acid and Olive Leaf Extract on Lipid Oxidation and Oxymyoglobin Oxidation in Bovine and Porcine Muscle Model Systems. *Meat Science*, 83(2), 201-208.
- Hayes, J. E., Stepanyan, V., O'Grady, M. N., Allen, P., Kerry, J.P. (2010). Evaluation of the effects of selected phytochemicals on quality indices and sensorial properties of raw and cooked pork stored in different packaging systems. *Meat Science*, 85(2), 289-296.
- Hernández, A. R. (2013). Evaluación de la capacidad antioxidante y antibacteriana de ácido ferúlico y ferulato de etilo en carne fresca de res. Tesis de Maestría CIAD.
- Ho, C. P., McMillin, K. W., Huang, N. Y. (1996). Ground beef lipid, color and microsomal stability in gas exchange modified atmosphere packaging. *IFT Meeting Proceedings*, 22-26.
- Hui, Y. H. Wai-Kit, N., Rogers, R. W., Young, O. A. (2001). *Meat Science and Applications*: CRC Press. New York, USA: Marcel Dekker Inc.

- Huí, Y. H., Guerrero, I. y Rosmini, M. R. (2006). *Ciencia y Tecnología de Carnes*. México, D. F.: Editorial LIMUSA.
- Húngaro, H. M., Peña, W. E. L., Silva, N. B. M., Carvalho, R. V., Alvarenga, V. O., Sant'Ana, A. S. (2014). Food Microbiology. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 213 – 231.
- Iñiguez-Covarrubias, G., Díaz-Teres, R., Sanjuan-Dueñas, R., Anzaldo-Hernández, J., & Rowell, R. M. (2001). Utilization of by-products from the tequila industry. Part 2: potential value of *Agave tequilana* Weber *azul* leaves. *Bioresource Technology*, 77(2), 101-108.
- Izarzugaza. (Año no especificado). *Conserva y almacenamiento de carne*. Retrieved from http://izarzugaza.com/index.php?option=com_content&view=article&id=84:conservarcarnenevera&catid=15:wiik&Itemid=107&lang=es
- Jay, J. (1978). *Microbiología Moderna de los Alimentos*. Editorial Acribia. 2da edición, 491.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., & Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat science*, 59(1), 5-13.
- Jongberg, S., Skov, S. H., Tørngren, M. A., Skibsted, L. H., & Lund, M. N. (2011). Effect of white grape extract and modified atmosphere packaging on lipid and protein oxidation in chill stored beef patties. *Food Chemistry*, 128(2), 276-283.
- Judge, M., Aberle, E., Forrest, J., Hedrich, H., Merkel, R. (1989). Chapter 6. *Principles of Meat Science* (125-133). Dubuke, Iowa: Kendall and hunt publishing.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S., Bauer, F. (2006). The oxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. *Meat Science*, 72, 446-456.
- Kaneria, M., Baravalia, Y., Vaghasiya, Y., & Chanda, S. (2009). Determination of antibacterial and antioxidant potential of some medicinal plants from Saurashtra region, India. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 71(4), 406.

- Karakaya, S. (2004). Bioavailability of phenolic compounds. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(6), 453-464.
- Knipe, C. L. (2000). Principios de la química cárnica. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/839>
- Knock, R. C., Seyfert, M., Hunt, M. C., Dikeman, M. E., Mancini, R. A., Unruh, J. A., Higgins, J. J., Monderen, R. A. (2006). Effects of potassium lactate, sodium chloride, sodium tripolyphosphate, and sodium acetate on colour, colour stability, and oxidative properties of injection-enhanced beef rib steaks. *Meat Science*, 74, 312-318.
- Kong, B., Zhang, H., Xiong, Y. L. (2010). Antioxidant Activity of Spice Extracts in a Liposome System and in Cooked Pork Patties and the Possible Mode of Action. *Meat Science*, 85(4), 772-778.
- Kopper, G., Calderón, G., Schneider, S., Domínguez, W., Gutiérrez, G. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. División de Infraestructura Rural y Agroindustrias de la FAO, 1-10.
- Lawrence, T. E., Dikeman, M. E., Hunt, M. C., Kastner, C. L., Johnson, D. E. (2004). Effects of enhancing beef longissimus with phosphate plus salt, or calcium lactate plus non-phosphate water binders plus rosemary extract. *Meat Science*, 67, 129-137.
- Lawrie, R. A., Barrado, A. M., Buesa, P. L. L., Esteban, B. M. (1998). *Ciencia de la carne*. Zaragoza: Acribia.
- Lee, S. H., Choe, J. H., Choi, Y. M., Jung, K. C., Rhee, M. S., Hong, K. C., Lee, S. K., Ryu, Y. C., Kim, B. C. (2012). The influence of pork quality traits and muscle fiber characteristics on the eating quality of pork from various breeds. *Meat Science*, 90(2), 284-291.
- Lund, M. N., Lametsch, R., Hviid, M. S., Jensen, O. N., & Skibsted, L. H. (2007). High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage. *Meat Science*, 77(3), 295-303.

- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Martínez, L., Cilla, I., Beltrán, J. A., Roncalés, P. (2006) Antioxidant effect of Rosemary, borage, green tea, pu-erh tea and ascorbic acid on fresh pork sausages packaged in a modified atmosphere: influence of the presence of sodium chloride. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(9), 1298-1307.
- McCarthy, T. L., Kerry, J. P., Kerry, J. F., Lynch, P. B., & Buckley, D. J. (2001). Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Science*, 58(1), 45-52.
- Meinert, L., Christiansen S.C., Kristensen L., Bjerregaard C., Aaslyng M.D. (2008). Eating quality of pork from pure breeds and DLY studied by focus group research and meat quality analyses. *Journal of Meat Science*, 80(2), 304-314.
- Minor-Pérez, H., Ponce-Alquicira, E., Macias-Bravo, S., Guerrero-Legarreta, I. (2002). Conservación de la carne fresca de cerdo por fermentación láctica: Efecto sobre el color, la textura y la formación de los ácidos grasos libres. *Revista Mexicana de ingeniería Química*, 1, 73-80.
- Muñoz, D. C., Ledesma, S. J., Chávez, V. A., Pérez-Gil, R. F., Mendoza, M. E., Castañeda, L. J., Calvo, C., Castro, G. I., Sánchez, C. C., Ávila, C. A. (2002). *Los Alimentos y sus Nutrientes. Tablas de Valor Nutritivo de Alimentos*. Mc Graw Hill Interamericana, México. 203 p.
- Nam, K. C., Ko, K. Y., Min, B. R., Ismail, H., Lee, E. J., Cordray, J., Ahn, D. U. (2006). Effects of oleoresin-tocopherol combinations on lipid oxidation, off-odor, and color of irradiated raw and cooked pork patties. *Department of Animal Science*, 75(2007), 61-70.
- Narvaez, Z. J., Sánchez, T. F. (2009). Agaves as a raw material, recent technologies and applications. *Recent Patents on Biotechnology*, 3(3), 1-7.

- Naveena, B. M., Sen, A. R., Vaithyanathan, S., Babji, Y., Kondaiah, N. (2008). Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Science*, 80, 304-308.
- Nawar, W. W. (1996). Lipids in Food Chemistry. In Fennema (780-781). New York, USA: Marcel Dekker, Inc.
- Negi P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int. J. Food Microbiology*, 156(1), 7-17.
- NOM-092-SSA1 (1994). Norma Oficial Mexicana. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de aerobias en placa. México, D.F.
- NOM-110-SSA1 (1994) Norma Oficial Mexicana. Bienes y servicios, preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México, D.F.
- Ogden, S.K., Taylor, A.J., Guerrero, I., Escalona, H. y Gallardo, F. (1995). Changes in odour, colour and texture during the storage of acid preserved meat *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28, 521-527.
- Over, K. F., Hettiarachchy, N., Johnson, M. G., Davis, B. (2009). Effect of Organic Acids and Plant Extracts on *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* in Broth Culture Model and Chicken Meat Systems. *Journal of Food Science*, 74, 515–521.
- Pandima, D. K., Arif, N. S., Sakthivel, R., Karutha, P. S. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *Journal of Ethnopharmacology*, 130 (1), 107-115.
- Papanagiotou P, Tzimitra-Kalogianni I, Melfou K. (2012). Consumers expected quality and intention to purchase high quality pork meat. *Journal of Meat Science*, 93, 449–454.

- Paredes, I. J. F., Orozco, H. R. J., Verdin, S. H., Montanez, V. D. O., Alvarado, L. E., Fuentes, H. O. V. (2009). Effect of Alkali Treatment of *Agave azul tequilana* Bagasse on the Pelibuey Lamb Intake and Apparent Digestibility. *Biological Sciences*, 4 (11), 1132-1134.
- Pérez, J. R. N. (2012). Carne de porcino. Retrieved from <http://www.ugrpg.org.mx/PORCINOTICIAS/Panorama.pdf>
- Perron, N. R., & Brumaghim, J. L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics*, 53(2), 75-100.
- Pfalzgraf, A., Frigg, M. y Steinhart, H. (1995). Alpha tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and adipose tissue during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(5), 1339-1342.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M. (2001). *Antioxidants in food*. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited.
- Pollorena L. G. (2012). Capacidad antioxidante y antimicrobiana de extractos de *Agave Angustifolia* Haw y su efecto sobre la calidad de hamburguesas de res. Tesis de Maestría CIAD.
- Qiu, X., & Wu, V. C. (2007). Evaluation of *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in ground beef with cranberry concentrate by thin agar layer method. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 15(3), 282-294.
- Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., & Martín-Belloso, O. (2009). Antimicrobial activity of malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis* and *Escherichia coli* O157: H7 in apple, pear and melon juices. *Food Control*, 20(2), 105-112.
- Resurreccion, A. V. A., Reynolds, A. E. (1990). Evaluation of natural antioxidants in frankfurters containing chicken and pork. *Journal of Food Science*, 55, 629-631.

- Rhee, K. S., Anderson, L. M., Sams, A. R. (1996). Lipid oxidation potential of beef, chicken, and pork. *Journal of Food Science*, 61(1), 8-12.
- Ribeiro, D. B., Alviano, S. D., Barreto, W. D., Coelho, Z. A. M. (2013). Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and jua (*Ziziphus joazeiro*): critical micellar concentration, antioxidant and antimicrobial activities. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 436, 736-743.
- Rizwan, K., Zubair, M., Rasool, N., Riaz, M., Zia-UI-Haq, M., & de Feo, V. (2012). Phytochemical and biological studies of *Agave attenuata*. *International journal of molecular sciences*, 13(5), 6440-6451.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10), 2866-2887.
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estévez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(10), 5625-5635.
- SAGARPA. INIFAP. (Año no especificado). Siembra de agave en los agostaderos de la sierra de Sonora para la producción de mezcal Bacanora. Retrieved from <http://www.siac.org.mx/tecnos/6211.pdf>
- Salazar, V., & Mungaray, A. (2009). La industria informal del mezcal bacanora. *Estudios Sociales, Revista de Investigación del Noroeste*, (33).
- Sampaio, G. R., Saldanha, T., Soares, R. A. M., Torres, E. A. F. S. (2012). Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. *Food chemistry*, 135(3), 1383-1390.

- Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torresco, G., Beltrán, J. A., Roncalés, P. (2003) Antioxidant action of borage, Rosemary, oregano and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. *Journal of Food Science*, 68(1), 339-344.
- Sánchez, E. A., Torresco, U. G. R., Camou, A. J. P., González, M. N. F., Hernández, W. G. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de carne y los productos cárnicos. *NACAMEH*, 2(2), 124-159.
- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Rémésy, C. (2002). Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(6), 276-282.
- Selani, M. M., Contreras-Castillo, C. J., Shirahigue, L. D., Gallo, C. R., Plata-Oviedo, M., & Montes-Villanueva, N. D. (2011). Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage. *Meat Science*, 88(3), 397-403.
- Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2009). Antibacterial and antioxidant effects of five spice and herb extracts as natural preservatives of raw pork. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(11), 1879-1885.
- Shah, M.A., Sowriappan, J. D.B., Shabir, A.M. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98, 21-33.
- Sherbeck, J. A., Wulf, D. M., Morgan, J. B., Tatum, J. D., Smith, G. C., Williams, S. N. (1995). Dietary supplementation of vitamin E to feedlot cattle affects beef retail display properties. *Journal of Food Science*, 60(2), 250-252.
- Sofos, J. N., Busta, F. F., & Allen, C. E. (1979). Clostridium botulinum control by sodium nitrite and sorbic acid in various meat and soy protein formulations. *Journal of Food Science*, 44(6), 1662-1667.

- Tomás-Barberán, F. A., & Espin, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 853-876.
- Tomas-Barberan, F. A., & Gil, M. I. (Eds.). (2008). *Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products*. Elsevier.
- Torus, A. (2005). *¿Carne pasteurizada?*. Carnetec. Chile, 48 p.
- Trindade, R. A., Lima, A., Andrade-Wartha, E. R., Oliveira e Silva, A. M., Mancini-Filho, J., Villavicencio, A. L. C. H. (2009). Consumer's evaluation of the effects of gamma irradiation and natural antioxidants on general acceptance of frozen beef burger. *Radiation Physics and Chemistry*, 78, 293- 300.
- Uribe, B. M. P. (2009). Efecto de la adición de lactato de sodio sobre la conservación de la carne de bovino de corte oscuro envasada al vacío, almacenada a 4° C. Valdivia, Chile.
- Vaithyanathan, S., Naveena, B. M., Muthukumar, M., Girish, P. S., & Kondaiah, N. (2011). Effect of dipping in pomegranate (*Punica granatum*) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4° C). *Meat science*, 88(3), 409-414.
- Vargas-Sánchez, R. D., Torrescano-Urrutia, G. R., Acedo-Félix, E., Carvajal-Millán, E., González-Córdova, A. F., Vallejo-Galland, B., Torres-Llanez, M. J., Sánchez-Escalante, A. (2014). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Commercial Propolis Extract in Beef Patties. *Journal of food science*, 79(8), 1499-1504.
- Vega-Vega V. (2011). *Enriquecimiento de la Capacidad Antioxidante y Protección Antimicrobiana del Mango Fresco Cortado Aplicando Compuestos Fenólicos de sus Subproductos*. Tesis de Maestría. Hermosillo, Sonora, México: Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.

- Verástegui, M., Sánchez, C. A., Heredia, N. L., & García-Alvarado, J. S. (1996). Antimicrobial activity of extracts of three major plants from the Chihuahuan desert. *Journal of ethnopharmacology*, 52(3), 175-177.
- Verástegui, Á., Verde, J., García, S., Heredia, N., Oranday, A., & Rivas, C. (2008). Species of Agave with antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria and fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(7), 1249-1252.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds. 151-196.
- Warriss, P. D. (2010). An introductory Text. In *Meat Science* (37-117). New York, USA: CABI publishing.
- Williams, A. A., Atkins, R. K. (1983). *Sensory Quality in Food and Beverages* (272-276). Chichester, UK: Ellis Howood Ltd.
- Xiong, Y. L., & Decker, E. A. (1995). ALTERATIONS OF MUSCLE PROTEIN FUNCTIONALITY BY OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE PROCESSES. *Journal of Muscle Foods*, 6(2), 139-160.
- Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M. T., Newmark, H. L. (2001). Inhibition of Carcinogenesis by Dietary Polyphenolic Compounds. *Annual Reviews of Nutrition*, 21, 381-406.
- Yanishlieva, N. (2001). Inhibiting Oxidation. En *Antioxidants in Food: Practical applications* (22-70). Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
- Yin, M. C., Cheng, W. S. (1997). Oxymyoglobin and lipid oxidation in phosphatidylcholine liposomes retarded by α -tocopherol and β -carotene. *Journal of Food Science*, 62, 1095-1097.

ANEXOS

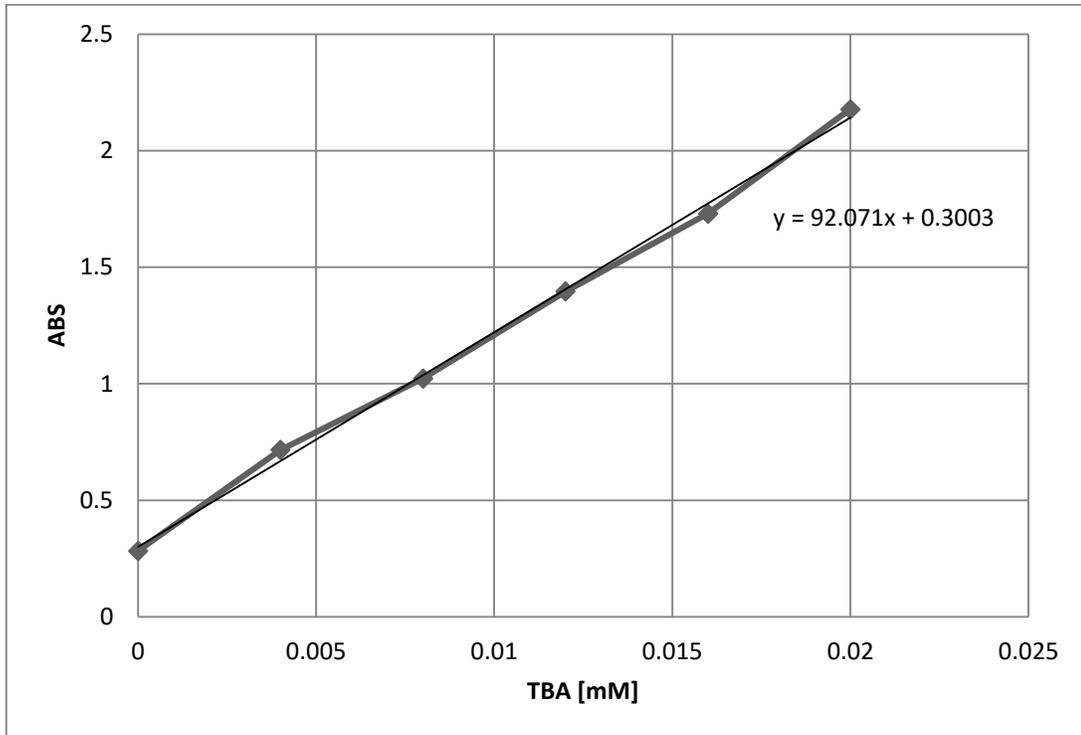


Figura 9. Curva estándar de 1,1,3,3-tetrametoxipropano.