

## Efecto de la incorporación de propóleo sobre la capacidad antioxidante en hamburguesas de carne de pollo (*Gallus gallus domesticus*)

Guerra-Cuevas, M.G.<sup>1</sup>, Núñez Valle, M.A.<sup>1</sup>, González-Arredondo, M.G.<sup>1</sup>, Cerón-García, A.<sup>2</sup>, Ávila-Ramos, F.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidad Tecnológica del Suroeste de Guanajuato, Carretera Valle de Santiago-Huanímaro, Km. 1.2, Valle de Santiago, Guanajuato. Universidad de Guanajuato Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de la Vida, <sup>2</sup>Departamento de Alimentos y <sup>3</sup>Departamento de Veterinaria y Zootecnia, ex Hda. el Copal km 9, Carr. Irapuato-Silao, C.P. 36500, Irapuato, Guanajuato, México.

**RESUMEN:** Uno de los principales problemas que enfrenta la industria cárnica es su deterioro producido por oxidación lipídica, ello trae consigo el empleo de aditivos sintéticos, sin embargo, se ha encontrado que pueden ser promotores de tumores. Como consecuencia se buscan nuevas alternativas naturales de aditivos alimentarios. Se ha demostrado que el propóleo posee efectos antioxidantes y antimicrobianos atribuidos a sus compuestos fenólicos. El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad antioxidante del extracto etanólico del propóleo en carne de pollo a diferentes concentraciones (50, 100 y 200 mg/kg), como control se tiene un tratamiento sin propóleo y como testigo un antioxidante comercial (BHT), evaluados a diferentes días 0, 3, 6 y 9 y 12. A lo largo del experimento no se presentaron diferencia significativa entre los tratamientos a excepción del día 3 con el T5. Los resultados demostraron que la adición de propóleo en los diversos tratamientos a una concentración de 50, 100 y 200 mg de fenoles por Kg de carne comparado con un control y un antioxidante natural no presentaron diferencia significativa entre ellos referente a la actividad antioxidante en hamburguesas de carne de pollo almacenadas en refrigeración.

**Palabras clave:** Oxidación, propóleo, actividad antioxidante.

**ABSTRACT:** One of the main problems facing the meat industry is its deterioration produced by the oxidation of lipids, which entails the use of synthetic additives, however, it has been found that they can be tumor promoters. As a result, new natural alternatives for food additives are being sought. It has been shown that propolis has antioxidant and antimicrobial effects attributed to phenolic compounds. The objective of the research was to evaluate the antioxidant capacity of the ethanol extract of propolis in chicken meat in different concentrations (50, 100 and 200 mg/kg), as a blank there is a treatment without propolis and as a control a commercial antioxidant (BHT), evaluated at 0, 3, 6, 9 and 12 days. The results showed that the addition of propolis in the different treatments at a concentration of 50, 100 and 200 mg of phenols per kg of meat compared to a control and a natural antioxidant did not show significant differences between them, and did not generate any significant effect about antioxidant activity in chicken meat burgers stored in refrigeration.

**Keywords:** Oxidation, propolis, antioxidant activity.

**Área:** Cárnicos

### INTRODUCCIÓN

La carne de pollo es un alimento ampliamente consumido, seguido del bovino y porcino (INEGI). En el 2017 se produjeron 3.5 millones de toneladas de carne de pollo, siendo el cárnico de mayor producción en México. Existen diversos factores que favorecen el consumo de carne de pollo en nuestro país: Puntos de venta más cerca del consumidor, confianza en la calidad de los productos (frescura), precios accesibles, tendencia de consumo hacia carnes con bajo contenido de grasa y el sabor neutro que permite diferentes variedades de preparación.

En la industria cárnica una de las principales causas que afecta la calidad productos cárnicos es la oxidación de lípidos y proteínas causando deterioro en la calidad de estos. Las proteínas en los alimentos cárnicos son propensas a la oxidación durante el procesamiento y almacenamiento, lo que conduce a la pérdida de aminoácidos y solubilidad, cambios en la textura, formación de carbonilo,

alteraciones en la funcionalidad de las proteínas y disminución del contenido de sulfhídrido (Vongsak, 2015).

Para superar este problema se emplean conservadores y aditivos los cuales le proporcionan mayor durabilidad al producto, sin embargo, se ha reportado que el uso de algunos de estos antioxidantes sintéticos está relacionado con efectos tumorales, por lo que una forma de sustituir estos aditivos es con la aplicación de compuestos fenólicos (antioxidantes de origen natural). Estos se encuentran de manera natural en el propóleo. El propóleo es elaborado por las abejas a partir de resinas, polen y secreciones, es usado para proteger los panales y tiene propiedades antibactericidas (Farré, 2004; Bankova, 2002). Pueden remover a los radicales libres, proteger a los lípidos y la vitamina C de ser destruidos en el proceso oxidativo. Investigaciones mencionan que la concentración de fenoles en el propóleo lo hacen un excelente antioxidante (Vongsak, 2015).

Sin embargo, hasta la fecha, son pocos los estudios donde se ha investigado la eficacia del efecto de los fenoles contenidos en el propóleo sobre la estabilidad oxidativa en alimentos cárnicos. Por consiguiente, el presente estudio se llevó a cabo para determinar el poder antioxidante del propóleo en carne de pollo a lo largo de 12 días empleando el extracto de propóleo a diferentes concentraciones.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron los fenoles de propóleo a diferentes concentraciones para evaluar la capacidad antioxidante en carne de pollo. El propóleo usado fue colectado de colmenas *Apis mellifera* por el método de raspado. Para el experimento se empleó carne de gallina (*Gallus gallus domesticus*) procedente de la pierna y muslo, a las piezas se le retiró el hueso y grasa (cuero y pellejo) para molerla a través de una máquina de 3/16 pulgadas (Molino de carne, Torrey M-12, México). La carne obtenida fue dividida en cinco partes iguales e inmediatamente se adicionó el agente antioxidante mezclado con 3% de aceite de soya (Nutrioli®, México). Como agentes antioxidantes, se evaluaron los siguientes niveles: 50, 100 y 200 mg de fenoles/ kg de carne (T2, T3 y T4, respectivamente. Esta concentración fue previamente validada en propóleo), un tratamiento (control, T1) y un tratamiento testigo de BHT al 0.02% (T5). Posteriormente, se prepararon hamburguesas de 150 g de 1 cm de grosor y 10 cm de diámetro, se cocieron en una plancha a 350 °C (Oster® CKSTSK1712-013, México) durante 10 min hasta alcanzar una temperatura interna de 74 °C. Inmediatamente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se subdividieron en cinco partes iguales para entonces cubrirse con una película plástica permeable al oxígeno, para posteriormente, evaluar la capacidad antioxidante por el método DPPH, de las muestras evaluadas fueron mantenidas en refrigeración a  $4 \pm 2$  °C durante 12 días (0, 3, 6, 9 y 12 días)

Determinación de capacidad antioxidante en carne: Para estimar la capacidad antioxidante de la carne se usó el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (Aldrich, 1898-66-4, Alemania). A una muestra de 1 g de carne se le adicionó 5 mL de CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH al 80% para macerar, se dejó reposar durante 60 min en la oscuridad, posteriormente la muestra es sometida a una centrifugación a 2,060 rpm durante 10 min. Se tomaron 10 µL del sobrenadante y se adicionaron 1990 µL de una solución de DPPH (7.5 mg en 100 mL de CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH al 80%) para agitar en el vortex. La muestra se dejó reposar durante 30 min a 25° C en la oscuridad para medir su absorbancia a 517 nm. La actividad antioxidante de los fenoles en carne se expresa como equivalentes de trolox por g de propóleo. La curva estándar se generó usando 1 mg de Trolox/mL ( $r^2= 0.99$ ).

Análisis de datos: La variable de respuesta fue capacidad antioxidante en un modelo lineal generalizado con el procedimiento MIXED de SAS con un arreglo completamente al azar. Las medias se compararon con la prueba Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método DPPH evalúa el secuestro de un radical libre que se puede obtener directamente disolviendo el reactivo en un medio orgánico. La reducción del DPPH se monitorea por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el DPPH absorbe

a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece (Herrera Rincon, 2016).

Los resultados del efecto antioxidante se presentan en la Tabla 1. En el día uno el T3 presentó el valor más alto seguido del T5, T4, T1 y T2 respectivamente, sin embargo, no existe alguna diferencia significativa entre cada uno de los tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). Para el día 3 el T5 presentó una diferencia significativa en comparación a los demás tratamientos y con un efecto antioxidante mayor. En el día seis los tratamientos T3 y T5 presentaron valores superiores ( $P \leq 0.05$ ), seguidos del T4, T1 y T2, respectivamente. El día nueve el T3 presentó el valor más alto seguido del T2, T4, T1 y T5, respectivamente ( $P \leq 0.05$ ), para el día 12 tampoco existe alguna diferencia significativa entre los tratamientos.

Como se puede observar a lo largo del experimento no hubo ninguna diferencia significativa entre los tratamientos a excepción del día 3 con el T5. Esto puede ser atribuido a la susceptibilidad de algunos compuestos bioactivos presentes en el propóleo los cuales son susceptibles a temperaturas elevadas y cambios de pH, lo que pudo ocasionar su degradación al paso de los días y el no presentar alguna diferencia entre los tratamientos (Wrolstad, 2005). No obstante, al analizar los valores obtenidos se puede observar que el T3 en el día uno con una concentración de 100 mg de fenoles/kg de carne presentó el valor más alto con 61.4845 mg ET/g de propóleo indicando un mejor efecto del propóleo a dicha concentración, seguido del T5 y T4 con 60.2734 y 60.2355 mg ET/ gr de propóleo, respectivamente, los cuales corresponden al antioxidante artificial y el tratamiento con la concentración de 200 mg de fenoles/Kg de carne. El día 3 el T5 presentó diferencia significativa a comparación de los demás tratamientos y un efecto antioxidante mayor con 59.8492 mg ET/ g de propóleo. Si comparamos su efecto en el transcurso del tiempo se puede observar en el día uno los valores son superiores en comparación con los demás tratamientos.

**Tabla 1.** Actividad antioxidante (mg equivalentes de Trolox/g) en hamburguesas de carne de pollo almacenadas en refrigeración.

Tratamiento	DIA				
	UNO	TRES	SEIS	NUEVE	DOCE
T1	53.7107 ±14.4 a	30.3550 ±31.4 a	59.4079 ±1.75 a	56.4822 ±2.750 a	22.8279 ±30.4 a
T2	50.6010 ±25.1 a	38.3124 ±30.7 a	59.3807 ±2.044 a	56.8593 ±1.51 a	18.8483 ±28.89 a
T3	61.4845 ±1.53 a	30.8985 ±31.9 a	60.0052 ±1.85 a	57.2247 ±1.22 a	26.5405 ±31.1 a
T4	60.2355 ±0.98 a	36.8334 ±31.1a	59.8642 ±3.72 a	56.6089 ±2.005 a	16.4574 ±28.1 a
T5	60.2734 ±0.990 a	59.8492 ±2.26 b	60.0569 ±1.89 a	55.9334 ±2.42 a	14.1389 ±26.28 a

a-d Literales similares en la misma columna no tienen diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ). Donde, T1= Sin antioxidante, T2= 50 mg de fenoles por kg de carne, T3= 100 mg de fenoles por kg de carne, T4= 200 mg de fenoles por kg de carne, T5= 0.02% de Butilhidroxitolueno

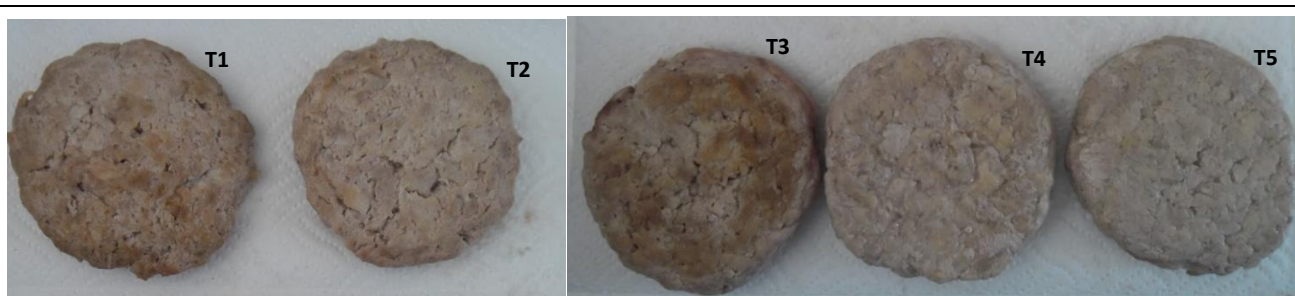
Para el día 3 existe una disminución drástica de los valores a excepción del T5, cabe mencionar que esta técnica es muy sensible y puede existir posibilidad de interferencias, por ejemplo, se pueden producir interacciones entre la especie que genera los radicales y los compuestos antioxidantes de la muestra o producir interacciones entre el sustrato de la reacción de oxidación y la muestra alterando los resultados. Además, algunos antioxidantes reaccionan rápidamente con los radicales DPPH y una serie de reacciones secundarias lentas pueden causar una disminución progresiva de la absorbancia, por lo que no puede alcanzarse el estado estacionario hasta al cabo de varias horas (Pokorny *et al.*, 2005).

En el día seis existe un aumento en comparación con día anterior con valores entre 60 y 59 mg de ET/g de propóleo con disminución hasta el día 12; cabe señalar que los compuestos bioactivos durante la elaboración de productos cárnicos, pueden ser susceptibles a cambios que afecten su estabilidad y biodisponibilidad, como lo menciona Decker y Park (2010) al incorporar nuevos ingredientes deben considerarse factores como eficacia biológica en seres humanos, estabilidad en el alimento y el impacto en las características de calidad. Durante el procesamiento y almacenamiento de estos alimentos,

intervienen aspectos que pueden modificar su composición. En dichas etapas pueden suceder cambios ya sea incrementando la densidad de ciertos nutrientes o la pérdida de otros.

De acuerdo con Pokorny *et al.*, (2005) el método DPPH es útil para la búsqueda de nuevos antioxidantes, pero no cuando se pretende valorar la actividad de un antioxidante en un alimento, ya que su actividad en este caso depende de factores tales como la polaridad, solubilidad y la actividad quelante de metales.

Estos resultados (figura 1) demuestran que la adición de los diferentes tratamientos a la concentración de 50, 100 y 200 mg de fenoles por Kg de carne en comparación con un control y un antioxidante comercial no generó ningún efecto significativo, anteriormente se describió algunas de las causas que pudieron intervenir.



**Figura 1.** Se observan las hamburguesas de pollo cocidas con un tiempo de almacenamiento de 3 días, se pueden observar cambios de color; donde T1 y T3 presentan tonos cafés (pardeamiento) y T2, T4 y T5 con tonalidades rosadas/blanquecinas y uniformes. Esto posiblemente debido a procesos oxidativos en el momento de la cocción.

### CONCLUSIÓN

Mediante este experimento se demostró que, a diferentes concentraciones en este caso a 50, 100 y 200 mg de fenoles por Kg de carne no se generó algún efecto significativo comparado con un control y un antioxidante natural. Con lo anterior, queda de manifiesto la importancia de evaluar el método a utilizar para determinar la capacidad antioxidante ya que los distintos métodos difieren en el agente oxidante, en el sustrato empleado, en la medida del punto final, en la técnica instrumental utilizada y en las posibles interacciones de la muestra con el medio de reacción; así como el efecto que este genera cuando el alimento es sometido a cambios que afecten su estabilidad y biodisponibilidad como temperaturas altas o molienda; y comprobar de manera adecuada la efectividad que tienen los diversos compuestos presentes en extractos naturales como una alternativa de uso como conservador natural a nivel industrial.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bankova V, P. M. (2002). Chemical composition of European propolis: Expected and unexpected results. *Zeitschrift für Naturforschung*.
- Farré R, F. I. (2004). El propolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*.
- Herrera Rincon, F. R. (2016). Obtención de antioxidantes a partir del epicarpio de café (*Coffea arabica* L.) empleando fluidos presurizados, una alternativa de aprovechamiento para este residuo agroindustrial. Bogotá: Universidad Libre. Obtenido de <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10362>.
- Nagai, T., M. Sakai, R. Inoue, H. Inoue, y N. Suzuki. 2001. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry* 75:237-240.
- Pokorny, J., Yanhislieva, N., & Goldon, M. (2005). *Antioxidantes de los alimentos, aplicaciones prácticas*. Editorial Acribia, S.A Zaragoza. (España). 750 p
- Russo, A., N. Troncoso, F. Sanchez, J Garbarino, y A. Vanella (2006). Propolis protect human spermatozoa from DNA damage caused by benzo[a]pyrene and exogenous reactive oxygen species. *Life sciences* 78:1401-1406.

- Vongsak B, K. S. (2015). In vitro alpha glucosidase inhibition and free-radical scavenging activity of propolis from Thai stingless bees in mangosteen orchard. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 25:445–450.
- Wrolstad, R. E. (2005). Anthocyanins. In G. J. Lauro & F. J. Francis (Eds.), *Natural food colorants* New York: Basel, Marcel Dekker, Inc.pp. 237-252.



