



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS

CAMPUS CÓRDOBA
POSGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA
SUSTENTABLE

ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE POLLO
ADICIONADA CON MIEL DE ABEJA SIN AGUIJÓN
Scaptotrigona mexicana

RICARDO NEPOMUCENO IRENE

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

AMATLÁN DE LOS REYES VERACRUZ, MÉXICO

JUNIO, 2017

**ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE POLLO ADICIONADA CON MIEL
DE ABEJA SIN AGUIJÓN *Scaptotrigona mexicana***

La presente tesis: “Estabilidad oxidativa de la carne de pollo adicionada con miel de abeja sin aguijón *Scaptotrigona mexicana*” realizada por el alumno: **Ricardo Nepomuceno Irene** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA**

SUSTENTABLE

CONSEJO PARTICULAR

Consejera:



Dra. Aleida Selene Hernández Cázares

Asesora:



Dra. Adriana Contreras Oliva

Asesor:



Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras

Asesora:



MC. Natalia Real Luna

Asesora:



Dra. María de los Ángeles Vivar Vera

Amatlán de los Reyes, Veracruz, Junio 2017

RESUMEN

ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE POLLO ADICIONADA CON MIEL DE ABEJA SIN AGUIJÓN *Scaptotrigona mexicana*

Ricardo Nepomuceno Irene MC.

Colegio de Postgraduados, 2017.

El consumo de la carne de pollo ha incrementado de manera exponencial, la oxidación de lípidos y proteínas reducen la calidad de la carne mientras que los antioxidantes inhiben su deterioro oxidativo y mejoran su estabilidad. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*), como antioxidante natural sobre la oxidación lipídica y proteica en pechuga de pollo (*Pectoralis major*) molida, cocida y almacenada en refrigeración. Se comparó la miel de abeja (*S. mexicana*) con cuatro mieles de abeja *Apis mellifera*, analizando el contenido de polifenoles totales extraíbles (PTE), actividad antioxidante (DPPH) y caracterización fisicoquímica. Los resultados mostraron que la miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) obtuvo las mejores cualidades para ser evaluada como antioxidante natural en pechuga de pollo (*Pectoralis major*) molida y cocida. Para evaluar la estabilidad oxidativa de la carne de pollo, se adicionó miel de abeja sin aguijón con diferentes niveles de inclusión (0, 1, 3, y 5% p/p) a “patties” de pechuga de pollo molida; mismas que fueron cocidas y almacenadas en refrigeración a 4 °C. La oxidación lipídica (TBAR) y proteica (DNPH) se evaluó a 0, 3, 6, 9 y 12 días de almacenamiento en refrigeración a 4 °C. La miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) mostró un contenido de polifenoles totales de 111.74 ± 7.32 mg EAG/100 g.m.f. y una capacidad antioxidante de 1130.01 ± 48.84 μ mol Eq Trolox/100 g.m.f. La inhibición en la oxidación lipídica y proteica de las “patties” fue de 1.08 ± 0.04 mg MDA/kg carne y 3.68 ± 0.27 nmols carbonilos/mg de proteína al día 12 con 5 % de inclusión de miel, respectivamente; Se concluyó que todas las mieles poseen capacidad antioxidante impulsada por la especie de abeja y pueden considerarse como productos funcionales para estabilidad oxidativa de la carne de pollo molida y cocida por la inhibición lipídica y proteica encontrada en este estudio.

PALABRAS CLAVE: antioxidante, oxidación, miel, *Scaptotrigona mexicana*, patties.

ABSTRACT

OXIDATIVE STABILITY OF CHICKEN MEAT ADDED WITH STINGLESS BEE

HONEY *Scaptotrigona mexicana*.

Ricardo Nepomuceno Irene MC.

Colegio de Postgraduados, 2017.

Consumption of chicken meat has increased exponentially, oxidation of lipids and proteins reduce meat quality, while antioxidants inhibit their oxidative deterioration and improve stability. The objective of this work was to evaluate the effect of the addition of stingless bee honey (*Scaptotrigona mexicana*) as natural antioxidant on lipid and protein oxidation in chicken breast (*Pectoralis major*) milled, cooked and stored in refrigeration. The honey bee (*S. Mexicana*) was compared to four bee honeys *Apis mellifera*, analyzing the content of total extractable polyphenols (PTE), antioxidant activity (DPPH) and physicochemical characterization. The result showed that stingless bee honey (*S. mexicana*) obtained the best qualities to be evaluated as a natural antioxidant in milled and cooked chicken breast (*Pectoralis major*). To assess the oxidative stability of chicken meat, stingless bee honey with different levels of inclusion (0, 1, 3, and 5% w / w) was added to ground chicken breast patties. Which were cooked and stored under refrigeration at 4 °C. Lipid oxidation (TBAR) and protein (DNPH) were evaluated at 0, 3, 6, 9 and 12 days of refrigerated storage at 4 °C. The stingless bee honey (*S. mexicana*) showed a total polyphenol content of 111.74 ± 7.32 mg EAG / 100 g.m.f. And an antioxidant capacity of 1130.01 ± 48.84 μ mol Eq Trolox / 100 g.m.f. The inhibition in lipid and protein oxidation of the patties was 1.08 ± 0.04 mg MDA / kg meat and 3.68 ± 0.27 nmols carbonyls/mg protein at day 12 with 5% honey inclusion, respectively; Values lower than the control (*P* -value <0.05). It was concluded that all honeys possess antioxidant capacity driven by the bee species and can be considered as functional products for oxidative stability of chicken meat ground and cooked by the lipid and protein inhibition found in this study.

Keywords: antioxidant, oxidation, honey, *Scaptotrigona mexicana*, patties.

DEDICATORIA

A Dios, por todo lo que soy.

A mis padres, Damián Nepomuceno Ventura y Fidela Irene Bautista, quienes me han apoyado en cada una de mis decisiones y por tener siempre las palabras adecuadas que me reconfortan.

A mis hermanos

Eliberto Nepomuceno Irene.

Rubén Nepomuceno Irene

Irma Nepomuceno Irene

Jesús Israel Nepomuceno Irene

Por su apoyo incondicional en todo momento desde el inicio de mi formación.

A una gran persona, Sayra mi esposa por estar siempre a mi lado apoyándome en todo momento y por formar parte de mi vida.

Todas las personas, profesores, compañeros y amigos que de alguna forma me han acompañado hasta hoy.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por brindarme el apoyo para el desarrollo de mi proyecto a través de la beca No. 575456.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba y al Instituto Tecnológico de Tuxtepec Oaxaca, por abrir las puertas de sus instalaciones para el desarrollo de mi trabajo.

A la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento 2 (LGAC-2), en Innovación y desarrollo de procesos agroalimentarios para el bienestar social del Programa de Posgrado de la Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable del Colegio de Postgraduados del Campus Córdoba.

A la Dra. Aleida Selene. Hernández Cázares, por brindarme la oportunidad de trabajar bajo su ala durante el proyecto de investigación y por ser la base de mi formación a lo largo de la maestría. Muchas gracias Doctora.

A la M.C. Natalia Real Luna, por su apoyo incondicional en todo momento y por su gran contribución en el desarrollo del proyecto. Muchas gracias maestra.

Al Dr. Juan Valente Hidalgo Contreras, por todos sus acertados consejos y por la contribución esencial en el proyecto de investigación. Muchas gracias Doctor

A la Dra. Adriana Contreras Oliva, por su apoyo, su disponibilidad en todo momento y por formar parte de mi formación. Muchas gracias Doctora.

A la Dra. María de los Ángeles Vivar Vera, por abrirme las puertas de su institución y darme la oportunidad de trabajar con usted. Muchas gracias Doctora.

A Paulina Chávez y Blanca Montiel, por su gran apoyo en todo momento, por su amistad y compañerismo. Muchas gracias.

A Sayra Lizzett Vargas Villalobos, por su incondicional apoyo, comprensión y motivación, Muchas gracias.

Al Dr. Pedro Zetina Córdoba, por su motivación, apoyo y confianza para realizar mi maestría en ciencias. Muchas gracias Doctor.

Todas las personas compañeros y amigos que de alguna forma me apoyaron durante los análisis experimentales a lo largo de mi proyecto.

A todos

¡Muchas gracias!

Contenido

INTRODUCCIÓN GENERAL	13
1. Planteamiento del problema.....	13
2. Hipótesis.....	14
3. Objetivos	14
4. Revisión de literatura	15
4.1. Carne de pollo.....	15
4.2. Producción de la carne de pollo.....	17
4.3. Factores de deterioro de la carne de pollo	18
4.4. Antioxidantes.....	29
5. Literatura citada.....	35
CAPÍTULO 1. Evaluación antioxidante de mieles de abeja <i>Apis mellifera</i> y su comparación con la miel de abeja sin guijón (<i>Scaptotrigona mexicana</i>)	45
1.1. Introducción	47
1.2. Materiales y métodos	48
1.2.1. Selección del producto biológico	48
1.2.2. Caracterización fisicoquímica	48
1.2.3. Cuantificación de Polifenoles totales extraíbles (PTE)	52
1.2.4. Evaluación de la actividad antioxidante (Método DPPH).....	52
1.2.5. Análisis estadístico	53
1.3. Resultados y discusión	53
1.3.1. Comparación fisicoquímica de miel de abeja de <i>Apis mellifera</i> con <i>S. mexicana</i>	53
1.3.2. Cuantificación del contenido de polifenoles totales extraíbles (PTE).....	56
1.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante método (DPPH)	57
1.3.4. Caracterización fisicoquímica de miel de abeja <i>Scaptotrigona mexicana</i>	58
1.4. Conclusión.....	62
1.5. Agradecimientos.....	63
1.6. Literatura citada.....	63
CAPÍTULO 2. Evaluación del efecto antioxidante de la miel de abeja sin aguijón (<i>Scaptotrigona mexicana</i>) adicionada a carne de pollo	69
2.1. Introducción	71
2.2. Materiales y métodos	73

2.2.1. Localización del área de estudio.....	73
2.2.2. Obtención de las materias primas	73
2.2.3. Obtención de muestras.....	74
2.2.4. Caracterización fisicoquímica de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo y “patties”	75
2.2.5. Oxidación lipídica (TBARS).....	77
2.2.6. Oxidación proteica (DNPH)	78
2.2.7. Análisis estadístico	78
2.3. Resultados y discusión	79
2.3.1. Caracterización fisicoquímica de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo.....	79
2.3.2. Análisis fisicoquímicos de patties de pechuga de pollo (<i>Pectoralis major</i>) adicionadas con miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>)	80
2.3.3. Oxidación lipídica.....	88
2.3.4. Oxidación proteica.....	89
2.4. Conclusión.....	90
2.5. Agradecimientos.....	91
2.6. Literatura citada.....	91
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES	98
7. ANEXOS	98

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición nutricional de la carne del pollo por cada 100 g de porción.....	16
Cuadro 2. Producción mundial de carne de ave de corral en diferentes regiones del mundo en el año 2013.....	17
Cuadro 3. Contenido de ácidos grasos en la pechuga y muslo de pollo (mg g ⁻¹ de grasa)	24
Cuadro 4. Antioxidantes endógenos del organismo.....	30
Cuadro 5. Mecanismo de acción de los antioxidantes.....	32

CAPITULO I

Cuadro 1. Análisis fisicoquímico de la miel de abeja sin aguijón (<i>Scaptotrigona mexicana</i>).....	59
--	----

CAPITULO II

Cuadro 1. Caracterización físico-químico de la miel de abeja sin aguijón (<i>Scaptotrigona mexicana</i>).....	74
Cuadro 2. Evaluación fisicoquímica del músculo <i>Pectoralis major</i> de carne de pollo.....	79
Cuadro 3. Efecto del pH en “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>Scaptotrigona mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	81
Cuadro 4. Efecto de la acidez de “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>Scaptotrigona mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	81
Cuadro 5. Efecto de la actividad de agua en “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	82
Cuadro 6. Efecto de la humedad en “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	83
Cuadro 7. Efecto del color en “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	85
Cuadro 8. Efecto del TPA en “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Factores que afectan la estabilidad oxidativa de la carne en diferentes etapas.....	19
Figura 2. Mecanismo de autooxidación de los lípidos.....	23
Figura 3. Malondialdehído (MDA), ácido tiobarbitúrico (TBA) y complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico.....	25
Figura 4. Mecanismos plausibles por los cuales la carbonilación podría afectar el valor nutritivo de la carne y productos cárnicos.....	27
Figura 5. Estructura química de antioxidantes sintéticos más utilizados en la industria.....	30
Figura 6. Estructura del alfa-tocoferol (A) y estructura del alfa-tocotrienol (B).....	31
Figura 7. Reacciones de auto-oxidación y acción antioxidante.....	33
Figura 8. Reacción del DPPH y un antioxidante (AH).....	34

CAPITULO I

Figura 1. Valores de pH de mieles de abeja <i>Apis mellifera</i> y de abeja sin aguijón <i>Scaptotrigona mexicana</i>	54
Figura 2. Valores de humedad de mieles de abeja <i>Apis mellifera</i> y de abeja sin aguijón <i>Scaptotrigona mexicana</i>	55
Figura 3. Valores de sólidos solubles (°Bx) de mieles de abeja <i>Apis mellifera</i> y de abeja sin aguijón <i>Scaptotrigona mexicana</i>	56
Figura 4. Valores de contenido total de polifenoles (%mg EAG/100g.m.f.) de mieles de abeja <i>Apis mellifera</i> y de abeja sin aguijón <i>Scaptotrigona mexicana</i>	57
Figura 5. Valores de actividad antioxidante ($\mu\text{mol Trolox/g.m.f}$) de mieles de abeja <i>Apis mellifera</i> y de abeja sin aguijón <i>Scaptotrigona mexicana</i>	58

CAPITULO II

Figura 1. Rendimiento por cocción de “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	80
---	----

Figura 2. Evolución de la oxidación lipídica (A) y proteica (B) en “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>) (0, 1, 3, 5%) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C (0, 3, 6, 9, 12).....	90
--	----

ANEXOS

ANEXO 1. Producción nacional de carne de pollo en el 2014.....	99
ANEXO 2. Anexos del capítulo I.....	100
A.2.1. Evidencias fotográficas. Cosecha de miel de abeja sin aguijón (<i>Scaptotrigona mexicana</i>).....	100
ANEXO 3. Anexos del capítulo II.....	100
A.3.1. Diseño experimental.....	100
A.3.2. Elaboración de las “patties” de carne de pollo molida.....	101
A.3.3. Congelación con nitrógeno líquido y empacado al vacío de las “patties” de carne de pollo molida y cocida.....	101
A.3.4. Análisis de perfil de textura (2 oscilaciones a una velocidad de (60 mm/min).....	101
A.3.5. Efecto de la oxidación lipídica en “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	102
A.3.6. Efecto de la oxidación proteica en “patties” de pechuga (<i>Pectoralis major</i>) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (<i>S. mexicana</i>) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.....	102

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. Planteamiento del problema

La oxidación de lípidos y proteínas en carne de pollo es uno de los procesos más evidentes e impactantes desde el punto de vista comercial y nutritivo. La oxidación es causada por factores *ante y postmortem* como el tiempo de espera a la matanza, el procesado (picado y cocción) y almacenado (refrigeración). La oxidación es responsable de la formación de compuestos orgánicos como aldehídos y cetonas principalmente, los cuales producen olores y sabores a rancio, pérdida de textura, disminución en el valor nutritivo y alteraciones en el color de la carne, provocando un rechazo inmediato por el consumidor. Por otra parte, los productos formados durante el proceso de oxidación pueden llegar a ser nocivos para la salud; no obstante, para mantener la calidad y retrasar el proceso oxidativo de la carne, la industria ha adicionado antioxidantes como el Butilhidroxianisol (BHA), Butilhidroxitolueno (BHT), Terbutilhidroxiquinona (TBHQ) y galatos. Sin embargo, su utilización ha sido muy cuestionada, dado que publicaciones y estudios clínicos han demostrado que los compuestos sintéticos ocasionan efectos nocivos a la salud por estar relacionados con la estimulación en el crecimiento de células cancerígenas y enfermedades crónicas. Esta situación, provocó que algunos países europeos, Canadá y Japón, optaran por suspender su uso en alimentos. En este sentido la preocupación por la inestabilidad oxidativa de la carne y productos cárnicos ha incrementado de manera considerable, especialmente en el consumo de carnes cocidas y almacenadas en refrigeración por ser más vulnerables a los procesos de oxidación.

2. Hipótesis

La utilización de la miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*) adicionada como un ingrediente funcional natural con propiedades antioxidantes en la carne de pollo, disminuye el proceso de oxidación lipídica y proteica mejorando su estabilidad oxidativa.

3. Objetivos

General

Evaluar el efecto de la adición de miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*), sobre la oxidación lipídica y proteica en pechuga de pollo (*Pectoralis major*) molida, cocida y almacenada en refrigeración.

Específicos

1. Evaluar la capacidad antioxidante de mieles de abeja europea (*Apis mellifera*) y su comparación con la miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*).
2. Caracterización química (análisis químico proximal, contenido de polifenoles y actividad antioxidante) y fisicoquímica de la miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*) y carne de pollo.
3. Evaluar la oxidación lipídica en “patties” de carne molida y cocida de pechuga de pollo adicionada con miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*), en sus diferentes niveles de inclusión (0, 1, 3 y 5 %), mediante el método TBARS.
4. Evaluar la oxidación proteica en “patties” de carne molida y cocida de pechuga de pollo adicionada con miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*), en sus diferentes niveles de inclusión (0, 1, 3 y 5 %), mediante el método DNPH.

4. Revisión de literatura

4.1. Carne de pollo

La carne según el Código Alimentario Español y la Real Academia Española, se define como la parte muscular comestible de los animales sanos sacrificados en condiciones higiénicas. Desde el punto de vista bioquímico, la carne es el resultado de una serie de transformaciones y reacciones bioquímicas que tienen lugar en el músculo tras la muerte del animal, que definirán en gran parte la calidad de la carne (Hernández-Cázares, 2010). La masa muscular es el componente mayoritario de la carne, seguido del tejido conectivo y tejido graso (Hui *et al.*, 2006). La pechuga de pollo (*Pectoralis major*) es la parte más comercializada y por ende la más comestible, en ella se encuentran compuestos nutricionales como proteínas que son fácilmente asimilables por el organismo y aportan todos los aminoácidos esenciales que se requieren en la alimentación (Cortinas *et al.*, 2005); así como, vitaminas y minerales que el organismo requiere para su correcto funcionamiento.

El consumidor ha modificado algunos de sus hábitos alimenticios con la finalidad de alimentarse y beneficiar su salud (Schwalfenberg, 2006). En este sentido, el consumo de carne de pollo ha incrementado a nivel mundial, razón primordial para mantener la seguridad de esta; la cual, debe estar limpia en términos de residuos de agroquímicos, metales pesados, microorganismos patógenos, y cualquier otra sustancia que represente un peligro potencial para la salud. Además que contenga aspectos de calidad con características "funcionales" y atributos relacionados con propiedades sensoriales de apariencia y sabor (Grunert, 1997).

La calidad de la carne de pollo se ha restringido desde el punto de vista del consumidor, esto debido a que las personas adquieren productos que les llamen la atención; es decir que espera que la carne de pollo se vea, sienta y deguste bien. Al no cumplir ciertas características, se cataloga como una carne de baja calidad; sin embargo, la calidad va mucho más allá de lo sensorial, también se encuentra en juego la calidad tecnológica, la calidad higiénica y la calidad nutricional, dando como resultado la calidad total (Hernández-Cázares, 2010).

En términos generales, la composición de la carne de pollo (**Cuadro 1**) se establece durante la vida del animal, mientras que la calidad de la carne se ve fuertemente afectada por factores *ante y post mortem*. Tras el proceso de matanza, se ha reconocido que existen muchos parámetros que pueden ejercer influencia sobre la calidad de la carne; entre ellos el pH final, el color (luminosidad), la capacidad de retención de agua (pérdidas por goteo) y la desnaturalización de proteínas por efecto de temperatura, una carne pálida suave y exudativa (PSE) se caracteriza por la rápida caída de pH, y la disminución de capacidad de retención de agua (CRA) (Hernández-Cázares, 2010), por otra parte cuando el estrés se prolonga por muchas horas haciéndose crónico y con una intensidad sostenida, se reduce la cantidad de glucógeno en la carne lo cual genera una carne oscura, de aspecto seco y consistencia firme, caracterizada como una carne oscura firme y seca (DFD) (Moreno, 2005; Fábregas *et al.*, 2003), mientras que una carne roja, firme y no exudativa (RFN) es considerada como normal por presentar condiciones promedio entre una PSE y DFD, con un valor de L* entre 43 y 49 de color rosa-rojizo, firme no exudativa; con un pH < 6 y una pérdida por goteo menor al 6%, ideal para el consumo humano e industrialización (Barbut *et al.*, 2005).

Cuadro 1. Composición nutricional de la carne del pollo por cada 100 g de porción

Por 100 g de porción comestible	
Energía (kcal)	112.0
Proteínas (g)	21.8
Lípidos (g)	2.80
Carbohidratos (g)	0.00
Agua (g)	74.50
Sodio (mg)	81.00
Hierro (mg)	1.00
Zinc (mg)	0.70
Ácidos Grasos (g)	1.34

Fuente: Moreiras *et al.*, (2010).

En este sentido se necesitan diversos medios de conservación para poder manipular dichos efectos de deterioro. Por otra parte, al igual que otros tejidos biológicos, la calidad de la carne como alimento está condicionada por sus funciones biológicas y la pérdida de homeostasis durante la

conversión del músculo en carne (Fennema, 2010), dando como resultado una inestabilidad nutricional.

Actualmente la calidad de carne de pollo se ha visto afectada por acciones microbianas como primer factor de descomposición, seguido de los procesos de oxidación, los cuales están influenciados por la composición de ácidos grasos, factores de procesamiento, concentración y tipo de oxígeno, metales de transición, peróxidos, compuestos térmicamente oxidados, pigmentos y antioxidantes (Choe y Min, 2006).

4.2. Producción de la carne de pollo

La producción mundial de carne de pollo es del orden de cien millones de toneladas por año, donde América es el principal continente productor, seguido de Asia y en tercer lugar Europa (FAO, 2016). El **cuadro 2** describe datos sobre la producción mundial de carne de ave en el año 2013. Los datos se clasifican en grupos geográficos a criterio de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

Cuadro 2. Producción mundial de carne de ave de corral en diferentes regiones del mundo en el año 2013.

Grupo geográfico	Toneladas (millones)
África	5,029,713.00
América	45,632,482.00
Asia	38,561,149.00
Europa	18,149,114.00
Oceanía	1,298,688.00

Fuente: FAO, 2016

A nivel mundial México es el séptimo productor de carne de pollo después de Estados Unidos, China, Brasil, Unión Europea, India y Rusia (UNA, 2016).

La producción nacional de carne de pollo para el año 2014 fue de 3, 587, 362 toneladas, de acuerdo al Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP (2016). En el (**Anexo 1**), se observa que el estado de Veracruz ocupa el cuarto lugar con una producción de 355, 050 toneladas, después

de Jalisco con 411, 455 toneladas, Aguascalientes (373, 466 toneladas) y Durango (369, 364 toneladas), no obstante el precio de carne de pollo varía de 12.72 a 27.97 pesos para Sonora y Baja California Sur respectivamente, sin embargo el estado de Veracruz establece un precio considerable de 25.78 pesos por kilogramo, de manera general, el precio de carne de pollo por kilogramo presenta una media de 21.22 a nivel nacional, en este sentido la variación de precios puede ser atribuido al incremento de población, zona geográfica, precio accesible en comparación con los otros tipos de carne, preferencia de los consumidores y diversidad de puntos de venta cercanos al consumidor.

La industria avícola se ha considerado como una fuente para la seguridad alimentaria y económica del país. En 2014 la industria avícola registró un incremento en la producción de carne de ave del 2.8 % respecto a 2013, en este sentido la avicultura produjo 5, 574, 554 toneladas de alimento, de las cuales 2, 994, 254 toneladas correspondieron a la carne de pollo (UNA, 2016). El estimado para 2016 en producción de carne de acuerdo con la Dirección de estudios económicos de la Unión Nacional de Avicultores (UNA) registró un incremento del 3 % al cierre de 2014, rebasando los 3 millones de toneladas de carne de pollo (UNA, 2016). El valor de la producción avícola fue mayor a 132 mil millones de pesos durante el 2014. En materia de consumos, el consumidor mantiene una alta preferencia por los productos avícolas, en el caso de la carne de pollo, el consumo per cápita en 2014 fue de 25.6 Kg, mientras que el consumo per cápita aparente llegó a los 29.3 Kg (UNA, 2016). La avicultura participó con el 63% de la producción pecuaria en el país, donde el 33.5 % fue aportada por el pollo (UNA, 2016).

4.3. Factores de deterioro de la carne de pollo

El deterioro de la carne consiste en todos aquellos cambios de origen biótico o abiótico que hace que esta no sea adecuada para su consumo. Así el punto de equilibrio o estabilidad de la carne, se da cuando existen condiciones adecuadas para evitar la oxidación, el desarrollo microbiano, la pérdida de humedad, la condensación/exudado, la acumulación de gas y aromas indeseables. Mismas que dependen de factores como la temperatura, oxígeno, luz, humedad relativa, pH, ambiente anaerobio, presencia de prooxidantes (P0) y falta de mecanismos antioxidantes enzimáticos (Carlsen *et al.*, 2005), para que logren desarrollarse.

El deterioro causado por la oxidación en carne de pollo inicia al momento que cesa la circulación de la sangre, por lo que los fosfolípidos presentes en las membranas celulares son los primeros en sufrir el daño (Gray y Pearson, 1987). Cualquier alteración física que sufra la carne facilita la interacción de oxidantes con los ácidos grasos presentes, acelerando el proceso oxidativo (Asghar *et al.*, 1988). Kumar *et al.*, (2015), como se muestra en la **Figura 1**, el proceso oxidativo de la carne ocurre en tres etapas principales; durante el proceso de matanza, durante la conversión de músculo a carne y durante el almacenamiento.

En animales vivos, existen factores intrínsecos que controlan las reacciones de oxidación en los tejidos musculares: presencia de enzimas (superóxido dismutasa y catalasa) y ciertas proteínas y sus mecanismos (proteínas de transporte), o antioxidantes que rompan la reacción oxidativa (vitamina E y C) (Chan *et al.*, 1994). Tras el proceso de matanza, estos factores pierden su potencial antioxidante debido a diversas condiciones *post mortem* (Carlsen *et al.*, 2005).

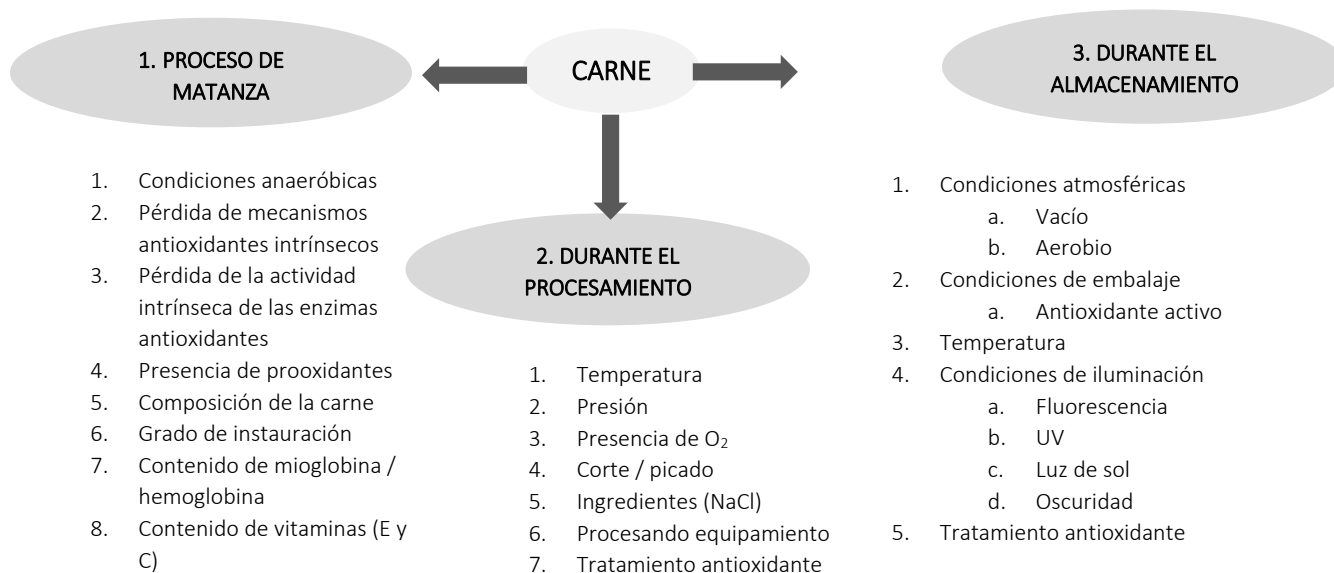


Figura 1. Factores que afectan la estabilidad oxidativa de la carne en diferentes etapas

Fuente: Modificado de Kumar *et al.*, 2015

El tejido muscular de la carne juegan un papel importante en la oxidación de la carne, dado que éste proceso depende de la cantidad de mitocondrias. En carnes rojas, el tamaño de las fibras tiende

a ser más pequeñas, contiene más mitocondrias, mioglobina y lípidos y tiene un sistema vascular más desarrollado que las fibras blancas, por lo tanto pueden oxidarse más fácilmente. En este sentido el proceso oxidativo de los diferentes tejidos musculares de las aves tienen el siguiente orden: hígado-músculo, pechuga y piel (Gray y Pearson, 1987). Por otro lado, el hierro libre facilita la remoción de un protón de los ácidos grasos insaturados (etapa de iniciación) catalizando la formación de hidroperóxidos en la propagación (Grün *et al.*, 2007), mientras que las moléculas ricas en hierro como la hemoglobina o mioglobina, pueden catalizar directamente la oxidación considerándose como pro-oxidantes (Maqsood y Benjakul, 2011; Maqsood *et al.*, 2012). En este sentido, el hierro podría ser transportado a través de la membrana celular a sitios donde puede ser altamente reactivo; así también la cantidad de agua contenida en la carne puede acelerar los procesos de oxidación (Grün *et al.*, 2007).

En términos generales estos procesos de oxidación pueden tener efectos negativos sobre la carne y causar cambios en los atributos sensoriales (decoloración, textura inadecuada, desarrollo de olores y sabores desagradables, entre otros) y en la calidad nutricional, así como en la aparición de compuestos potencialmente tóxicos (Sampels, 2013).

Las variables que intervienen en la pérdida de la estabilidad oxidativa de la carne de pollo se atribuyen a factores como la especie animal, la cantidad de ácidos grasos y antioxidantes endógenos presentes en la carne, el procesado y empaçado de la carne (Ávila *et al.*, 2013).

La especie animal tiene efecto directo en la oxidación de la carne, ya que la alimentación y manejo difieren en cada especie, mientras que Wilson *et al.*, (1976) mostraron que la oxidación de lípidos depende de la acumulación de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en sus tejidos; así la carne de guajolote es más sensible a la oxidación, seguida de la de pollo, cerdo y borrego. Cortinas *et al.*, (2005) mencionan que la carne cruda es menos sensible a la oxidación de los lípidos, la cual disminuye con la cantidad de vitamina E en la dieta, misma que aumenta conforme aumenta su cantidad en el alimento.

El perfil lipídico de la carne de pollo puede modificarse por las grasas adicionadas a la dieta. Al incrementar la cantidad de AGPI en las membranas celulares, la estabilidad oxidativa de la carne

disminuye (Crespo y Esteve, 2002; Cortinas *et al.*, 2005); en este sentido la fuente de energía de la dieta tiene efecto en la oxidación de la carne. Narciso-Gaytán *et al.*, (2010) mostraron una mayor oxidación en la carne de aves alimentadas con aceites de soya crudo (enriquecida con AGPI) que en la de aves que recibieron una mezcla de grasas animales y vegetales, manteca de cerdo o aceite de palma, debido a la acumulación de ácidos grasos insaturados (AGI). Los AGPI, que incluye a los ácidos grasos omega 3 y 6, aumentan la peroxidación lipídica (mayor número de dobles enlaces); es decir, son más inestables, se oxidan rápidamente y contribuyen a aumentar los radicales libres. Sin embargo, el consumidor prefiere la compra de carne de pollo por la cantidad de AGPI (Barroeta, 2007).

En cuanto a los antioxidantes endógenos o naturales presentes en la carne se encuentran los preventivos e interruptores. Los preventivos son aquellos que retardan la velocidad de iniciación de la oxidación, entre estos se encuentran la enzima catalasa, el ácido alfa lipoico (ALA) y la glutatión peroxidasa (GPx). Los antioxidantes interruptores son aquellos que bloquean la propagación de la oxidación de las grasas, en este grupo se encuentra la vitamina E, C, y A, el glutatión, la enzima superóxido dismutasa, los fenoles o aminas aromáticas (Mayes, 2004). En el caso del pollo, posee un sistema de enzimas antioxidantes en su organismo compuesto por la enzima superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), y la glutatión peroxidasa (GPx) (Bohórquez *et al.*, 2013).

El manejo de la carne después del faenamiento, tiene gran impacto en la estabilidad oxidativa de la carne de pollo. Una de las principales desventajas de los antioxidantes naturales, es su escasa resistencia frente al oxígeno, especialmente cuando están expuestos a la acción de la luz, temperaturas elevadas o secado (López *et al.*, 2016). Cualquier manejo tecnológico sobre la carne causa un daño el cual puede alterar la integridad de la membrana celular y aceleran el proceso oxidativo (Gray *et al.*, 1996).

Por otro lado, el oxígeno es el prooxidante más abundante y su eliminación disminuye la oxidación de las grasas (Narciso-Gaytán *et al.*, 2011). Pettersen *et al.*, (2004) compararon el envasado de carne con oxígeno y al vacío por un año; encontrando que los valores de malondialdehído (MDA) fueron mayores en carne envasada con oxígeno a partir del sexto mes,

con respecto a la empacada al vacío. Por lo que mejorar las técnicas de empacado se logrará conservar las características sensoriales por más tiempo durante el almacenamiento.

4.3.1. Oxidación lipídica

La oxidación lipídica es considerada como la oxidación primaria que se lleva a cabo por la formación de radicales libres o por procesos de fotooxidación que se inician por la exposición a la luz, calor, pigmentos y iones metálicos (López *et al.*, 2016). La reacción se desarrolla en cadena, los radicales libres atacan a los ácidos grasos insaturados (AGI) de los fosfolípidos en las membranas celulares, con el fin de estabilizarse en tres fases de oxidación (iniciación, propagación y terminación) (Cortinas *et al.*, 2005). Laguerre *et al.*, (2007), mencionan que la oxidación puede ocurrir vía la auto-oxidación no enzimática mediada por radicales libres (reacción espontánea del oxígeno atmosférico con los lípidos que genera hidroperóxidos y compuestos volátiles), fotooxidación no enzimática y no radical, y por oxidación enzimática, como se observa en la **Figura 2.**

La *fase de iniciación*, primera fase en la oxidación lipídica, consiste en el rompimiento homolítico de un hidrógeno en posición α relativo al doble enlace (RH) de la cadena del ácido graso y se forman los radicales libres a partir de las moléculas lipídicas (Laguerre *et al.*, 2007). Esta reacción puede ser catalizada por radicales hidroxilos ($\text{OH}\bullet$) o por ciertos complejos Fe- O_2 como los radicales ferrilos o perferrilos. La segunda fase es la *propagación* la cual implica la reacción del radical lipídico ($\text{R}\bullet$) con el oxígeno molecular para formar un radical lipídico peroxi o peróxilo ($\text{ROO}\bullet$). Este radical peroxi es capaz de abstraer un átomo de hidrógeno de otro ácido graso insaturado y, por tanto, propagar la reacción en cadena (Estévez *et al.*, 2003); la cual, es favorecida por la luz y el oxígeno. De esta reacción se forman los hidroperóxidos lipídicos (ROOH), y un nuevo radical lipídico con carbono central ($\text{R}\bullet$). Durante la *fase de terminación*, los radicales libres en ausencia de oxígeno, reaccionan entre sí para dar diferentes productos más estables con bajo peso molecular (productos secundarios de la oxidación lipídica) tales como aldehídos, alcanos, hidrocarburos, alcoholes, cetonas, ácidos y una larga variedad de compuestos que contienen nitrógeno y sulfuro los cuales pueden afectar negativamente el olor, sabor, valor nutritivo de alimentos (Estévez, 2005).

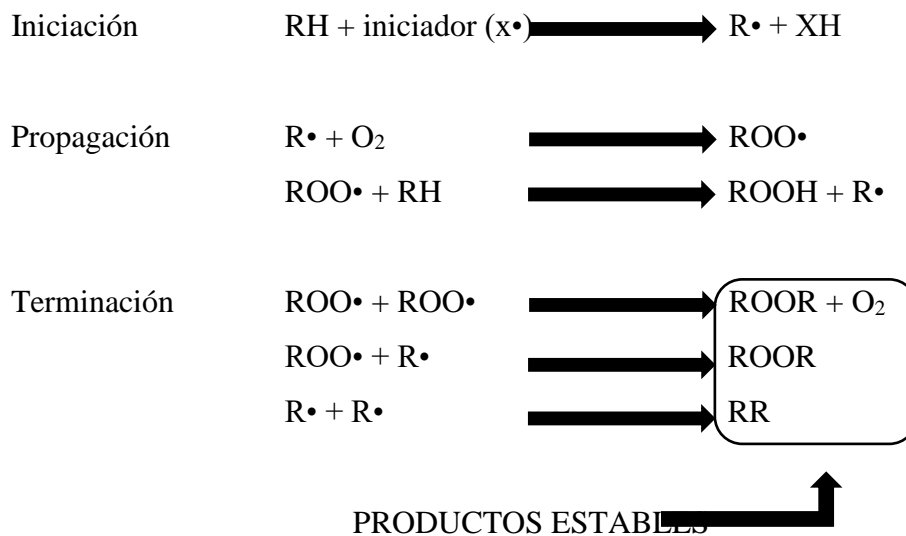


Figura 2. Mecanismo de autooxidación de los lípidos.

Fuente: Pokorny *et al.*, 2005.

Como ya se ha mencionado, la oxidación lipídica en los organismos vivos, se inhibe por la acción de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, este fenómeno se lleva a cabo por la remoción de los hidroperóxidos formados evitando el daño celular a las membranas, principalmente en la mitocondria (Sárraga *et al.*, 2002).

La pérdida de calidad de la carne de pollo se presenta directamente por el deterioro oxidativo que sufren los AGPI de la grasa (Felleberg, 2005). Este deterioro ocasiona una disminución drástica de la vida útil; sin embargo, a pesar de que dentro de este grupo se encuentra el ácido linolénico (omega 3) y linoleico (omega 6) que son esenciales para el ser humano y tienen un efecto benéfico en general en el organismo (Sasaki *et al.*, 2001), también se desarrollan compuestos indeseables tanto nutricionales como sensoriales (Fennema, 2002). La liberación del hierro endógeno es el responsable de la catálisis de la oxidación lipídica, resultando en el deterioro del color. Por otra parte, la susceptibilidad y velocidad de oxidación de los ácidos grasos en los lípidos depende de su grado de saturación; así, los lípidos que son más insaturados son oxidados con mayor rapidez que los menos insaturados (Parker *et al.*, 2003).

A medida que el grado de insaturación de los ácidos aumenta, tanto la tasa de formación como la cantidad de compuestos primarios de la oxidación incrementan (Martín *et al.*, 2004). Los ácidos

grasos de la carne que sufren mayor oxidación son el ácido esteárico (C18:0), seguido del oleico (C18:1), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) (Shahidi, 1994). Estévez *et al.* (2003), reportaron correlaciones positivas significativas entre el contenido de grasa y la oxidación lipídica, y sugieren que, a mayor cantidad de lípidos totales, hay mayor sustrato propenso a sufrir reacciones oxidativas. En el (**Cuadro 3**) se muestra la composición de los ácidos presentes en la pechuga y muslo de pollo, al ser las partes más comercializadas y consumidas en el mercado.

Cuadro 3. Contenido de ácidos grasos en la pechuga y muslo de pollo (mg g⁻¹ de grasa)

Ácidos grasos	Pechuga	Muslo
C16:0 (Palmítico)	23.8	22.6
C16:1 (Palmitoleico)	4.50	6.30
C18:0 (Esteárico)	7.50	7.60
C18:1 (Oleico)	29.1	32.0
C18:2 ω 6 (Linoleico)	17.8	18.3
C18:3 ω 3 (Linolénico)	0.5	0.7
C20:1 (Gondoico)	0.5	0.5
C22:1 (Erúcico)	0.4	0.6
C20:4 ω 6 (Araquidónico)	5.0	3.7
C20:5 ω 3 (Eicosapentaenoico)	0.7	0.6
C22:5 ω 3 (Decosapentaenoico)	0.9	0.5
C22:6 ω 3 (Decosahexaenoico)	1.8	1.0
AGS ¹	31.3	30.2
AGMI ²	34.5	39.4
AGPI ³	26.7	24.8
AGPI:AGS ⁴	0.85	0.82

¹AGS: Ácidos grasos saturados.

²AGMI: Ácidos grasos mono insaturados.

³AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados.

⁴AGPI: AGS: Ácidos grasos poli insaturados: Ácidos grasos saturados.

Fuente: Cortinas *et al.*, 2005.

4.3.1.1. Prueba 2- ácido tiobarbitúrico (TBA)

Los métodos más usados para la cuantificación de la oxidación lipídica, detectan productos primarios y secundarios del proceso oxidativo. Para estimar la oxidación primaria se cuentan los peróxidos de la muestra o la pérdida de ácidos grasos insaturados (Fernández *et al.*, 1997). Por otro lado, para estimar la oxidación secundaria, se miden los grupos carbonilos o el malondialdehído (prueba de 2-ácido tiobarbitúrico-TBA) (Gray y Monahan, 1992). Las técnicas

mencionadas, se pueden realizar por métodos colorimétricos o con ensayos por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) o cromatografía de gases.

La prueba TBA se utiliza para medir la oxidación lipídica secundaria en productos cárnicos; es una técnica fácil, rápida y económica (Jo y Ahn, 1998); esto la ha convertido en una técnica utilizada como referencia. El método de análisis se basa en la reacción de una molécula de malondialdehído con dos moléculas de TBA en un medio ácido, a temperatura elevada para formar un complejo (malondialdehído-TBA) color rosa, (**Figura 3**); el cual se mide espectrofotométricamente a 532 nm y se reporta en miligramos de malondialdehído por kilogramo de muestra (Gray y Monahan, 1992).

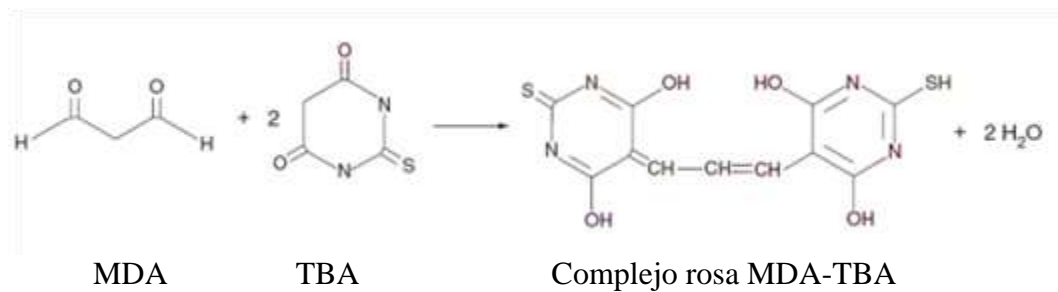


Figura 3. Malondialdehído (MDA), ácido tiobarbitúrico (TBA) y complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico

Fuente: Girón-Calle *et al.*, 2003.

Girón-Calle *et al.* (2003) mencionan que la temperatura y la acidez de la reacción aumentan los valores de TBA, debido a que el TBA puede reaccionar con aminoácidos, proteínas, vitaminas, azúcares, ácidos y metales presentes en la carne o derivados cárnicos. A pesar de las modificaciones a partir de su publicación, se sigue considerando como una técnica estándar para cuantificar el MDA en los alimentos formados como productos secundarios de la oxidación lipídica, especialmente en cárnicos (Sidwell *et al.*, 1995).

4.3.2. Oxidación proteica

Las proteínas musculares sufren daño oxidativo durante el proceso de matanza y durante el posterior manejo, procesado, almacenamiento y envejecimiento de la carne (Estévez, 2015). El término oxidación proteica hace referencia a la modificación de las proteínas, inducida de forma

directa por especies reactivas derivadas del oxígeno o bien indirectamente mediante la reacción con productos secundarios del estrés oxidativo; lo cual genera el agotamiento de residuos de triptófano y como resultado mayor la formación del compuesto carbonilo como semialdehídos α -aminoadípico y γ -glutámico (AAS y GGS, respectivamente) (Estévez, 2011 y 2015). Los agentes responsables de la oxidación proteica son diversos, entre ellos se encuentran el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, xenobióticos, metales de transición (Fe^{2+} y Cu^+), neutrófilos activados, luz ultravioleta, ozono, enzimas oxido-reductasas o productos de la oxidación lipídica (hidroperóxidos y aldehídos) y productos generados durante el procesamiento del producto (Shacter, 2000).

La oxidación proteica se presenta como un proceso similar a la oxidación lipídica, aunque ésta puede ser reversible o irreversible. La modificación reversible normalmente se dan en cisteínas y pueden activar una función proteica, como en los procesos de glutationilación y la S-nitrosilación, o proteger al residuo del aminoácido de la oxidación (Díaz y Membrillo, 2006). La oxidación irreversible de proteínas se da por medio de cuatro mecanismos: carbonilación, ruptura de enlaces peptídicos, nitración y la formación de enlaces proteína-proteína (Estévez y Cava, 2006). La carbonilación se reconoce como una de las modificaciones químicas más notables en las proteínas oxidadas (**Figura 4**). Estas modificaciones se asocian con la pérdida permanente de la función y puede producir eliminación o acumulación de las proteínas dañadas (Estévez, 2011).

El esqueleto peptídico y los grupos funcionales localizados en la cadena lateral de aminoácidos son blancos comunes para especies reactivas de oxígeno (EROs) (Estévez, 2011). Los componentes naturales del tejido muscular, tales como los lípidos insaturados, los pigmentos heme, los metales de transición y las enzimas oxidativas son precursores importantes en la formación de (EROs) (Xiong, 2000), por lo tanto, juegan un papel importante en la oxidación proteica iniciada en el músculo.

Xiong (2000), menciona que las modificaciones químicas causadas a las cadenas laterales de aminoácidos específicos pueden conducir a cambios en las propiedades físicas de las proteínas, incluyendo fragmentación, agregación, pérdida de solubilidad y funcionalidad y disminución de la susceptibilidad a la proteólisis. La pérdida de funcionalidad de la proteína, incrementa la pérdida

de agua, disminuye la formación de geles, las propiedades de emulsificación y la capacidad de retención de agua (Stagsted *et al.*, 2004), además que afecta la calidad sensorial de la carne como la textura, terneza y color (Descalzo y Sancho, 2008; Ventanas *et al.*, 2006).

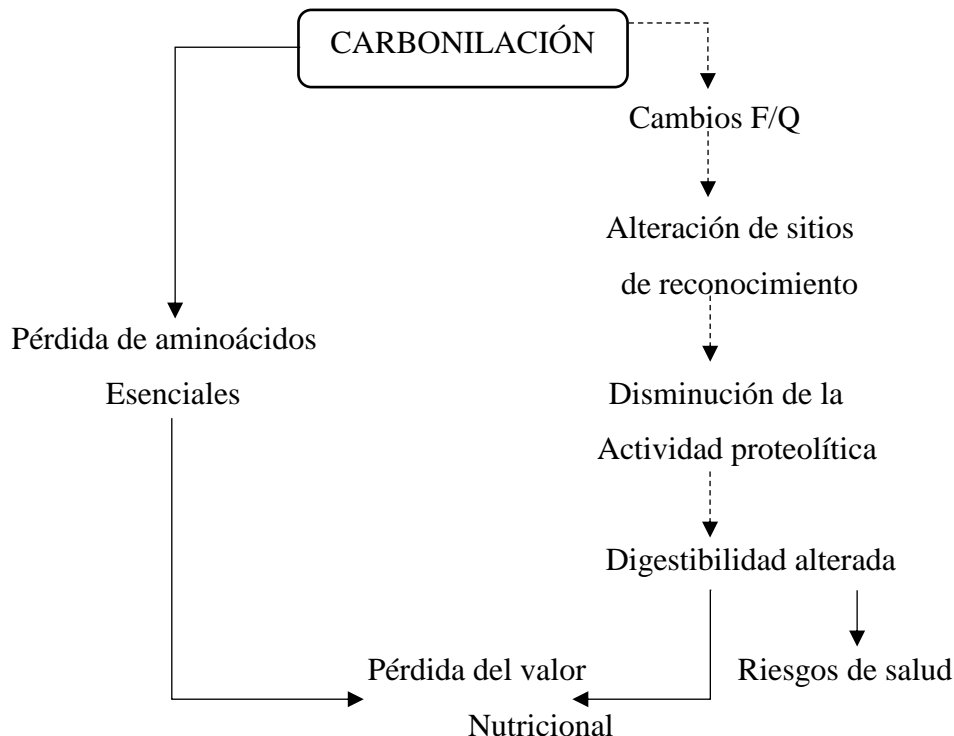


Figura 4. Mecanismos plausibles por los cuales la carbonilación podría afectar el valor nutritivo de la carne y productos cárnicos.

Fuente: Estévez, 2011.

La formación de derivados de carbonilo a partir de lisina, treonina, arginina y las cadenas laterales de prolina se atribuye generalmente a los sistemas severos de la oxidación catalizada por metal (MCO) (Stadtman y Levine, 2003). En la carne y productos cárnicos la metionina y la cisteína son los aminoácidos más susceptibles al daño oxidativo, las especies reactivas del oxígeno son capaces de oxidar los grupos sulfhídricos de su estructura.

Por otra parte, en el músculo *post-mortem* de aves, el colapso del sistema antioxidante endógeno y los cambios bioquímicos ocurridos durante la conversión del músculo en carne, promueven la aparición del estrés oxidativo (Estévez, 2015). No obstante la disminución adecuada del pH, es responsable de la liberación de las enzimas pro-oxidantes, tales como glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y la catalasa; enzimas que son conocidas por contribuir a contrarrestar los

factores oxidantes y proteger contra la oxidación de lípidos y proteínas en carne post-rigor (Liu *et al.*, 2014). Sin embargo la presencia de metales de transición, mioglobina, oxidantes de lípidos, proteínas y aminoácidos se ve afectada por numerosos factores ambientales como el pH, la temperatura, actividad de agua y la presencia de otros promotores y / o inhibidores tales como compuestos fenólicos (Estévez y Heinonen, 2010).

4.3.2.1. Prueba 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH)

El método de análisis DNPH es un procedimiento que permite la cuantificación de la cantidad total de compuestos carbonilos de una muestra de proteína (Estévez, 2011). Los resultados se utilizan ampliamente como índice general de oxidación proteica (P-OX) en carne y productos cárnicos (Estévez *et al.*, 2008; Lund *et al.*, 2011). El método se basa en la reacción entre el DNPH con compuestos carbonilos de proteína para formar un 2,4-dinitrofenilo (DNP), hidrazona que muestra un pico máximo de absorbancia a 370 nm (Estévez, 2011). Este procedimiento implica una determinación simultánea de derivados de carbonilo y contenido de proteína de la muestra (Oliver *et al.*, 1987).

La concentración de proteína se determina realizando una muestra control (sin añadir DNPH) a 280 nm usando albumina de suero bovino (BSA) como estándar, expresando los resultados normalmente como nmol DNP hidrazonas por mg de proteína (Estévez, 2011). El método original de Oliver *et al.*, (1987) fue desarrollado para analizar el estrés oxidativo en muestras biológicas y ha sido posteriormente empleado con modificaciones menores por los científicos alimentarios. En este sentido, las modificaciones incluyen tratar las muestras con una solución clorhídrica ácido-acetona con el fin de eliminar las posibles interferencias con sustancias cromóforas; por ejemplo, hemoglobina, mioglobina y retinoides) (Estévez *et al.*, 2008).

Estévez (2011) comenta que el método DNPH no es adecuado para medir el nivel real de compuestos carbonilos en los tejidos animales, ya que está plagado de diversos factores ajenos que hacen que el método pueda ser criticado por el valor limitado de la información proporcionada. En este sentido, el método DNPH subestimaría el daño oxidativo total a las proteínas y sobreestimaría la cantidad total de los carbonilos proteicos por contabilización de la absorbancia de los artefactos, derivados de lípidos y carbonilos derivados de los lípidos (Armenteros *et al.*, 2009, Estévez *et al.*, 2008). Sin embargo, el método DNPH ha permitido numerosos estudios sobre la aparición de

carbonilación durante el procesamiento y almacenamiento de carne y productos cárnicos (Estévez, 2011).

4.4. Antioxidantes

El término “antioxidante” se ha aplicado a aquellos compuestos que interrumpen la reacción en cadena de los radicales libres (Fennema, 2010), el término se aplicó a toda sustancia capaz de retardar las reacciones de oxidación por inhibición de las etapas de iniciación y propagación (López *et al.*, 2016). Existen antioxidantes naturales y sintéticos, y ambos han sido utilizados para disminuir el proceso oxidativo de la carne y sus productos cárnicos. Grün *et al.* (2007) mencionan que los antioxidantes pueden mezclarse durante su procesamiento de la carne, a fin de tener una mejor respuesta en las características sensoriales y la inhibición de oxidación.

a) Antioxidantes sintéticos utilizados en productos cárnicos

Estos compuestos químicos se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos y su función es disminuir la oxidación de los ácidos grasos principalmente. Los antioxidantes sintéticos son compuestos con estructuras fenólicas de varios grados de sustitución alquílica; mientras que los antioxidantes naturales pueden ser compuestos fenólicos como (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados como (alcaloides, derivados de clorofila, aminoácidos y aminas) o carotenoides (López *et al.*, 2016).

Los antioxidantes sintéticos más comúnmente usados en la industria de alimentos son el hidroxitolueno butilado (BHT) y el hidroxianisol butilado (BHA), propilgalato (PG), Terbutilhidroxiquinona (TBHQ) y ácidoetiléndiaminotetraacético (EDTA) (Carreras *et al.*, 2004). **(Figura 5)**. Su utilización ha sido limitada ya que son compuestos asociados con problemas de toxicidad y efectos negativos sobre la salud y existe evidencia del crecimiento de células cancerosas en el sistema digestivo de animales de laboratorio alimentados con estos antioxidantes (Hirose *et al.*, 1997; Shahidi, 2000).

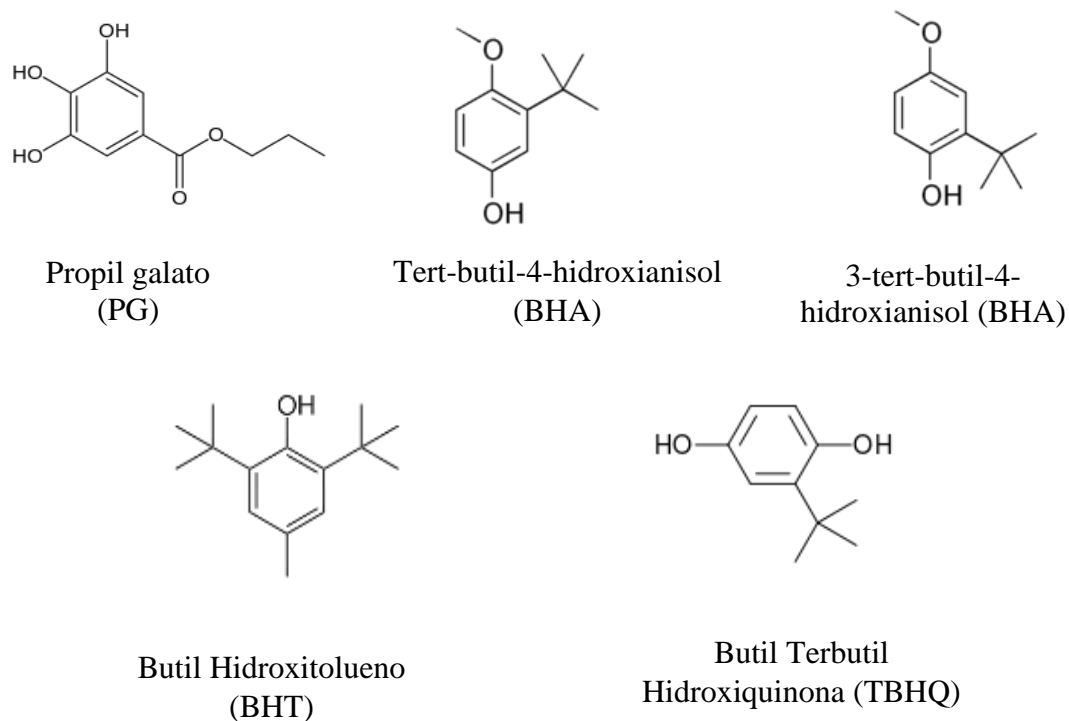


Figura 5. Estructura química de antioxidantes sintéticos más utilizados en la industria.

Fuente: Carreras *et al.*, (2004).

b) potencial de los antioxidantes naturales para su aplicación en productos carnisos

En el (Cuadro 4) se muestra algunos de los antioxidantes endógenos del organismo y su división en enzimáticos y no enzimáticos, los cuales ayudan a la estabilidad oxidativa de manera natural.

Cuadro 4. Antioxidantes endógenos del organismo.

Enzimáticos	No enzimáticos
Superóxido dismutasa	Proteínas
Catalasa	Ácido ascórbico
Glutación peroxidasa	Carotenoides
Ceruloplasmina	Nucleótidos

Fuente: Grün *et al.*, 2007.

Los consumidores exigen cada vez más productos naturales o libres de aditivos (Valencia *et al.*, 2008). Actualmente se ha dado gran importancia a antioxidantes extraídos de fuentes naturales

tales como aceites esenciales, extractos de frutas, hierbas y especias (romero, cereza, salvia, laurel, albahaca, guayaba, entre otros) con alto contenido de fenoles, polifenoles y flavonoides (Moure *et al.*, 2001). Por otra parte, los antioxidantes naturales más estudiados son: tocoferoles, tocotrienoles, sesamol, gossipol, glutatión, ascorbato, prolina, betaína, fenoles, timol, carvacol, vitamina C, β -caroteno y selenio (Karou *et al.*, 2005; Jamilah *et al.*, 2008). Muchos de ellos con gran potencial antioxidante e inhibir la oxidación lipídica en los productos a los que son aplicados y pueden tener efectos positivos sobre la salud (Proestos *et al.*, 2005; Hussain *et al.*, 2008). Sin embargo, de todos ellos el α -tocoferol es el antioxidante natural más importante, debido a su capacidad para intercalarse entre las membranas celulares y permanecer cercano a los AGPI (Figura 6) (Wen *et al.*, 1997).

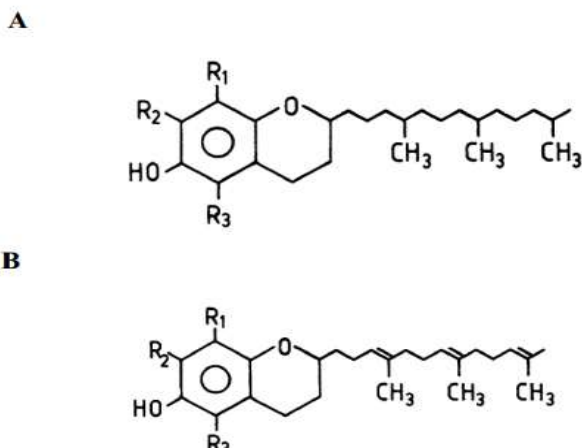


Figura 6. Estructura del alfa-tocoferol (A) y estructura del alfa-tocotrienol (B).

Fuente: Bjorneboe, 1990.

4.4.1. Mecanismos de acción

Los antioxidantes inhiben la oxidación en tres maneras diferentes, la primera forma se realiza impidiendo la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs), la segunda, es interceptando radicales libres propagadores de la oxidación (LOO•) y la tercera se realiza deteniendo las reacciones de propagación (Laguerre *et al.*, 2007).

Los antioxidantes neutralizan especies reactivas de oxígeno (EROs) diferentes (**Cuadro 5**), su efecto está en función del lugar donde el antioxidante se localice, su afinidad al medio y la capacidad que tenga para donar un hidrógeno (Yanishlieva *et al.*, 1999). Generalmente, los

antioxidantes liberan un hidrógeno de su grupo hidroxilo (-OH), para neutralizar al radical lipídico y formar un complejo radical libre-radical receptor (Percival, 1996). Por otra parte, los compuestos fenólicos en los antioxidantes, presentan una fuerte actividad de donación de hidrógeno, o tienen una alta capacidad de absorción radical (Muchuweti *et al.*, 2007). Existen antioxidantes preventivos (secundarios) y antioxidantes que rompen la cadena de propagación de la peroxidación (primarios); los preventivos actúan reduciendo la tasa de iniciación por la inactivación de (EROs) y precursores de radicales libre, mientras que los antioxidantes primarios rompen la cadena de propagación de la peroxidación eliminando radicales libres y suprimiendo la reacción en cadena (Carreras *et al.*, 2004).

Cuadro 5. Mecanismo de acción de los antioxidantes naturales.

Especies reactivas de oxígeno	Antioxidante neutralizador
Radical hidroxilo	Vitamina C, glutatión, flavonoides, ácido lipoico
Radical superóxido	Vitamina C, glutatión, flavonoides
Peróxido de hidrógeno	Vitamina C, glutatión, beta caroteno, vitamina E flavonoides, ácido lipoico
Peróxidos lipídicos	Beta caroteno, vitamina E, ubiquinona, flavonoides, glutatión peroxidasa

Fuente: Borek, 2004.

Los principales compuestos fenólicos antioxidantes son: ácidos fenólicos, di terpenos fenólicos, flavonoides y aceites volátiles, algunos fenólicos previenen la formación de radicales libres y la propagación de EROs, mientras que otros eliminan los radicales libres y quelatos pro-oxidantes (Ozsoy *et al.*, 2009). Por otra parte, la presencia de múltiples grupos -OH y estructuras orto-3,4-dihidroxi mejoran el potencial antioxidante de compuestos fenólicos vegetales (Brown y Kelly, 2007). En la **Figura 7**, se muestran las reacciones de auto-oxidación y el mecanismo antioxidante durante las etapas de iniciación, propagación y terminación (I, P y T) respectivamente, donde interviene el ácido graso insaturado (LH), los radicales peróxido (LOO), el antioxidante (AH) (como eliminador de radicales libres e inhibidores de ruptura de cadenas) y el radical catalizador (A) (relativamente muy estable).

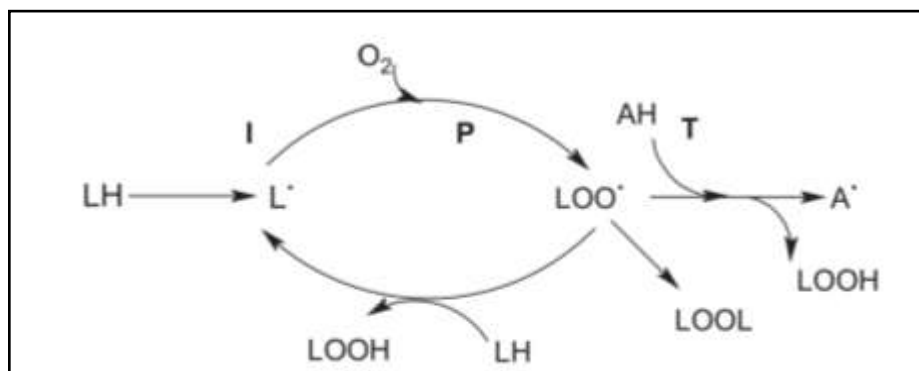


Figura 7. Reacciones de auto-oxidación y acción antioxidante.

Fuente: Kumar *et al.*, 2015.

4.4.2. Miel de abeja como antioxidante natural.

La seguridad alimentaria ha despertado un gran interés en encontrar fuentes alternativas de productos naturales que contengan propiedades antioxidantes, productos saludables y de buena calidad (Weiss *et al.*, 2010). El extracto de romero se ha utilizado con éxito para prolongar la vida de anaquel de salsas, mayonesas y carnes procesadas de pollo (Carreras *et al.*, 2004). De igual manera, el ciruelo, el extracto de la semilla de uva, el arándano, la granada, el extracto de corteza de pino, el orégano, la ciruela, el extracto de semilla de uva, el extracto de corteza de pino y otras especias han funcionado como antioxidantes naturales que estabilizan la oxidación en productos cárnicos y avícolas (Karre y Getty, 2013).

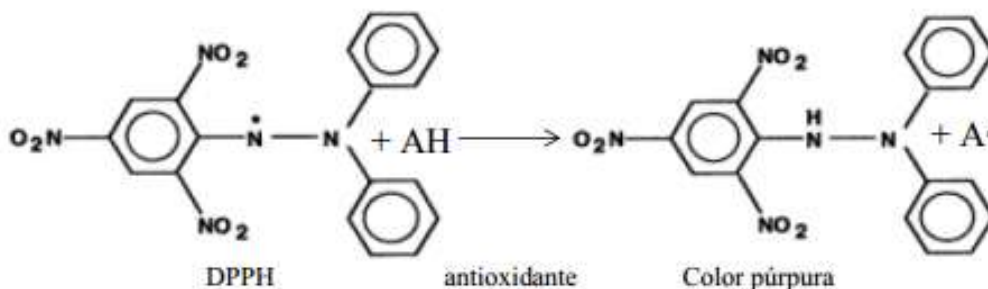
La miel de abeja es una solución sobresaturada de azúcares de los cuales los principales constituyentes son fructosa (38%) y glucosa (31%), (Álvarez-Suarez *et al.*, 2010). Contiene una amplia gama de compuestos menores de los cuales se sabe que tienen propiedades antioxidantes (Silva *et al.*, 2013). Estos componentes menores incluyen el ácido ascórbico, flavonoides, tocoferoles, enzima catalasa, productos de la reacción de Maillard y compuestos fenólicos (Martos *et al.*, 2000), que en conjunto proporcionan un efecto antioxidante sinérgico (Johnston *et al.*, 2005). Los compuestos fenólicos que contienen las mieles tienen un potencial como marcadores del origen botánico, los flavonoides presentes en la miel se dividen en tres clases con similar estructura: flavonoles, flavonas y flavanonas, siendo de gran importancia por sus efectos benéficos en la salud y por su contribución en el color y sabor de la miel (Álvarez-Suarez *et al.*, 2010).

Los compuestos antioxidantes que se producen de forma natural en la miel contribuyen a su capacidad antioxidante y a su perfil fenólico (Erejuwa *et al.*, 2012), por lo tanto sus propiedades de capacidad antioxidantes depende de las fuentes florales utilizadas para recoger la miel (Silva *et al.*, 2013). Por otro lado Ferreira *et al.*, (2009) encontraron una correlación entre el contenido fenólico de la miel con la capacidad antioxidante observada.

4.4.3. Valoración in vitro de la actividad antioxidante: Método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

La capacidad que tiene un compuesto para captar radicales libres, es denominada como actividad antioxidante o capacidad antioxidante, estos compuestos pueden proteger a la carne debido a que se intercalan entre las membranas celulares (Asghar *et al.*, 1990). En este contexto los compuestos antioxidantes se hacen reaccionar con un radical estable como el 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) en una disolución de metano. En esta reacción, la reducción de DPPH es seguida por la disminución de su absorbancia (Velázquez-Rodríguez, 2013). El radical estable DPPH absorbe a 515 nm, pero la absorción desaparece cuando reaccionan con un antioxidante u otra especie radical (Brand-Williams *et al.*, 1995). El DPPH cambia de color púrpura (radical libre estable) a color amarillo cuando reacciona con radicales libres de la muestra (**Figura 8**).

Figura 8. Reacción del DPPH y un antioxidante (AH).



Fuente: Velázquez-Rodríguez, 2013.

5. Literatura citada

- Álvarez-Suarez, J.M., S. Tulipani., S. Romandini., E. Bertoli., M. Battino. 2010. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*. 3:15–23.
- Armenteros, M., M. Heinonen, V. Ollilainen, F. Toldrá, and M. Estévez. 2009. Analysis of protein carbonyls in meat products by using the DNPH method, fluorescence spectroscopy and liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC–ESI–MS). *Meat Science*. 83:104–112.
- Asghar, A., C. F. Lin, J. I. Gray, D. J. Buckley, A. M. Booren, and C. J. Flegal. 1990. Effects of dietary oils and α -tocopherol supplementation on membranous lipid oxidation in broiler meat. *Journal of Food Science*. 55(1):46-50.
- Asghar, A., J. I. Gray, D. J. Buckley, A. M. Pearson, and A.M. Booren. 1988. Perspectives in warmed-over flavour. *Journal Food Science and Technology*. 42: 102-108.
- Ávila R, F., A. Pro-Martínez, E. Sosa-Montes, J. M. Cuca-García, C. Becerril-Pérez, J. L. Figueroa-Velasco, and C. Narciso-Gaytán. 2013. Dietary supplemented and meat-added antioxidants effect on the lipid oxidative stability of refrigerated and frozen cooked chicken meat. *Poultry Science*. 92(1): 243-249.
- Barbut, S., L. Zhang and M. Marcone. 2005. Effects of pale, normal, and dark chicken breast meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. *Poultry Science*. 84:797–802.
- Barroeta, A., C. 2007. Nutritive value of poultry meat: relationship between vitamin E and PUFA. *World's Poultry Science Journal*. 63(02): 277-284.
- Bjorneboe, A., G.E, Bjorneboe, and A. Drevoh. 1990. Absorption, transport and distribution of vitamin E. *Journal Nutrition*. 120:233-242.

- Bohórquez-Gil, S. C., Á. M. Pérez-Cantillo, and C. Bacca-González. 2013. Estabilidad oxidativa de la carne de pollo bajo la influencia del ácido lipoico. Magazine of the Colombian Association of Biological Sciences (ACCB). 1(25):109-120.
- Borek, C. 2004. Dietary antioxidants and human cancer. Integrative cancer therapies 3(4):333-341.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier, and C. L. W. T. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology. 28(1): 25-30.
- Brown, J. E., and M. F. Kelly. 2007. Inhibition of lipid peroxidation by anthocyanins, anthocyanidins and their phenolic degradation products. European Journal of Lipid Science and Technology. 109(1):66–71.
- Carlsen, C. U., J. K. Møller, S., L. H. Skibsted. 2005. Heme-iron in lipid oxidation. Comprehensive Chemical Review. 249:485–98.
- Carreras, I., M. Castellari., J. G. Regueiro., L. Guerrero., E. Esteve-Garcia., and C. Sarraga. 2004. Influence of enrofloxacin administration and α -tocopheryl acetate supplemented diets on oxidative stability of broiler tissues. Poultry Science. 83(5):796-802.
- Chan, K. M., E. A. Decker, and C. Faustman. 1994. Endogenous skeletal muscle antioxidants. Critical Review Food Science Nutrition. 34:403–26.
- Choe, E., and D. B. Min. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 5(4):169-186.
- Cortinas L., A. Barroeta, C. Villaverde, J. Galobart, F. Guardiola, y M. D. Baucells. 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid Oxidation. Poultry Science. 84:48-55.
- Crespo, N., and E. Esteve. 2002. Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles. Poultry Science. 81(10):1533-1542.

- Descalzo, A. M., and A. M. Sancho. 2008. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*. 79(3):423-436.
- Díaz-Acosta, A. E y J. Membrillo Hernández. 2006. Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 9(1):34-44.
- Erejuwa, O.O., S. A. Sulaiman., M. S. A. Wahab. 2012. Honey: a novel antioxidant. *Molecules*. 17:4400–4423.
- Estévez M. 2005. Development of novel cooked products using livers, muscles and adipose tissues from Iberian pigs with natural antioxidants. Thesis doctoral. University of Extremadura, Spain. Pp. 500.
- Estévez M. 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*. 89(3):259-279.
- Estévez M. 2015. Oxidative damage to poultry: from farm to fork. *Poultry Science*. 94(6):1368-1378.
- Estévez M. and R. Cava. 2006. Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. *Meat Science* 72(2):348-355.
- Estévez M., D. Morcuende, and R. Cava. 2003. Oxidative and colour changes in meat from three lines of free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live weight and from industrial pig during refrigerated storage. *Meat Science* 65(3):1139-1146.
- Estévez, M., and M. Heinonen. 2010. Effect of phenolic compounds on the formation of α -aminoadipic and γ -glutamic semialdehydes from myofibrillar proteins oxidized by copper, iron and myoglobin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58:4448–4455.
- Estévez, M., D. Morcuende, and S. Ventanas. 2008. Determination of oxidation. *Handbook of processed meat and poultry analysis*. In L. M. L. Mollet, & F. Toldrá. Boca Raton FL. USA. CRC Press. Pag. 141-162.

- Fábregas, E. A, Velarde y A, Diestre. 2003. El bienestar animal durante el transporte y sacrificio como criterio de calidad. Monografía. IRTA. Centro de Tecnología de Carne, Monells. 7:1-7.
- FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2016. Producción mundial de la carne de pollo en diferentes regiones del mundo. <http://faostat.fao.org> (consultado en abril 2016).
- Felleberg M. A. 2005. Importancia y prevención de la Oxidación de la Carne de Pollo. Revista de Agronomía y forestal y Revista Mundo Lácteo y Cárnico. <http://mundolacteoycarnico.com> importancia-y-prevención-de-la-oxidación-de-carne-de-pollo.
- Fennema, O. 2002. Química de los Alimentos. 2ª Ed. México D.F: Acriba. Pp. 60-61,305-306, 327, 923-925. ISBN: 978-84-797-8447-8.
- Fennema, O. 2010. Aditivos, Química de los alimentos. Ed. Acribia. 3ª Ed. España. Pp. 989-1010.
- Fernández J., J. A. Pérez-Álvarez, and J. A. Fernández-López. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. Food Chemistry. 59(3):345-353.
- Ferreira ICFR, E. Aires, J. C. Barreira M., L. Estevinho M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. Food Chemistry. 114:1438–1443.
- Girón-Calle, J., M. Alaiz, F. Millán, V. Ruiz-Gutierrez, and E. Vioque. 2003. Bound Malondialdehyde in Foods: Bioavailability of N, N-Di-(4-methyl-1, 4-dihydropyridine-3, 5-dicarbaldehyde) lysine. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51(16):4799-4803.
- Gray, J. I., and F. J. Monahan. 1992. Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. Trends in Food Science & Technology. 3:315-319.
- Gray, J. I., E. A. Gomaa, and D. J. Buckley. 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. Meat Science. 43:111-123.

- Gray, J. L., and A. M. Pearson. 1987. Rancidity and warmed-over flavour. In A. M. R. Dutson. Advance in Meat Research. Pp. 3:221-269.
- Grün, I., D. U. Ahn, A. D. Clarke, and C. L. Lorenzen. 2007. Use of natural antioxidant systems is a viable approach to reduce oxidative deterioration and warmed-over flavour development in meat products. Food Technology –Chicago 60:37-43.
- Grunert, K. G. 1997. What's in a steak? A cross-cultural study on the quality perception of beef. Food Quality and Preference. 8(3):157-174.
- Hernández-Cázares, A. S. 2010. Control de calidad y seguridad de la carne y productos cárnicos curados mediante el uso de sensores enzimáticos. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España. Pag. 250.
- Hirose, M., Y. Takesada, H. Tanaka, S. Tamano, T. Kato, and T. Shirai. 1997. Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis. Journal. Carcinogenesis. 19:207-212.
- Hui, Y.H., Guerrero, I., Rosmini, M.R. 2006. Músculo PSE y DFD en cerdo. *Ciencia y Tecnología de Carnes*. Ed. Limusa, S.A. Grupo Noriega. 1ª ed. México, D.F. Pag. 271-280
- Hussain, A. I., F. Anwar, S. T. Hussain Sherazi, and R. Przybylski. 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry. 108(3): 986-995.
- Jamilah, M. B., K. A. Abbas, and R. A. Rahman. 2008. A review on some organic Acids additives as shelf life extenders of fresh beef cuts. American Journal of Agricultural and Biological Sciences. 3:566-574.
- Jo, C. and D. U. Ahn. 1998. Fluorometric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in turkey. Poultry Science. 77(3):475-480.
- Johnston, J. E., H. A. Sepe, C. L. Miano, R. G. Brannan and A. L. Alderton. 2005. Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. Meat Science 70(4):627-631.

- Karou, D. H. M. Dicko, J. Simpore, and A. S. Traore, 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*. 4:823-828.
- Karre, L., K. Lopez and K. J. Getty. 2013. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*. 94(2):220–227.
- Kumar, Y., D. N. Yadav, T. Ahmad and K. Narsaiah. 2015. Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 14(6):796-812.
- Laguerre, M., J. Lecomte and P. Villeneuve. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research*. 46(5):244-282.
- Liu, L. L., H. J. He, H. B. Xie, Y. S. Yang, J. C. Li and Y. Zou. 2014. Resveratrol induces antioxidant and heat shock protein mRNA expression in response to heat stress in black-boned chickens. *Poultry Science*. 93(1):54–62.
- López V. J. H., D. A. Restrepo, I. Maya y Y. Lorena. 2016. Oxidación lipídica y antioxidantes naturales en derivados cárnicos. *Journal of Engineering and Technology*. 2(2):101-110.
- Lund, M. N., M. Heinonen, C. P. Baron and M. Estévez. 2011. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research*. 55: 83–95.
- Maqsood, S., and S. Benjakul. 2011. Retardation of haemoglobin-mediated lipid oxidation of Asian sea bass muscle by tannic acid during iced storage. *Food Chemistry*. 124:1056–1062.
- Maqsood, S., S. Benjakul and A. Kamal-Eldin. 2012. Haemoglobin-mediated lipid oxidation in the fish muscle: A review. *Trends Food Science Technology*. 28:33–43.
- Martin-Polvillo, M., G. Márquez-Ruiz and M. C. Dobarganes. 2004. Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 81(6):577-583.

- Martos, I., F. Ferreres., F.A. Toma-Barbera. 2000. Identification of flavonoid markers for the botanical origin of Eucalyptus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48:1498–1502.
- Mayes P. A. 2004. La peroxidación de los lípidos es una fuente de radicales libres. *Manual Moderno*. 14^a. Ed. Murray KR, y col. *Bioquímica de Harper*. México. Pag. 187-188, 731.
- Moreiras O., A. Carbajal, L. Cabrera, C. Cuadrado. 2010. “Tablas de composición de alimentos”. 14^a ed. Editorial Pirámides.
- Moreno T. R. 2005. Calidad de la carne de pollo (I). *Selecciones Avícolas*. (6): 347-354.
- Moure, A., J. M. Cruz., D. Franco., J. M. Domínguez., J. Sineiro., H. Domínguez and J. C. Parajó. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*. 72(2):145-171.
- Muchuweti, M., E. Kativu, CH. Mupure, C. Chidewe, AR. Ndhlala, M. Benhura. 2007. Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. *American Journal Food Technology* 2(5):414–20.
- Narciso-Gaytán, C., D. Shin, A. R. Sams, C. A. Bailey, R. K. Miller, S. B. Smith, and M. X. Sánchez-Plata. 2010. Soybean, palm kernel, and animal-vegetable oils and vitamin E supplementation effect on lipid oxidation stability of sous vide chicken meat. *Poultry Science*. 89(4):721-728.
- Narciso-Gaytan, C., D. Shin, A. R. Sams, Keeton, J. T., Miller, R. K., Smith, S. B., and M. X. Sánchez-Plata. 2011. Lipid oxidation stability of omega-3-and conjugated linoleic acid-enriched sous vide chicken meat. *Poultry Science*. 90(2):473-480.
- Oliver, C. N., Ahn, B. W., Moerman, E. J., Goldstein, S., & Stadtman, E. R. 1987. Aged-related changes in oxidized proteins. *Journal of Biological Chemistry*. Pp. 262, 5488–5491.
- Ozsoy, N., E. Candoken, and N. Akev. 2009. Implications for degenerative disorders: antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, beta-carotene and beta-tocopherol in Aloe vera. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2(2):99–106.

- Parker, T. D., D. A. Adams, K. Zhou, M. Harris and L. Yu. 2003. Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cold-pressed Edible Seed Oils. *Journal of Food Science*. 68(4):1240-1243.
- Percival, M. 1996. Antioxidants. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Pag. 1-14.
- Pettersen, M. K., M. B. Mielnik, T. Eie, G. Skrede, and A. Nilsson. 2004. Lipid oxidation in frozen, mechanically deboned turkey meat as affected by packaging parameters and storage conditions. *Poultry Science*. 83(7):1240-1248.
- Pokorny, J., N. Yanishlieva, and M. Gordon. 2005. Antioxidantes de los alimentos. *Acribia SA*. Ed. Zaragoza. Pag. 364.
- Proestos, C., N. Chorianopoulos, G. J. Nychas and M. Komaitis. 2005. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(4):1190-1195.
- Ságarra, C., I. Carreras y R. J. A. García. 2002. Influence of meat quality and NaCl percentage on glutathione peroxidase activity and values for acid-reactive substances of and dry-cured *Longissimus dorsi*. *Meat Science*. 62: 503-507.
- Sampels, S. 2013. Oxidation and Antioxidants in Fish and Meat from Farm to Fork. I. Muzzalupo. Ed. Food industry. In Tech Publishing, Croatia. Pag. 114– 144.
- Sasaki, K., M. Mitsumoto and K. Kawabata. 2001. Relationship between lipid peroxidation and fat content in Japanese Black beef *Longissimus* muscle during storage. *Meat Science*. 59(4):407-410.
- Schwalfenberg, G. 2006. Omega-3 fatty acids their beneficial role in cardiovascular health. *Canadian Family Physician*. 52: 734-740.
- Shacter. 2000. Quantification and significance of protein Oxidation in biological samples. *Drug Metabolism. Review*. 32 (3, 4):307-326.
- Shahidi, F. 2000. Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung* 44:158-163

- Shahidi, F. 1994. Assessment of lipid oxidation and off-flavour development in meat and meat products. In Flavor of meat and meat products. Springer US. Pag. 247-266.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2016. Estadísticas de Producción de carne de pollo en México, http://infosiap.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=369 (Consultado en abril 2016).
- Sidwell, C. G., H. Salwin and J. H. Mitchell. 1955. Measurement of oxidation in dried milk products with thiobarbituric acid. *Journal of the American Oil Chemists Society* 32(1):13-16.
- Silva, T. M. S., F. P. dos Santos., A. E. Rodrigues., A. da Silva., E. M. S. da Silva., J. S. Novais and C. A. Camara. 2013. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis* 29(1):10-18.
- Stadtman, E. R. and R. L. Levine. 2003. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 25:207–218.
- Stagsted, J., E. Bendixen and J. Henrik. 2004. Identification of Specific Oxidatively Modified Proteins in Chicken Muscles Using a Combined Immunologic and Proteomic Approach. *Journal. Agricultur. Food Chemistry* 52:3967–3974.
- UNA. Unión nacional de avicultores. 2016. Indicadores económicos, http://www.una.org.mx/index_php/panorama/crecera-2-5-la-avicultura-mexicana-en-2015 (consultado en abril 2016).
- Valencia, I., M. N. O’Grady, D. Ansorena, I. Astiasaran and J. P. Kerry. 2008. Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. *Meat Science*. 80(4):1046-1054.
- Velázquez-Rodríguez, S. R. 2013. Efecto de genotipo, alimento y tiempo de refrigeración, en la actividad antioxidante y estabilidad oxidativa de lomo crudo de conejo. Tesis maestría, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, México. Pag. 39.

- Ventanas, S., M. Estevez., J. F. Tejada and J. Ruiz. 2006. Protein and lipid oxidation in *Longissimus dorsi* and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Science* 72(4):647-655.
- Weiss, J., M. Gibis, V. Schuh, and H. Salminen. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science* 86(1):196-213.
- Wen, J., P. A. Morrissey, D. J. Buckley, and P. J. A. Sheehy. 1997. Supranutritional vitamin E supplementation in pigs: Influence on subcellular deposition of α -tocopherol and on oxidative stability by conventional and derivative spectrophotometry. *Meat Science* 47(3-4):301-310.
- Wilson, B. R., A. M. Pearson and F. B. Shorland. 1976. Effect of total lipids and phospholipids on warmed-over flavor in red and white muscle from several species as measured by thiobarbituric acid analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24(1):7-11.
- Xiong, Y. L. 2000. Protein oxidation and implications for muscle foods quality, in *Antioxidants in muscle foods*. Eds. E. A. Decker, C. Faustman, and C. J. Lopez- Bote, Ed. Wiley, New York. Pag. 85–111
- Yanishlieva, N. V., E. M. Marinova, M. H. Gordon, and V. G. Raneva. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry* 64(1):59-66.

CAPÍTULO 1. Evaluación antioxidante de mieles de abeja *Apis mellifera* y su comparación con la miel de abeja sin guijón (*Scaptotrigona mexicana*)

RESUMEN

La miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*) ha demostrado ser benéfica para la salud humana, al contener compuestos antioxidantes que reducen la oxidación, sus compuestos polifenólicos inhiben la formación de radicales libres, los cuales son precursores de la rancidez. En este sentido se realizó un estudio para comparar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de la miel de abeja sin aguijón *S. mexicana* con cuatro mieles de abeja europea *Apis Mellifera*. Para ello se analizó el contenido de sólidos solubles (°Brix), pH, humedad, contenido de polifenoles totales extraíbles y capacidad antioxidante mediante el método DPPH. La evaluación mostró que la miel de abeja sin aguijón *S. mexicana* resulto ser la mejor en capacidad antioxidante, y contenido de polifenoles. Los resultados de la caracterización mostraron un contenido de polifenoles totales de 111.74 ± 7.32 mg EAG/100 g.m.f, y un valor de 1130.01 ± 48.84 μ mol Eq Trolox/100 g.m.f en capacidad antioxidante, valores superiores para todas las mieles de la abeja *Apis mellifera*. Por otra parte, el pH fue 3.85 ± 0.04 relativamente bajo en comparación con las mieles de abeja europea, considerando así una mayor estabilidad en los compuestos antioxidantes. Los resultados favorables pueden atribuirse a la naturaleza de la abeja *S. mexicana*; sin embargo, no existen diferencias significativas en cuanto a sólidos solubles (°Brix) y humedad, concluyendo que la miel de abeja sin aguijón *S. mexicana* inhibe un mayor número de compuestos de oxidación, considerándose como un producto funcional para la estabilidad oxidativa.

Palabras clave: *Scaptotrigona mexicana*, monofloral, polifenoles, actividad antioxidante.

CHAPTER 1. Antioxidant evaluation of bee honeys *Apis mellifera* and its comparison with stingless bee honey (*Scaptotrigona mexicana*)

ABSTRACT

The stingless bee honey (*Scaptotrigona mexicana*), has been shown to be beneficial to human health, by containing antioxidant compounds that reduce oxidation, its polyphenolic compounds inhibit the formation of free radicals, which are precursors of rancidity. In this sense, a study was carried out to compare the antioxidant capacity and content of total polyphenols of stingless bee honey *S. mexicana* with four European bee honeys *Apis Mellifera*. The content of soluble solids (° Brix), pH, moisture content, total extractable polyphenols and antioxidant capacity were analyzed using the DPPH method. The evaluation showed that bee honey stingless *S. mexicana* proved to be the best in antioxidant capacity and polyphenol content. The results of the characterization showed a total polyphenol content of 111.74 ± 7.32 mg EAG / 100 g.m.f , and a value of 1130.01 ± 48.84 μ mol Eq Trolox / 100 g.m.f in antioxidant capacity, higher values for all honeys of the bee *Apis mellifera*. On the other hand, the pH was 3.85 ± 0.04 relatively low compared with the European bee honeys, thus considering a greater stability in the antioxidant compounds. Favorable results may be attributed to the nature of the *S. mexicana* bee; However, there are no significant differences in soluble solids (° Brix) and humidity, concluding that stingless bee honey *S. mexicana* inhibits a greater number of oxidation compounds, being considered as a functional product for oxidative stability.

Keywords: *Scaptotrigona mexicana*, monofloral, polyphenols, antioxidant activity.

1.1. Introducción

La miel de abeja es considerada como un producto con beneficios para la salud (Amtmann, 2010). La producción de miel de abejas melíferas se realiza bajo las prácticas de la Apicultura; mientras que, la producción de abejas nativas o meliponas se realiza mediante la Meliponicultura (Olivera *et al.*, 2012). Ambas mieles, se componen mayormente de monosacáridos (azúcares reductores simples como fructosa y glucosa, y azúcares no reductores como sacarosa y maltosa), agua y ceniza (Souza *et al.*, 2006). Aunque la diferencia más notoria entre especies es que las mieles de abeja sin aguijón tienen un contenido más alto de agua y acidez libre (Vit *et al.*, 2006; Souza *et al.*, 2006); además poseen bajo pH, que se atribuye principalmente a la presencia de ácidos orgánicos tales como el ácido fórmico, acético, butírico, láctico, oxálico, succínico, tartárico, maleico, pirúvico, piroglutámico, α -cetoglutámico, cítrico, málico y glucónico (Ulloa *et al.*, 2010). Predominando éste último, el cual constituye del 70 al 80% de los ácidos presentes y resulta de la actividad de la enzima glucosa oxidasa sobre la glucosa del néctar durante la transformación en miel (Gil, 2010; Silva *et al.*, 2013). Cabe destacar que ésta reacción es extremadamente lenta en mieles muy densas, pero es más rápida cuando la miel es más fluida, como el caso de las mieles de abejas nativas, y se produce mayor cantidad de ácido glucónico (Simal y Huidobro, 2001). Además, el pH ácido favorece la conservación de la miel inhibiendo la presencia y crecimiento de microorganismos, otorgándole características de gran estabilidad (Gomes *et al.*, 2011).

Las propiedades sensoriales de la miel entre especies juegan un papel muy importante en la aceptación del consumidor, donde en términos de apariencia, aroma, sabor y textura varían de un producto a otro (Vit *et al.*, 2013). La producción de miel de abeja *A. mellifera* comercial ha tenido mayor aceptación e interés internacional; mientras, que la gran diversidad de abejas sin aguijón con más de 500 especies, aumenta la complejidad del muestreo y limita la recolección de datos sobre una única especie y miel monofloral y se tienen menores rendimientos de miel en comparación con *A. mellifera* (Vit *et al.*, 1998).

Los estudios científicos de la miel de abeja sin aguijón, han sido muy pocos en comparación con la extensa documentación disponible sobre las mieles de abeja europea (*A. mellifera*); asimismo, hace falta una legislación para impulsar la producción y poder ingresar al mercado (Guerrini *et al.*, 2009; Vit *et al.*, 2013), pese a que esta miel es única, no sólo por su origen perteneciente a una rica

vegetación de ambientes nativos, sino también por su grado inusual de dulzor, acidez, y una serie de otras cualidades que le contribuyen como una miel con propiedades funcionales (Vit *et al.*, 2013). En este contexto, se realizó un estudio para comparar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de la miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) con cuatro mieles de abeja europea (*A. mellifera*).

1.2. Materiales y métodos

1.2.1. Selección del producto biológico

El estudio se realizó en dos fases experimentales, la primera fase consistió en una comparación de actividad antioxidante entre cinco mieles. Las mieles de *A. mellifera* (monofloral trigo (T1), monofloral naranja (T2), monofloral trébol (T3) y multifloral (T4)) fueron adquiridas en el mercado local de Córdoba, Veracruz, México; mientras que, la miel multifloral de abeja sin aguijón (T5) fue cosechada del meliponario del Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba (A2.1.). La segunda fase consistió en la caracterización fisicoquímica de la miel de abeja con mayor contenido de actividad antioxidante. Las mieles se envasaron en frascos de vidrio color ámbar y se almacenaron a 4°C para su posterior análisis. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Ciencia de los Alimentos del Instituto Tecnológico de Tuxtepec, Oaxaca y en el Laboratorio de Ciencia de los Alimentos del Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba. Todos los análisis se realizaron por triplicado, donde los factores para ello fueron el origen de la miel (especie) y la fuente floral.

1.2.2. Caracterización fisicoquímica

En la primera fase experimental se analizó sólidos solubles (°Brix), humedad, pH, contenido de polifenoles totales extraíbles y capacidad antioxidante mediante el método DPPH. En la segunda fase experimental, la miel con mayor contenido en actividad antioxidante se caracterizó e incluyó el análisis de sólidos solubles (°Brix), humedad, pH, acidez titulable, color, hidroximetil furfural (HMF), conductividad eléctrica, azúcares reductores directos (ARD), azúcares reductores totales (ART), contenido de polifenoles totales extraíbles.

Sólidos solubles (°Brix)

La cuantificación de °Brix se realizó con un refractómetro digital (Hanna Instruments, Modelo HI 96801). Una gota de miel se colocó directamente en el prisma del equipo y se registró la medición, según lo establecido por el libro de métodos ICUMSA (1964a).

Humedad

La humedad se determinó según lo establecido en la NMX-F-083-1986, con algunas modificaciones. Se pesaron 3 g de miel en una charola de aluminio a peso constante, se introdujeron en una estufa de secado (MEMMERT 100-800) a 60 °C durante 24 h. Las muestras se colocaron en un desecador y se pesaron una vez que estaban a temperatura ambiente. El porcentaje de humedad se obtuvo por diferencia de peso, con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(P-P_1)}{(P_2)} * 100$$

Dónde:

P = Peso de la charola con la muestra húmeda en g.

P₁ = Peso de la charola con la muestra seca.

P₂ = Peso de la muestra en g.

En la segunda fase experimental, la humedad se evaluó con una termobalanza (AND MS-70). El equipo se precalentó a 100 °C; posteriormente se pesó un gramo de miel, se expandió homogéneamente en la portamuestras y el análisis se realizó a 140 °C durante 10 min.

Evaluación de pH

La medición de pH se realizó con un potenciómetro (Orión star 3 Thermoscientific), 10 g de miel se homogenizaron con 75 mL de agua bidestilada en un vórtex a 3,000 rpm durante 2 min, según el método 962.19 del manual de la AOAC (2005).

Acidez titulable

El análisis de acidez titulable se realizó siguiendo la metodología establecida en el método volumétrico de titulación en retroceso número 962.19 del manual de la AOAC (2005), donde diez

gramos de miel se homogenizaron en 75 mL de agua destilada en un vórtex a 3,000 rpm durante 2 min. La disolución de miel se tituló con NaOH al 0.05 N hasta llegar a un pH de 8.5. Posteriormente se añadieron 10 mL de la solución de NaOH al 0.05 N, y se tituló por retroceso con una solución de HCl al 0.05 N, hasta alcanzar a un pH de 8.3. Se realizó un blanco de agua destilada con 75 mL siguiendo el mismo procedimiento, los datos se expresaron en miliequivalentes de ácido por kilogramo de miel (meq/Kg), de acuerdo a las siguientes formulas:

$$\text{Acidez libre} = \frac{(\text{mL de NaOH } 0.05\text{N de la muestra}) - (\text{mL NaOH del blanco}) * 50}{\text{g de muestra}}$$

$$\text{Lactona} = \frac{(10 - \text{mL de HCL } 0.05\text{N}) * 50}{\text{g de muestra}}$$

$$\text{Acidez total} = \text{Acidez libre} + \text{Lactona}$$

Color

El color en la miel se midió en un colorímetro digital (Hanna Honey color photometer modelo HI 96785, con un rango de 0 a 150 nm *Pfund*), utilizando el glicerol como medio de calibración, según el método establecido por el libro de métodos ICUMSA (1964b).

Hidroximetil Furfural (HMF)

La evaluación de hidroximetilfurfural (HMF) en la miel se realizó en un reflectómetro digital (Reflectoquant®). Para ello, 5 g de miel se homogenizaron con 20 ml de agua bidestilada durante 3 min con agitación magnética. Las tiras reactivas de hidroximetil se sumergieron en esta disolución por 30 s, se retiró el exceso de líquido con una toalla absorbente y se tomaron lecturas correspondientes en el reflectómetro digital. El resultado final se calculó multiplicando el valor de medición por el factor de dilución, descrito por Bogdanov *et al.* (1997).

Conductividad eléctrica

El análisis de conductividad eléctrica se llevó acabo preparando una disolución de miel al 20%; 10 g de miel se homogenizaron en 50 mL de agua bidestilada por 3 min hasta verificar la ausencia de grumos o sólidos en la solución. Posteriormente se ajustó el electrodo del conductometro

(Hanna Instruments, modelo HI98303), se introdujo en la disolución y se tomaron las lecturas hasta estabilización, según el método realizado por Alves *et al.* (2005).

Azúcares reductores directos

La evaluación de azúcares reductores directos se realizó según la norma NOM-086-SSA1-1994 para miel, 12 g de miel se homogenizaron en 200 mL de agua bidestilada a 60°C, se añadieron 4 mL de ferrocianuro de potasio ($C_6N_6FeK_4$) y 4 mL de acetato de zinc ($C_4H_6O_4Zn$), esta solución se agitó durante 30 min en parrilla eléctrica con agitación magnética, evitando la formación de grumos, posteriormente se filtró en un matraz volumétrico de 250 mL y se aforó con agua bidestilada. La disolución obtenida fue colocada en una bureta como medio de titulación a matraces previamente preparados con 100 mL de agua bidestilada y 5 mL de solución Felhing A y 5 ml de solución Felhing B. Posteriormente, el matraz fue colocado en una parrilla eléctrica a una temperatura de 270°C con agitación magnética hasta ebullición, se añadió 1 mL de azul de metileno para iniciar la titulación. La titulación se detuvo en el viraje de color azul a rojo ladrillo con precipitado al fondo del matraz, los análisis se realizaron por triplicado.

Azúcares reductores totales

La evaluación de azúcares reductores totales se siguió bajo la norma NOM-086-SSA1-1994 para miel, 12 g de miel se homogenizaron en 200 mL de agua bidestilada a 60°C, se añadieron 4 mL de ferrocianuro de potasio ($C_6N_6FeK_4$) y 4 mL de acetato de zinc ($C_4H_6O_4Zn$), esta solución se agitó durante 30 min en parrilla eléctrica con agitación magnética, evitando la formación de grumos, posteriormente se filtró en un matraz volumétrico de 250 mL y se aforó con agua bidestilada, se tomó una alícuota de 25 mL y se adicionaron 20 mL de agua bidestilada y posteriormente 10 mL de HCL concentrado (37%). La disolución se introdujo en un baño maría a 100°C, por 15 min hasta alcanzar una temperatura de la disolución de 96 °C. Finalizando el tiempo, la disolución se colocó en un recipiente con agua fría (4°C), y se añadieron 3 gotas de fenolftaleína como indicador. La disolución se neutralizó con una disolución de NaOH al 50% y se transfirió a un matraz volumétrico de 250 mL, se aforó con agua bidestilada, el filtrado se colocó en una bureta y se utilizó como medio de titulación y se continuó el procedimiento como se describió anteriormente para azúcares reductores directos.

1.2.3. Cuantificación de Polifenoles totales extraíbles (PTE)

a) Preparación de los extractos metanólicos de las mieles

La extracción orgánica-ácida se realizó siguiendo la metodología de Lecumberri *et al.*, (2007) con algunas modificaciones. Para ello, 1 g de miel se pesó en tubos de centrifuga de 50 mL protegidos de la luz. Posteriormente, se adicionaron 40 mL de una disolución metanol ácida (HCl 2 N al 8% en metanol/agua 50/50), se agitaron a 300 rpm durante 1 hora en un agitador orbital a 20 °C y se centrifugó a 3000 rpm a 5°C durante 10 min. El sobrenadante se colocó en frascos oscuros y al residuo se adicionaron 40 mL de una disolución acetona agua (70/30 v/v). Se realizó una segunda extracción, bajo el mismo procedimiento, el sobrenadante se colocó junto con el primero en un matraz aforado de 100 mL, forrado de aluminio y se aforó con una disolución de metanol ácida y acetona/agua (50/50 v/v). Finalmente, el extracto se almacenó en refrigeración a 4 °C en ausencia de luz hasta su análisis en el espectrofotómetro.

b) Cuantificación de PTE

La determinación de PTE se realizó siguiendo la metodología propuesta por Heimler *et al.*, (2005), en la mayor obscuridad posible, para evitar efectos por luminosidad en el reactivo Folin Ciocalteu, y utilizando todos los reactivos a temperatura de 4°C. En un matraz aforado de 25 mL, se adicionó 500 µL del extracto metanólico de miel y 500 µL del reactivo Folin Ciocalteu, se dejó reposar por 3 min, se agregó 10 mL de una disolución de carbonato de sodio al (7%), se agitó manualmente, se aforó a 25 mL con agua bidestilada a y se dejó reposar durante 1 h en total obscuridad. A la par se preparó una disolución de metanol ácida y acetona agua (50/50 v/v) para utilizar como blanco al momento de realizar las lecturas en el espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys Scanning 10 UV/Vis) a 750 nm. Como estándar se utilizó ácido gálico para calcular los equivalentes de ácido gálico por cada 100 g de muestra, según fórmula siguiente:

$$\% \text{ polifenoles en la muestra} = \frac{\text{mg/mL de la muestra} \times 0.1}{\text{peso de la m.s. (mg)}} * 100$$

1.2.4. Evaluación de la actividad antioxidante (Método DPPH)

La actividad antioxidante de la miel, se realizó bajo el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil), según el método propuesto por Brad-Williams *et al.* (1995) y Sánchez-Moreno *et al.*, (1998) con algunas modificaciones. Una disolución metanólica de DPPH (Sigma Aldrich), 0.003 g de DPPH

en 50 mL de metanol, se agitó en vórtex, se aforó a 100 mL y se mantuvo en un baño frío; posteriormente, ésta disolución se diluyó hasta obtener una absorbancia de 0.7. Para la medición en el espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys Scanning 10 UV/Vis) se añadió en una celda 3.9 mL de la disolución metanólica de DPPH y 0.1 mL del estándar o del extracto de muestra, se homogenizó manualmente poniendo un parafilm en la boca de la celda y se midió la absorbancia a 515 nm cada 0.25 min durante 7 min se tomaron lecturas. Los resultados se expresaron como μmol de eq Trolox por cada 100 g de muestra fresca según las formulas siguientes, considerando el porcentaje de inhibición.

$$\% \text{ inhibicion} = \frac{\text{abs blanco} - \text{abs de la lectura de 7min}}{\text{abs blanco}} \times 100$$

$$uM = \frac{\% \text{ inhibicion} - \text{ordenada}}{\text{pendiente}}$$

O bien como μM eq Trolox por cada 100 g de muestra fresca (μM eq Trolox/100 g.m.f.)

$$\mu\text{mol. eq trolox}/100 \text{ g m f} = uM \frac{0.1}{\text{g de muestra}} \times 100$$

1.2.5. Análisis estadístico

El diseño estadístico utilizado fue un diseño completamente al azar con un factor y tres repeticiones. El factor consistió en los cinco tipos de mieles descritas anteriormente. El análisis estadístico se realizó utilizando el procedimiento PROC GLM de SAS y una comparación de medias utilizando la prueba Tukey con un nivel de significancia de ($P \leq 0.05$), con el fin de evaluar el efecto del tipo de miel sobre las variables fisicoquímicas y antioxidantes. Se utilizó el paquete estadístico SAS versión 9.4.

1.3. Resultados y discusión

1.3.1. Comparación fisicoquímica de miel de abeja de *Apis mellifera* con *S. mexicana*

La miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) mostró un pH de 3.25 ± 0.1 (**Figura 1**), valor similar al reportado por Silva *et al.* (2013) de 3.30 para la misma especie, al igual que el encontrado por

Alves *et al.* (2005) de 3.27 para la miel de abeja sin aguijón de la especie *Melipona mandacaia*. Por otra parte, las mieles de abeja europea (*A. mellifera*), no presentaron diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) de pH entre ellas. Sin embargo, los valores encontrados están dentro del rango típico de estas mieles de 3.9 a 6.1, según lo establece la National Honey Board y son similares a los valores reportados por Pérez y Chamorro (2015) de 4.01.

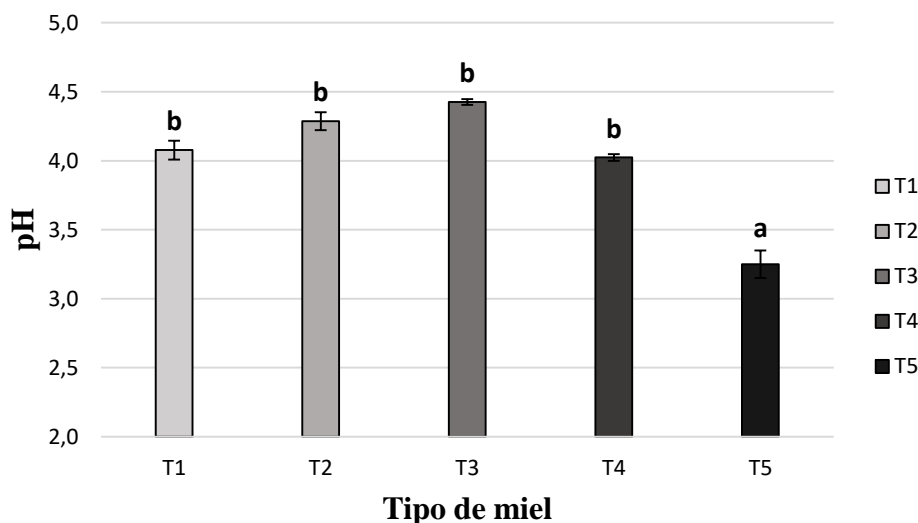


Figura 1. Valores de pH de mieles de abeja *Apis mellifera* y de abeja sin aguijón *Scaptotrigona mexicana*.

Letras diferentes entre cada barra indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). NOTA: T1: monofloral trigo, T2: monofloral naranja, T3: monofloral trébol, T4: multifloral y T5: multifloral de abeja sin aguijón.

La formación de ácidos en la miel tales como el ácido fórmico, acético, butírico, láctico, oxálico, succínico, tartárico, málico, pirúvico, piroglutámico, α -cetoglutámico, cítrico, málico y glucónico principalmente (Ulloa *et al.*, 2010), resultan de la actividad de la enzima glucosa oxidasa sobre la glucosa del néctar durante la transformación en miel (Gil, 2010). Este proceso es extremadamente lento en mieles muy densas; sin embargo es muy rápido cuando la miel es más fluida (Simal y Huidobro, 2001). En este sentido, el pH bajo en la miel de abeja sin aguijón podría relacionarse con esta reacción, ya que esta miel es mucho más fluida que las mieles de *A. mellifera*.

El contenido de humedad en la miel de abeja europea multifloral *Apis mellifera* (T4), fue de 22.01 ± 0.45 %; el cual, no tuvo una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la miel de abeja sin aguijón (T5), la cual presentó un valor de 22.68 ± 0.24 %, no obstante la miel monofloral de trébol (T3) presentó el porcentaje más bajo, mostrando diferencia estadísticamente significativa

a todas las demás. **(Figura 2)**. La variación en el contenido de humedad, puede ser atribuida a las condiciones ambientales y a la manipulación de los apicultores en el período de cosecha (Acquarone *et al.*, 2007); por otra parte, también se puede atribuir al exceso de agua que se encuentra en la miel de las meliponas causada por una baja velocidad de deshidratación del néctar durante el proceso de transformación a miel y por los hábitats húmedos donde se encuentran algunas especies (Cortopassi y Montenegro, 2000). Los resultados de humedad presentaron el mismo efecto descrito por Almeida-Muradian *et al.* (2013), quienes encontraron una humedad mayor en mieles *Melipona subnitida* que *Apis mellifera*, de 23.86 y 18.27% respectivamente.

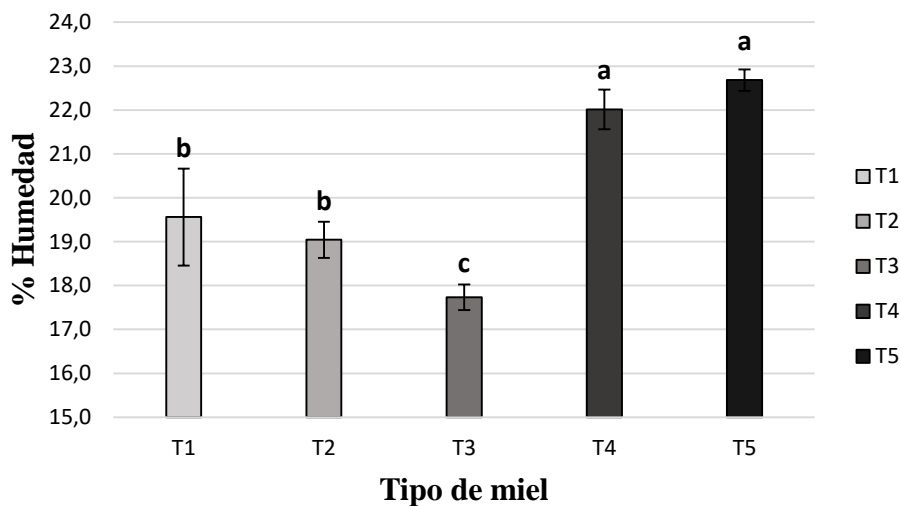


Figura 2. Valores de humedad de mieles de abeja *Apis mellifera* y de abeja sin aguijón *Scaptotrigona mexicana*.

Letras diferentes entre cada barra indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). NOTA: T1: monofloral trigo, T2: monofloral naranja, T3: monofloral trébol, T4: multifloral y T5: multifloral de abeja sin aguijón.

La mayoría de la mieles analizadas mostraron diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) en un rango de 71.75 ± 0.21 a 74.00 ± 0.70 para (T5 y T4) respectivamente. **(Figura 3)**, lo cual se atribuye a las diferentes fuentes florales y a la especie de abeja; sin embargo, la miel de estudio *S. mexicana* (T5), presentó el valor más bajo de 71.75 ± 0.21 °Bx, pero fue similar a lo reportado por Roubik (1983) de 72.2 °Bx.

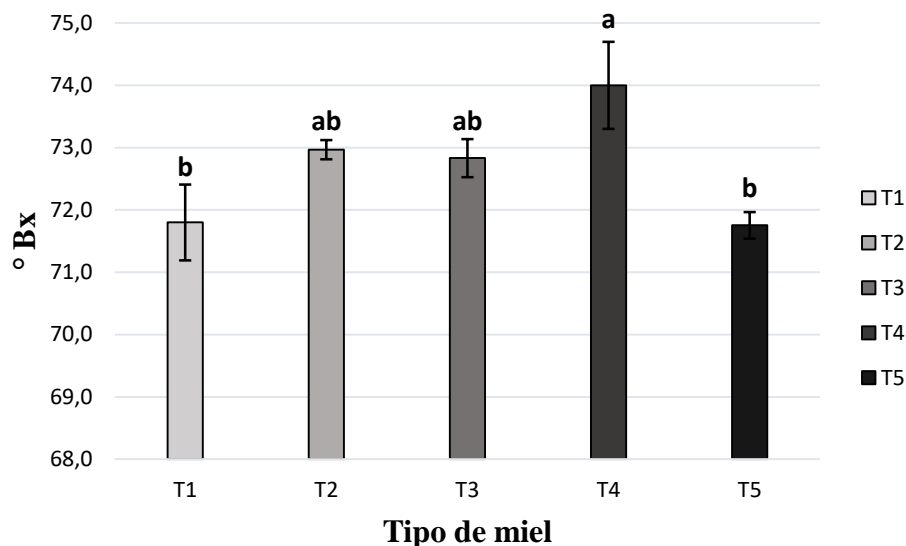


Figura 3. Valores de sólidos solubles (°Bx) de mieles de abeja *Apis mellifera* y de abeja sin agujón *Scaptotrigona mexicana*.

Letras diferentes entre cada barra indican diferencias estadísticamente significativas (*Tukey*, $P \leq 0.05$).
 NOTA: T1: monofloral trigo, T2: monofloral naranja, T3: monofloral trébol, T4: multifloral y T5: multifloral de abeja sin agujón.

1.3.2. Cuantificación del contenido de polifenoles totales extraíbles (PTE).

El contenido total de polifenoles en miel de abeja europea osciló desde 88.39 ± 8.10 hasta 96.877 ± 7.95 mg de EAG / 100 g de miel; mientras que la especie *S. mexicana* fue de 111.47 ± 4.43 mg de EAG / 100 g (Figura 4). El contenido más alto de polifenoles se observaron en la miel de T1 y T5 de 96.87 ± 7.95 mg y 111.47 ± 4.43 mg de EAG / 100 g de miel respectivamente, con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$.

Los resultados del contenido total de polifenoles mostrados en este estudio, se encuentran dentro del rango estimado por Meda *et al.*, (2005), 86,07 mg a 114.75 mg EAG/100 g de muestra para la especie *A. mellifera*. Gheldof *et al.*, (2002) afirman que los compuestos fenólicos que se encuentran en la miel se relacionan significativamente con la actividad antioxidante; sin embargo, la actividad antioxidante parece ser el resultado de la actividad combinada de los compuestos fenólicos de miel, péptidos, ácidos orgánicos, enzimas y productos de reacción de Maillard (Gheldof *et al.*, 2002).

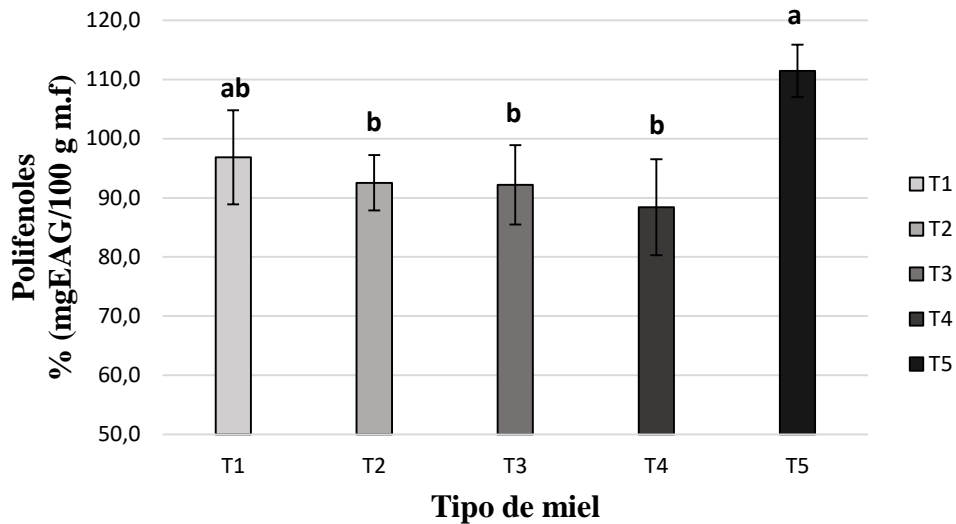


Figura 4. Valores de contenido total de polifenoles (%mg EAG/100g.m.f.) de mieles de abeja *Apis mellifera* y de abeja sin aguijón *Scaptotrigona mexicana*.

Letras diferentes entre cada barra indican diferencias estadísticamente significativas (*Tukey*, $P \leq 0.05$). NOTA: T1: monofloral trigo, T2: monofloral naranja, T3: monofloral trébol, T4: multifloral y T5: multifloral de abeja sin aguijón.

1.3.3. Evaluación de la actividad antioxidante método (DPPH)

Los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante de la miel se expresaron en $\mu\text{mol Eq Trolox}/100\text{g.m.f}$. La miel de abeja sin aguijón *S. mexicana* (T5), presentó el valor más alto con $1012.43 \pm 14.95 \mu\text{mol}$, seguido de la miel de abeja *A. mellifera* de la fuente floral de trigo (T1), con un valor de $743.46 \pm 19.25 \mu\text{mol}$, (**Figura 5**), mostrando diferencia estadísticamente significativa (*Tukey* $P \leq 0.05$) entre ellos; mientras que los demás tipos de mieles no mostraron una diferencia estadísticamente significativa.

Los valores de actividad antioxidante en este estudio, utilizando el método DPPH, resultaron ser mayores que los reportados para mieles serbias de *Urtica dioica* ($49.0 \mu\text{mol Eq Trolox}/100\text{g.m.f}$) y para mieles de *Tilia platyphyllos* ($29.0 \mu\text{mol Eq Trolox}/100\text{g.m.f}$) reportados por Gorjanović *et al.* (2013). Asimismo para los valores de mieles mono y multiflorales reportados por Rodríguez *et al.* (2012) ($25.0 \mu\text{mol Eq Trolox}/100\text{g.m.f}$); no obstante, los resultados de la miel de la abeja *S. mexicana*, están por arriba de todos ellos.

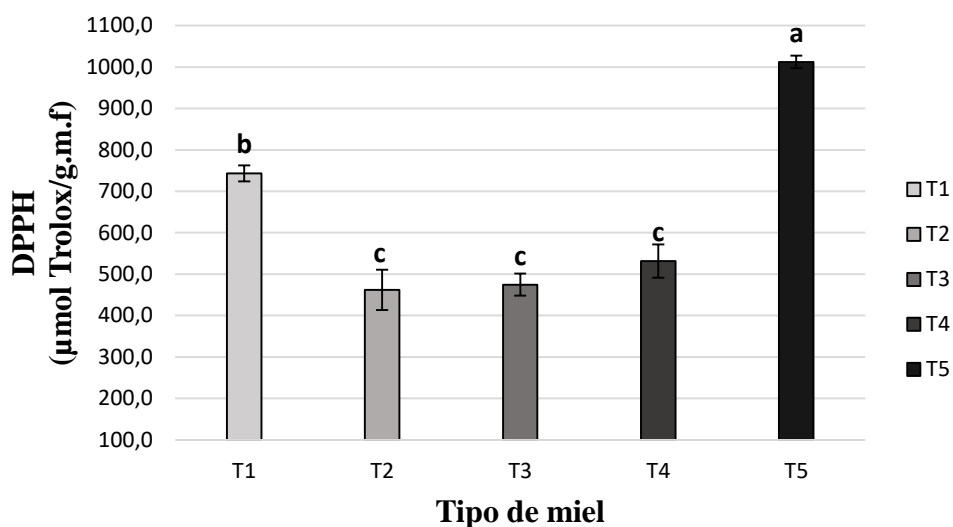


Figura 5. Valores de actividad antioxidante ($\mu\text{mol Trolox/g.m.f}$) de mieles de abeja *Apis mellifera* y de abeja sin aguijón *Scaptotrigona mexicana*.

Letras diferentes entre cada barra indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). NOTA: T1: monofloral trigo, T2: monofloral naranja, T3: monofloral trébol, T4: multifloral y T5: multifloral de abeja sin aguijón.

Ruiz-Navajas *et al.* (2011), mencionan que la actividad antioxidante de la miel se puede atribuir a la presencia de compuestos antioxidantes y a posibles sinergias entre los componentes alimentarios adicionales como ácidos orgánicos y enzimas. Los resultados mostraron que la miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) podría ser considerada una buena fuente de compuestos polifenólicos naturales y flavonoides. Olivera *et al.* (2012) mencionan que las diferencias de capacidad antioxidante entre un tipo de miel y otro, se deben al origen de fuente floral, siendo este un factor con mayor influencia que la especie.

1.3.4. Caracterización fisicoquímica de miel de abeja *Scaptotrigona mexicana*

Los resultados obtenidos dentro de la primera fase de este estudio, mostraron que la miel de abeja sin aguijón de la especie *S. mexicana* fue diferente significativamente de entre las mieles de la especie *A. mellifera*. Motivo por el cual, se definió seleccionar la miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) como la más destacada, por su alta actividad antioxidante y presencia de compuesto polifenólicos, para continuar con la segunda fase experimental. Cabe destacar que en esta etapa el análisis fisicoquímico se realizó en miel de abeja sin aguijón recién cosechada.

En el **Cuadro 1** se muestran los resultados finales obtenidos del análisis fisicoquímico de la miel de abeja sin aguijón *S. mexicana* (T5); se obtuvo un pH de 3.85 ± 0.04 , valor más bajo que el reportado por Souza *et al.*, (2006) de 4.05 para la misma especie y se encuentran dentro de los parámetros establecidos por Vit (2009), de 3.24 a 4.94, para mieles de abejas de la misma especie.

Cuadro 1. Análisis fisicoquímico de la miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*).

Variables	Miel de abeja sin aguijón <i>Scaptotrigona mexicana</i>
Ph	3.85 ± 0.04
Humedad (%)	22.35 ± 0.31
°Brix	72.13 ± 0.46
CE(μ Siemens/cm)	505.56 ± 3.91
Color (mm <i>pfund</i>)	76.44 ± 1.24
HMF (mg/kg)	6.81 ± 0.53
Ácidoz total (meq/kg)	65.42 ± 3.54
ARD (g/100g)	30.36 ± 1.49
ART (g/100g)	42.56 ± 2.13
PTE (mgEAG/100 g.m.f)	111.74 ± 7.32
DPPH (μ mol Eq Trolox/100 g.m.f)	1130.01 ± 48.84

CE= Conductividad eléctrica; HMF= Hidroximetilfurfural; ARD= Azúcares reductores directos; ART=Azúcares reductores totales; PTE= Polifenoles totales extraíbles; DPPH=Actividad antioxidante.

La humedad en la miel de abeja sin aguijón fue de $22.35 \pm 0.31\%$, menor a lo reportado por Grajales *et al.*, (2001) de 24.7% para la misma especie, 23.2% para *Tetragonista angustula* y de 24 % para *Melipona beecheii*. Souza *et al.*, (2006) mencionan que las mieles de abeja sin aguijón, presentan un contenido de humedad mayor que las mieles de abejas *A. mellifera*, esto debido a factores extrínsecos como la temperatura de almacenamiento, origen botánico y a la manipulación postcosecha (Ulloa *et al.*, 2010).

La caracterización mostró valores de sólidos solubles totales de 72.13 ± 0.46 °Brix, valor similar a lo reportado por Roubik (1983) para miel de abeja *Scaptotrigona luteipennis* y ligeramente menor para la miel de abeja *Trigona corvina* con 73 °Brix.

La conductividad eléctrica (CE), presentó un valor de 505.56 ± 3.9 μ Siemens/cm, valor más alto que el rango reportado por Alves *et al.* (2005) de 267.5 hasta 462.0 μ Siemens/cm, para la miel de abeja sin aguijón *Melipona mandacaia*. Este resultado puede ser atribuido a los compuestos que naturalmente están presentes en la miel, como ácidos orgánicos, sales minerales y proteínas (Acquarone *et al.*, 2007). Químicamente estos compuestos son “ionizables” cuando están en disolución y tienen la propiedad de conducir corriente eléctrica (Yadata, 2014).

El color es otro de los parámetros de importancia en la caracterización fisicoquímica de la miel; con base a ello, el resultado mostró un valor de 76.44 ± 1.24 mm *pfund*, menor al reportado por Guerrini *et al.*, (2009) de 150 mm *Pfund* para mieles de abeja sin aguijón del género *Melipona*. No obstante, el valor de color obtenido es mayor a los reportados por Gorjanović *et al.*, (2013) de diferentes fuentes florales (29.17 mm *pfund*, para mieles de *ortiga*, 34.22 mm *pfund* para mieles multiflorales y 32.87 mm *pfund* para mieles de cultivo de *tilios*, de especies de abejas *A. mellifera*. por otra parte, se han reportado estrechas correlaciones positivas entre el color oscuro de la miel y el contenido alto en compuestos fenólicos, carotenoides y flavonoides (Meda *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2009), donde las mieles ámbar y más cristalizadas poseen una actividad antioxidante más fuerte que las mieles más claras y transparentes (Alvarez-Suarez *et al.*, 2010).

La frescura de la miel fue expresada por la actividad hidroximetilfurfural. En este caso, la miel de abeja sin aguijón presentó un valor de 6.81 ± 0.53 mg/Kg de muestra, menor a lo reportado por Grajales *et al.* (2001), 42 mg/Kg para la misma especie; sin embargo, muy similar a lo reportado por Alves *et al.* (2005), 5.8 mg/Kg para la abeja *Melipona mandacaia*. Esto puede atribuirse a la reacción de ciertos ácidos con azúcar (principalmente fructuosa) en presencia de calor. No obstante, el contenido de HMF en la miel también puede verse afectada por el pH, contenido de agua y minerales (White, 1979), así como al manejo (recién cosechada) y a las condiciones de almacenamiento.

La acidez total de la miel de estudio fue de 65.42 ± 3.54 meq/Kg, menor al reportado por Grajales *et al.* (2001) y Dardón, (2008), de 76.7 meq/Kg para la misma especie y de 85 meq/Kg para mieles de abejas sin aguijón respectivamente; sin embargo, la acidez encontrada es considerablemente mayor para el valor reportado por Alves *et al.* (2005) de 43.48 meq/Kg para el género *Melipona mandacaia*. La miel de estudio es más ácida que la miel de abeja *A. mellifera*, según reporta Rodríguez *et al.* (2012) en un rango de 13.4 a 46.8 meq/Kg. (Alves *et al.*, 2005) menciona que el incremento de acidez en la miel se debe al tiempo de almacenamiento por la generación de ácidos orgánicos, especialmente el ácido glucónico, y esto a su vez favorece la estabilidad y la inhibición del desarrollo microbiano.

El contenido de azúcares reductores en la miel se debe principalmente al alto contenido de sacarosa, esto se presenta en cosechas prematuras que interrumpen la transformación de la sacarosa a glucosa y fructosa por acción enzimática inversa (Alves *et al.*, 2005). En este estudio, la miel de abeja sin aguijón *S. mexicana* presentó un valor de 42.56 ± 2.13 g/100g en azúcares reductores totales, de los cuales 30.36 ± 1.49 g/100g pertenecieron a azúcares reductores directos; valores menores a los reportados por Dardón (2008) y Denadai *et al.* (2002), 57.28 g/100g de azúcares reductores totales y 57.22 g/100g de azúcares reductores directos para la misma especie y de 58 g/100g de azúcares reductores totales para miel de abeja sin aguijón *Tetragonista angustula*, respectivamente.

El contenido de polifenoles totales extraíbles, presentó un valor de 111.74 ± 7.32 mg EAG/100 gramos de muestra fresca, valor mayor a los rangos reportado por Olivera *et al.* (2012) para mieles de *Melipona flavolineata*, 26.39 a 56.78 mgEAG/100 g.m.f., y para mieles de *Melipona fasciculata*, 25.53 a 88.81 mgEAG/100 g.m.f. Al igual de lo que reporta Meda *et al.* (2005) para mieles de la especie *A. mellifera* de 74.38 ± 20.54 mg EAG/100 g.m.f. En este sentido, el contenido alto de polifenoles es atribuido a la concentración de aminoácidos, por lo que algunos análisis publicados han revelado que diversas mieles contienen de 11-21 aminoácidos en los que predomina la presencia de prolina libre, la cual es también utilizada como un indicador de calidad en miel (White y Doner, 1980). Además, Pérez-Pérez *et al.* (2006) mencionan que las variaciones en % ART y polifenoles totales en la miel pueden estar relacionados con el manejo postcosecha,

debido a procesos de fermentación como resultado de sus porcentajes altos de humedad y acidez en este tipo de mieles, incrementando con ello su capacidad antioxidante.

El resultado de la capacidad antioxidante presentó un valor de $1130.01 \pm 48.84 \mu\text{mol Eq Trolox}/100 \text{ g.m.f}$, el cual fue mayor a los datos reportados por Gorjanović *et al.* (2013) que varían entre $118 \mu\text{mol Eq Trolox}/100 \text{ g}$ de miel y $121 \mu\text{mol Eq Trolox}/100 \text{ g}$ de miel, esto para mieles de fuentes multiflorales de la especie *Apis mellifera*. Por otra parte, López-González (2014) muestra un valor de $57.2 \mu\text{mol Eq Trolox}/100 \text{ g}$ de muestra de miel para la misma especie; no obstante, estos resultados pueden explicarse por una posible transformación de los compuestos fenólicos formados con el tiempo, donde los polifenoles originados presentan menor actividad antioxidante en el sistema hidrófilo de DPPH y mayor actividad en el complejo lipófilo B-caroteno (Corrêa *et al.*, 2014). En este contexto, Rodríguez *et al.* (2012), mencionan que existen otros compuestos además de los metabolitos secundarios con actividad antioxidante, enzimas y ácido ascórbico, los cuales también tiene una alta función en la capacidad antioxidante de las mieles. Sin embargo, Pérez *et al.* (2007) consideran que la miel, también presenta una variedad de compuestos nitrogenados como alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminos, carotenoides y vitamina C, los cuales también son ampliamente conocidos por su actividad antioxidante.

1.4. Conclusión

En el presente estudio se estableció que independientemente de la especie o fuente floral, todos los tipos de miel presentan compuestos polifenólicos y actividad antioxidante. Sin embargo, los resultados encontrados mostraron una variación estadísticamente significativa entre todos los tipos de miel, por lo que se concluyó que la miel de abeja sin aguijón *Scaptotrigona mexicana* posee mayor capacidad antioxidante que las mieles de la especie *Apis mellifera*, atribuyendo esto a la naturaleza de la abeja como factor principal.

Fisicoquímicamente se concluye que la miel de abejas sin aguijón *Scaptotrigona mexicana*, poseen un pH significativamente bajo en comparación con las mieles de abeja europea (*Apis mellifera*), lo cual es generado por la formación natural de ácidos orgánicos que favorecen la actividad antioxidante de la miel. Asimismo, la miel de abeja sin aguijón posee una humedad relativamente alta a las demás mieles, lo cual es característico de estas especies. Sin embargo, las muestras

monoflorales de miel de flores de naranjo y flores de trébol demostraron ser buenas fuentes en el contenido de sólidos solubles, lo cual es característico para las especies de *Apis mellifera*. En este sentido, se concluye que las mieles de abeja, son una importante fuente de compuestos con propiedades funcionales relacionadas con la inhibición de la oxidación.

1.5. Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por brindar el apoyo para el desarrollo de mi maestría a través de la beca No. 575456. Al Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba y al Instituto Tecnológico de Tuxtepec Oaxaca, al Laboratorio de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Laboratorio de Ingeniería de Alimentos, por abrir las puertas de sus instalaciones para el desarrollo de mi trabajo. A la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento 2 (LGAC-2), en Innovación y desarrollo de procesos agroalimentarios para el bienestar social del Programa de Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable del Campus Córdoba.

1.6. Literatura citada

- Acquarone, C., P. Buera and B. Elizalde. 2007. Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry* 101:695–703.
- Almeida-Muradian, L. B., K. M. Stramm., A. Horita., O. M. Barth., A. Silva de Freitas and L. M. Estevinho. 2013. Comparative study of the physicochemical and palynological characteristics of honey from *Melipona subnitida* and *Apis mellifera*. *International Journal of Food Science and Technology* 48(8):1698-1706.
- Alvarez-Suarez, J.M., S. Tulipani., S. Romandini., E. Bertoli., M. Battino. 2010. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 3:15–23.

- Alves, R., Carvalho, C., Souza, B., Sodre, G y L. Marchini. 2005. Características físico-químicas de muestras de miel de *Melipona mandacaia* Smith (Hymenoptera: Apidae; Meliponini). *Folia Entomología*. 106:88- 92.
- Amtmann, M. 2010. The chemical relationship between the scent features of goldenrod (*Solidago canadensis* L.) flower and its unifloral honey. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23:122–129.
- AOAC. International: Official methods of analysis. 2005. 16th ed. Gaithersburg, MD. 44. p. 40.
- Bogdanov. S., P. Martin., C. Lullman. 1997. Harmonized methods of the European honey commission. *Apidologie*, Pag. 1-59.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier and C. L. W. T. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28(1):25-30.
- Corrêa, R. C., C. W. Haminiuk, G. T. Sora, R. Bergamasco and A. Vieira. 2014. Antioxidant and rheological properties of guava jam with added concentrated grape juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94(1):146-152.
- Cortopassi-Laurino, M. and H. Montenegro de Aquino. 2000. Forrageamento na abelha urucu (*Melipona scutellaris*). *In: memoria del XIII Congresso Brasileiro de Apicultura*. Florianópolis, SC. (1)
- Dardón, M. J. 2008. Caracterización físico-química y antimicrobiana de la miel de nueve especies de abejas sin aguijón (Meliponini) de Guatemala. *Interciencia*. 33(12):916-922.
- Denadai, J. M., M. M. Ramos-filho and D. C. Costa. 2002. Caracterização físico-química de mel de abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula*) do município de Campo grande-MS. Obtenção de parâmetros para análise de rotina. *Anais XIV Congresso de Apicultura*. Brasil. Pag. 80.
- Ferreira, I., E. Aires. J.C.M. Barreira. L. Estevinho. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry* 114:1438–1443.

- Gheldof, N., X. H. Wang and N. J. Engeseth. 2002. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:5870–5877.
- Gil, A. 2010. Tratado de nutrición. Tomo II. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Ed. Madrid. Médica Panamericana. Pag. 241.
- Gomes, T., Feas, X., A. Iglesias and L. M. Estevinho. 2011. Study of organic honey from the Northeast of Portugal. *Molecules*. 16: 5374-5386.
- Gorjanović, S. Ž., J. M. Alvarez-Suarez, M. M. Novaković, F. T. Pastor, L. Pezo, M. Battino and D. Ž. Sužnjević. 2013. Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays *Journal of food composition and analysis* 30(1):13-18.
- Grajales C., J., M. Rincón R., R. Vandame, A. Santiesteban N., and M. Guzmán D. 2001. Características físicas, químicas y efecto microbiológico de mieles de Meliponinos y *Apis mellifera* de la región Soconusco, Chiapas. II Seminario Mexicano sobre Abejas sin Aguijón. Mérida, México. Pag. 61-66.
- Guerrini, A., R. Bruni, S. Maietti, F. Poli, D. Rossi, G. Paganetto, M. Muzzolu, L. Scalvenzi and G. Sacchetti. 2009. Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. *Food Chemistry* 114:1413-1420.
- Heimler, D., P. Vignolini, M. Dini, and A. Romani. 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:3053–3056.
- ICUMSA. 1964a. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. Edited by: H. C. S. De Whalley. Ed. El Sevier Publishing Company. Chapter 5 - Determination of Dry Substance: (Total Solids). 166:41-45.

- ICUMSA. 1964b. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis. Edited by: H. C. S. De Whalley. Ed. El Sevier Publishing Company. Chapter 7 - Determination of colour and Turbidity. 66:55-59.
- Lecumberri, E., R. Mateos, M. Izquierdo-Pulido, P. Ruperez, L. Goya and L. Bravo. 2007. Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). Food Chemistry. 104:948–954.
- López-González, M. M. 2014. Influencia de los factores climáticos sobre el color y el perfil de antioxidantes en las mieles tabasqueñas. Tesis maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. Tabasco. México. Pag.62.
- Meda, A., E. Lamien, M. Romito, O. Millogo and O. Nacoulma. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry 91:517-577.
- NMX-086-SSA1-1994. Bienes y servicios, alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición, especificaciones nutrimentales. Consultado: [06-2016] <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/086ssa14.html>
- NMX-F-083-1986. Alimentos, determinación de humedad en productos alimenticios. Consultado: [06-2016]. <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/> NMX-F-083-1986.
- Oliveira P. S., R. C. Sarkis., K. Graças., C. Alves. 2012. Ácidos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante em méis de *Melipona fasciculata*, *M. flavolineata* (Apidae, Meliponini) e *Apis mellifera* (Apidae, Apini) da amazônia Química. Nova Journal 35 (9):1728-1732.
- Pérez- Pérez, E., A. Rodríguez- Malaver y P. Vit. 2006. Efecto de la fermentación postcosecha de la capacidad antioxidante de miel de *Tetragonisca angustula* Lastreille. Departamento de Bioquímica 9:510-516.

- Pérez, H. A. A., and A. M. R. Chamorro. 2015. Análisis comparativo de la calidad fisicoquímica, microbiológica y organoléptica de la miel de abeja (*Apis mellifera*) producida en diferentes regiones de Perú. *Revista de Investigación Universitaria* 1:1.
- Pérez, R. A., M. T. Iglesias, E. Pueyo, M. González y C. de Lorenzo. 2007. Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42:360- 365.
- Rodríguez, B. A., S. Mendoza, M. H. Iturriga and E. Castaño-Tostado. 2012. Quality parameters and antioxidant and antibacterial properties of some Mexican honeys. *Journal of Food Science* 77(1):121-127.
- Roubik, D. W. 1983. Nest and colony characteristics of stingless bees from Panamá (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomology*. 56:327-355.
- Ruiz-Navajas, Y., M. Viuda-Martos, J. Fernández-López, J. M. Zaldivar-Cruz, V. Kuri and J. A. Perez-Álvarez. 2011. Antioxidant activity of artisanal honey from Tabasco, Mexico. *International Journal of Food Properties* 14(2):459-470.
- Sánchez-Moreno, C., J. A. Larrauri and F. Saura-Calixto. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76(2):270-276.
- Silva, T. M. S., F. P. dos Santos, R. A. Evangelista., E. M. S. da Silva, G. S. da Silva, J. S. de Novais and C. A. Camara. 2013. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey. *Journal of Food Composition and Analysis* 29(1):10-18.
- Simal, J. y J. F. Huidobro. 2001. Parámetros de calidad de la miel: pH, Acidez (libre, láctica y total) e índice de formol. *Departamento de Bromatología. Santiago de Compostela* 50:345-356.
- Souza, B., D. Roubik, O. Barth, T. Heard, E. Enríquez, C. Carvalho, J. Villas-Boas, L. Marchini, J. Locatelli, L. Persano-Oddo, and L. Almeida-Muradian, S. Bogdanov and P. Vit. 2006.

- Composition of stingless bee honey: Setting quality standards. *Interciencia-Caracas*. 31(12):867- 875.
- Ulloa, A. J., M. P. Mondragón, R. R. Rodríguez, V. J. A. Reséndiz y U. P. Rosas. 2010. La miel de abeja y su importancia. *Revista Fuente*. 4:11-18.
- Vit P, Enríquez E, Barth, O. M, Matsuda, A. H, Almeida-Muradian, L. B. 2006. Necesidad del Control de Calidad de la Miel de Abejas sin Aguijón. *Medula* 15:789–796.
- Vit, P., L. Persano Oddo, M. L. Marano and E. Salas de Mejiar. 1998. Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie*. 29:377-390.
- Vit, P., M. Gutiérrez, A. Rodríguez, G. Aguilera, C. Fernández y A. E. Tricio. 2009. Comparación de mieles producidas por la abeja yateí (*Tetragonisca fiebrigi*) en Argentina y Paraguay. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamérica*. 43:219-26.
- Vit, P., Pedro, S.R.M., Roubik, D. 2013. Eds. *Pot-Honey*. Springer New York, New York, NY. Pp.655.
- White, J. W. Jr. and L. M. Doner. 1980. Honey composition and properties. *Beekeeping in the United States Agriculture Handbook*. Pag. 335.
- White, J. W. Jr. 1979. Methods for determining carbohydrates, hydroxymethylfurfural, and proline in honey: collaborative study. *Journal-Association of Official Analytical Chemists* 62(3):515-526.
- Yadata, D. 2014. Detection of the Electrical Conductivity and Acidity of Honey from Different Areas of Tepi. *Food Science and Technology* 2:59-63.

CAPÍTULO 2. Evaluación del efecto antioxidante de la miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*) adicionada a carne de pollo

RESUMEN

La oxidación de la carne de pollo es el segundo factor de descomposición después de la generada por microorganismos; sin embargo, la oxidación genera pérdida del valor nutricional y disminución de la calidad total. En este sentido, se evaluó la estabilidad oxidativa de “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas, adicionada con miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*) como antioxidante natural a 0, 1, 3 y 5% p/p, evaluadas a 0, 3, 6, 9 y 12 días de almacenamiento en refrigeración a 4 °C. La oxidación lipídica (TBAR) y oxidación proteica (DNPH), perfil de textura (TPA) y color, fueron analizados mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial (factor A=tratamiento y factor B=tiempo) y se realizó una prueba LSD para comparación de medias. Los resultados mostraron una inhibición en la oxidación lipídica y proteica de 1.08 ± 0.04 (mg MDA/kg carne cocida) y 3.68 ± 0.27 (nmols carbonilos /mg de proteína) al día 12, respectivamente, con 5 % de inclusión de miel de (*P-valor*<0.05). Asimismo, el análisis de perfil de textura (TPA) y en color presentaron gran estabilidad durante el almacenamiento a ese mismo nivel de inclusión. Por lo tanto, la adición de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*), tiene un efecto positivo en la reducción de la oxidación lipídica y proteica determinando que el uso de miel de abeja sin aguijón en la carne de pollo, disminuye la formación de productos de oxidación, favoreciendo la vida de anaquel y la conservación de la calidad.

Palabras clave: Oxidación, carne, antioxidante, miel.

CHAPTER 2. Evaluation of the antioxidant effect of bee honey stingless (*Scaptotrigona mexicana*) added to chicken meat.

ABSTRACT

Oxidation of chicken meat is the second decomposition factor after that generated by microorganisms; However, oxidation generates loss of nutritional value and decrease in total quality. In this sense, the oxidative stability of “patties” breast (*Pectoralis major*) of ground chicken and cooked added with bee honey stingless (*Scaptotrigona mexicana*) as a natural antioxidant at 0, 1, 3 and 5% w/w, evaluated at 0, 3, 6, 9 y 12 days refrigerated storage at 4 °C. The lipid oxidation (TBAR) and protein oxidation (DNPH), texture profile (TPA) and color, were analyzed by a completely randomized design with factorial adjustment (factor A = treatment and factor B = time) and LSD for comparison of means. The results showed an inhibition in lipid and protein oxidation of 1.08 ± 0.04 (mg MDA/ kg cooked meat) and 3.68 ± 0.27 (nmols carbonilos /mg de protein), at day 12, respectively, with 5% honey inclusion (*p*-value <0.05). Also, the texture profile analysis (TPA) and color presented high stability during storage at the same level of inclusion. Therefore, the addition of stingless bee honey (*S. mexicana*) has a positive effect on reducing lipid and protein oxidation by determining that the use of stingless bee honey in chicken meat decreases the formation of oxidation products, favoring the shelf life and the preservation of the quality.

Keywords: Oxidation, meat, antioxidant, honey.

2.1. Introducción

La carne de pollo y sus derivados, son productos importantes en la dieta dado que concentra un gran número de nutrientes que constituyen fuente de proteínas y aminoácidos de alto valor biológico (Barroeta y Cortinas, 2002). Sin embargo, todas las carnes, especialmente la carne de pollo, están propensas a la descomposición por oxidación. (Carreras *et al.*, 2004). La oxidación, es uno de los principales responsables de la pérdida de calidad en la carne y productos cárnicos, especialmente durante los procesos de cocción y almacenaje, ya que se genera la formación de compuestos estables asociados a la rancidez (Cortinas *et al.*, 2005), como aldehídos, cetonas, ácidos y compuestos con nitrógeno y sulfuro que afectan el flavor, color y textura de la carne (Carreras *et al.*, 2004). La oxidación de la carne se ve directamente influenciada por oxígeno molecular, dado que una pequeña porción (2-5%) del oxígeno consumido durante la reacción metabólica se convierte en radicales libres en forma de especies reactivas del oxígeno (EROs) y especies reactivas de nitrógeno (ERNs) que interactúan con lípidos, proteínas y ácidos nucleicos acelerando los procesos de oxidación (Falowo *et al.*, 2014).

Los procesos de oxidación, inician desde la obtención de la carne, donde todas las operaciones *pre-mortem* provocan un estado de estrés oxidativo (Falowo *et al.*, 2014); en este sentido, los lípidos y proteínas musculares están susceptibles a daño oxidativo promovido por diferentes agentes prooxidantes (largos periodos de almacenamiento, deshidratación, altas temperaturas y rotura de tejidos) (Armenteros *et al.*, 2009). Por otro lado las operaciones tecnológicas *post-mortem* como la molienda, cocción y refrigeración, también aceleran las reacciones oxidativas por interacción del oxígeno con catalizadores de oxidación como ácidos grasos insaturados, fosfolípidos, proteínas y hierro (EL-Kalyoubi *et al.*, 2014). Los cambios fisicoquímicos producidos durante la cocción y almacenamiento, tiene mayor efecto negativo en la calidad, valor nutricional y la oxidación como principal deterioro, así mismo, la cocción está relacionada principalmente con la degradación del triptófano, la carbonilación de proteínas, formación de enlaces disulfuro, pérdida de agua y perdida de textura en carne (Silva *et al.*, 2016). La cocción de la carne de pollo (100°C) genera la oxidación de proteínas provocando mayor carbonilación, menor capacidad de retención de agua (CRA) y disminución en la capacidad de proteínas para interactuar químicamente con las moléculas de agua (Xiao *et al.*, 2011). Por otra parte el almacenamiento

tiene efecto sobre la extensión de la carbonilación de proteínas afectando el color y la textura del producto final, provocando la pérdida de aminoácidos esenciales como resultado de la degradación oxidativa irreversible, haciendo menos digeribles a las proteínas oxidadas (Liu y Xiong, 2000).

Los lípidos son químicamente inestables y, por lo tanto, susceptibles a oxidación, especialmente durante la manipulación *post-mortem* y almacenamiento, lo cual genera la disminución de vida útil y acumulación de compuestos tóxicos (Mapiye *et al.*, 2012). La oxidación lipídica se desarrolla en tres etapas principales; iniciación, propagación y terminación, la reacción de iniciación produce el radical (alquilo) de ácidos grasos ($R \bullet$) que a su vez reacciona con el oxígeno para formar radicales peroxi ($ROO \bullet$), en la reacción de propagación, los radicales peroxi reaccionan con ácidos grasos insaturados y forman hidroperóxidos ($ROOH$), que finalmente se descomponen y generan compuestos aromáticos volátiles con sabores desagradables y olor rancio (Chaijan, 2008). Por otro lado, las proteínas desempeñan un papel fundamental en la calidad de la carne y productos cárnicos con respecto a propiedades sensoriales, nutricionales y físico-químicas (Falowo *et al.*, 2014). Sin embargo, la oxidación de proteínas induce cambios en la calidad de la carne, incluyendo rasgos de textura, color, aroma, sabor y capacidad de retención de agua (Estévez, 2008), así como la disminución en la biodisponibilidad de proteínas por cambios en la composición de aminoácidos, disminución de solubilidad, pérdida de actividad proteolítica y digestibilidad de proteínas. (Lund *et al.*, 2011). La oxidación de proteínas comienza con la extracción de átomos de hidrógeno a partir de la proteína (PH) por EROs para formar un radical centrado en carbono de proteína ($P \bullet$) que se convertirá en un radical alquilproxilo ($POO \bullet$) en presencia de oxígeno y en un peróxido de alquilo ($POOH$) mediante la extracción de átomos de hidrógeno de otra molécula susceptible. Las reacciones posteriores con metales de transición (Mn^+), tales como Fe^{2+} o Cu^{+1} , conducen a la producción de radical alcoxilo ($PO \bullet$) y su derivado hidroxilo (POH) (Estévez, 2011).

Los procesos de oxidación pueden ser neutralizados por compuestos antioxidantes, que retardan la oxidación de lípidos y proteínas en carne y productos cárnicos (Karre *et al.*, 2013). Los antioxidantes sintéticos como el Butil hidroxianisol (BHA), el Butil hidroxitolueno (BHT), el terbutilhidroquinona (TBHQ) y el galato de propilo (PG) se han utilizado como antioxidantes en productos cárnicos y avícolas (Biswas *et al.*, 2004); sin embargo, se han descontinuado por los potenciales efectos toxicológicos que generan (Naveena *et al.*, 2008a). En la actualidad, los

consumidores prefieren alimentos adicionados con aditivos naturales (Borek, 2004). Con el fin de reducir la oxidación, la avicultura está buscando soluciones naturales y efectivas que pueden reemplazar a los antioxidantes sintéticos sin afectar negativamente la calidad de los productos terminados y las percepciones de los consumidores (Naveena *et al.*, 2008a; Karre *et al.*, 2013), en este contexto, los productos apícolas han resultado tener propiedades antioxidantes y compuestos polifenólicos; los cuales se han considerado como antioxidantes naturales (Ciappin *et al.*, 2013). Antony *et al.* (2000) y Johnson *et al.* (2005) reportaron una disminución de la oxidación en carne de pavo y pollo molida cocida y refrigerada a 4 °C con la inclusión de diferentes niveles de miel, en base a ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*) sobre la oxidación lipídica y proteica de “patties” de carne molida y cocinada de pollo durante su almacenamiento.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Localización del área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en los Laboratorios de Ciencias de los Alimentos y Tecnología de la Carne del Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba; ubicados en la Carretera Federal Córdoba-Veracruz Km 348, Congregación Manuel León, Municipio de Amatlán de los Reyes, Veracruz y se localiza geográficamente a 19° 27' latitud N y 98° 53' longitud O, a 720 msnm.

2.2.2. Obtención de las materias primas

La pechuga de pollo (*Pectoralis major*) se obtuvo de un mercado local de Córdoba, Veracruz, México, buscando que fuera de un mismo lote de producción. La miel de la abeja sin aguijón (*S. mexicana*) utilizada se extrajo 15 días antes de la fase experimental del meliponario ubicado en el Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba. La miel se almacenó en refrigeración a 4°C en frascos color ámbar hasta su análisis y se realizó la caracterización físico-química, presentando características óptimas como se muestra a continuación en el **Cuadro 1**.

Cuadro 1. Caracterización físico-química de la miel de abeja sin agujón (*Scaptotrigona mexicana*).

Variables	Miel
pH	3.85 ± 0.04
Humedad (%)	22.35 ± 0.31
CE (μ Siemens/cm)	505.56 ± 3.91
Color (mm <i>pfund</i>)	76.44 ± 1.24
HMF (mg/kg)	6.81 ± 0.53
°Brix	72.13 ± 0.46
Ácido total (meq/kg)	65.42 ± 3.54
ARD (g/100g)	30.36 ± 1.49
ART (g/100g)	42.56 ± 2.13
PTE (mgEAG/100 g.m.f)	111.74 ± 7.32
DPPH (μ mol Eq Trolox/100 g.m.f)	1130.01 ± 48.84

CE= Conductividad eléctrica; HMF= Hidroximetilfurfural; ARD= Azúcares reductores directos; ART=Azúcares reductores totales; PTE= Polifenoles totales extraíbles; DPPH=Actividad antioxidante.

2.2.3. Obtención de muestras

La pechuga de pollo se limpió quitando la piel, impurezas y exceso de grasa, se troceó y molió con un cedazo de 3/8" en un molino marca Tor-Rey Modelo M-22RW. La carne molida se dividió en 4 lotes y se adicionó a cada uno de ellos diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin agujón (*S. mexicana*) (0, 1, 3 y 5 %), se homogenizó manualmente y de cada lote se elaboraron 20 "patties" tipo hamburguesas de 100 g c/u (A3.2). Las patties se sometieron a cocción en un horno de convección (Hobart, HEC-5, México), precalentado a 100 °C hasta alcanzar una temperatura interna de cocción de 72 °C (Thermocouple Type K, Modelo EF2664B) por 10 min aproximadamente, según el método establecido por Naveena *et al.* (2008b) con algunas modificaciones. Las patties se enfriaron a temperatura ambiente y se colocaron en bolsas de polietileno permeables al oxígeno y se almacenaron en refrigeración a 4°C. Posteriormente, las muestras se analizaron físicoquímicamente a los 0, 3, 6, 9 y 12 días de almacenamiento (A3.3).

2.2.4. Caracterización fisicoquímica de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo y “patties”

Los análisis fisicoquímicos que se realizaron para caracterizar el músculo *Pectoralis major* de carne de pollo en fresco fueron: análisis de pH, acidez titulable, actividad de agua (a_w), humedad, color y capacidad de retención de agua (CRA). A las patties de pechuga de pollo picadas y cocidas adicionadas con los diferentes niveles de inclusión de miel se evaluó el rendimiento por cocción (RC), el pH, la acidez titulable, la actividad de agua (a_w), la humedad, el color, el perfil de textura (TPA), la oxidación lipídica mediante el método de TBARS y la oxidación proteica mediante el método de DNPH. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Rendimiento en cocción (RC)

Se tomó el peso de cada patties de pechuga de pollo en crudo en sus diferentes niveles de inclusión de miel de abeja *sin aguijón*, y posterior a su cocción, una vez enfriadas a temperatura ambiente, se pesaron nuevamente. El rendimiento de cocción se expresó en porcentaje y se calculó por diferencia de peso con respecto a su peso inicial en gramos, según lo establece la metodología de Johnson *et al.* (2005).

pH

El pH de *Pectoralis major* se midió tanto en crudo como en carne cocida con un potenciómetro portátil de punzón (HANNA HI99163); el electrodo del potenciómetro se introdujo de forma perpendicular al músculo en la pechuga de pollo evitando zonas con grasa, tomando el valor hasta la estabilización de la lectura. (Bianchi *et al.*, 2007). Mientras que en las “patties” de carne molida y cocida, se tomaron 10 g de muestra y se homogenizaron con 100 mL de agua bidestilada. La disolución se filtró con gasa para eliminar partículas grandes y se tomaron las lecturas de pH, según el método establecido por Trout (1989).

Acidez titulable

Para la determinación de acidez titulable, se tomaron 10 g de muestra de carne cruda molida o cocida, se homogenizaron con 200 mL de agua bidestilada, se filtraron a través de una gaza y se aforo a 250 mL. Posteriormente se tomó una alícuota de 25 mL, se añadió 75 mL de agua bidestilada y se tituló con hidróxido de sodio (NaOH 0.1 N) usando fenolftaleína como indicador.

Agua destilada fue tomada como blanco y se calculó el porcentaje de ácido láctico mediante la siguiente fórmula (AOAC, 1990).

$$\% \text{ác. Láctico} = \frac{(V \text{ NaOH} * N \text{ NaOH} * \text{Meq. ác. Láctico} * f)}{g \text{ muestra}} \times 100$$

Dónde: **V NaOH:** volumen de hidróxido de sodio gastado; **N NaOH:** Normalidad del hidróxido de sodio; **Meq. Ác. Láctico:** miliequivalente de ácido gálico; **F:** factor de dilución

Humedad

La humedad se determinó en pechuga de pollo molida cruda y cocida según la metodología establecida por la AOAC (2000), 3 g de muestra se colocaron en charolas de aluminio a peso constante, se introdujeron a una estufa de secado a 60°C durante 24 h, pasado el tiempo, se colocaron en un desecador y se pesaron una vez que estaban a temperatura ambiente. El valor de humedad se obtuvo por diferencia de peso con respecto al peso inicial y se expresó en porcentaje.

Actividad de agua (a_w)

La a_w se determinó en la pechuga de pollo molida cruda y cocida, con un Medidor de actividad de agua portátil-pawkit (Pa_wKit® Decagon Device USA) a 25 °C. Las muestras se colocaron en el contenedor del equipo y se registró la medición hasta su estabilización.

Capacidad de retención de agua (CRA)

La evaluación de capacidad de retención de agua (CRA) se realizó en pechuga de pollo molida cruda, utilizando el método propuesto por Guerrero *et al.* (2002). Cinco g de muestra se homogenizó con 8 mL de una disolución de NaCl 0.6 M con agitación manual por un minuto con una varilla de vidrio. Los extractos se colocaron en un baño con hielo durante 30 min, se agitaron nuevamente con una varilla de vidrio y posteriormente se centrifugaron a 10,000 rpm durante 15 min a temperatura ambiente. El sobrenadante se decantó en una probeta y se midió el volumen que

representa el agua no retenida de los 8 mL de la solución de cloruro de sodio añadidos y se reportó la cantidad de mL de solución retenida en 100 g de carne.

Análisis de perfil de textura (TPA)

El análisis de perfil de textura se realizó en las “patties” de pechuga de pollo molida y cocida adicionada con los diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón y días de almacenamiento en refrigeración a 0, 3, 6, 9, 12 días. De cada “patties” se tomó una muestra de 2.3 cm de diámetro interno utilizando un sacabocado, según el método establecido por Ganhão *et al.* (2010) con algunas modificaciones, en un texturometro Shimadzu EZ-SX a una velocidad de 60 mm/min.

Color

La evaluación de color se determinó con un colorímetro Konica Minolta (Modelo CR 400), en la carne de pechuga de pollo molida cruda y cocida, los resultados se expresaron con las coordenadas L*, a* y b*, según el método establecido por Bianchi *et al.* (2007).

Evaluación de la oxidación de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo

El análisis de oxidación lipídica y proteica se realizó en las “patties” de cada tratamiento, las cuales fueron muestreadas, congeladas en nitrógeno líquido en cada tiempo de almacenamiento en refrigeración a 4 °C (0, 3, 6, 9 y 12 días) y almacenadas a -80°C hasta su análisis.

2.2.5. Oxidación lipídica (TBARS)

La evaluación de la oxidación lipídica se realizó cuantificando la formación del compuesto malondialdehído (MDA), siguiendo el método establecido por Tarladgis *et al.* (1960) con algunas modificaciones. Para ello, 10 g de muestra se homogenizó con 15 mL de agua bidestilada a 50 °C y 5 mL de la solución de PG-EDTA (Propyl galato al 0.5% con sal disódica del ácido etilendiamino-tetracético dihidratada al 0.5 %). La mezcla fue colocada en un matraz de cuello Kjeldahl, previamente roseado con un spray de silicona (Wurth), sin reactividad. Se agregaron 77.5 mL de agua bidestilada, 2.5 mL de HCl 4 N y seis perlas para ebullición. El matraz fue conectado a una unidad de destilación y se colectaron 50 mL del condensado, 5 mL de este condensado se mezcló con 5 mL de solución 2-TBA 0.02 M, se agitó y se dejó en baño de agua a

100°C, por 35 min. El blanco contenía 5 mL de agua bidestilada con 5 mL de la solución 2-TBA. Transcurrido el tiempo, las soluciones se enfriaron a temperatura ambiente y se midieron absorbancias a 532 nm. Los valores obtenidos fueron ajustados por un factor de corrección de 7.8 para su transformación a mg de malondialdehído (MDA) por kilogramo de carne.

2.2.6. Oxidación proteica (DNPH)

La evaluación de oxidación proteica se determinó mediante la cuantificación de carbonilos totales de acuerdo a la metodología establecida por (Armenteros *et al.*, 2009), con algunas modificaciones. Para ello 2 g de muestra de “patties” de pechuga de pollo se, homogenizaron con 20 mL de tampón fosfato potásico (K_2HPO_4) 10mM, + NaCl a 0.6 M, pH 6 mediante un Polytron durante 30 s. Se filtró en gasa de algodón, se tomaron 2 alícuotas de 100 μ L (una para cuantificar proteínas y otra para carbonilos). Se añadió 1 mL de ácido tricloroacético al 10%. La mezcla fue centrifugada a 4000 rpm durante 7 min a temperatura ambiente para la precipitación de proteínas desechando el sobrenadante. Al tubo con el precipitado destinado para cuantificación de proteínas se adicioneo 1 mL de HCl 2 N y al de carbonilos se añadió una disolución de 1 mL de HCl 2 N + DNPH al 2%. Ambos tubos se dejaron reposar durante 1 h a temperatura ambiente agitando en Vortex cada 15 min. Al finalizar el tiempo se añadió 1 ml de TCA al 10%, agitando y centrifugando a 4000 rpm por 7 min desechando el sobrenadante, se lavó el precipitado con 1.5 mL de etil-acetato (1:1) hasta desaparecer el color del precipitado, finalmente se evaporó a sequedad en una campana de extracción de gases y se añadió 1.5 ml de una disolución de clorhidrato de Guanidina al 6M + fosfato potásico al 20 mM para resuspender. La concentración de proteína se determinó a 280 nm utilizando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar (Sigma Aldrich). El contenido de carbonilos a 370 nm, utilizando el coeficiente de extinción molar para las hidrazona ($21\text{mM}^{-1}, \text{cm}^{-1}$). Los resultados se expresaron en nmol de carbonilos por mg de proteína.

2.2.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó bajo un diseño completamente al azar con 3 repeticiones y un arreglo factorial 4x5 de los tratamientos, siendo el factor A, el nivel de inclusión de miel con 4 niveles (0, 1, 3 y 5%) de miel y el factor B, el tiempo de almacenamiento con 5 niveles (0, 3, 6, 9 y 12 días). El análisis de los datos se realizó en el paquete SAS versión 9.4 (2012). **(A3.1)**

2.3. Resultados y discusión

2.3.1. Caracterización fisicoquímica de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo

El resultado de la caracterización fisicoquímica de *Pectoralis major* de pollo, presentó valores característicos de una carne normal según Woelfel *et al.* (2002) (**Cuadro 2**). El pH, la luminosidad y CRA, son parámetros de mayor incidencia para diferenciar calidades de carne (Qiao *et al.*, 2001; Woelfel *et al.*, 2002). En este contexto el resultado de pH fue ligeramente menor a lo reportado por Woelfel *et al.* (2002) de 5.8 para carnes normales, y menor a 6.3 para carne PSE según Perlo *et al.* (2003). Balamatsia *et al.* (2006), mencionan que los valores de pH pueden deberse a las condiciones aeróbicas de almacenamiento, mientras que Barbut *et al.* (2005) mencionan que los valores altos de pH, son atribuidos al estrés crónico *ante-mortem* que recibe el ave durante el tiempo de espera a la matanza. Por otro lado, la luminosidad (L*) fue ligeramente menor a lo reportado por Woelfel *et al.* (2002) de 53 para carnes normales y se obtuvo una alta CRA de 75.33 ± 2.00 , mayor al reportado por Qiao *et al.* (2001) de 43.77% para carnes normales.

Cuadro 2. Evaluación fisicoquímica de pechuga (*Pectoralis major*) de carne de pollo.

Variables	Carne de pollo
CRA (mL/100g)	75.33 ± 2.00
a_w	0.93 ± 0.005
Humedad (%)	73.44 ± 1.77
pH	5.74 ± 0.23
Acidez (% ácido Láctico)	0.30 ± 0.02
L*	52.91 ± 0.92
a*	0.41 ± 0.008
b*	22.44 ± 0.74
Hue	1.53 ± 0.02
Croma	22.13 ± 1.22

L*=luminosidad; a*= (-a=verde, + a=rojo); b*= (-b=azul, + b=amarillo); Hue= tonalidad, croma= concentración.

2.3.2. Análisis fisicoquímicos de patties de pechuga de pollo (*Pectoralis major*) adicionadas con miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*)

Los resultados obtenidos en rendimiento por cocción (RC), variaron entre 73.72 ± 2.20 y 87.31 ± 3.67 % entre tratamientos (**Figura 1**), mostrando diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de inclusión de miel del 0 y 5% (p -valor <0.05). El control mostró el rendimiento más bajo, esto debido a la alta pérdida de humedad y grasa durante la cocción a causa de la temperatura elevada (García *et al.*, 2012). Johnston *et al.* (2005), reportaron rendimientos mayores en “patties” de carne de res adicionada con miel de abeja *Apis mellifera* al 10%; de igual manera Dawson y Mathew (2000) atribuyen rendimientos de cocción superiores al 5% en comparación al control en rollos de pavo adicionados con 15% de miel. En esta investigación, la pechuga de pollo adicionada con miel de abeja sin aguijón alcanzó un rendimiento de cocción del 13.59%, el efecto observado podría ser debido a que el azúcar contenida en la miel tenga un efecto higroscópico, manteniendo la integridad de las membranas de las fibras musculares y reduciendo así las pérdidas de humedad (Mitsumoto *et al.*, 1995).

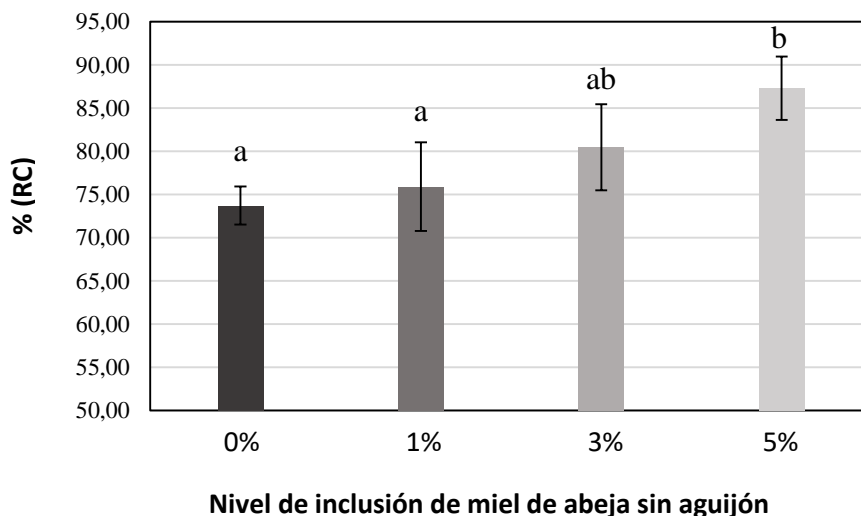


Figura 1. Rendimiento por cocción de “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

Nota: Control (0%), 1%, 3% y 5%.

El pH no mostró diferencias significativas (p -valor <0.05) en las “patties” con los diferentes niveles de inclusión de miel, ni durante el tiempo de almacenamiento en refrigeración; es decir, el pH permaneció estable durante los 12 días de almacenamiento (**Cuadro 3**). Resultados coincidentes con lo que mencionan Naveena *et al.* (2008a), quienes encontraron estabilidad del pH

durante 15 días de almacenamiento en refrigeración en “patties” de carne de pollo adicionadas con jugo y extracto de granada (10mg/100g de carne).

Cuadro 3. Efecto del pH en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

Patties	pH				
	Tiempo de almacenamiento (días)				
	0	3	6	9	12
0 % miel	6.30±0.12 ^a	6.23±0.10 ^a	6.29±0.06 ^a	6.26±0.07 ^a	6.32±0.05 ^a
1 % miel	6.32±0.11 ^a	6.24±0.10 ^a	6.26±0.05 ^a	6.25±0.06 ^a	6.30±0.03 ^a
3 % miel	6.26±0.12 ^a	6.23±0.11 ^a	6.25±0.03 ^a	6.25±0.04 ^a	6.28±0.02 ^a
5 % miel	6.26±0.15 ^a	6.21±0.10 ^a	6.23±0.02 ^a	6.22±0.05 ^a	6.25±0.02 ^a

Letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05); letras diferentes dentro de una columna son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05), método de comparación de medias a través de LSD (p -valor<0.05).

La acidez en las “patties” de pechuga de pollo adicionadas con miel (**Cuadro 4**), mostraron un ligero aumento durante el almacenamiento, estadísticamente significativo en el nivel de inclusión de miel (*S. mexicana*) al 3 y 5% en el día 6 y 9. De manera general se observó un aumento de acidez en todos los tratamientos durante la cocción en comparación con el valor de acidez de la carne cruda (**Cuadro 2**). Este efecto puede ser atribuido a la adición de la propia miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) al ser una característica típica de ella.

Cuadro 4. Efecto de la acidez de “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

Patties	Acidez				
	Tiempo de almacenamiento (días)				
	0	3	6	9	12
0 % miel	0.48±0.05 ^{bc}	0.48±0.04 ^{bc}	0.42±0.05 ^c	0.51±0.12 ^{abc}	0.49±0.06 ^{bc}
1 % miel	0.55±0.02 ^{abc}	0.52±0.03 ^{abc}	0.49±0.01 ^{bc}	0.58±0.13 ^{ab}	0.56±0.11 ^{ab}
3 % miel	0.51±0.03 ^{abc}	0.58±0.08 ^{ab}	0.49±0.03 ^{bc}	0.64±0.09 ^a	0.55±0.09 ^{abc}
5 % miel	0.52±0.04 ^{abc}	0.59±0.10 ^{ab}	0.48±0.01 ^{bc}	0.64±0.09 ^a	0.59±0.10 ^{ab}

Letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05); letras diferentes dentro de una columna son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05), comparación de medias a través de LSD. (P -valor<0.05).

El efecto de la actividad de agua en los tratamientos fue estadísticamente significativo (p -valor <0.05) solo con nivel de inclusión de miel del 3% a los días 3 y 12 (**Cuadro 5**), presentando un ligero deceso en la a_w al día 12, posiblemente por efecto de la evaporación de agua durante el almacenamiento. Naveena *et al.* (2008b) mostraron un efecto similar, presentando resultados ligeramente menores de a_w en “patties” de carne de pollo adicionadas con extracto de corteza de granada al día quince de 92 a 90; sin embargo, fueron menores a los reportados en este estudio. Por otra parte, no hubo un efecto significativo en los tratamientos durante el almacenamiento en refrigeración. Johnston *et al* (2005) reportaron resultados similares a este estudio, de 0.94 a 0.96, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa a niveles de inclusión de miel de abeja *Apis mellifera* de 0, 5, 10 y 15% durante 12 días de almacenamiento en carne de res.

Cuadro 5. Efecto de la actividad de agua en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

Patties	a_w				
	Tiempo de almacenamiento (días)				
	0	3	6	9	12
0 % miel	0.94±0.01 ^e	0.95±0.01 ^{abcde}	0.94±0.003 ^{de}	0.95±0.01 ^{cde}	0.95±0.01 ^{de}
1 % miel	0.95±0.006 ^{abcde}	0.95±0.01 ^{abcde}	0.96±0.009 ^{abcd}	0.96±0.008 ^{abcde}	0.95±0.01 ^{bcde}
3 % miel	0.96±0.01 ^{abcde}	0.97±0.01 ^{ab}	0.96±0.01 ^{abcd}	0.96±0.005 ^{abc}	0.94±0.01 ^{de}
5 % miel	0.96±0.01 ^{abcde}	0.97±0.01 ^{ab}	0.97±0.005 ^{ab}	0.97±0.007 ^a	0.96±0.006 ^{abcde}

Letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente diferentes (p -valor <0.05); letras diferentes dentro de una columna son estadísticamente diferentes (p -valor <0.05), método de comparación de medias a través de LSD (p -valor <0.05).

Los resultados de humedad mostraron estabilidad durante el almacenamiento en refrigeración de cada tratamiento (**Cuadro 6**). El nivel de inclusión de miel de abeja sin aguijón al 5 % mantuvo el nivel más bajo de humedad durante los 12 días de almacenamiento (64.60±1.61 %), mientras que el control presentó los valores más alto (69.38±1.52%), mostrando diferencia estadísticamente significativa entre ellos (p -valor <0.05). En general, los valores encontrados en este estudio, fueron similares a lo reportado por Sampaio *et al.* (2012) de 64,6 ± 0,4 a 67,1 ± 1,0% en *pectoralis major* de pollo adicionado con mezcla de orégano, sabio y miel de *Apis mellifera* al 5 y 10%, y más altos a los reportado por Alabdulkarim *et al.* (2012) de 60.86 a 64 para “patties” de carne de pollo adicionada con miel de abeja *Apis mellifera* al 5 y 10%, fría con aceite de maíz, así mismo

concuerdan con lo reportado por Antony *et al.* (2006), al no encontrar interacción entre el contenido de humedad y el almacenamiento entre muestras de carne de pavo adicionadas con miel de abeja de *Apis mellifera* al 5 y 15%. EL-Kalyoubi *et al.* (2014) mencionan que el efecto de los carbohidratos presentes en la miel son los responsables de la humedad, por lo que mientras más miel se adicione a la carne, menor será la humedad de esta ya que el azúcar que contiene la miel proporciona un efecto higroscópico, reduciendo así la pérdida de humedad de las fibras inter e intramusculares.

Cuadro 6. Efecto de la humedad en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

Patties	Humedad				
	Tiempo de almacenamiento (días)				
	0	3	6	9	12
0 % miel	69.32±0.83 ^a	68.91±1.00 ^a	69.24±0.80 ^a	69.04±1.15 ^a	69.38±1.52 ^a
1 % miel	68.77±0.84 ^a	68.30±1.50 ^{ab}	68.69±1.16 ^{ab}	68.45±0.81 ^{ab}	68.38±1.05 ^{ab}
3 % miel	66.24±1.09 ^{cd}	66.32±0.7 ^{cd}	66.88±0.71 ^{bc}	66.22±0.55 ^{cd}	66.13±0.94 ^{cd}
5 % miel	64.97±1.67 ^d	64.60±1.61 ^d	64.69±1.66 ^d	64.88±0.80 ^d	65.78±1.04 ^{cd}

Letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05); letras diferentes dentro de una columna son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05), método de comparación de medias a través de LSD (p -valor<0.05).

El efecto del color en las “patties” de pechuga de pollo molida y cocida adicionadas con miel de abeja sin aguijón durante almacenamiento en refrigeración mostró diferencias estadísticamente significativas (p -valor<0.05) (**Cuadro 7**). La luminosidad (variable L*), aumentó ligeramente del día 0 al día 12, presentando diferencias estadísticamente significativas en cada nivel de inclusión de miel. El color hacia rojo (variable a*) presentó una disminución estadísticamente significativa, especialmente al día 12 con un nivel de inclusión de miel del 5%. El color hacia amarillo (variable b*) permaneció estable durante los 12 días de almacenamiento en refrigeración, conservando el color característico de la carne de pollo. El tono en las “patties” de pechuga de pollo (variable Hue), presentó un ligero incremento durante el almacenamiento y la saturación del color (variable Cromo) disminuyó; sin embargo, en ambos casos los valores no mostraron diferencias estadísticamente significativas (P -valor<0.05). Dawson y Acton (2000) encontraron que la inclusión en un 10% de miel de *Apis mellifera* en forma líquida o deshidratada a pechuga de pavo disminuyó los valores de L*, a* y ángulo Hue. La coloración de la carne, puede atribuirse al

proceso de cocción, donde los lípidos actúan como agentes de transferencia de calor que reaccionan con los componentes de proteínas y carbohidratos de los alimentos, desarrollando un color marrón (Sikorski, 2006). Govindarajan *et al.* (1997) comentan que niveles diferentes de temperatura en la cocción son responsables de la pigmentación de la carne junto con el pH, la luz y humedad relativa. Mientras que Ávila *et al.* (2013) mencionan que el color de la carne y productos cárnicos se ven afectados por la oxidación de los ácidos grasos, reduciendo la calidad de la carne y afectando también su sabor, olor y textura.

Por otro lado, el color de la carne y productos cárnicos depende también del contenido de mioglobina y de la proporción de las diversas formas en que se encuentra este pigmento (Mancini y Hunt, 2005), la coloración de la carne podría deberse a la cocción por una alta temperatura (80°C) que desnaturaliza completamente la mioglobina (Naveena *et al.*, 2008a), de ahí que no se observan diferencias en los valores del color rojizo (a^*). EL-Kalyoubi *et al.* (2014) encontraron que la miel de *Apis mellifera* impartió tonalidad oscura a la carne de pollo cocida, que se mantuvo durante 14 días de almacenamiento en inclusiones del 10, 15 y 20%, aumentando la luminosidad en 3 a 4 unidades respecto al control y la amarillez en la muestra. Por otro lado, Alabdulkarim *et al.* (2012) observaron una disminución significativa ($p \leq 0,05$) en el color de las patties de carne de pollo almacenadas durante 60 días adicionadas con miel de abeja *Apis mellifera* al 5 y 10% mediante un panel sensorial; mientras que Naveena *et al.* (2008a) encontraron que la “patties” de carne de pollo adicionadas con extracto de granada se hicieron ligeramente más oscuras, lo que podría haber resultado en valores de L^* más bajos, mientras que la adición de jugo de granada cambió el color de las “patties” de carne de pollo de color pálido a color grisáceo con valores instrumentales inferiores.

Cuadro 7. Efecto del color en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

Variables	Tratamientos	Color en patties de carne de pollo cocida				
		Tiempo de almacenamiento (días)				
		0	3	6	9	12
*L	0 % miel	75.00±1.77 ^d	77.55±0.97 ^{abc}	77.38±0.95 ^{abcd}	77.14±0.18 ^{abcd}	77.83±0.96 ^{abc}
	1 % miel	75.66±3.05 ^{bcd}	77.48±0.62 ^{abc}	78.49±0.82 ^a	78.04±1.42 ^{ab}	78.06±1.55 ^{ab}
	3 % miel	75.57±0.19 ^{cd}	76.97±0.54 ^{abcd}	77.72±1.42 ^{abc}	76.96±1.02 ^{abcd}	78.39±1.43 ^a
	5 % miel	76.20±1.76 ^{abcd}	76.82±2.31 ^{abcd}	77.13±1.42 ^{abcd}	77.74±2.17 ^{abc}	77.61±1.17 ^{abc}
*a	0 % miel	5.30±1.21 ^a	3.61±0.17 ^{bc}	3.61±0.39 ^{bcd}	3.74±0.70 ^{bc}	2.85±0.60 ^{cdefg}
	1 % miel	4.57±1.95 ^{ab}	3.27±0.70 ^{cde}	2.75±0.26 ^{cdefg}	3.06±0.76 ^{cdefg}	2.75±1.12 ^{cdefg}
	3 % miel	3.20±0.96 ^{cdef}	2.67±0.27 ^{cdefg}	2.47±0.40 ^{cdefg}	2.34±0.33 ^{defg}	2.03±0.65 ^{efg}
	5 % miel	2.53±0.54 ^{cdefg}	2.02±0.09 ^{efg}	1.95±0.43 ^{fg}	2.19±0.46 ^{efg}	1.92±0.81 ^g
*b	0 % miel	39.82±4.51 ^a	37.70±5.33 ^{ab}	33.46±4.24 ^{ab}	35.11±5.77 ^{ab}	35.09±3.61 ^{ab}
	1 % miel	37.32±4.26 ^{ab}	36.48±4.52 ^{ab}	34.59±3.09 ^{ab}	33.97±2.32 ^{ab}	33.92±2.56 ^{ab}
	3 % miel	36.99±3.82 ^{ab}	36.95±4.71 ^{ab}	34.42±6.75 ^{ab}	35.01±7.49 ^{ab}	33.31±9.87 ^{ab}
	5 % miel	36.42±1.24 ^{ab}	33.68±1.64 ^{ab}	33.53±1.46 ^{ab}	31.49±0.77 ^b	32.42±0.99 ^{ab}
Hue	0 % miel	1.43±0.02 ^{cd}	1.47±0.01 ^{abcd}	1.45±0.02 ^{bcd}	1.45±0.04 ^{bcd}	1.48±0.01 ^{abc}
	1 % miel	1.45±0.03 ^{cd}	1.48±0.01 ^{abc}	1.49±0.007 ^{abc}	1.48±0.01 ^{abc}	1.48±0.03 ^{abc}
	3 % miel	1.48±0.02 ^{abc}	1.49±0.01 ^{ab}	1.49±0.02 ^{ab}	1.49±0.02 ^{ab}	1.50±0.04 ^a
	5 % miel	1.50±0.01 ^a	1.51±0.005 ^a	1.51±0.01 ^a	1.49±0.01 ^{ab}	1.51±0.02 ^a
Croma	0 % miel	40.20±4.53 ^a	37.88±5.31 ^{ab}	33.67±4.15 ^{ab}	35.34±5.65 ^{ab}	35.22±3.61 ^{ab}
	1 % miel	37.62±4.47 ^{ab}	36.63±4.55 ^{ab}	34.70±3.10 ^{ab}	34.12±2.37 ^{ab}	34.05±2.57 ^{ab}
	3 % miel	37.14±3.80 ^{ab}	37.06±4.71 ^{ab}	34.52±6.71 ^{ab}	35.10±7.44 ^{ab}	33.39±9.80 ^{ab}
	5 % miel	36.51±1.27 ^{ab}	33.74±1.63 ^{ab}	33.60±1.42 ^{ab}	31.57±0.74 ^b	32.49±1.02 ^b

L*=luminosidad; a*= (-a=verde, + a=rojo); b*= (-b=azul, + b=amarillo); Hue= tonalidad, Croma=saturación. En cada variable: letras diferentes dentro de una misma fila indican diferencia estadísticamente significativa (p -valor<0.05); letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencia estadísticamente significativa (p -valor<0.05), método de comparación de medias a través de LSD (p -valor<0.05).

El análisis de perfil de textura (TPA) en las “patties” de pechuga de pollo, mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0.05$) por efecto de la inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*), durante el almacenamiento (**Cuadro 8**). No obstante, la fuerza necesaria para comprimir la “pattie” (dureza) no se vio afectada por ningún tratamiento durante el almacenamiento, dado que la suavidad en las “patties” se mantuvo durante los 12 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C y no se mostró diferencias significativas en el contenido de humedad. La deformación de las “patties” (cohesividad) presentó diferencia significativa a los días 6, 9 y 12 por efecto del nivel de inclusión del 3% de miel de abeja sin aguijón. Lo cual puede ser atribuido a la gelificación de las proteínas durante la cocción de carne de ave (Perlo *et al.*, 2003). En cuanto a la fuerza de adhesión (adhesividad), los resultados mostraron un considerable descenso durante el almacenamiento en refrigeración, especialmente a un nivel de inclusión de miel del 5% al día 6 de almacenamiento. Perlo *et al.* (2003) mencionan que la adhesión y liga de las partículas de carne con el almacenamiento en productos reestructurados podría explicar el efecto de adhesividad, siendo una característica particular de los alimentos mecánicamente procesados. La fuerza requerida para desintegrar la “pattie” (gomosidad) fue estadísticamente significativa al día 0 y 12 de almacenamiento para un nivel de inclusión de miel del 5%. Esto puede atribuirse a que la a_w no presentó diferencias estadísticamente significativas durante el almacenamiento en este estudio. Naveena *et al.* (2008b) menciona que una ligera reducción en los valores de a_w , puede causar una sequedad en el alimento disminuyendo su jugosidad. La recuperación de la “pattie” después de la primera oscilación (elasticidad), mostró que solo el control presentó diferencia estadísticamente significativa en los días 3, 6, 9 y 12, presentando los valores más altos en comparación con los demás tratamientos. Por otra parte, la masticabilidad, solo mostró diferencia estadísticamente significativa al día 0 entre el 3 y 5% de inclusión de miel; sin embargo, el 5% inclusión de miel mostro los valores más altos, atribuyendo esto a la firmeza adquirida por la concentración de miel. El perfil de textura se ve influenciado por el procesado, almacenamiento y temperatura, considerados como puntos críticos y los cambios bioquímicos que experimentan los alimentos (Fennema, 1985).

Cuadro 8. Efecto del TPA en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

Variables	Tratamientos	Análisis de perfil de textura (TPA)				
		Tiempo de almacenamiento (días)				
		0	3	6	9	12
Dureza (N)	0 % miel	70.53±8.00 ^a	69.26±14.45 ^a	66.36±14.57 ^a	69.64±18.45 ^a	69.34±18.16 ^a
	1 % miel	67.93±5.11 ^a	73.64±17.79 ^a	76.93±19.38 ^a	74.31±22.19 ^a	74.73±10.62 ^a
	3 % miel	65.15±12.91 ^a	71.14±18.82 ^a	70.08±18.46 ^a	72.59±11.10 ^a	74.42±14.89 ^a
	5 % miel	72.48±11.77 ^a	85.41±12.83 ^a	8.45±23.63 ^a	79.40±20.02 ^a	82.71±13.22 ^a
Cohesividad (N)	0 % miel	-0.04±0.02 ^{ab}	-0.02±0.01 ^{ab}	-0.03±0.02 ^{ab}	-0.05±0.04 ^{ab}	-0.01±0.008 ^{ab}
	1 % miel	-0.06±0.05 ^{ab}	-0.04±0.05 ^{ab}	-0.05±0.03 ^{ab}	-0.06±0.03 ^{ab}	-0.04±0.04 ^{ab}
	3 % miel	-0.02±0.01 ^{ab}	-0.03±0.01 ^{ab}	-0.01±0.001 ^a	-0.08±0.11 ^b	-0.01±0.01 ^a
	5 % miel	-0.03±0.01 ^{ab}	-0.03±0.01 ^{ab}	-0.02±0.01 ^{ab}	-0.02±0.005 ^{ab}	-0.01±0.007 ^a
Adhesividad (N)	0 % miel	0.41±0.002 ^{abc}	0.42±0.003 ^{ab}	0.42±0.02 ^{ab}	0.24±0.17 ^{cde}	0.33±0.09 ^{abcde}
	1 % miel	0.43±0.01 ^{ab}	0.42±0.01 ^{ab}	0.27±0.007 ^{bcde}	0.33±0.09 ^{abcde}	0.33±0.11 ^{abcde}
	3 % miel	0.41±0.09 ^{ab}	0.48±0.02 ^a	0.27±0.13 ^{bcde}	0.28±0.16 ^{bcde}	0.35±0.17 ^{abcd}
	5 % miel	0.45±0.03 ^{ab}	0.33±0.16 ^{abcde}	0.19±0.10 ^{de}	0.17±0.06 ^e	0.24±0.08 ^{cde}
Gomosidad (N)	0 % miel	31.65±0.00 ^{abc}	30.80±6.86 ^{bc}	30.99±1.85 ^{bc}	29.87±8.06 ^{bc}	24.25±6.05 ^c
	1 % miel	30.37±3.53 ^{bc}	29.91±7.13 ^{bc}	28.94±5.33 ^{bc}	32.66±11.53 ^{abc}	33.18±5.13 ^{abc}
	3 % miel	30.19±5.03 ^{bc}	29.15±2.98 ^{bc}	31.19±3.36 ^{bc}	34.37±3.28 ^{abc}	34.41±4.50 ^{abc}
	5 % miel	45.64±19.37 ^a	37.18±3.84 ^{abc}	37.02±12.65 ^{abc}	36.61±5.61 ^{abc}	38.06±6.47 ^{ab}
Elasticidad (N)	0 % miel	0.56±0.60 ^{abcd}	0.92±0.13 ^{ab}	0.99±0.002 ^a	0.42±0.13 ^d	0.39±0.28 ^d
	1 % miel	0.60±0.44 ^{abcd}	0.91±0.13 ^{ab}	0.48±0.31 ^{bcd}	0.55±0.26 ^{abcd}	0.74±0.26 ^{abcd}
	3 % miel	0.88±0.19 ^{abc}	0.53±0.40 ^{bcd}	0.51±0.26 ^{bcd}	0.56±0.37 ^{abcd}	0.70±0.28 ^{abcd}
	5 % miel	0.50±0.26 ^{bcd}	0.44±0.28 ^{cd}	0.43±0.08 ^d	0.39±0.06 ^d	0.59±0.17 ^{abcd}
Masticabilidad (N)	0 % miel	31.48±0.00 ^{ab}	30.76±6.87 ^{ab}	27.66±7.67 ^b	29.87±8.10 ^b	24.29±6.00 ^b
	1 % miel	30.19±3.41 ^{ab}	29.88±7.19 ^b	28.89±5.36 ^b	32.62±11.42 ^{ab}	33.10±5.09 ^{ab}
	3 % miel	30.17±4.99 ^b	29.01±3.17 ^b	31.07±3.50 ^{ab}	34.43±3.33 ^{ab}	34.29±4.53 ^{ab}
	5 % miel	45.46±19.43 ^a	37.12±3.98 ^{ab}	36.92±12.62 ^{ab}	36.46±5.61 ^{ab}	38.03±6.41 ^{ab}

En cada variable: letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente diferentes (p-valor<0.05); letras diferentes dentro de una columna son estadísticamente diferentes (p-valor<0.05), método de comparación de medias a través de LSD (p-valor<0.05).

2.3.3. Oxidación lipídica

El efecto de la oxidación lipídica en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C, mostro diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0.05$) entre tratamientos y durante el almacenamiento (**Figura 2**). A partir del día 3 y 6 de almacenamiento todos los tratamientos presentaron valores de TBAR inferiores al control (0% de miel). El nivel de inclusión de miel al 1%, no mostro una diferencia estadísticamente significativa en el día 12 comparado con el control. El nivel de inclusión de miel de abeja sin aguijón 3 y 5% redujeron la oxidación lipídica de forma eficaz presentando los valores de TBAR más bajos desde el día 3 de almacenamiento, mostrando diferencia estadísticamente significativa entre ellos. Sampaio *et al.* (2012) reportaron una disminución más eficaz en oxidación lipídica en “patties” de carne de pollo cocidas con la adición de 5% de miel, orégano y savia con respecto al 10 % de miel, orégano y savia, concordando con lo reportado en este estudio con 5% de miel (*S. mexicana*) como mejor tratamiento. Asimismo los resultados encontrados en este estudio también concuerdan con lo reportado por EL-Kalyoubi *et al.* (2014) quienes reportaron que la inclusión de miel *Apis mellifera* al 20% presentó los valores de TBAR más bajos en rodajas de carne de pollo durante 14 días de almacenamiento. Por otro lado Naveena *et al.* (2008a) mencionan que todos sus tratamientos de antioxidantes naturales de extractos y jugos de granada (10mL /100g) disminuyen la oxidación lipídica de “patties” de carne de pollo con respecto al control, mismo efecto encontrado en este estudio, mientras que Dawson y Mathew (2000) mostraron un efecto similar al agregar miel de abeja *Apis mellifera* al 5, 10, 15 y 20% a rollos de pechuga de pavo cocidos, sin embargo no observaron una diferencia significativa en niveles de inclusión del 15 y el 20%. Asimismo Johnston *et al.* (2005) encontraron una disminución de oxidación lipídica en hamburguesas de carne de res adicionado con miel *Apis mellifera* al 5, 10 y 15% comparadas con el control.

La oxidación lipídica es atribuida a la interacción del oxígeno, la luz y la cocción como agentes pro-oxidantes con los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) presentes en la carne durante la refrigeración (Ahn *et al.*, 1993; Martínez, 2016). El daño oxidativo es mayor en carne cocida en almacenamiento en refrigeración por la liberación del hierro, hemoglobina, mioglobina, ferritina y hemosiderina que forman quelatos con aminoácidos, nucleótidos y fosfatos causando la

oxidación de lípidos (Sárraga *et al.*, 2002; Decker *et al.*, 1993). Asimismo, la oxidación lipídica implica un alto pH básico, el cual disminuye la capacidad de los metales y las proteínas del hemo para oxidar los lípidos (Gong *et al.*, 2010), sin embargo, esto no es aplicable en este estudio, el pH de las patties de carne de pollo permaneció estable durante todo el almacenamiento en refrigeración; motivo por el cual la reducción de oxidación lipídica puede ser atribuida al efecto de los compuestos antioxidantes presentes en la miel de abeja sin agujijón (*S. mexicana*).

2.3.4. Oxidación proteica

La oxidación proteica por efecto de la adición de miel (*S. mexicana*) sobre las “patties” de carne de pollo molida y cocida, mostraron pocas diferencias estadísticamente significativas ($p\text{-valor}<0.05$) (**Figura 2**). Ningún tratamiento tuvo un efecto significativo en la formación de compuestos carbonilos a los 0, 3 y 6 días de almacenamiento, ni con la inclusión del 1 y 3%. Sin embargo, la inclusión de miel de abeja sin agujijón del 5% presentó diferencias estadísticamente significativas con la inclusión al 1 y 3% y el control, observándose mayor efecto al día 9 y 12. Estos resultados pueden atribuirse al contenido alto en actividad del agua encontrada en este estudio de (0.96). Liu *et al.* (2010) menciona que el agua puede haber facilitado la exposición de proteínas de carne, la movilidad de los pro-oxidantes y por tanto la carbonilación de aminoácidos alcalinos. Estévez y Cava (2004) mencionan que el almacenamiento en refrigeración conduce a una mayor carbonilación de proteínas por la relación con grado de oxidación lipídica y el aumento del hierro; no obstante, Stadtman y Levine (2000) mencionan que la concentración intracelular de hierro también determina la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y la carbonilación de proteínas. En este sentido, cualquier factor que ocasione estrés oxidativo como disminución de los sistemas antioxidantes de defensa, aumento en la susceptibilidad de las proteínas para ser oxidadas o el salado de los productos cárnicos, puede causar oxidación proteica por carbonilación de proteínas (Estévez, 2011; Dukan *et al.*, 2000).

La pérdida de la actividad catalítica, las modificaciones en aminoácidos, la formación de grupos carbonilo, las alteraciones de estabilidad térmica, el cambio en la viscosidad, la fragmentación, la formación de enlaces covalentes, la formación de puentes disulfuro y la susceptibilidad a proteólisis son las principales alteraciones que sufren las proteínas ante la oxidación (Cabiscol *et al.*, 2000).

La oxidación de proteínas ocurre principalmente por mecanismos tales como la carbonilación, la ruptura de enlaces peptídicos, la nitración y la formación de enlaces proteína-proteína (Díaz y Hernández, 2006). La miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) posee capacidad antioxidante por acción de sus compuestos polifenólicos capaces de captar radicales libres formados durante los mecanismos de oxidación. La capacidad antioxidante de la miel de abeja incrementa por efectos de temperaturas controladas (70-90°C), considerando un incremento de la capacidad antioxidante por efectos de cocción de carne (Turkmen *et al.*, 2006).

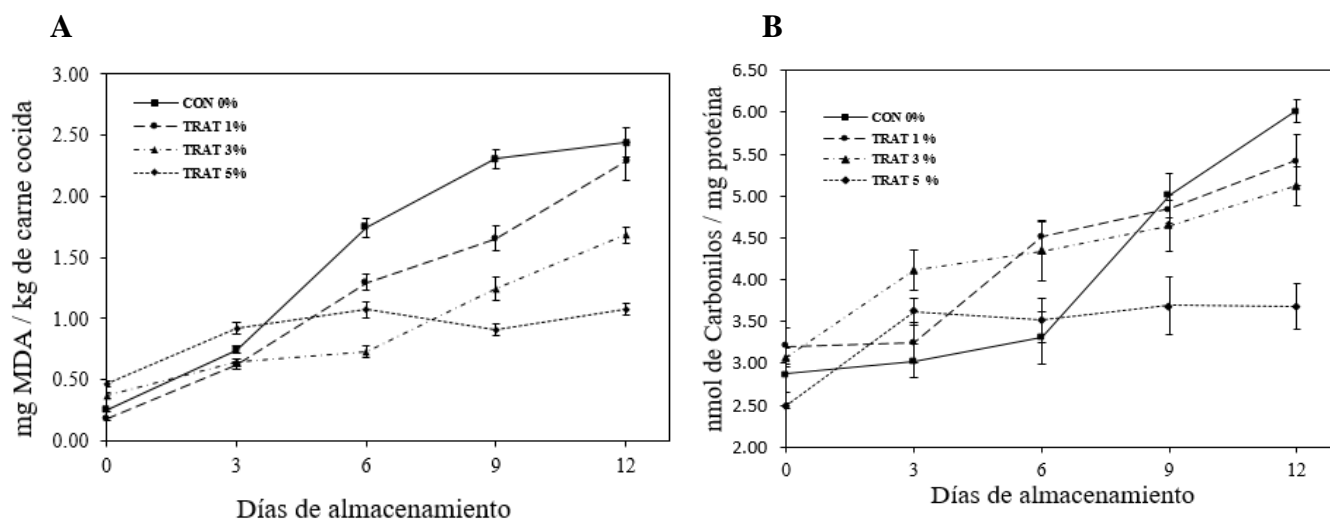


Figura 2. Evolución de la oxidación lipídica (A) y proteica (B) en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) (0, 1, 3, 5%) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C (0, 3, 6, 9, 12).

De manera general, la miel mostró una alta capacidad antioxidante en “patties” de carne de pollo cocida y almacenada en refrigeración.

2.4. Conclusión

La inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) a 3 y 5% retrasó significativamente la oxidación de lípidos y proteínas durante el almacenamiento en refrigeración en carne de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molida y cocida a los 6, 9 y 12 días, haciéndose más efectivo a un nivel de inclusión del 5 %.

A mayor nivel de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*), se mejoró el rendimiento por cocción y se mantuvo estable el pH en las “patties” de pechuga de pollo molidas y cocidas

almacenadas en refrigeración. El amarillo característico de la carne de pollo se mostró ligeramente brillante sin efectos de pardeamiento por acción de la inclusión de miel.

La miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*), no interfiere en el perfil de textura, principalmente en la dureza de la carne, por lo que se mantiene la suavidad de las “patties” de pechuga de pollo molidas y cocidas almacenadas en refrigeración durante los 12 días de almacenamiento.

Se considera que la miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*), puede presentarse como producto funcional natural en alternativa para la sustitución de antioxidantes sintéticos en productos cárnicos, específicamente en “patties”.

2.5. Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por brindar el apoyo para el desarrollo de mi maestría a través de la beca No. 575456. Al Colegio de Postgraduados, Campus Córdoba, al Laboratorio de Ciencia y Tecnología de los Alimentos y a la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento 2 (LGAC-2), en Innovación y desarrollo de procesos agroalimentarios para el bienestar social del Programa de Posgrados Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable, por los apoyos para la realización de esta investigación.

2.6. Literatura citada

Ahn, D. U., F. H. Wolfe and J. S. Sim. 1993. Prevention of lipid oxidation in precooked turkey meat patties with hot packaging and antioxidant combinations. *Journal of Food Science*. 58(2):283-287.

Alabdulkarim, B., Z. A. N. Bakeet and S. Arzoo. 2012. Effect of frying oils on quality characteristics of frozen chicken patties incorporated with honey. *African Journal of Biotechnology* 11(12):2985-2992.

Antony, S., J. R. Rieck and P. L. Dawson. 2000. Effect of Dry Honey on Oxidation in Turkey Breast Meat. *Poultry Science* 79:1846–1850.

- Antony, S., J. R. Rieck, J. C. Acton, I. Y. Han, E. L. Halpin and P. L. Dawson. 2006. Effect of dry honey on the shelf life of packaged turkey slices. *Poultry Science* 85(10):1811-1820.
- AOAC 2000. Moisture content. 950.46. In *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC)*. 17th ed. Gaithersburgh, Maryland: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC 1990. Acidez titulable. 947.05. In *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC)*. 15th ed. Washington DC.
- Armenteros, M., M. Heinonen, V. Ollilainen, F. Toldrá and M. Estévez. 2009. Analysis of protein carbonyls in meat products by using the DNPH method, fluorescence spectroscopy and liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC-ESI-MS). *Meat Science*. 83:104-112.
- Ávila R, F., A. Pro-Martínez, E. Sosa-Montes, J. M. Cuca-García, C. Becerril-Pérez, J. L. Figueroa-Velasco and C. Narciso-Gaytán. 2013. Dietary supplemented and meat-added antioxidants effect on the lipid oxidative stability of refrigerated and frozen cooked chicken meat. *Poultry Science* 92(1):243-249.
- Balamatsia, C., E. Paleologos, M. Kontominas and I. Savvaidis. 2006. Correlation between microbial flora, sensory changes and biogenic amines formation in fresh chicken meat stored aerobically or under modified atmosphere packaging at 4 °C: Possible role of biogenic amines as spoilage indicators. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 89:9-17.
- Barbut, S., L. Zhang and M. Marcone. 2005. Effects of pale, normal, and dark chicken breast meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. *Poultry Science* 84:797-802.
- Barroeta, A. C. and L. Cortinas. 2002. Modificación de la composición de la grasa de pollo a través de la dieta. *Eurocarne*. 108:33-45.

- Bianchi, M., M. Petracchi, F. Sirri, E. Folegatti, A. Franchini and A. Meluzzi. 2007. The influence of the season and market class of broiler chickens on breast meat quality traits. *Poultry Science* 86:959-963.
- Biswas, A. K., R. C. Keshri and G. S. Bisht. 2004. Effect of enrobing and antioxidants on quality characteristics of precooked pork patties under chilled and frozen storage conditions. *Meat Science* 66:733-741.
- Borek, C. 2004. Dietary antioxidants and human cancer. *Integrative Cancer Therapies* 3(4):333-341.
- Cabiscol, E., J. Tamarit, and J. Ros. 2000. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. *International Microbiology*. 3:3-8.
- Carreras, I., M. Castellari., J. G. Regueiro., L. Guerrero., E. Esteve-Garcia. and C. Sarraga. 2004. Influence of enrofloxacin administration and α -tocopheryl acetate supplemented diets on oxidative stability of broiler tissues. *Poultry Science* 83(5):796-802.
- Chaijan, M. 2008. Review: Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 30(1):47-53.
- Ciappini, M. C., F. S. Stoppani., R. Martinet and M. B. Alvarez. 2013. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. *Revista de Ciencia y Tecnología* 19:45-51.
- Cortinas L., A. Barroeta, C. Villaverde, J. Galobart, F. Guardiola and M. D. Baucells. 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid Oxidation. *Poultry Science* 84:48:55.
- Dawson, P. L., and J. C. Acton. 2000. Honey in processed poultry meat. Summary of a research project funded by the National Honey Board (NHB) and conducted at Clemson University. Available from NHB (www.nhb.org).
- Dawson, P. L. and S. Mathew. 2000. Antioxidative properties of honey in poultry meat. Summary of research funded by the National

- Honey Board (NHB) and conducted at Clemson University. Available from NHB (www.nhb.org).
- Decker, E. A., A. D. Crum, N C. Shantha and P. A. Morrissey. 1993. Catalysis of lipid oxidation by iron from an insoluble fraction of beef diaphragm muscle. *Journal of Food Science* 58(2):233-236.
- Díaz A. A. E. and J. M. Hernández. 2006. Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-biológicas* 9:34.
- Dukan, S., A. Farewell, M. Ballesteros, F. Taddei, M. Radman and T. Nyström. 2000. Protein oxidation in response to increased transcriptional or translational errors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97(11):5746-5749.
- El-Kalyoubi, M. H., M. M. Khalaf, A. S. Nadir, M. A. Wafaa and M. E. Mansour. 2014. Bee Honey Effect against Microbial and Oxidation in Chicken Slices. *Food Science* 4(4):884-893.
- Estévez, M. 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*. 89(3):259-279.
- Estévez, M. and R. Cava. 2004. Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pâté. *Meat Science*. 68:551-558.
- Estévez, M., D. Morcuende and S. Ventanas. 2008. Determination of oxidation. En: *Handbook of Muscle Foods Analysis*. Eds. Nollet, L.M.L. y Toldrá, F. CRC Press, Boca Ratón FL, E.E.U.U Pag. 221-239.
- Falowo, A. B., P. O. Fayemi and V. Muchenje. 2014. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International* 64:171-181.
- Fennema, O. R. 1985. *Introducción a la ciencia de los alimentos* (Vol. 1). Reverté. Pag. 1258.

- Ganhão, R., D. Morcuende and M. Estévez. 2010. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Science* 85(3):402-409.
- García O. O., J. Ruiz and I. Acevedo. 2012. Evaluación físico-química de carnes para hamburguesas bajas en grasas con inclusión de harina de quinchoncho (*Cajanus cajan*) como extensor. *Revista Científica*. 22(6):497-506.
- Gong, Y., R. S. Parker and M. P. Richards. 2010. Factors affecting lipid oxidation in breast and thigh muscle from chicken, turkey and duck. *Journal of Food Biochemistry* 34(4):869–885.
- Govindarajan, S., H. O. Hultin, and A. W Kotula. 1977. Myoglobin oxidation in ground beef: mechanistic studies. *Journal of Food Science*. 42(3):571-577.
- Guerrero, L. I., A. E. Ponce y M. L. Pérez. 2002. Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. Universidad Metropolitana Unidad Iztapalapa. D. F., México. Pag. 171.
- Johnston, J. E., H. A. Sepe, C. L. Miano, R. G. Brannan, and A. L. Alderton. 2005. Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat Science*. 70(4):627-631.
- Karre, L., K. Lopez and K. J. Getty. 2013. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science* 94(2):220-227.
- Liu G and Y. L. Xiong. 2000. Electrophoretic pattern, thermal denaturation, and *in vitro* digestibility of oxidized myosin. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 48(3):624–630.
- Liu, Z., Y. L. Xiong and J. Chen. 2010. Protein oxidation enhances hydration but suppresses water-holding capacity in porcine *longissimus* muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:10697–10704.
- Lund, M. N., M. Heinonen, C. P. Baron and M. Estévez. 2011. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research* 55: 83–95.
- Mancini, R. A. and M. Hunt. 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71:100-121.

- Mapiye, C., N. Aldai., T. D. Turner., J. L. Aalhus., D. C. Rolland., J. K. G. Kramer. 2012. The labile lipid fraction of meat: From perceived disease and waste to health and opportunity. *Meat Science* 92:210–220.
- Martínez, R. Y. 2016. Bioética inocuidad y bienestar animal: producción de carne y leche. 1ª. ed. Universidad de Guanajuato 307:117-134.
- Mitsumoto, M., R. N. Arnold., D. M. Schaefer and R. G. Cassens. 1995. Dietary vitamin E supplementation shifted weight loss from drip to cooking loss in fresh beef *longissimus* during display. *Journal of Animal Science* 73(8):2289–2294.
- Naveena, B. M., A. R. Sen, R. P. Kingsly, D. B. Singh and N. Kondaiah. 2008a. Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties. *International Journal of Food Science and Technology* 43(10):1807-1812.
- Naveena, B. M., A. R. Sen, S. Vaithyanathan, Y. Babji, and N. Kondaiah. 2008b. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Science*. 80(4):1304-1308.
- Perlo, F., P. I. Bonato, G. A. Teira and A. Marcuzzi. 2003. Effect of the washing number in mechanically deboned poultry meat processing. *Journal of Food* 4:55-59.
- Qiao, M., D. L. Fletcher, D. P. Smith and J. K. Northcutt. 2001. The effect of broiler breast meat color and pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poultry Science*. 80:676-680.
- Sampaio, G. R., T. Saldanha, R. A. M. Soares and E. A. F. S. Torres. 2012. Effect of natural antioxidant combinations on lipid oxidation in cooked chicken meat during refrigerated storage. *Food Chemistry* 135(3):1383-1390.
- Sárraga C., I. Carreras and J. A. G. Regueiro. 2002. Influence of meat quality and NaCl percentage on glutathione peroxidase activity and values for acid-reactive substances of raw and dry-cured *Longissimus dorsi*. *Meat Science* 62(4):503-507.

- Sikorski, Z. E. 2006. Chemical and functional properties of food components. Food lipids. 2a. ed. CRC press 384, 123-140.
- Silva, F. A., V. C. Ferreira., M. S. Madruga and M. Estévez. 2016. Effect of the cooking method (grilling, roasting, frying and sous-vide) on the oxidation of thiols, tryptophan, alkaline amino acids and protein cross-linking in jerky chicken. *Journal of Food Science and Technology* 53(8):3137-3146.
- Stadtman, E. R. and R. L. Levine. 2000. Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 899:191-208.
- Tarladgis, B. G., B. M. Watts., M. T. Younathan and L. Dugan. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 37(1):44-48.
- Trout, G. R. 1989. Variation in myoglobin denaturation and color of cooked beef, pork, and turkey meat as influenced by pH, sodium chloride, sodium tripolyphosphate, and cooking temperature. *Journal. Food Science* 54:536-540, 544.
- Turkmen, N., F. Sari, E. S. Poyrazoglu and Y. S. Velioglu. 2006. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and color of honey. *Food Chemistry*. 95:653-657.
- Woelfel, R. L., C. N. Owens., E. M. Hirschler., M. R. Dawson and A. R. Sams. 2002. The characterization and incidence of pale, soft, and exudative broiler meat in a commercial processing plant. *Poultry Science*. 81(4):579-584.
- Xiao S., W. G. Zhang., E. J. Lee., C. W. Ma., D. U. Ahn. 2011. Lipid and protein oxidation of chicken breast rolls as affected by dietary oxidation levels and packaging. *Journal Food Science*. 76(4):612–617.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

Conclusiones

La miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) posee mayor capacidad antioxidante que las mieles de abeja *Apis mellifera*, así como un pH bajo considerable característico de las mieles de abejas sin aguijón.

La adición de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) no afecta la suavidad, la acidez ni la a_w de las “patties” de carne de pollo molida y cocida durante el almacenamiento en refrigeración a 4°C.

La adición de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) disminuye significativamente la oxidación lipídica y proteica de las “patties” de carne de pollo molida y cocida considerándose como un producto natural funcional con propiedades en la estabilidad oxidativa de la carne de pollo.

Recomendaciones

Se recomienda evaluar la correlación entre oxidación lipídica y proteica para impulsar estudios sobre oxidación proteica como tema nuevo de análisis.

Realizar una mezcla de ingredientes propios de hamburguesa con miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) para realizar estudios sensoriales.

Incrementar la adición de antioxidantes naturales en los productos terminados en beneficio de la nutrición y salud.

7. ANEXOS

ANEXO 1. Producción nacional de carne de pollo en el 2014.

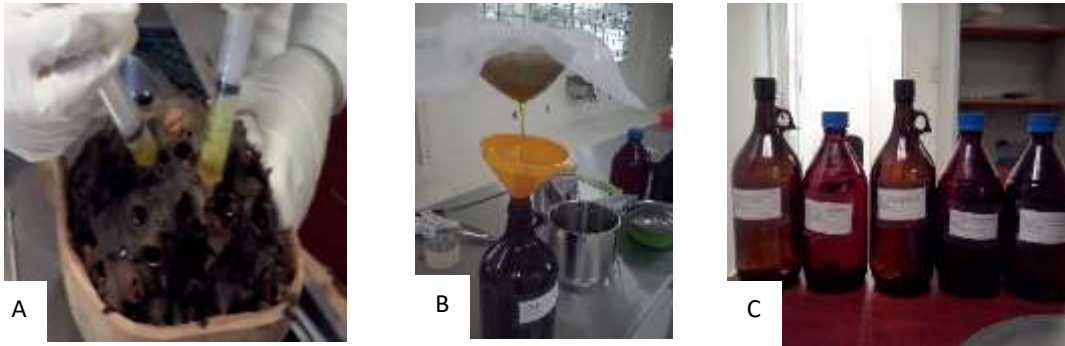
Producción de carne de pollo 2014					
Estado	*Producción (t)	**Precio por Kg	Estado	*Producción (t)	**Precio por Kg
Aguascalientes	373,466	19.04	Morelos	65,611	17.30
Baja California	1,394	20.24	Nayarit	39,160	21.82
Baja California Sur	778	27.97	Nuevo León	112,040	19.29
Campeche	26,494	16.75	Oaxaca	15,441	22.89
Cahuilla	124,735	20.45	Puebla	203,677	20.67
Colima	13,188	20.83	Querétaro	319,118	21.45
Chiapas	184,206	21.06	Quintana Roo	4,885	25.28
Chihuahua	3,486	19.31	San Luis Potosí	95,317	19.44
Distrito Federal	71	26.97	Sinaloa	160,134	24.87
Durango	369,364	20.82	Sonora	36,910	12.72
Guanajuato	203,617	21.97	Tabasco	26,792	24.33
Guerrero	14,266	24.25	Tamaulipas	576	17.72
Hidalgo	76,109	21.26	Tlaxcala	926	21.22
Jalisco	411,455	24.30	Veracruz	355,050	25.78
México	126,547	18.59	Yucatán	152,011	23.58
Michoacán	66,230	17.30	Zacatecas	4,308	19.45
Sub-total de producción nacional	1,995,406		Sub-total de producción nacional	1,591,956	
Total de producción nacional 2014			3,587,362		

*Producción en toneladas por estado. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2016.

** Costo en pesos mexicanos por kilogramo de carne de pollo en cada estado. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2016

ANEXO 2. Anexos del capítulo I

A 2.1. Evidencias fotográficas



Cosecha de miel de abeja sin aguijón (*Scaptotrigona mexicana*).

Extracción A, filtrado B y almacenamiento C. Fuente: Propiedad del autor.

ANEXO 3. Anexos del capítulo II

A 3.1. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado en esta investigación fue un diseño completamente al azar con 3 repeticiones y un arreglo factorial 4x5 de los tratamientos, siendo el factor **A**, el nivel de inclusión de miel con 4 niveles (0 % de miel, 1 % de miel, 3 % de miel y 5 % de miel) y el factor **B**, el tiempo de almacenamiento con 5 niveles (0, 3, 6, 9 y 12 días). El análisis estadístico se realizó utilizando el procedimiento GLM de SAS versión 9.4 (2012). Para la comparación de medias se utilizó la prueba LSD.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (A*B)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} : variable respuesta de la k-ésima observación al i-ésimo nivel del factor **A** (Concentración de miel) y j-ésimo nivel del factor **B** (Tiempo de almacenamiento).

μ : media global.

A_i : el efecto fijo que produce el i-ésimo nivel del factor **A**.

B_j : el efecto fijo que produce el j-ésimo nivel del factor **B**.

$(A*B)_{ij}$: el efecto adicional de la interacción del i-ésimo nivel del factor **A** con el j-ésimo nivel del factor **B**, y la i-ésima repetición.

ε_{ijk} : es el error experimental con $\varepsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$.

Variables de respuesta: oxidación lipídica y oxidación proteica.

A 3.2. Elaboración de las “patties” de carne de pollo molida. Fuente: propiedad del autor.



A 3.3. Congelación con nitrógeno líquido y empacado al vacío de las “patties” de carne de pollo molida y cocida. Fuente: propiedad del autor.



A 3.4. Análisis de perfil de textura (2 oscilaciones a una velocidad de (60 mm / min). Fuente: propiedad del autor.



A 3.5. Efecto de la oxidación lipídica en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

<i>Patties</i>	<i>Oxidación lipídica (mg MDA/Kg carne cocida)</i>				
	<i>Tiempo de almacenamiento (días)</i>				
	<i>0</i>	<i>3</i>	<i>6</i>	<i>9</i>	<i>12</i>
<i>0 % miel</i>	0.25±0.01 ^j	0.74±0.02 ^g	1.74±0.08 ^c	2.30±0.08 ^b	2.44±0.10 ^a
<i>1 % miel</i>	0.18±0.01 ^j	0.61±0.0 ^h	1.29±0.06 ^d	1.65±0.10 ^c	2.28±0.16 ^a
<i>3 % miel</i>	0.37±0.02 ⁱ	0.64±0.03 ^{gh}	0.73±0.04 ^{gh}	1.24±0.09 ^d	1.68±0.06 ^c
<i>5 % miel</i>	0.49±0.02 ⁱ	0.92±0.05 ^f	1.07±0.06 ^e	0.91±0.04 ^f	1.08±0.04 ^e

Letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05); letras diferentes dentro de una columna son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05), método de comparación de medias a través de LSD (p -valor<0.05).

A 3.6. Efecto de la oxidación proteica en “patties” de pechuga (*Pectoralis major*) de pollo molidas y cocidas con diferentes niveles de inclusión de miel de abeja sin aguijón (*S. mexicana*) y tiempos de almacenamiento en refrigeración a 4°C.

<i>Trat.</i>	<i>Oxidación proteica (nm carbonilos /mg de proteína)</i>				
	<i>Tiempo de almacenamiento (días)</i>				
	<i>0</i>	<i>3</i>	<i>6</i>	<i>9</i>	<i>12</i>
<i>0 % miel</i>	2.87±0.21 ^{ij}	3.03±0.20 ^{hij}	3.31±0.31 ^{hi}	5.00±0.26 ^{bcd}	6.01±0.13 ^a
<i>1 % miel</i>	3.20±0.21 ^{hij}	3.24±0.26 ^{hij}	4.50±0.20 ^{cde}	4.48±0.16 ^{bcde}	5.42±0.30 ^{ab}
<i>3 % miel</i>	3.07±0.10 ^{hij}	4.11±0.23 ^{efg}	4.34±0.35 ^{def}	4.64±0.30 ^{cde}	5.11±0.23 ^{bc}
<i>5 % miel</i>	2.50±0.03 ^j	3.61±0.16 ^{fghi}	3.51±0.26 ^{ghi}	3.69±0.34 ^{fgh}	3.68±0.27 ^{fgh}

Letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05); letras diferentes dentro de una columna son estadísticamente diferentes (p -valor<0.05), método de comparación de medias a través de LSD (p -valor<0.05).