



**Centro de Investigación en
Alimentación y Desarrollo, A.C.**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
ANTIBACTERIANA DE ÁCIDO FERÚLICO Y FERULATO
DE ETILO EN CARNE FRESCA DE RES.**

POR

Rigoberto Hernández Amézquita

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

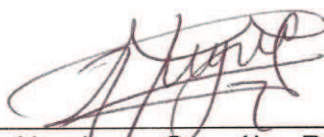
MAESTRÍA EN CIENCIAS

Hermosillo, Sonora

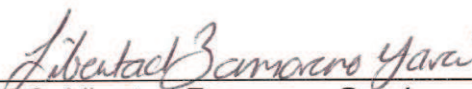
Septiembre de 2013

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Rigoberto Hernández Amézquita, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias, dentro del programa de Maestría en Ciencias del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.



Dr. Humberto González Ríos
Director de tesis



M.C. Libertad Zamorano García
Asesor



Dra. Etna Aida Peña Ramos
Asesor



Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala
Asesor



Dr. Ali Jesús Asaff Torres
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.) por brindarme la oportunidad de realizar la Maestría en Ciencias y así cumplir un objetivo más como parte de mi formación profesional, así como permitirme el uso de sus instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme los recursos económicos indispensables para el desarrollo de mis estudios de posgrado.

Al grupo de investigadores que integro mi comité de tesis por su tiempo y su asesoría para poder realizar esta investigación: Dr. Humberto González Ríos, Dr., M.C. Libertad Zamorano García, Dra. Etna Aida Peña Ramos y Dr. Ali Jesús Asaff Torres.

Especialmente al Dr. Humberto González Ríos, por confiar en mí y darme la oportunidad de trabajar en una de sus líneas de investigación, por su dedicación y profesionalismo puesto en este trabajo.

A la Q.B. Thalía Yamileth Islava Lagarda, por su apoyo y colaboración durante el desarrollo de esta investigación.

A la M.C. Libertad Zamorano García por su valioso apoyo en la etapa del sensorial.

Al T.I.C. German Cumplido por toda la enseñanza y su experiencia compartida.

A todo el grupo de trabajo del laboratorio de emergentes, dirigido por el Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala.

A todas y cada una las personas de que de forma directa e indirecta formo parte de este trabajo de investigación.

DEDICATORIA

A mis papás, hermano, sobrinas y cuñada por su apoyo incondicional, sé que aunque la distancia es mucha su apoyo y sus buenas vibras siempre llegan hasta mí.

A todo el grupo de área de carnes Dr. Humberto González, Q.B. Thalía Islava, T.I.C German Cumplid, M.C Libertad Zamorano, M.C Martín Valenzuela, Dra. Aida Peña y Dr. Juan Pedro Camou. A todos mis compañeros estudiantes Ing. Elizabeth (Mi María), Ing. Carlos, M.C. Jimena, M.C. Julio, M.C. Lupita, Q.A. Anna Judith, Q.A. Rocío, Q.A. Lisdeth, Q.A. Melisa, Dr. José Luis, Mary, Ilse, Edgar, Josiel y demás alumnos que en su momento transitaron por Ciad.

Al grupo del Laboratorio de Emergentes, Dr. Fernando, M.C. Brenda. M.C Reynaldo, M.C. Isela, M.C Luis, M.C. Juan, Ing. Francisco.

A todos mis compañeros de generación de Maestría en Ciencias, especialmente a la casi M.C. Ángeles de la Rosa ya que si no fuera por ella, quizás nunca hubiera llegado yo a CIAD, a los casi M.C. Ángel, Yazmin, Asahel, Samanta, Lourdes, Lilia, Olga y M.C. Martin Moreno.

A todos el personal de CIAD que de forma directa e indirecta participaron en la realización de esta investigación, especialmente al Sr. Gerardo Reyna por su apoyo en el área de biblioteca, a la Q.B. María del Carmen Gradado por sus consejos y apoyo.

A todos mis amigos de Hermosillo que con su amistad y compañía hacen más ameno los días lejos de la familia y de los amigos de años, especialmente LEM Aarón Espinoza Ríos por su amistad y sus consejos.

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

Mahatma Gandhi.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ANEXOS.....	VIII
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT	XIII
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Carne de bovino: producción y consumo.....	3
2.2 Carne de bovino: Composición química y propiedades.....	4
2.2.1 Valor nutritivo	5
2.2.2 Características de calidad	6
2.3 Deterioro de la calidad de la carne	8
2.3.1 Cambios de color	9
2.3.2 Oxidación lipídica	11
2.3.3 Crecimiento microbiano.....	12
2.4 Estrategias para conservar la calidad de la carne fresca	13
2.4.1 Refrigeración.....	13
2.4.2 Conservación química y bioconservación	13
2.4.3 Uso de compuestos naturales.....	15
2.5 Ácido ferúlico y ferulato de etilo	16
2.5.1 Mecanismo de la actividad antioxidante.....	18
2.5.2 Mecanismo de la actividad antimicrobiana.....	18
2.5.3 Aplicaciones en la industria alimentaria	19
III. HIPÓTESIS.....	21
IV. OBJETIVO GENERAL	21
V. MATERIALES Y METODOS	22

CONTENIDO (Continuación)

5.1 Etapa I: Capacidad antioxidante y antibacteriana <i>in vitro</i> de los compuestos	22
5.1.1 Compuestos y reactivos	22
5.1.2 Determinación de la capacidad antioxidante y antibacteriana <i>in vitro</i>	22
5.1.2.1 Inhibición del radical DPPH.	23
5.1.2.2 Inhibición del radical ABTS	23
5.1.2.3 Prueba de blanqueo de β -Caroteno.....	24
5.1.3 Capacidad antibacteriana y concentración mínima inhibitoria (CMI)	25
5.2 Etapa II: Estudio de vida de anaquel de carne molida de res.....	26
5.2.1 Materia prima	26
5.2.2 Preparación de la carne molida.....	26
5.2.3 Análisis fisicoquímicos	27
5.2.3.1 Medición de pH.....	27
5.2.3.2 Medición del color.	27
5.2.3.3 Determinación de la oxidación de lípidos (TBARS).....	29
5.2.3.4 Porcentaje de metamioglobina (MetMb).	29
5.2.4 Análisis microbiológico	29
5.2.4.1 Cuenta total de mesófilos y psicrófilos aerobios	29
5.2.5 Evaluación sensorial	30
5.2.6 Análisis estadístico.....	30
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
6.1 Etapa I	31
6.1.1 Capacidad antioxidante.....	31
6.1.2 Capacidad antibacteriana.....	36
6.2 Etapa II	39
6.2.1 Análisis fisicoquímicos	40
6.2.1.1 pH.....	40

CONTENIDO (Continuación)

6.2.1.2 Color	42
6.2.1.3 Oxidación de lípidos (TBARS) y porcentaje de metamioglobina (MetMb)..	46
6.2.2 Análisis microbiológicos.	50
6.2.2.1 Cuenta total de mesófilos y psicrófilos aerobios..	50
6.2.3 Evaluación sensorial	54
VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	60
VIII. LITERATURA CITADA	60

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Capacidad antioxidante (CI ₅₀)* de ácido ferúlico y ferulato de etilo, evaluada a través de la inhibición del radical DPPH, ABTS y blanqueo de β-caroteno.....	32
Cuadro 2. Capacidad antibacteriana de ácido ferúlico contra distintas bacterias patógenas.....	37
Cuadro 3. Diferencial de color total (ΔE) en carne molida de res por tratamiento a través del tiempo de almacenamiento a 4 °C.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Interconexión redox de los pigmentos de la carne.....	10
Figura 2. Estructura química de ácido ferúlico (a) y ferulato de etilo (b).....	17
Figura 3. Capacidad antioxidante experimental de la mezcla de ácido ferúlico y ferulato de etilo (AF/FE EXP) evaluada a través de la inhibición del radical DPPH, ABTS y blanqueo de β -caroteno.....	35
Figura 4. Efecto de los tratamientos (Control; AF= Ácido Ferúlico; FE= Ferulato de Etilo; AF/FE= combinación de AF y FE y VE= Vitamina E) sobre el pH de carne molida de res almacenada en refrigeración	41
Figura 5. Efecto de los tratamientos (Control; AF= Ácido Ferúlico; FE= Ferulato de Etilo; AF/FE= combinación de AF y FE y VE= Vitamina E) sobre los valores Δa de carne molida de res durante su almacenamiento en refrigeración.....	43
Figura 6. Efecto de los tratamientos (Control; AF = Ácido Ferúlico; FE= Ferulato de Etilo; AF/FE = combinación de AF y FE y VE = Vitamina E) sobre los valores de TBARS (A) y Metamioglobina (B), en carne molida de res almacenada en refrigeración.....	47

Figura 7. Efecto de los tratamientos (Control; AF= Ácido Ferúlico; FE= Ferulato de Etilo; AF/FE= combinación de AF y FE y VE= Vitamina E) sobre el crecimiento de microorganismos, en carne molida de res almacenada en refrigeración.....	52
Figura 8. Efecto de los tratamientos (Control; AF = Ácido Ferúlico; FE =Ferulato de Etilo; AF/FE = combinación de AF y FE y VE = Vitamina E) sobre la pérdida de olor (A) y sabor a fresco (B), en carne molida de res almacenada en refrigeración.....	56
Figura 9. Efecto de los tratamientos (Control; AF= Ácido Ferúlico; FE=Ferulato de Etilo; AF/FE=combinación de AF y FE y VE= Vitamina E) sobre el color (A) y la decoloración (B) en carne fresca molida de res almacenada en refrigeración.....	58

ANEXOS

	Página
Anexo 1. Formato de evaluación para el análisis sensorial.....	77

RESUMEN

El crecimiento microbiano y la decoloración, debido en parte a la oxidación lipídica, son las principales causas del deterioro de la calidad en carne fresca. El color de la carne es el factor más decisivo para el consumidor al momento de su adquisición. Actualmente se buscan compuestos naturales que preserven el color a través de la retardación de la oxidación lipídica y que disminuyan el desarrollo microbiano. Algunos compuestos fenólicos, como el ácido ferúlico o sus ésteres presentan actividad antioxidante y antimicrobiana. Sin embargo, no existen evidencias de su aplicación para mantener la calidad de la carne fresca. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de ácido ferúlico (AF), del ferulato de etilo (FE) y su combinación (AF/FE) sobre la capacidad antioxidante, antibacteriana y su efecto en la calidad de la carne de res almacenada a 4°C. Para lograr dicho objetivo, el estudio se dividió en dos etapas. En la primera, se evaluó en ensayos *in vitro* la capacidad antioxidante (DPPH; ABTS y blanqueo de β -caroteno) de los compuestos y la actividad antibacteriana (halos de inhibición y CMI) del AF. En la segunda etapa se evaluó el efecto de los compuestos en la vida de anaquel de carne molida de res bajo los siguientes tratamientos: Control (sin antioxidante), AF, FE, combinación AF/FE a 200 ppm, y de vitamina E (VE) a 100 ppm, como control positivo. Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de la carne a los días 0, 3, 5 y 7 de almacenamiento a 4 °C. En los resultados del ensayo *in vitro*, AF mostró mayor capacidad antioxidante por las tres técnicas evaluadas, respecto a FE ($P < 0.05$) y se observó un efecto antioxidante aditivo en la combinación AF/FE. En la capacidad antibacteriana, AF inhibió el crecimiento de *S. choleraesuis*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, y *S. aureus*. En el estudio de vida de anaquel de la carne, AF y AF/FE fueron más eficaces en la inhibición de la decoloración y la oxidación lipídica ($P < 0.05$). El

ferulato de etilo tuvo mayor capacidad para prevenir la formación de metamioglobina en el séptimo día de almacenamiento ($P < 0.05$) con respecto a los demás tratamientos. El ácido ferúlico y FE por separado retrasaron el crecimiento de microorganismos deteriorativos en la carne ($P < 0.05$). Los panelistas no detectaron diferencias entre tratamientos ni con respecto al control en la pérdida de olor y sabor, y la decoloración de la carne ($P > 0.05$). Se concluye que AF, FE y AF/FE podrían ser una opción viable para prevenir el deterioro de la calidad en carne fresca.

Palabras claves: Carne fresca de res, Ácido ferúlico, Ferulato de etilo, Antioxidante, Antibacteriano.

ABSTRACT

Microbial growth and discoloration are the main causes of deterioration of fresh meat quality. Furthermore, there is a strong relationship between lipid oxidation and meat color deterioration. Meat color is a key attribute for consumer acceptability at the time of purchasing. Currently, there is an increased interest for the use of natural additives to preserve color, retard lipid oxidation and reduce microbial spoilage in meat. Some phenolic compounds, as ferulic acid or its esters have antimicrobial and antioxidant activity. However, there is no evidence of its application to maintain the quality of fresh meat. The objective of the present study was to evaluate the antioxidant and antibacterial ability of ferulic acid (FA), ethyl ferulate (EF), and FA/EF combination, and their effects on the quality of beef stored at 4°C. To achieve this objective, the study was divided in two stages. The first one was to evaluate the antioxidant activity (DPPH, ABTS and β -carotene bleaching) of these compounds and antibacterial (inhibition halos and MICs) effects of FA on

ERROR: syntaxerror
OFFENDING COMMAND: --nostringval--

STACK:

-mark-
/sfnts
false