Análisis de la calidad microbiológica en hamburguesas (carne de pollo) utilizando en la elaboración agentes antioxidantes extraídos de guayaba (*Psidium guajava l.*)

Analysis of the microbiological quality of hamburgers (chicken meat) using antioxidants extracted from guava (*Psidium guajava l.*)

Carlos Hernán Herrera Méndez[1], Jessica Paola Nava Hernández[1], Alma Delia Trujillo Santoyo[1], Gabriela Arroyo Figueroa[1], Jorge Gustavo Dzul Cauich[1], María Isabel García Vieyra[1] y Tarsicio Medina Saavedra[1]
[1]Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Departamento de Ingeniería Agroindustrial.
chmendez@ugto.mx[1], pokemon4696@hotmail.com, alma.trujillo@ugto.mx, g.arroyo@ugto.mx, jorge.dzul@ugto.mx, isabel.garcia@ugto.mx tarsicioms@ugto.mx.

Resumen

La carne de pollo y los derivados cárnicos de esta especie, tienen un potencial excelente en la aceptación global de alimentos en la categoría de precocidos congelados (hamburguesas, salchichas, jamón etc.). Este tipo de carne tiene importantes características nutricionales como por ejemplo bajo contenido lipídico y alta concentración de ácidos grasos polinsaturados. Los fenómenos oxidativos como la oxidación lipídica es uno de los principales responsables de la pérdida de calidad en carne y derivados cárnicos. La carne de pollo es sensible a los procesos oxidativos porque posee una elevada cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. En el presente trabajo se evaluó la calidad microbiológica en hamburguesas de pollo elaboradas con diferentes concentraciones de antioxidantes naturales de distintas fracciones de la guayaba: pulpa, cáscara, semilla y combinado (todas las anteriores) conociendo su actividad antioxidante; para realizar una comparación entre las diferentes capacidades antioxidantes en las hamburguesas; se utilizó de igual forma otros tratamientos como el eritorbato de sodio y el butil hidroxitolueno (BHT) como antioxidantes sintéticos y una muestra sin antioxidantes (control). La carne debido a su complejidad química es susceptible de ser contaminada por diferentes tipos de microorganismos ocasionando su descomposición. Se evaluaron tres microorganismos que pueden causar contaminación en alimentos de origen animal como la carne: mesófilos, coliformes y salmonella. Todos los tratamientos utilizados en la elaboración fueron con el fin de ver los efectos sobre la actividad antimicrobiana. Se pudo observar que los extractos obtenidos de la guayaba en sus diferentes fracciones conteniendo polifenoles poseen actividad antimicrobiana siendo principalmente eficaces para coliformes pulpa (40 mg de polifenoles/kg de carne) y combinado (40 mg de polifenoles/kg de carne) y para coliformes semilla (80 mg de polifenoles/kg de carne), cáscara (40 mg de polifenoles/kg de carne), cáscara (80 mg de polifenoles/kg de carne) y combinado (40 mg de polifenoles/kg de carne). Este fenómeno puede deberse a una sinergia de diferentes compuestos de carácter fenólico formando compuestos que pueden inhibir la actividad microbiana.

Palabras clave: Antioxidante, guayaba, microorganismos.

Introducción

La carne de pollo y sus productos tienen un excelente potencial en la aceptación global de alimentos en la categoría de precocidos-congelados debido a que cuenta con importantes características nutricionales como bajo contenido de lipídico y alta concentración de ácidos grasos polinsaturados (Dinesh *et al*., 2013). Asimismo, cuando el grado de instauración lipídica se incrementa, la susceptibilidad de este alimento al deterioro oxidativo durante el almacenamiento y cocimiento aumenta (Engberg *et al*., 1996) y, como consecuencia, sabor, color, textura y valor nutricional se ven afectados. Una medida preventiva contra la oxidación lipídica en carne y productos cárnicos es la adición de antioxidantes. Varias plantas aromáticas han sido estudiadas como fuentes de antioxidantes naturales como por ejemplo el orégano (Fasseas *et al*., 2008) y romero (Sebranek *et al*., 2005). Sin embargo, estos son de costos elevados y la eficacia es menor que los antioxidantes sintéticos, por esa razón, se han buscado fuentes de antioxidantes baratas y suficientes como en la sobreproducción de alimentos vegetales o en los residuos agroindustriales tales como piel de papa (Singh *et al*., 2008), semillas de uva (Brannan, 2009) entre otras. Los antioxidantes derivados de fuentes naturales son percibidos por los consumidores como mejores y más seguros en relación con los antioxidantes sintéticos.

La guayaba (*Psidium guajava L.*) es una de las frutas con mayor contenido vitamínico (vitamina C) y propiedades digestivas (alto coeficiente de digestibilidad y elevado contenido de fibra). El procesamiento tecnológico de la guayaba ofrece opciones de conservación de la fruta fresca para extender su vida útil. Sin embargo, en el sur del estado de Guanajuato (México), existe una sobreproducción de dicho fruto que muchas veces se desperdicia o se subutilizada como alimento para animales. Este fruto contiene altos niveles de compuestos polifenólicos y propiedades antioxidantes, por lo cual los extractos de este fruto pueden ser una fuente viable para la solución de la oxidación lipídica en carne y productos cárnicos utilizando una fruta en sobreproducción.

Los antioxidantes son sustancias que protegen frente a los radicales libres. Dentro los radicales libres se encuentran especies reactivas de oxígeno que debido a su inestabilidad se comportan como agentes oxidantes. Los compuestos fenólicos muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades tales como: cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Poseen actividades anti-inflamatoria, antialérgica, antitrombótica y antimicrobiana (Liu *et al*., 2023).

En los alimentos los antioxidantes desempeñan un papel fundamental garantizando que éstos mantengan características sensoriales aceptables, y puedan consumirse durante más tiempo. Su uso resulta especialmente útil para evitar la oxidación de los lípidos.

La carne es el tejido muscular animal que se consume como alimento y es el que mayor valoración y apreciación alcanza en los mercados (Jia *et al*., 2023), no obstante las enfermedades transmitidas debido al consumo de carne se han incrementado en los consumidores y productores debido a la contaminación microbiana de este alimento (Williams *et al*., 2020). El uso de antioxidantes naturales, los cuales son beneficiosos para la salud; en la carne y productos cárnicos puede mejorar la calidad y darles valor agregado, proporcionándole una mejor calidad nutrimental (Skwarek *et al*., 2023). El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de antioxidantes naturales provenientes de guayaba sobre características microbiológicas de hamburguesas elaboradas con carne de pollo.

Metodología

Se utilizó carne de pollo (*pierna*). Las guayabas (*Psidium guajava L.*), provenientes del municipio de Salvatierra, Guanajuato, se seleccionaron teniendo en cuenta que estuvieran libres de daños externos y grado de madurez adecuado según el color.

Extracción de Polifenoles. Para la determinación de fenoles se empleó el Método de Folin Ciocalteu (Singleton *et al*., 1965). Se pesaron 100 mg de polvo de cáscara, pulpa, semilla y combinado de guayaba respectivamente a los que se les agregaron 10 ml de metanol al 30 %. Las diferentes muestras se agitaron durante 10 minutos y se filtraron. Se tomaron alícuotas de 125 µl de cada extracto, se adicionaron 500 µl de agua destilada y se homogeneizaron. Posteriormente se agregaron 125 µl del reactivo Folin-Ciocalteu a cada muestra, se dejaron reposar durante 6 minutos en condiciones de oscuridad. Una vez transcurridos 6 minutos, se adicionaron 1.25 ml de Na_2CO_3 al 7 % y 1 ml de agua destilada, se dejaron reposar nuevamente las mezclas durante 1.5 horas en la obscuridad a temperatura ambiente. En tubos independientes, se prepararon factores de corrección para cada muestra (cáscara, pulpa, semilla y combinado); que contenían 125 µl del extracto de las muestras y todos los demás reactivos en las mismas proporciones, a excepción del Folin-

Ciocalteu. Se leyó la absorbancia de cada muestra a 750 nm usando como blanco a su correspondiente factor de corrección. La concentración de polifenoles en cada fracción examinada se determinó usando la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración de ácido gálico. La concentración final se expresó en mg de ácido gálico contenido en 100 mg de muestra seca. *Obtención de los extractos.* Se determinó la cantidad requerida de material seco y pulverizado de cada parte de la fruta: pulpa, semilla o cáscara y combinado se sometieron a una extracción con etanol al 80 % de acuerdo a las experimentaciones de Monrroy (2007) se realizó una filtración del sobrenadante para después obtener una concentración de los fenoles totales realizando una evaporación. Los extractos se obtuvieron macerando con agitación magnética a temperatura ambiente. *Elaboración y preparación de hamburguesas.* Las hamburguesas fueron elaboradas de acuerdo al proceso siguiente: molienda de la carne, mezclado de los ingredientes con la carne molida, preparadas con once tratamientos diferentes: (1) Control (sin antioxidantes); (2) hidroxitolueno butilado (BHT) (0.01 %); (3) mezcla de sacarosa, eritorbato de sodio y ácido cítrico (0.37 5); extractos de guayaba, (4, 5) pulpa (40 y 80 mg de fenoles totales/kg de carne), (6, 7) semilla (40 y 80 mg de fenoles totales/kg de carne), (8, 9) cáscara (40 y 80 mg de fenoles totales/kg de carne) y (10, 11) combinado de los tres anteriores (40 y 80 mg de fenoles totales/kg de carne). En todos los tratamientos se agregó NaCl (1.5 %), se realizó un empaquetado de las muestras en bolsas de polietileno y se congelaron (-4 °C) hasta su utilización. *Análisis Microbiológico.* La presente investigación tuvo una duración de 4 meses.

Distribuida en 5 etapas con el análisis de todos los tratamientos en cada etapa. Se realizaron pruebas para cada relación tratamientos-tiempo (0, 1, 2, 3, y 4 meses) en relación a coliformes así como de microorganismos aerobios mesófilos y salmonella. Utilizando la Norma Oficial Mexicana correspondiente a cada microorganismo.

Resultados

Extracción de Polifenoles y Obtención de los extractos. Las concentraciones (mg/ml) de los polifenoles totales que se encontraron en los diferentes extractos de guayaba son: semilla 0.0559±0.00125; pulpa 0.1393±.00470, cáscara 0.1512±.00235 y combinado 0.1278±.00025. Como se puede observar la cáscara contiene la más alta concentración de antioxidantes con respecto a los otros extractos. Es importante resaltar que existen varios factores internos y externos que afectan la calidad y/o cantidad de los compuestos fenólicos en las plantas, como la diversidad genética, etapa de madurez, variables ambientales, método de extracción, procesamiento y almacenamiento (Vasco *et al*., 2008).

Análisis Microbiológico. Tomando en consideración que el análisis microbiológico es una inspección que permite valorar, la carga microbiana, todos los alimentos tienen microorganismos como flora normal o bien como flora adquirida, y la contaminación microbiana es la fuente potencial de peligro más importante en los alimentos (Arias *et al*., 2003).

Las tablas 1, 2 y 3 muestran los resultados de la capacidad antimicrobiana en cuanto a la inhibición de mesófilos, coliformes y salmonella en hamburguesas de pollo tratadas con antioxidantes naturales y sintéticos utilizados en este estudio.

***Tabla 1**. Análisis microbiológico de Mesófilos*

Mesófilos (UFC/g)			Tiempo (meses)		
TRATAMIENTOS [mg polifenoles/kg de carne]	T0	T1	T2	T3	T4
CONTROL	10	12	15	16	23
BHT	54	43	43	40	37
ERITORBATO	56	50	52	52	33
PULPA [40]	62	60	35	30	17
PULPA [80]	74	69	55	41	22
SEMILLA [40]	140	135	130	57	57
SEMILLA [80]	104	100	98	79	20
CÁSCARA [40]	106	98	98	50	20
CÁSCARA [80]	56	52	48	27	26
COMBINADO [40]	78	73	79	52	17
COMBINADO [80]	84	80	60	62	60

Fuente: Elaboración propia

En relación al tiempo cero (T0) los tratamientos presentan una carga microbiana por encima del control, esto puede deberse a la manipulación que sufrieron las muestras en su preparación. Analizando los tiempos posteriores se puede observar la disminución de la carga microbiana en todos los tratamientos utilizados.La incorporación de antioxidantes naturales retarda el crecimiento microbiano tanto de mesófilos como de coliformes como se observa en las tablas 1 y 2 ya que el control presenta un crecimiento microbiano paulatinamente a lo largo del experimento en mesófilos pero no en coliformes.

Analizando el tiempo cero (T0) contra los tratamientos aplicados y cómo se muestra en las Figuras 1 y 2, el control indica la carga microbiana inicial de las hamburguesas de pollo ya que se sometieron a una mínima manipulación en el momento de su elaboración y no tuvieron ningún tratamiento con algún antioxidante ya sea natural o sintético.

***Tabla 2**. Análisis microbiológico de Coliformes*

Coliformes (UFC/g)			Tiempo (meses)		
TRATAMIENTOS [mg polifenoles/kg de carne]	T0	T1	T2	T3	T4
CONTROL	7	7	5	5	3
BHT	20	18	15	13	10
ERITORBATO	22	15	12	10	5
PULPA [40]	25	18	18	12	10
PULPA [80]	35	33	20	17	15
SEMILLA [40]	65	65	50	15	7
SEMILLA [80]	55	50	30	15	0
CÁSCARA [40]	50	45	40	31	0
CÁSCARA [80]	25	20	19	8	0
COMBINADO [40]	20	15	10	2	0
COMBINADO [80]	31	28	27	25	25

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3. *Análisis microbiológico de Salmonella*

Salmonella (UFC/g)			Tiempo (meses)		
TRATAMIENTOS [mg polifenoles/kg de carne]	T0	T1	T2	T3	T4
CONTROL	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
BHT	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
ERITORBATO	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
PULPA [40]	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
PULPA [80]	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
SEMILLA [40]	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
SEMILLA [80]	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
CÁSCARA [40]	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
CÁSCARA [80]	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
COMBINADO [40]	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
COMBINADO [80]	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Fuente: Elaboración propia

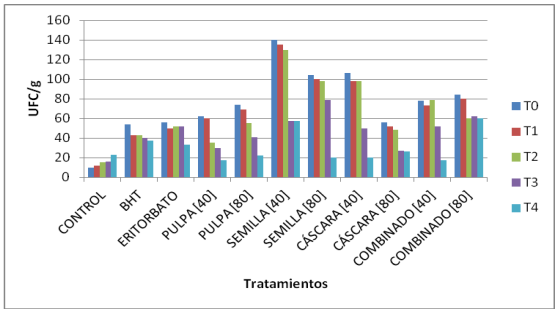

Figura 1. Análisis microbiológico de mesófilos

Fuente: Elaboración propia

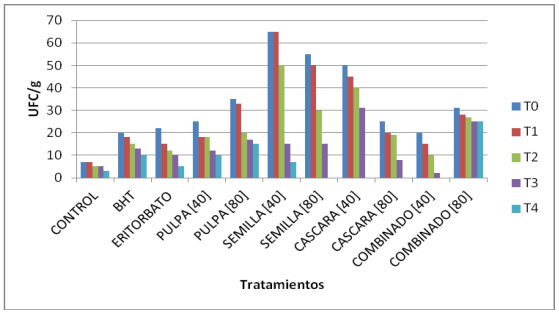

Figura 2. Análisis microbiológico de coliformes

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 1 se observa que los tratamientos presentan una carga microbiana por encima del control en T0. Analizando los tiempos posteriores se observa una reducción de la carga microbiana en todos los tratamientos. Realizando una comparación entre el inicio del experimento (T0) y el final de este (T4) teniendo 4 meses de vida de anaquel se encuentra una diferencia en todos los tratamientos y en el control se observa un aumento de UFC/g.

En cuanto a los tratamientos más efectivos para mesófilos presentando la mayor inhibición fue pulpa [40] y combinado [40]. Indicando esto un efecto inhibidor mayor al utilizar los extractos de 40 mg de polifenoles/ kg de carne. Mientras los extractos con una concentración mayor (80 mg polifenoles/kg de carne) presentan una eficacia inhibidora menor pero mayor al antioxidante sintético BHT debido a que los polifenoles juegan un papel importante en la protección contra agentes patógenos, donde pueden retrasar el crecimiento debido a que cambian las condiciones del medio y penetran la membrana celular provocando lisis esto reportado por Brul (1999).

Se puede observar en la Tabla 2 que el tratamiento con semilla [40] indica valores altos de contaminación en los primeros 3 meses del experimento con respecto al control. Esto se lo podemos atribuir a que la semilla presenta un pH de 5.9 lo que indica que es una sustancia ácida; mientras que los demás tratamientos presentan un pH superior (datos no mostrados), pudiendo esto contribuir al crecimiento de microorganismos (Sánchez *et al*., 2018).

En la Figura 2 se muestra que la mayor inhibición se obtuvo utilizando los tratamientos semilla [80], cáscara [40], cáscara [80] y combinado [40], donde utilizando concentraciones menores de 80 mg de polifenoles/kg de carne se obtiene un resultado favorable de inhibición en el crecimiento de estos microorganismos; se han reportado que las bacterias Gram-positivas son más susceptibles a los compuestos polifenólicos no polares que los microorganismos Gram-negativos (Arias *et al*., 2003) por lo que su efectividad en la inhibición se puede deber a la diferencia en las actividades de los compuestos activos en mesófilos y en coliformes sea diferente. Como respecto a salmonella no se encontró presencia de este microorganismo en ningún tratamiento, así como a lo largo de toda la fase experimental.

Los extractos de pulpa [40] y semilla [40] mostraron una actividad antioxidante muy cercana al BHT y al eritorbato bajo las condiciones experimentales, por lo que su actividad antioxidante puede ser igual a estos compuestos sintéticos. La presencia de compuestos polifenólicos, flavonoides, así como ácido ascórbico presentes en la guayaba son compuestos con propiedades antioxidantes. Del mismo modo los compuestos polifenólicos que presentan más de tres grupos hidroxilo tienen una alta actividad antimicrobiana (Manach *et al*., 2004) esto debido a que impiden la captación de iones de hierro e hidrogeno que son vitales para la síntesis de proteínas en la célula.

Conclusiones

El presente estudio aplicó diversos extractos de guayaba *in vitro* conociendo la actividad antioxidantes con el fin de ver los efectos en la actividad antimicrobiana. Se pudo observar que los extractos obtenidos de la guayaba (*Psidium guajava L*.) en sus diferentes fracciones conteniendo polifenoles poseen actividad antimicrobiana de manera notoria frente a los microorganismos estudiados en este trabajo mesófilos, coliformes y salmonella. Esta actividad se debe a una actividad sinérgica de diferentes compuestos de carácter fenólico formando compuestos que pueden inhibir la actividad de los microorganismos.

El crecimiento microbiano en la carne puede producir diversas enfermedades en el consumidor por lo tanto en este trabajo se presenta una alternativa. El utilizar los extractos de la guayaba en la elaboración de productos cárnicos a base de carne de pollo ayuda a prolongar la vida de anaquel, así como proporcionarle una mejor calidad debido a que existe una inhibición en el crecimiento microbiano, asimismo se proporciona valor agregado al alimento (guayaba) debido a todos los beneficios que presentan los antioxidantes como ingredientes funcionales.

Este trabajo abre diversas posibilidades para continuar la investigación tanto en la actividad antimicrobiana ejercida por los extractos de guayaba (contenido de compuestos de tipo fenólico u otros), como profundizar en otras características de importancia de esta fruta.

Referencias

Arias, M. E., Gonzáles, J. D., Cudmani, N. M., Vattuone, M. A. & Isla, M. I. (2003). Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of Acacia aroma, Gill ex Hook et. *Life Sciences*, 75(2), 191-202. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.12.007

Brannan, R. G. (2009). Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. *Meat Science*, 81(4), 589-595. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.10.014

Brul S. & Coote, P. (1999). Preservative agents in foods mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1-2), 1-17. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00072-0

Dinesh, D. J., Dong, U. A., Ki, C. N. & Cheroun, J. (2013). Flavour chemistry of chicken meat: A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(5), 732–742. *https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12619*

Engberg, R. M., Lauridsen, C., Jensen, S. K. & Jakobsen, K. (1996). Inclusion of oxidized vegetable oil in broiler diets. Its influence on nutrient balance and on the antioxidative status of broilers. *Poultry Science*, 75(8), 1003-1011. https://doi.org/10.3382/ps.0751003

Fasseas, M. K., Mountzouris, K. C., Tarantilis, P. A., Polissiou, M. & Zervas, G. (2008). Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chemistry*, 103(3), 1188-1194. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.060

Jia, J., Dawson, T. P., Wu, F., Han, Q. & Cui, X. (2023). Global meat demand projection: Quo Vadimus?. *Journal of Cleaner Production*, 429(1), 139460. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139460

Liu, C., Dong, S., Wang, X., Xu, H., Yang, X., Wu, S., Jiang, X., Kan, M. & Xu, C. (2023). Research progress of polyphenols in nanoformulations for antibacterial application. Materials *Today Bio*, 21, 100729. https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2023.100729

Manach, C., Scalbert, A., Morand, Ch., Rémésy, Ch. & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and biovailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747. https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727

Monrroy, A. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos polifenólicos de romero y chile ancho y su aplicación en un producto cárnico. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, México.

Sánchez, R., Igeño, M. I., Población, A., Guijo, M. I., Merchán, F. & Blasco, R. (2018). Study of pH changes in media during bacterial growth of several environmental strains. *Proceedings*, 2(20), 1297. https://doi.org/10.3390/proceedings2201297

Sebranek, J. G., Sewalt, V. J. H., Robbins, K. L. & Houser, T. A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, 69(2), 289-296. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.010

Singh, N. & Rajini, P. S. (2008). Antioxidant-mediated protective effect of potato peel extract in erythrocytes against oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 173(2), 97-104. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.03.008

Singleton, V. & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144

Skwarek, P. & Karwowska, M. (2023). Fruit and vegetable processing by-products as functional meat product ingredients -a chance to improve the nutritional value. *LWT*, 189, 115442. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115442

Vasco, C., Ruales, J. & Kama-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food chemistry*, 111(4), 816-823. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054

Williams, M. S., Ebel, E. D., Saini, G. & Nyirabahizi, E. (2020). Changes in Salmonella Contamination in Meat and Poultry Since the Introduction of the Pathogen Reduction and Hazard Analysis and Critical Control Point Rule. *Journal of Food Protection*, 83(10), 1707-1717