



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

**CALIDAD Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE
SALCHICHAS DE CERDO ADICIONADAS CON JUGO Y
CÁSCARA DE GRANADA (*Punica granatum* L.)**

Por:

Q.A. Samaria Lisdeth Gutiérrez Pacheco

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

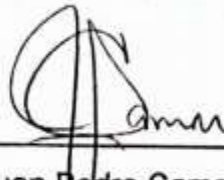
MAESTRÍA EN CIENCIAS

Hermosillo, Sonora

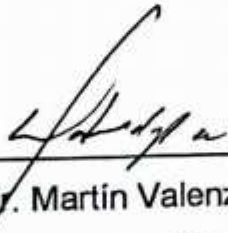
Diciembre de 2015.

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de la Q.A. Samaria Lisdeth Gutiérrez Pacheco, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



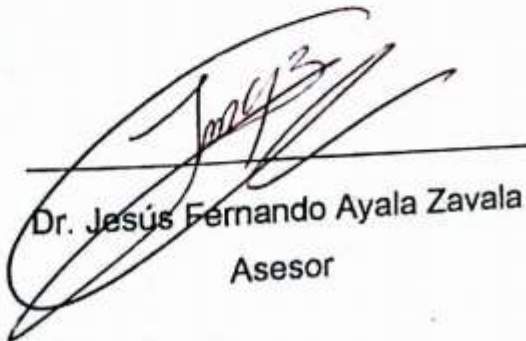
Dr. Juan Pedro Camou Arriola
Director de Tesis



Dr. Martín Valenzuela Melendres
Asesor



Dr. Humberto González Ríos
Asesor



Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala
Asesor



Dr. José Basilio Heredia
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 confines 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 Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado durante la realización de mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. por permitirme realizar mis estudios de maestría en ciencias para crecer personal y profesionalmente.

A la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal (CTAOA), por darme la oportunidad de trabajar en mi proyecto de investigación en ésta área, brindándome en todo momento su apoyo y facilitándome el uso de sus laboratorios y equipos. Muchas gracias.

Quiero agradecer a mi director de tesis el Dr. Juan Pedro Camou Arriola por su apoyo durante éstos años. Muchas gracias por los conocimientos compartidos que fueron muy valiosos, por su paciencia, amabilidad y cariño en todo momento.

De igual manera quiero agradecer al Dr. Martín Valenzuela Meléndres por toda la atención y apoyo que me brindó a mí, así como a cada estudiante que llega a su puerta. Por la sencillez que lo caracteriza, por su paciencia, cariño y por todo el conocimiento compartido que hizo de mi una mejor persona.

Quiero agradecer a los miembros de mi comité de tesis, Dr. Humberto González Ríos, Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala y Dr. José Basilio Heredia por todo el apoyo brindado durante ésta etapa. Por sus valiosos consejos y colaboración durante el desarrollo de éste trabajo. Muchas Gracias.

Quiero agradecer de manera especial al I.Q. Luis Germán Cumplido Barbeitia por todo el apoyo desde mi llegada a CIAD en el año 2011. Muchísimas gracias

por recibirme con los brazos abiertos y por su apoyo siempre en cada proyecto y meta que nos planteamos. Gracias por su amistad, por su amabilidad y cariño.

De igual manera, agradezco a los demás integrantes del grupo de Carnes, Q.B. Thalia Islava, M.C. Libertad Zamorano y Dra. Aída Peña por todo su apoyo, cariño y consejos, por recibirme con los brazos abiertos desde mis inicios en ésta área. Asimismo quiero agradecer al Dr. José Luis Dávila, por todos los consejos y conocimiento brindados que sin duda fueron muy valiosos para enriquecer éste trabajo y así como a mi formación personal y profesional. Muchas gracias.

A todos los laboratorios que me abrieron sus puertas y contribuyeron en la realización de éste trabajo: Laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Carne, Laboratorio de Tecnologías Emergentes, Laboratorio de Productos Pesqueros, Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales, Laboratorio de Cromatografía, agradeciendo el apoyo de: Q.B. Thalia Yamileth Islava Lagarda, M.C. Brenda Adriana Silva Espinoza, Dra. Susana Scheuren, M.C. María Elena Lugo Sanchez, M.C. Gisela Carvallo García, Q.B. Mónica Alejandra Villegas y al M.C. Orlando Tortoledo.

DEDICATORIA

A Dios, por llenarme de bendiciones a lo largo de mi vida, así como darme fuerzas para seguir adelante cumpliendo las metas que me propongo y nunca abandonarme en momentos de tristeza.

A mis padres, Olga y Juan José, por siempre estar conmigo en todo momento, dándome su amor y cariño. Muchas gracias por enseñarme a ser una persona de bien, a luchar por mis sueños, a cumplir las metas que me propongo y por creer en mí. Ustedes han puesto los cimientos de la persona que soy hoy en día y les estaré eternamente agradecida. Porque a pesar de las distancias, sé que estamos juntos de corazón. Esto es por ustedes, los amo demasiado!.

A mi hermano Juan José, por su cariño indirectamente demostrado. Sé que me quieres aunque lo niegues. Por hacer de nuestra infancia algo invaluable, que no cambiaría por nada. Por las risas, las bromas y por cuidarme siempre. Les agradezco a ti y a Sthefan por ese pedazo de cielo que me diste, por esa pequeña chispa de alegría e inteligencia que es mi hermosa Luna Violeta, los quiero mucho.

A toda mi familia porque siempre han estado a mi lado dándome su cariño y apoyo en toda mi vida y en todas las metas que me propongo.

A mis amigas que tanto quiero, Anna Judith, Ana Karen, Andrea y Rocio. Por las alegrías y por algo tan valioso como su amistad. Porque aunque algunas no nos veamos seguido, la amistad perdura y siempre pasamos buenos momentos. Por sus consejos tan valiosos, por apoyarme y regañarme en mis decisiones tanto académicas como amorosas jaja, las amo!.

A mis amigos de Obregón y mis amigos de la Uni. Por su cariño siempre y por su amistad. Por los momentos de pláticas, risas y hasta bullying.

A mis amigos y compañeros del grupo de carnes: Julio, José Luis, Edgares (Valle y Peña), Julio Camarón y Aarón. Gracias por los buenos momentos en el cubo, por su cariño, consejos y apoyo en todo momento.

A mis amigos del Laboratorio de Tecnologías Emergentes: Thaly, Melvin, Pancho, Julián, Brenda, Reynaldo, Doc. Fer y al adoptado del Guten tag Ramón. Por recibirme con los brazos abiertos, darme su cariño y hacerme sentir parte de su grupo. De manera especial a mi cuñado Luis de muchacho, por todos sus consejos que valoro mucho, sus ánimos en todo momento, por su amabilidad, cariño y sencillez.

Por último pero no menos importante quiero dedicar éste trabajo a una persona que amo demasiado, mi hermana Melissa. Gracias por estar conmigo siempre, no hay nadie que me conozca ni que yo conozca como tú. Gracias por acompañarme e ir siempre de la mano apoyándonos en todas nuestras metas. Gracias por cuidarme y darme tu cariño. Porque tu me das la fuerza y coraje para salir adelante en momentos de debilidad y tristeza. Por tu amor, por creer en mí y por las sonrisas que me sacas a cada momento. Doy gracias a dios por tenerte en mi vida, te amo.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE CUADROS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
Carne y Productos Cárnicos	3
Composición Química	3
Valor Nutricional	3
Ingredientes No-Cárnicos para el Desarrollo de Productos Cárnicos Saludables y su Influencia en los Parámetros de Calidad	6
Granada (<i>Punica granatum</i> L.) como Potencial Fuente de Antioxidantes en Productos Cárnicos.....	11
HIPÓTESIS	15
OBJETIVO GENERAL	16
Objetivos Específicos.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Etapa I: Caracterización de Jugo y Cáscara de Granada	17
Materia Prima	17
Obtención de Extractos	17
Determinación del Contenido de Fenoles Totales	18
Identificación y Cuantificación de Compuestos Fenólicos	18
Inhibición de Radical DPPH'	19
Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC)	19
Poder Antioxidante Reductor de Hierro (FRAP)	20
Etapa II: Aplicación de Jugo y Cáscara de Granada en un Producto Cárnico Procesado.....	20
Formulación y Elaboración de Salchichas	20

CONTENIDO (Continuación)

Análisis de Perfil de Textura	22
Esfuerzo al Corte	23
Medición de Color	23
Medición de Potencial de Hidrógeno	23
Cuenta total de Psicrófilos Aerobios	23
Diseño Experimental y Análisis Estadístico	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
Etapa I: Caracterización de Jugo y Cáscara de Granada	26
Contenido de Fenoles Totales	26
Identificación y Cuantificación de Compuestos Fenólicos	31
Etapa II: Aplicación de Jugo y Cáscara de Granada en un Producto Cárnico Procesado y su Efecto en el Contenido Fenólico y Capacidad Antioxidante	35
Contenido de Fenoles Totales	35
Capacidad Antioxidante	38
Identificación y Cuantificación de Compuestos Fenólicos	40
Etapa III: Efecto de Jugo y Cáscara de Granada Sobre la Calidad Físicoquímica, Sensorial, Microbiológica, Contenido de Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante Durante Almacenamiento en Refrigeración	44
Contenido de Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante	44
Estudio de Vida de Anaquel	50
CONCLUSIONES	62
RECOMENDACIONES	63
REFERENCIAS	64

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Mecanismo de acción de antioxidantes	9
2. Partes anatómicas de la granada	12
3. Cromatogramas correspondientes a JG 270 nm (A), JG 520 nm (A*), CL 270 nm (B) y CD 270 nm (C)	32
4. Cromatograma correspondiente a CDT a 270 nm.	34
5. Contenido de fenoles totales en los tratamientos evaluados antes y después del tratamiento térmico a 72 °C.....	37
6. Inhibición de radical DPPH [•] de los tratamientos evaluados antes y después de tratamiento térmico a 72 °C.....	39
7. Cromatogramas correspondientes a A) Emulsión C1, B) C1, C) Emulsión C2, D) C2 a 270 nm.....	41
8. Cromatogramas correspondientes a hidrolizados de pellet de C1 (A) y C2 (B) a 270 nm.....	43
9. Contenido de fenoles en salchichas almacenadas durante 35 días a 4 °C	45
10. Inhibición de radical DPPH [•] de los tratamientos almacenados durante 35 días a 4 °C.....	46
11. Capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) de los tratamientos almacenados durante 35 días a 4 °C.....	48
12. Poder antioxidante reductor de hierro de los tratamientos almacenados durante 35 días a 4 °C.....	49
13. Efecto de tratamientos (CO, J1, J2, C1 y C2) sobre L^* (A), a^* (B) y b^* (C) de salchichas de cerdo en almacenamiento a 4 °C.....	51
14. Efecto de tratamientos (CO, J1, J2, C1 y C2) sobre el pH de salchichas de cerdo en almacenamiento a 4 °C.....	53
15. Efecto de tratamientos (CO, J1, J2, C1 y C2) sobre la a_w de salchichas de cerdo en almacenamiento a 4 °C.....	55
16. Microorganismos psicrófilos aerobios en salchichas de cerdo durante 35 días de almacenamiento a 4 °C.....	60

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Compuestos bioactivos como ingredientes funcionales en productos cárnicos	7
2. Composición porcentual de ingredientes y aditivos de la formulación para cada tratamiento experimental.....	21
3. Contenido de fenoles totales y taninos hidrolizables en JG, CL y CD.....	27
4. Capacidad antioxidante para jugo, cáscara y taninos hidrolizables de granada.....	30
5. Contenido de compuestos fenólicos en JG, CL y CD.	33
6. Contenido de compuestos fenólicos en C1 y C2 antes y después del tratamiento térmico	42
7. Análisis de perfil de textura (APT) y esfuerzo al corte (EC) de salchichas de cerdo durante el tiempo de almacenamiento.	56
8. Análisis sensorial de salchichas de cerdo durante el tiempo de almacenamiento.	58

RESUMEN

El creciente interés sobre la dieta y su relación con la salud por parte de la población conduce a la industria cárnica a la búsqueda de alternativas para la producción de alimentos más saludables mediante la incorporación de ingredientes ricos en compuestos bioactivos. El fruto de granada (*Punica granatum L.*) representa una alternativa para ser utilizado en productos cárnicos por su contenido fenólico. No obstante, durante el procesamiento, sus compuestos pueden ser susceptibles a cambios que afecten su estabilidad y actividad antioxidante por lo que es de relevancia su evaluación después del tratamiento térmico y vida de anaquel del producto. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de jugo y cáscara de granada en la calidad y actividad antioxidante de salchichas de cerdo durante el almacenamiento en refrigeración a 4 °C. Se establecieron 5 tratamientos con la incorporación de 1 y 2% de jugo o cáscara de granada y un tratamiento control (CO, J1, J2, C1 y C2). La incorporación de jugo y cáscara de granada aumentó el contenido de fenoles totales en las emulsiones cárnicas. Sin embargo, después del tratamiento térmico los tratamientos J1 y J2 presentaron una disminución del contenido de fenoles. La capacidad antioxidante fue mayor para C2 respecto a los demás tratamientos ($P < 0.05$) y ésta no presentó variación durante el tiempo de almacenamiento. Por otra parte, se identificaron y cuantificaron ácido elágico, punicalaginas α y β , ácido gálico y rutina. Asimismo, se evaluaron los residuos de extracción comprobando la presencia de compuestos asociados a la fibra, principalmente ácido elágico procedente de taninos hidrolizables. En cuanto a la vida de anaquel, en la mayoría de las variables evaluadas no se presentaron diferencias entre tratamientos CO, J1 y J2 ($P > 0.05$), a diferencia de C1 y C2 que afectaron los parámetros de calidad,

sin embargo fueron más efectivos para inhibir el crecimiento microbiano durante vida de anaquel. Los resultados obtenidos nos indican que la incorporación de cáscara de granada a concentraciones adecuadas puede aumentar la capacidad antioxidante y la connotación saludable en productos cárnicos emulsionados sin afectar las características de calidad.

Palabras clave: Embutidos, antioxidantes, calidad, alimento funcional, HPLC

ABSTRACT

The growing interest of the population about diet and its relation to health has led the meat industry to search for alternatives for the production of healthier foods by incorporating ingredients rich in bioactive compounds. Pomegranate fruit (*Punica granatum* L.) is an alternative to be used in meat products by their phenolic content. However, during processing, their compounds may be susceptible to changes affecting their stability and antioxidant activity so that its assessment is relevant after heat treatment and during storage. In this context, the objective of this study was to evaluate the effect of pomegranate juice and peel addition in the quality and antioxidant activity of pork sausages refrigerated at 4 °C. Five treatments with the addition of 1 and 2% of juice or peel of pomegranate and one control treatment (CO, J1, J2, P1 and P2) were established. The pomegranate juice and peel incorporation increased the total phenolic content in meat emulsions. However, after heat treatment, J1 and J2 treatments presented a decrease of total phenolic content. The antioxidant capacity was higher for P2 compared to other treatments ($P < 0.05$) and this did not change during storage time. Moreover, ellagic acid, α and β punicalagins, gallic acid and rutin were identified and quantified. Also, the extraction residues were evaluated by checking presence of phenolic compounds associated with fiber, mainly ellagic acid from hydrolysable tannins. With regard of shelf life, most of the evaluated variables showed no significant differences between CO, J1 and J2 ($P > 0.05$) treatments; however, P1 and P2 affected quality parameters, but were more effective to inhibit microbial growth during shelf life. The obtained results indicate that pomegranate peel incorporation at adequate concentrations can increase antioxidant capacity and add a healthy connotation to emulsified meat products without affecting the quality characteristics.

Keywords: Sausages, antioxidants, quality, functional food, HPLC

INTRODUCCIÓN

La carne y productos cárnicos son alimentos de gran valor en la dieta humana debido a su alto contenido de proteínas ricas en aminoácidos esenciales, así como vitaminas del complejo B, lípidos y minerales (Hui y col., 2007; Olmedilla-Alonso y col., 2013). Sin embargo, el posible contenido elevado de grasa conlleva al rechazo por parte de la población al ser asociada como causantes de enfermedades cardiovasculares y obesidad (McAfee y col., 2010). En este contexto, una alternativa para la industria cárnica es el desarrollo de productos más saludables, con perfiles nutricionales mejorados. La carne y productos cárnicos, principalmente productos emulsionados, pueden potencialmente fungir como un vehículo para la incorporación de nutrientes como ácidos grasos poliinsaturados, minerales, fibra, antioxidantes, péptidos bioactivos, entre otros (Decker y Park, 2010).

Una opción prometedora para el desarrollo de productos cárnicos más saludables es el uso de material vegetal debido a su composición rica en compuestos bioactivos, a los cuales se les ha atribuido su capacidad antioxidante. En este sentido, la granada es un fruto con potencial antioxidante por su perfil de compuestos que se encuentran en distintas partes del fruto, siendo los de mayor importancia compuestos como punicalaginas, antocianinas, ácido elágico, ácido gálico, entre otros (Caliskan y Bayazit, 2012). Debido a su actividad antioxidante ha sido empleada en productos cárnicos frescos o mínimamente procesados.

Se ha reportado el efecto de su incorporación en pechuga de pollo (Vaithiyanathan y col., 2011b), hamburguesas de carne de cabra

(Devatkal y col., 2010) y pollo (Naveena y col., 2008), carne molida de cabra y cerdo (Qin y col., 2013) así como, albóndigas de res y pollo (Keşkekoğlu y Üren, 2014). Los resultados concuerdan en la disminución de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) por el potencial antioxidante atribuido a los compuestos bioactivos presentes en granada. No obstante, es necesaria la evaluación de sus efectos y estabilidad en un producto procesado, con una matriz compleja que sea sometida a tratamiento térmico más prolongado.

Por otra parte, cabe señalar que los compuestos bioactivos durante la elaboración de productos cárnicos, pueden ser susceptibles a cambios que afecten su estabilidad y biodisponibilidad, por lo que es de relevancia su evaluación antes y después del procesamiento térmico y durante su vida de anaquel. En este contexto, el objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la incorporación de jugo y cáscara de granada en la calidad y capacidad antioxidante de salchichas de cerdo durante el almacenamiento en refrigeración.

ANTECEDENTES

Carne y Productos Cárnicos

Debido a su composición, la carne y productos cárnicos representan una fuente importante de un amplio rango de nutrientes que son esenciales para el crecimiento y desarrollo óptimo (Jiménez-Colmenero y col., 2012). Sin embargo, su consumo elevado ha sido ampliamente relacionado con la promoción de enfermedades asociadas con problemas cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer y obesidad. Es por ello que estos alimentos juegan un papel crítico en la dieta humana (Toldra y Reig, 2011).

Composición Química

El músculo cárnico está constituido por agua (65-80%), proteínas (16-22%), lípidos (1-13%), carbohidratos (0.5-1.5%), sustancias nitrogenadas no proteicas (1-2%) y otras sustancias no proteicas (0.5-1%) (U.S. Department of Agriculture, 2010). De igual manera, contiene compuestos como glucógeno, ATP y mioglobina, así como compuestos bioactivos como ácido linoleico conjugado, carnosina, anserina, L-carnitina, glutatión, taurina, coenzima Q10 y creatina que han sido estudiados por sus efectos a la salud (Arihara y Ohata, 2008; Hui, 2006).

Valor Nutricional

Desde el punto de vista nutricional, la carne y productos cárnicos son generalmente reconocidos como alimentos de gran importancia en la dieta

diaria. Por su perfil de aminoácidos esenciales se han considerado como una buena fuente de proteínas de alto valor biológico que pueden satisfacer necesidades fisiológicas humanas (Olmedilla-Alonso y col., 2013). Respecto a su contenido de ácidos grasos saturados, contiene ácidos mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0). Mientras que su contenido de ácidos grasos insaturados y poliinsaturados comprende ácidos palmitoleico (C16:1), oleico (C18:1), linoléico (C18:2), linolénico (C18:3), araquidónico (C20:4) y eicosapentanoico (C20:5) (Wood y col., 2008). Su contenido de micronutrientes incluye cantidades significativas de minerales como hierro, zinc, fósforo, selenio, magnesio y cobalto. Asimismo, vitaminas pertenecientes al grupo B, niacina y ácido pantoténico (Hui y col., 2007).

Debido a la elevada demanda y consumo de productos cárnicos por parte de los consumidores, gran parte de la producción de carne a nivel mundial se destina a su procesamiento que comprende la fabricación de productos de carne de músculo, grasa animal y determinados aditivos no-cárnicos utilizados para mejorar la apariencia y sabor. En Estados Unidos, aproximadamente el 20% de la producción de carne de cerdo es consumida como embutidos (National Pork Board, 2010). El procesamiento de estos productos brinda un valor agregado exhibiendo características de sabor, color y textura, diferentes de la carne fresca (FAO, 2007).

Uno de los embutidos de mayor consumo por parte de la población son las salchichas, las cuales son definidas por la norma mexicana NMX-F-065-1984 como "Producto alimenticio embutido de pasta semifirme de color característico, elaborado con la mezcla de carne de ternera o res y cerdo y grasas de las especies antes mencionadas, adicionando condimentos, especias y aditivos para alimentos". En México, según datos reportados por el Consejo Mexicano de la Carne la producción de salchichas se ha incrementado cada año, obteniéndose alrededor de 402 000 toneladas en el año 2009. De la

producción total de embutidos y otros productos procesados, las salchichas representan el principal producto con un 48% del consumo.

La norma mexicana para la elaboración de salchichas permite como límite mínimo un contenido de 9.5% de proteína y niveles máximos de 30 y 70% de grasa y humedad, respectivamente. Sin embargo, por el posible contenido elevado de grasas en la formulación, los productos cárnicos han tenido una percepción negativa por parte de la población. En este contexto, es necesaria la investigación e implementación de estrategias para el desarrollo de productos cárnicos más saludables.

Importancia del Desarrollo de Productos Cárnicos Funcionales

Durante los últimos años se han producido importantes cambios en los hábitos alimentarios por las crecientes evidencias científicas que fundamentan cómo a través de la dieta se pueden modular algunas funciones fisiológicas que conllevan al mejoramiento de la salud (Jiménez-Colmenero y Olmedilla-Alonso, 2014). Dichas evidencias han marcado una pauta para el desarrollo de productos con propiedades funcionales. El término “funcional” surge de la idea del uso de alimentos en promoción de la salud más allá de la nutrición, siendo esto un enfoque de gran importancia para la industria cárnica (Grasso y col., 2014).

Si bien, aunque la carne y sus productos son considerados alimentos de gran valor nutricional, al igual que con cualquier otro alimento, la ingesta inadecuada junto otros factores de riesgo conlleva a la presencia de efectos negativos a la salud. Estudios epidemiológicos han reportado que un consumo elevado de carne y productos cárnicos han sido asociados con presentar un riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Kontogianni y col., 2007; McAfee y col., 2010) obesidad (Wang y Beydoun, 2009), diabetes tipo 2 y ciertos tipos de cáncer (Alexander y col., 2011; Aune y col., 2013) por su alto

contenido de ácidos grasos saturados y colesterol (Fernández-Ginés y col., 2005). Por lo tanto, la incorporación de ingredientes con efectos en promoción de la salud o bien la eliminación de compuestos que representen un riesgo a la salud humana son algunas de las estrategias en el desarrollo de productos cárnicos funcionales. Asimismo, la versatilidad de estos alimentos y la posibilidad de la reformulación los hace adecuados para la incorporación de compuestos bioactivos sin cambiar los hábitos alimentarios (Jiménez-Colmenero y Olmedilla-Alonso, 2014).

Ingredientes No-Cárnicos para el Desarrollo de Productos Cárnicos Saludables y su Influencia en los Parámetros de Calidad

Durante los últimos años, las personas han mostrado un mayor interés en alimentos que contengan componentes bioactivos o funcionales que puedan brindar beneficios a la salud (Cofrades y col., 2008). Sin embargo, al incorporar nuevos ingredientes deben considerarse factores como el nivel de ingesta del compuesto bioactivo, eficacia biológica en seres humanos, estabilidad en el alimento y el impacto en las características de calidad (Decker y Park, 2010). En el Cuadro 1 se muestran algunos de los compuestos bioactivos utilizados como ingredientes funcionales en productos cárnicos (Zhang y col., 2010).

Varios autores han evaluado el efecto de la adición de ingredientes no-tradicionales en las características de calidad de productos cárnicos, ya que los compuestos ajenos a la emulsión pueden afectarla positiva o negativamente (Jung y Joo, 2013; Savadkoohi y col., 2014). Durante el procesamiento y almacenamiento de estos alimentos, intervienen aspectos que pueden modificar su composición. En dichas etapas pueden suceder cambios ya sea incrementando la densidad de ciertos nutrientes o la pérdida de otros. El procesamiento y las prácticas de almacenamiento pueden tener un impacto en

Cuadro 1. Compuestos bioactivos como ingredientes funcionales en productos cárnicos.

Vitaminas y minerales esenciales	Nutrientes no esenciales
Vitamina A	Ácidos grasos de cadena larga omega-3
Vitamina C	Fibra dietética
Vitamina E	Ácido linoleico conjugado
Hierro	Péptidos bioactivos
Potasio	Bacterias probióticas
Magnesio	Antioxidantes
Calcio	Prebióticos

Fuente: Decker y Park (2010)

la biodisponibilidad de algunos compuestos bioactivos (Jiménez-Colmenero, 2007). Por lo tanto, al ser sometidos a tratamientos térmicos la carne y sus productos pueden presentar cambios en sus características físicas y químicas conduciendo al desarrollo de radicales libres.

Material Vegetal como Fuente de Antioxidantes Naturales

Una de las estrategias para el desarrollo de productos cárnicos más saludables involucra la adición de tejidos vegetales o extractos con el fin de aumentar su capacidad antioxidante. Los principales compuestos responsables de la actividad antioxidante en plantas son polifenoles, flavonoides, diterpenos fenólicos, entre otros. Estos compuestos se derivan de procesos metabólicos de las plantas y se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Babbar y col., 2012). Su actividad antioxidante es atribuida a la capacidad para donar átomos de hidrógeno y estabilizar electrones deslocalizados actuando como agentes reductores (Brewer, 2011) (Figura 1).

El uso de material vegetal como fuente de antioxidantes se ha evaluado por algunos autores como Chinprahast y col. (2012) quienes adicionaron hoja de romero en hamburguesas de carne de cerdo aumentando la estabilidad oxidativa. Asimismo, reportaron una disminución en la cuenta microbiológica y características de calidad sin alteración. Por otro lado, Reddy y col. (2013) evaluaron el efecto de la adición de extracto de semilla de uva en rebanadas de carne de cordero. Estos autores reportaron valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) más bajos en comparación al control (sin extracto) y un tratamiento con BHA (0.01%). Asimismo, el extracto de semilla de uva redujo las cuentas totales de microorganismos psicrófilos y coliformes y no afectó negativamente los atributos sensoriales. De igual manera,

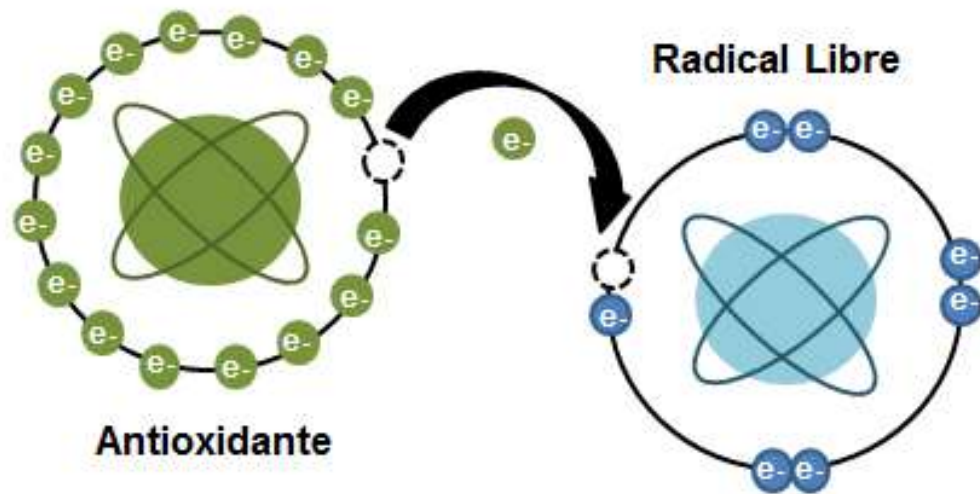


Figura 1. Mecanismo de acción de antioxidantes.

Özvural y Vural (2011) reportaron una disminución en la oxidación de salchichas conforme se aumentaba la concentración de harina de semilla de uva. Sin embargo, encontraron que al aumentar la concentración de harina, los valores de color $L^* a^* b^*$ se veían afectados.

Por su parte, Pham y col. (2014) reportaron un efecto antioxidante de la combinación de extracto de té verde y extracto de romero en embutidos de cerdo. Asimismo, Jayathilakan y col. (2007) mostraron que la adición de canela y clavo molidos fueron efectivos inhibiendo la formación de TBARS en carne molida (cruda y cocinada) de varias especies animales (res, cerdo y cordero). Es de importancia señalar que aunque no se evaluó la capacidad antioxidante del tejido vegetal *per se* en los productos cárnicos su efecto antioxidante es comprobado por la disminución de la formación de productos de la oxidación de lípidos. Los efectos antioxidantes se atribuyen a la composición de los extractos o tejidos vegetales que presentan compuestos como catequinas, terpenos, fenoles, entre otros.

El uso de antioxidantes de origen natural además de aumentar la estabilidad oxidativa de lípidos en alimentos cárnicos también puede mostrar actividad antioxidante en el cuerpo una vez ingeridos. Esto conlleva a la reducción del riesgo de padecer varias enfermedades relacionadas con la presencia de radicales libres (Hayes y col., 2010). Por lo tanto, la adición de compuestos antioxidantes presentes en tejidos vegetales puede conferir a los productos cárnicos características potencialmente funcionales.

Granada (*Punica granatum* L.) como Potencial Fuente de Antioxidantes en Productos Cárnicos

La granada (*Punica granatum* L.) es una fruta antigua que ha sido ampliamente consumida en diversas culturas por miles de años (Yildiz y col., 2014). Éste fruto proviene de la familia *Punicaceae* y es nativa del área desde Irán a los Himalayas en el norte de la India (Meerts y col., 2009). Se ha utilizado en medicina popular por sus efectos terapéuticos eliminando parásitos, en el tratamiento de úlceras, diarrea, acidosis, disentería, hemorragias, infecciones microbianas y patologías respiratorias (Larrosa y col., 2010; Lee y col., 2010). Estos efectos se han atribuido a su composición química con cantidades sustanciales de compuestos fenólicos como taninos hidrolizables y flavonoides presentes en piel y jugo. Estos compuestos representan cerca del 92% de la actividad antioxidante total asociada con la fruta (Afaq y col., 2005; Zahin y col., 2010). Los compuestos fenólicos pueden estar presentes en diferentes partes anatómicas del fruto como piel, semillas y arilos (Viuda-Martos y col., 2010). La corteza y membranas carpelares representan alrededor del 50% del peso total, mientras que el porcentaje restante es representado por la parte comestible, comprendiendo un 80% la parte carnosa y un 20% semilla (Figura 2).

El jugo de granada es rico en antocianinas, ácido elágico, ácido gálico, taninos, ácido ferúlico y quercetina (Gil y col., 2000). Estos polifenoles exhiben varias actividades biológicas como eliminación de radicales libres, inhibición de la oxidación y crecimiento microbiano. Asimismo, disminuyen el riesgo de enfermedades cardio y cerebrovasculares y algunos tipos de cáncer (Caliskan y Bayazit, 2012). Cabe mencionar que durante el proceso para la producción de jugo se generan subproductos que no son aprovechados como bagazo y cáscara los cuales poseen cantidades significativas de compuestos bioactivos. Algunos de los compuestos identificados en cáscara de granada han sido taninos (punicalagina, punicalina), ácido gálico, ácido elágico, quercetina, rutina, ácido clorogénico y antocianinas (Middha y col., 2013; Qu y col., 2012).



Figura 2. Partes anatómicas de la granada.

Fuente: ("Granatum Plus," 2014)

Para esta porción de la cosecha que no es aprovechable para el consumo en fresco, es necesario buscar una alternativa comercial en forma de uso industrial como la incorporación en productos cárnicos.

Algunos autores han evaluado el efecto de jugo, cáscara y/o semilla de granada en productos cárnicos con diferentes objetivos. Se ha reportado por Vaithiyathan y col. (2011b) el efecto de la inmersión de pechuga de pollo en una solución al 0.02% de extracto de jugo de granada, en donde se observaron reducciones de las cuentas microbianas y en valores de TBARS. Asimismo, la aceptación sensorial permaneció hasta los 12 días de almacenamiento a 4 °C. Por su parte, Devatkal y col. (2010) reportaron un aumento en el contenido de fenoles totales de 570-1200 µg/g de hamburguesas cocinadas de carne de cabra por la incorporación de 10 mL de extracto de cáscara de granada. Asimismo, la capacidad antioxidante de dichos compuestos se relacionó con la disminución de la oxidación lipídica. En cuanto a las características sensoriales, éstas no fueron afectadas por el tratamiento aplicado.

Por otro lado, Naveena y col. (2008) observaron una disminución en la oxidación lipídica de hamburguesas cocinadas de pollo adicionadas con extractos de jugo y cáscara de granada a una concentración de 10 mg equivalentes de ácido tánico (mg EAT/g). Dichos autores reportaron reducciones de 1.272 a 0.763 y 0.203 mg MDA/kg y aumentos en el contenido de fenoles de 152 a 195 y 224 mg EAT/g en los tratamientos control y los adicionados con jugo y cáscara, respectivamente. Los parámetros sensoriales no fueron afectados por la incorporación de los extractos; sin embargo si se observaron disminuciones en los valores de pH, luminosidad y tonalidad roja. Resultados similares fueron reportados por Qin y col. (2013) en carne molida de cerdo adicionada con semilla, jugo y cáscara de granada.

Los resultados mencionados anteriormente concuerdan en la disminución de los valores de TBARS por el potencial antioxidante atribuido a los

compuestos bioactivos presentes en granada. No obstante, es necesaria la evaluación de sus efectos y estabilidad en un producto procesado, con una matriz compleja que sea sometida a tratamiento térmico más prolongado.

HIPÓTESIS

La adición de jugo y cáscara de granada mejora la calidad y aumenta la capacidad antioxidante de salchichas de cerdo durante su procesamiento y almacenamiento en refrigeración a 4 °C.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la adición de jugo y cáscara de granada sobre la calidad y capacidad antioxidante de salchichas de cerdo almacenadas en refrigeración a 4 °C.

Objetivos Específicos

Determinar el contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante y perfil de compuestos fenólicos de jugo y cáscara de granada.

Determinar el contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante y perfil de compuestos fenólicos presentes en salchichas de cerdo antes y después de tratamiento térmico.

Evaluar el efecto de la adición de jugo y cáscara de granada sobre el contenido fenólico, capacidad antioxidante y características de calidad sensorial y microbiológica durante la vida de anaquel de salchichas de cerdo durante el tiempo de almacenamiento a 4 °C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Etapa I: Caracterización de Jugo y Cáscara de Granada

Materia Prima

Se adquirieron frutos de granada cv. Wonderful en un comercio local de Hermosillo, Sonora. Los frutos fueron seleccionados en base a sus características morfológicas y sin presencia de daño físico. Posteriormente fueron lavados y desinfectados para proceder a separar manualmente los arilos y cáscara. El jugo de granada fue obtenido de los arilos prensados, congelado a -80°C y liofilizado con un equipo LABCONCO FreezeOne6 (-50°C , 5×10^{-3} mBar). Por otro lado, la cáscara de granada fue secada en un secador Enviro-Pak (modelo Micro-Pak, series MP500) a 30°C por 72 h y triturada en un molino de cocina. Las muestras obtenidas fueron empacadas al vacío en bolsas laminadas hasta su análisis posterior.

Obtención de Extractos

Los extractos fueron obtenidos de acuerdo a la metodología propuesta por Palafox-Carlos y col. (2012), con algunas modificaciones. Se homogeneizó 1 g de muestra con 10 mL de una mezcla de metanol-agua (80:20 v/v) acidificado (ácido fórmico 2%) y posteriormente sometido a un baño con ultrasonido (Bransonic 2510, EUA) por 30 min. La muestra se centrifugó a 14000 rpm a 4°C y el sobrenadante obtenido fue filtrado a través de un papel Whatman No. 1. El residuo fue extraído nuevamente bajo las mismas condiciones. Se mezclaron los filtrados y se almacenaron a -30°C hasta posterior análisis.

Asimismo, se llevó a cabo una extracción de taninos hidrolizables (Hartzfeld y col., 2002) para la determinación de la concentración y capacidad antioxidante asociada a los residuos de extracción (pellet). Para ello, se hizo reaccionar el residuo con 20 mL de metanol y 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. Las muestras se colocaron en un baño de agua a 85 °C por 20 h con agitación constante para posteriormente centrifugarse a 15000 rpm por 15 min. a 4 °C. Los sobrenadantes fueron colectados y sometidos a dos lavados con 10 mL de agua bidestilada y se centrifugaron bajo las mismas condiciones. Al final, se mezclaron los sobrenadantes en un matraz volumétrico y se llevaron a un volumen de 50 mL. A los extractos obtenidos se les determinó la concentración de taninos hidrolizables y fueron expresados como monómeros de ácidos fenólicos por el método establecido por Singleton y Rossi (1965).

Determinación del Contenido de Fenoles Totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método descrito por Singleton y Rossi (1965) con algunas modificaciones. Se mezclaron en una microplaca 30 µL de los extractos con 150 µL del reactivo Folin-Ciocalteu diluido 1:10 con agua destilada. Se dejó reposar y se agregaron 120 µL de Na₂CO₃ (7.5%) para posteriormente dejar en oscuridad por 30 min. Subsecuentemente, las muestras fueron leídas 765 nm en un lector de microplacas FLUOstar Omega (BMG, Labtech, Durham, EUA). La concentración de fenoles totales se calculó utilizando una curva estándar de ácido gálico y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de peso seco (ps).

Identificación y Cuantificación de Compuestos Fenólicos

La identificación de compuestos fenólicos se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución usando un detector de arreglo de diodos HPLC-DAD (1220 Infinity Systems, Agilent Technologies). Se utilizó una columna Zorbax

Eclipse Plus C18 fase reversa de 150 x 4.6 mm con un tamaño de partícula de 5 μm . La identificación de compuestos se realizó utilizando un sistema bifásico de 2% de ácido acético en agua (A) y 0.5% de ácido acético en metanol-agua (90:10) (B). Se utilizó un gradiente de elución de 0-2% B (13 min), 2-5% B (5 min), 5-10% B (5 min), 10-25% B (20 min), 25-50% B (10 min), 50-100% B (5 min), 100% B (5 min), 100-0% B (3 min), 0% B (5 min). Las lecturas fueron leídas a 270, 320 y 520 nm. El volumen de inyección y flujo fue de 15 μL y 0.4 mL/min, respectivamente. La cuantificación de los compuestos fenólicos se realizó comparando las áreas bajo la curva con estándares comerciales.

Inhibición de Radical DPPH'

La determinación de la capacidad de los antioxidantes de inhibir el radical estable DPPH' se realizó de acuerdo a Brand-Williams y col. (1995). Se preparó una solución de 0.0634 mM de DPPH' en metanol y se mezclaron 280 μL de la misma con 20 μL de cada extracto para llevar a cabo la reacción. Se dejó reposar la mezcla por 30 min. en oscuridad y se leyeron absorbancias a 518 nm en un lector de microplacas. Los resultados se calcularon utilizando una curva estándar de Trolox y fueron expresados como mg equivalentes Trolox (ET)/g ps.

Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC)

La determinación de la habilidad de los antioxidantes de inhibir el radical ABTS^{•+} (ácido 2,2-azinobis-[3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico) se realizó de acuerdo a la metodología de Re y col. (1999). Se formó el radical adicionando 88 μL de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (0.139 mM) en 5 mL de ABTS^{•+} (7 mM) dejando reposar por 16 h en oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, se ajustó la absorbancia a 0.7 ± 0.02 diluyendo en etanol y 295 μL del mismo fueron mezclados con 5 μL de muestra en una microplaca. Se monitoreó la absorbancia al minuto 1 y 6 después de mezclarlas a 734 nm. Los resultados

fueron calculados utilizando una curva estándar de Trolox y se expresaron como mg ET/g ps.

Poder Antioxidante Reductor de Hierro (FRAP)

El FRAP se determinó de acuerdo con Benzie y Strain (1996) con algunas modificaciones. El método se basa en la capacidad de la muestra para reducir los iones Fe^{3+} a Fe^{2+} . En presencia de TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) el complejo Fe^{2+} -TPTZ presenta color azul a 630 nm. Se preparó el reactivo FRAP con 5 mL de tampón de acetato de sodio a 300 mM (pH 3.6), 0.5 mL de TPTZ a 10 mM en HCl (40 mM) y 0.5 mL de $FeCl_3 \cdot H_2O$ 20 mM. Después, 280 μ L de reactivo FRAP se añadieron a 20 μ L del extracto dejando reposar por 30 min en oscuridad. Posteriormente, se midió la absorbancia a 630 nm en un lector de microplacas. Los resultados se expresaron como μ moles ET/g ps.

Etapas II: Aplicación de Jugo y Cáscara de Granada en un Producto Cárnico Procesado

Formulación y Elaboración de Salchichas

Para la elaboración de las salchichas se estableció primeramente la formulación en base a estudios preliminares. Se formó una emulsión cárnica a base de carne de pierna de cerdo, sal, fosfatos, eritorbato de sodio, sal cura y condimento comercial. Se establecieron 5 tratamientos (Cuadro 2) comprendiendo la adición de polvo de jugo y cáscara de granada a un nivel alto y bajo. La carne se redujo a un mínimo tamaño de partícula en un cutter (Kilia CO., Kiel, Alemania) y se incorporaron los aditivos antes mencionados manteniendo la temperatura de la emulsión menor a 10 °C. Seguidamente se aplicó vacío al final del proceso y la pasta obtenida fue embutida en

Cuadro 2. Composición porcentual de ingredientes y aditivos de la formulación para cada tratamiento experimental

Ingredientes	Formulación %				
	CO	J1	J2	C1	C2
	0%	1%	2%	1%	2%
Carne pierna	55.22	54.22	53.22	54.22	53.22
Grasa	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Agua hielo	19.80	19.80	19.80	19.80	19.80
Fosfato	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
Sal	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
Condimento	1.19	1.19	1.19	1.19	1.19
Fécula	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40
Carragenina	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Eritorbato	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
Humo líquido	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Nitrito	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
JG	0.00	1.00	2.00	0.00	0.00
CD	0.00	0.00	0.00	1.00	2.00

CO: salchicha control, J1: salchicha con jugo 1%, J2: salchicha con jugo 2%, C1: salchicha con cáscara 1%, C2: salchicha con cáscara 2%, JG: jugo de granada, CD: cáscara deshidratada.

fundas de celulosa de 2 cm de diámetro con una embutidora (Omet ICS60-B, Siena, Italia). Las salchichas fueron sometidas a un tratamiento térmico de 3 etapas de temperatura de 150-180°F hasta una temperatura interna de 160°F en un horno (Enviro-Pak Mp 1000, Oregón, EUA) y posteriormente, fueron almacenadas a 4 °C para posteriores análisis y vida de anaquel.

Las determinaciones de fenoles totales, identificación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en las salchichas de cerdo se realizaron mediante las metodologías descritas anteriormente.

Etapa III. Vida de Anaquel y Parámetros de Calidad

Análisis de Perfil de Textura

El análisis de perfil de textura es un análisis que consiste en comprimir un alimento sobre dos superficies planas con el fin de imitar la acción de la mandíbula humana. Las características de fuerza, dureza, cohesividad y masticabilidad fueron medidas utilizando un texturómetro Texture Analyzer (modelo TAXT2, Scarsdale, N.Y., USA). Se tomaron muestras de salchicha de 2 cm de diámetro y 2.5 cm de altura utilizando un cortador tubular. Se realizaron 5 repeticiones por tratamiento aplicando una doble compresión al 75% de deformación con un tiempo de espera de 5 s entre compresiones. Las condiciones se establecieron a una velocidad de cabezal de 2 mm/s y un desplazamiento de 30 mm. Los resultados fueron obtenidos de la curva de fuerza vs tiempo y expresados como kilogramos-fuerza (kgf).

Esfuerzo al Corte

El esfuerzo al corte se determinó con un texturómetro Texture Analyzer TAXT2. Se tomaron de igual manera muestras de 2 x 2.5 cm y se realizaron 5 repeticiones por tratamiento. Se utilizó una navaja Warner-Bratzler como aditamento a una velocidad de cabezal de 2 mm/s. El esfuerzo al corte se expresó como la media de la fuerza máxima en kilogramos (kg) del pico más alto registrado en cada una de las repeticiones.

Medición de Color

La medición de color se realizó en la superficie de cada muestra con un colorímetro (Konica Minolta CR-400, Japón) en presencia de luz blanca. La medición consistió en la medida de los parámetros de luminosidad (L^*), matiz rojo-verde (a^*) y matiz amarillo-azul (b^*).

Medición de Potencial de Hidrógeno

Para la medición de pH se homogeneizaron 3 g de muestra en 27 mL de agua destilada utilizando un Ultraturax. La mezcla obtenida fue filtrada a través de un papel Whatman y la medición se realizó con un potenciómetro Hanna (modelo 211, USA).

Cuenta total de Psicrófilos Aerobios

Se determinó la cuenta total de microorganismos mesófilos y psicrófilos aerobios en base a la norma NOM-092-SSA1-1944 durante el tiempo en almacenamiento a 4°C (día 0, 7, 14, 21, 28 y 35). Se homogeneizaron 10 g de muestra con 90 mL de agua peptonada (0.1%) en bolsas estériles. Se prepararon diluciones decimales de las muestras en base a lo establecido por la NOM-110-SSA1-1994 y se vertió 1 mL de las mismas en placas Petri con agar

Plate Count. Posteriormente, las placas fueron almacenadas a temperaturas de 5 ± 2 °C por 7-10 días. Los resultados se expresaron como log UFC/g.

Análisis Sensorial

Se llevó a cabo un análisis sensorial con un panel semi-entrenado de 8 panelistas, quienes evaluaron los parámetros de sabor, color, firmeza y aceptabilidad general con una escala estructurada de 10 puntos donde 0 representó me disgusta mucho y 10 indicó me gusta mucho.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Para la etapa I se llevó a cabo un diseño completamente al azar en donde los factores evaluados fueron los polvos de jugo (JG), cáscara liofilizada (CL) y cáscara deshidratada (CD). Las variables de respuesta para esta etapa consistieron en el contenido de fenoles totales, taninos hidrolizables y capacidad antioxidante (DPPH, TEAC, FRAP). Se llevó a cabo una comparación de medias por la prueba de comparación múltiple Tukey-Kramer.

La Etapa II consistió en un diseño completamente al azar donde los factores evaluados fueron los diferentes tratamientos (CO, J1, J2, C1 y C2). Las variables de respuesta a evaluar fueron la composición química proximal, fenoles totales y capacidad antioxidante (DPPH, TEAC, FRAP). Cuando se presentaron diferencias significativas se realizó una comparación de medias por la prueba de comparación múltiple de Tukey Kramer.

El diseño experimental y análisis estadístico para la Etapa III consistió en un diseño completamente al azar con un arreglo factorial (5 x 6) tomando como factores los tratamientos elaborados (CO, J1, J2, C1, C2) y el tiempo de almacenamiento (Día 0, 7, 14, 21, 28, 35). Las variables de respuesta fueron la

determinación de color CIE L^* a^* b^* , pH, textura, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, análisis microbiológico y análisis sensorial. Cuando se presentaron diferencias significativas se realizó una comparación de medias por Tukey Kramer.

Todos los resultados fueron analizados a una $P < 0.05$ en el error Tipo I en el paquete estadístico NCSS versión 2007 (Number Cruncher Statistical System, Kaysville UTA, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa I: Caracterización de Jugo y Cáscara de Granada

Contenido de Fenoles Totales

En el Cuadro 3 se muestra el contenido de fenoles totales (FT) y taninos hidrolizables del jugo (JG), cáscara liofilizada (CL) y cáscara deshidratada (CD) de granada, así como sus respectivos residuos. La CD presentó el mayor ($P < 0.05$) contenido de FT (255.98 mg EAG/g), seguido de CL (219.23 mg EAG/g) y JG (1.52 mg EAG/g). Los resultados obtenidos para JG son menores a lo encontrado por Tezcan y col. (2009) quienes reportan un contenido de FT de 2.60-10.086 mg EAG/g en jugos comerciales de granada. En JG se ha reportado una concentración elevada de compuestos como flavonoides, siendo los más comunes antocianinas, quercetina y rutina (Krueger, 2012).

Se ha demostrado que el contenido de fenoles en la mayoría de los frutos es mayor en los subproductos que en la parte comestible (Gorinstein y col., 2002; Le, 2012; Li y col., 2006). Esto se debe a que las plantas producen metabolitos como los compuestos fenólicos que juegan un papel importante en la defensa contra condiciones adversas como daño por rayos ultravioleta, sequías, ataque de patógenos, etc., siendo las cáscaras las que están más en contacto a dichas condiciones y por lo tanto, donde se presenta la mayor concentración de (Kosseva y Webb, 2013) pudiendo observar la misma tendencia en nuestros resultados.

Cuadro 3. Contenido de fenoles totales y taninos hidrolizables en JG, CL y CD

Extracto	Fenoles Totales ¹	Taninos hidrolizables ¹
Jugo (JG)	1.52 ^a	1.36 ^a
Cáscara liofilizada (CL)	219.23 ^b	39.44 ^b
Cáscara deshidratada (CD)	255.98 ^c	45.67 ^c

¹Valores expresados como mg EAG/g ps: Miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo en peso seco. n=3. ^{abc} Medias con diferente literal en la misma columna difieren estadísticamente (P<0.05).

El contenido de FT de los extractos de cáscara de granada evaluados es mayor a lo reportado por El-Gharably y Ashoush (2011) quienes obtuvieron 10.96 mg EAG/g en cáscara de granadas de Perú. Por otro lado, Devatkal y col. (2010) y Ayala-Soto (2014) reportaron 5.85 y 154.53 mg EAG/g en extractos acuosos de granadas de la India y Sonora, Mexico, respectivamente. Asimismo, Rajan y col. (2011) reportaron 176 y 135.33 mg EAG/g en extractos acuosos y etanólicos de cáscara de granada. El contenido de FT en el subproducto de granada es mayor a lo reportado en cáscaras de manzana (69.41 mg EAG/g), mango (31.85 mg EAG/g), limón (211.7 mg EAG/g) y naranja (169.56 mg EAG/g) (Henríquez y col., 2010; Singh y Immanuel, 2014; Sogi y col., 2013).

Durante el proceso de extracción de compuestos fenólicos existe una parte de los mismos que queda embebida en la fibra. Se ha hipotetizado que se encuentran unidos a polisacáridos mediante interacciones hidrofóbicas y enlaces covalentes por lo cual es necesaria la hidrólisis para su extracción (Saura-Calixto y col., 2010; Seeram, Lee, y col., 2005). Se ha reportado que los compuestos asociados a la fibra de cáscara de granada corresponden a taninos hidrolizables como punicalagina, punicalina, pedunculagina, entre otros compuestos fenólicos como ácido elágico, ácido gálico, rutina y quercetina (Middha y col., 2013). Los taninos hidrolizables han atraído gran interés debido a sus propiedades anticancerígenas, antivirales, antioxidantes, antiinflamatorias, etc. (Althunibat y col., 2010; Larrosa y col., 2010; Seeram, Adams, y col., 2005).

Se llevó a cabo la hidrólisis de los residuos de extracción con el fin de determinar el contenido de compuestos asociados a la fibra (Cuadro 3). El contenido de taninos hidrolizables fue mayor ($P < 0.05$) en el residuo de cáscara deshidratada (CDT) en comparación con los residuos de cáscara liofilizada (CLT) y jugo de granada (JGT). Saad y col. (2012) reportaron para un extracto de residuos un contenido de 420-470 mg EAG/g en diferentes cultivares de granada de Túnez siendo mayores ($P < 0.05$) a lo encontrado en nuestro estudio.

Asimismo, se ha evaluado el contenido de taninos en otro fruto como en cáscara de aguacate en la cual se cuantificaron 5.79 mg EAG/g (Salmerón-Ruiz, 2014). Las diferencias entre lo encontrado en nuestro estudio respecto a otros autores puede ser atribuido a diferentes factores como el tipo de extracción y concentración del extracto utilizado, el cultivar del fruto y las condiciones medioambientales (estrés) al que pudo estar sometido (Çam y col., 2009; Campillo y col., 2014).

En el Cuadro 4 se muestran los resultados de capacidad antioxidante (CA) presentándose una actividad mayor ($P < 0.05$) en CL (1304.12 $\mu\text{mol ET/g}$) y CD (1248.12 $\mu\text{mol ET/g}$) respecto a JG (512 $\mu\text{mol ET/g}$). Con respecto a TEAC, se obtuvieron 2449.18, 2373.26 y 936.23 $\mu\text{mol ET/g}$ para CL, CD y JG, respectivamente. Garci y col. (2004) reportaron para TEAC 40 $\mu\text{mol ET/g}$ en el fruto de granada completo. Por otro lado, el FRAP fue mayor ($P < 0.05$) en CD (733.89 $\mu\text{mol ET/g}$), en comparación con CL (633.22 $\mu\text{mol ET/g}$) y JG (87.47 $\mu\text{mol ET/g}$). Por su parte, Hasnaoui y col. (2014) reportaron 2079.53 $\mu\text{mol ET/g}$ para cáscara de granada de Túnez. La diferencia de la capacidad antioxidante entre los métodos utilizados es atribuida a los diferentes tipos de mecanismos por los que actúan los compuestos fenólicos. En nuestro caso, observamos una mayor capacidad para donar átomos de hidrógeno y electrones con los métodos de DPPH y TEAC en comparación con el quelamiento de metales con FRAP. Un comportamiento similar fue observado por Fischer y col. (2011) quienes reportan la misma tendencia con 1361.9 y 589.1 $\mu\text{mol ET/g}$ para TEAC y FRAP, respectivamente.

Por otra parte, se puede observar una CA atribuida a los residuos de la extracción, presentando una mayor ($P < 0.05$) actividad el residuo de CD con 318.19, 431.15 y 104.16 $\mu\text{mol ET/g}$ para DPPH, TEAC y FRAP, respectivamente. La capacidad antioxidante observada en los extractos de los residuos puede ser atribuida a que algunos compuestos fenólicos se quedan

Cuadro 4. Capacidad antioxidante para jugo, cáscara y taninos hidrolizables de granada.

Extracto	DPPH*	TEAC*	FRAP*
Jugo (JG)	512.31 ^a	936.23 ^a	87.47 ^a
Cáscara liofilizada (CL)	1248.12 ^b	2449.18 ^b	633.22 ^b
Cáscara deshidratada (CD)	1304.12 ^c	2373.26 ^b	733.89 ^c
Residuos			
Taninos de jugo (JT)	269.58 ^a	265.59 ^a	35.49 ^a
Taninos de cáscara liofilizada (CLT)	292.97 ^b	341.83 ^a	122.31 ^b
Taninos de cáscara deshidratada (CDT)	318.19 ^c	431.15 ^b	104.16 ^c

*Valores expresados como $\mu\text{mol ET}$: Micromol Equivalentes Trolox. $n=3$.
^{abc}Medias con diferente literal en la misma columna difieren estadísticamente ($P<0.05$).

asociados a los componentes de la fibra dietaria, principalmente pectinas y arabinosilanos (Smith y Harris, 2001). La evaluación de dichos compuestos es de importancia ya que al estar embebidos en la fibra pueden llegar intactos al colon en donde pueden ser liberados al estar en contacto con la microbiota colónica (Smith y Harris, 2001; Vitaglione y col., 2008).

Identificación y Cuantificación de Compuestos Fenólicos

En la Figura 3 se muestran los cromatogramas con el perfil de compuestos correspondientes a JG (270 y 520 nm), CL y CD (270 nm). En jugo a 270 nm (Fig. 3, A) se puede observar la presencia de varios compuestos que no se han logrado identificar hasta el momento. Sin embargo, a 520 nm (Fig.3, A*) se lograron identificar antocianinas que corresponden a cianidina 3,5-diglucósido, cianidina 3-glucósido y pelargonidina 3-glucósido. Algunos autores concuerdan en la presencia de dichos compuestos característicos de la porción comestible de la granada, los cuales le confieren actividad antioxidante y coloración al jugo. Por otro lado, se identificaron y cuantificaron ácido elágico (37.66 y 41.77 mg/g), ácido gálico (0.31 y 0.39 mg/g), punicalagina α (21.59 y 21.60 mg/g) y punicalagina β (44.14 y 40.56 mg/g) en CL y CD, respectivamente (Cuadro 5). La presencia de dichos compuestos también ha sido reportada por Gil y col. (2000), Seeram y col. (2005), Fisher y col. (2011) y Mininel y col. (2014).

En la Figura 4, se muestran los cromatogramas de los residuos de extracción. Se puede observar la presencia de picos correspondientes a rutina y ácido elágico y en contraste a lo encontrado en los extractos de CL y CD ya no se observa la señal de los taninos (punicalagina α y β). Esto puede atribuirse a que al realizarse la hidrólisis para la extracción, los taninos fueron degradados a sus monómeros de ácido elágico. Estos resultados nos pueden comprobar la presencia de taninos en los residuos de extracción. La importancia de la presencia de punicalaginas en los extractos y residuos se debe a la creciente investigación sobre las propiedades bioactivas de dichos compuestos.

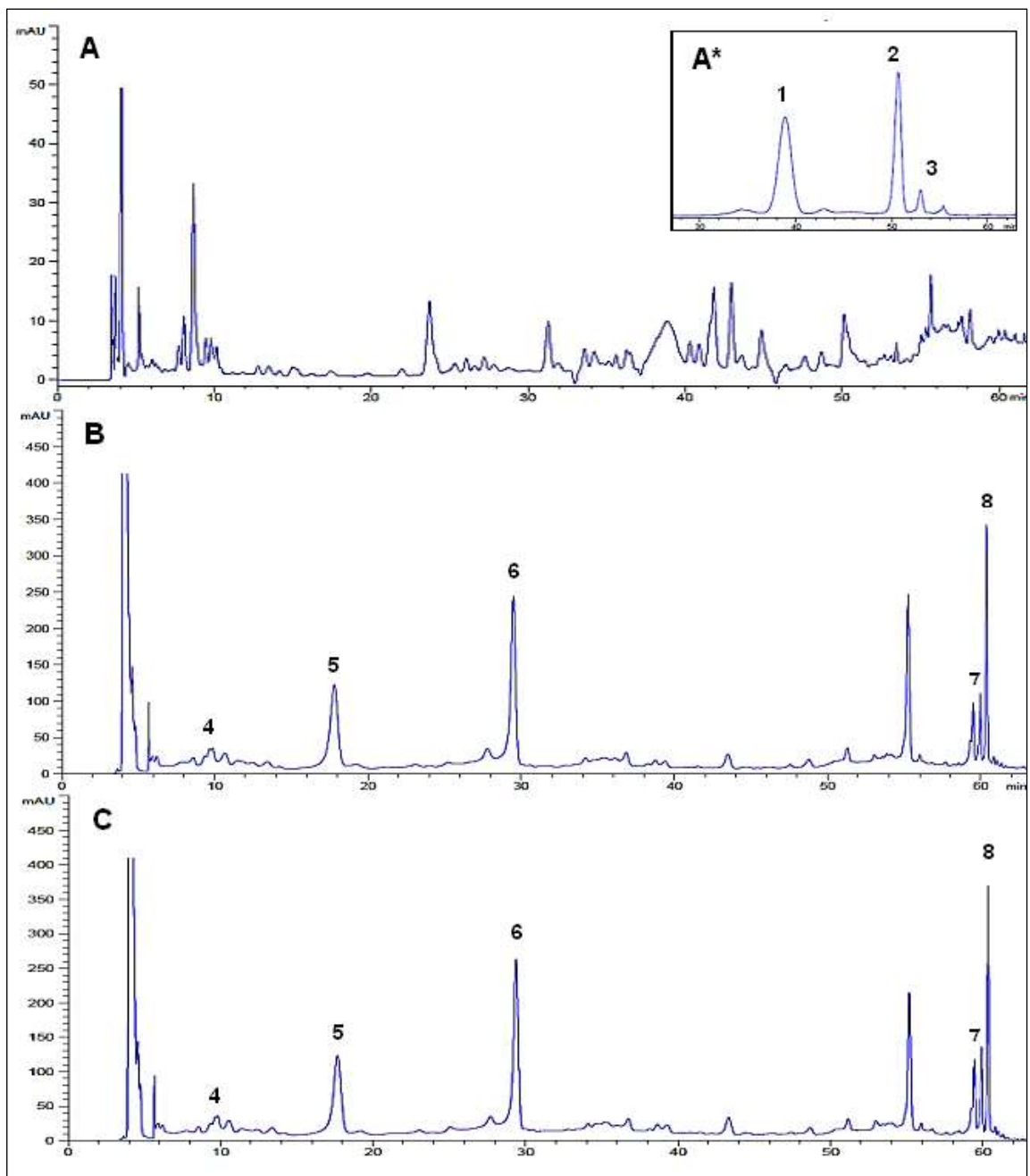


Figura 3. Cromatogramas correspondientes a JG 270 nm (A), JG 520 nm (A*), CL 270 nm (B) y CD 270 nm (C). 1: Cianidina 3,5-diglucósido, 2: Cianidina 3-glucósido, 3: Pelargonidina 3-glucósido, 4: Ácido gálico, 5: Punicalagina α , 6: Punicalagina β , 7: Rutina, 8: Ácido elágico.

Cuadro 5. Contenido de compuestos fenólicos en CL y CD.

Compuesto*	Extracto	
	CL	CD
Ácido gálico	0.31 ^a	0.39 ^a
Punicalagina α	21.59 ^a	21.60 ^a
Punicalagina β	44.14 ^a	40.56 ^a
Ácido elágico	36.70 ^a	41.77 ^b

*Valores expresados como mg/g, CL: Cáscara liofilizada, CD: Cáscara deshidratada. ^{ab}Medias dentro de fila con diferente literal difieren estadísticamente(P<0.05).

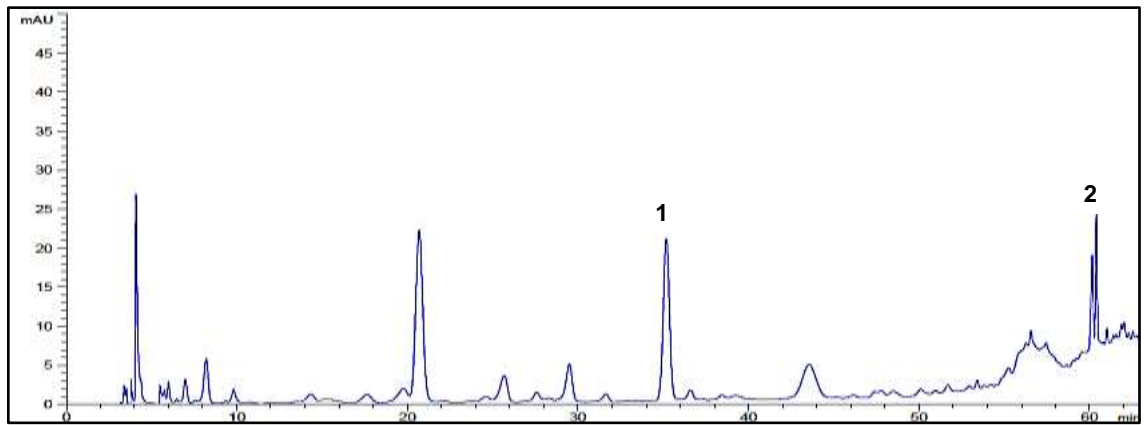


Figura 4. Cromatograma correspondiente a CDT a 270 nm. 1: Derivado de ácido elágico, 2: Ácido elágico.

Entre las propiedades reportadas se les han atribuido actividades relacionadas con procesos de inflamación como la inhibición de enzimas ciclooxigenasas, factores de transcripción, enzimas convertidoras de angiotensinas, al igual que inhibición de oxidación de LDL, actividad antioxidante, entre otras. Asimismo, se ha demostrado que a nivel intestinal se lleva a cabo la conversión de los taninos a compuestos llamados urolitinas que actúan sobre colonocitos teniendo un efecto contra el cáncer de colon (Adams y col., 2010; Larrosa y col., 2010; Seeram, Adams, y col., 2005; Shukla y col., 2008).

En los resultados obtenidos de fenoles totales, capacidad antioxidante y perfil de compuestos fenólicos se pudo observar que no se presentaron diferencias entre CD y CL por lo cual se consideró el uso de cáscara deshidratada en horno para la aplicación en el producto cárnico.

Etapa II: Aplicación de Jugo y Cáscara de Granada en un Producto Cárnico
Procesado y su Efecto en el Contenido Fenólico y Capacidad Antioxidante

Contenido de Fenoles Totales

En la Figura 5 se muestra el contenido de FT antes y después del tratamiento térmico. Se puede observar que la incorporación de jugo y cáscara aumentaron ($P < 0.05$) el contenido fenólico en las emulsiones cárnicas. La emulsión con cáscara en su nivel alto (C2) presentó la mayor concentración con 211 mg EAG/100 g PF, seguido de la emulsión con 1% de cáscara. Sin embargo, a pesar de presentar un contenido de FT menor a C1 y C2, las emulsiones J1 y J2 presentaron un contenido mayor de FT ($P < 0.05$) en comparación con la emulsión control.

Existen algunos estudios en los cuales se han incorporado ingredientes de origen vegetal en embutidos con el fin de aumentar el contenido de FT y la CA. Valenzuela-Melendres y col. (2014) reportaron un aumento en el contenido de FT de 5.9-22 mg EAG/100 g en salchichas adicionadas con aguacate y pasta de tomate. El aumento es atribuido principalmente a los compuestos fenólicos predominantes de los ingredientes incorporados como ácido *p*-coumárico, quercetina, kaempferol, rutina, ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido protocateico, etc. (García-Alonso y col., 2010; Georgé y col., 2011). Por otro lado, Isaza Maya y col. (2012) cuantificaron 50.17 mg EAG/100 g en salchichas tipo Frankfurt con 0.5% de extracto de cereza. Resultados similares fueron obtenidos por Na y col. (2012) con un aumento de 330-580 mg EAG/100 g en salchichas de cerdo adicionadas con polvo de tomate. Asimismo, Devatkal y col. (2010) reportaron un aumento de 0.55 a 1.2 mg equivalentes de ácido tánico/g de hamburguesas de carne de cabra adicionadas con cáscara de granada.

De igual manera, en la Figura 5 se puede observar que el tratamiento térmico provocó una disminución ($P < 0.05$) de 41.24, 23.38, 42.87 y 12.64% en el contenido de FT de los tratamientos CO, J1, J2 y C2, respectivamente. Caso contrario con C1 en el cual se observó un aumento del 3.78%. Esto puede deberse a que por efecto del tratamiento térmico pudiesen haberse liberado compuestos que se encuentran asociados a la fibra o bien, se haya degradado algún compuesto fenólico a moléculas más simples provocando un aumento en dicho tratamiento. El-Gharably y Ashoush (2011) evaluaron al igual que en nuestro estudio el efecto del tratamiento térmico en salchichas de res. adicionadas con cáscara de granada. Estos autores observaron una disminución de 4.49% en el contenido de FT del embutido después de ser sometido a una temperatura de 200 °C por 20 min.

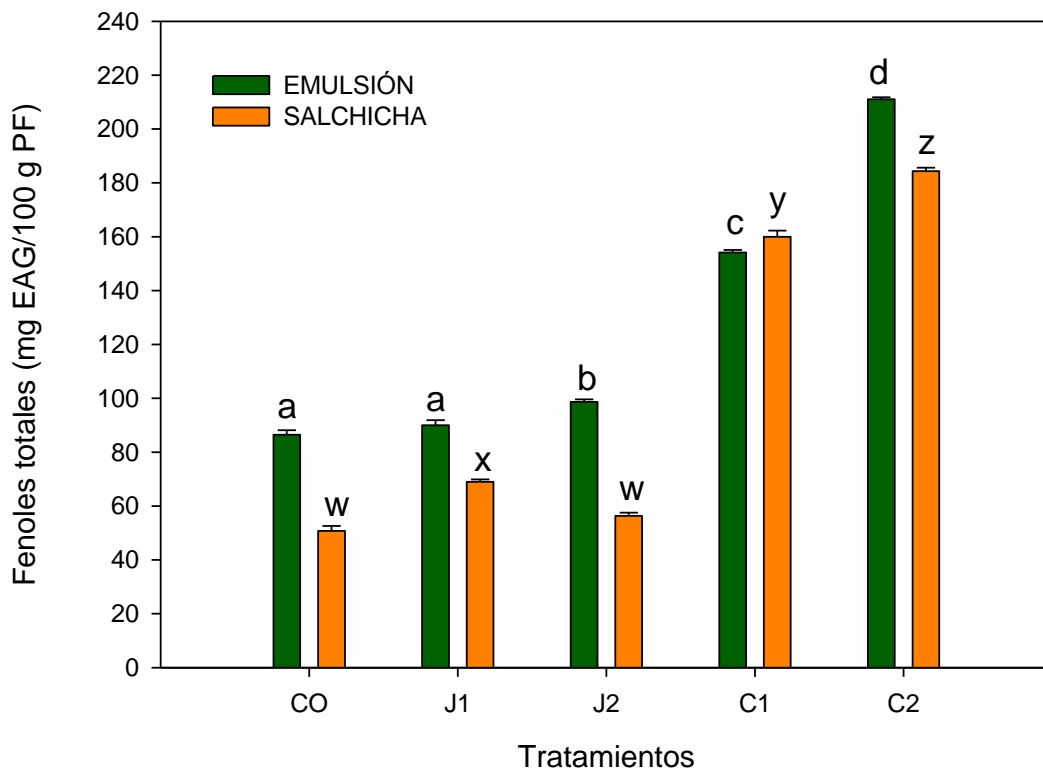


Figura 5. Contenido de fenoles totales en los tratamientos evaluados antes y después del tratamiento térmico a 72 °C.

^{abcd, wxyz} Barras del mismo color con diferente literal, indican diferencia estadística ($P < 0.05$). Salchicha control (CO), salchicha 1% jugo (J1), salchicha 2% jugo (J2), salchicha 1% cáscara (C1), salchicha 2% cáscara (C2).

Existen pocos estudios sobre el efecto que pudiese tener el tratamiento térmico en el contenido de FT y CA de productos cárnicos. Si bien, existen reportes en los cuales se evidencia que algunos compuestos son más susceptibles a temperaturas elevadas, es de relevancia la evaluación de la influencia de éste factor cuando se encuentran los compuestos fenólicos en matrices alimentarias más complejas. En dichos ambientes, los compuestos de interés pueden interaccionar con diferentes componentes de la matriz cárnica como proteínas, carbohidratos, grasa y/o antioxidantes, logrando ser estables o bien, más susceptibles a dichas condiciones (Ortega y col., 2009).

Capacidad Antioxidante

En la Figura 6 se muestran los resultados de la inhibición del radical DPPH antes y después del tratamiento térmico. Se puede observar que los tratamientos C1 y C2 presentaron mayor actividad ($P < 0.05$) con 472 y 563 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$ y se mantuvieron estables después de ser sometidos al tratamiento térmico. Sin embargo, la CA de J2 se vio afectada de manera drástica con una disminución en la actividad de 38%. Esto puede ser atribuido a que en jugo de granada hay una mayor concentración de compuestos como antocianinas, las cuales pueden ser susceptibles a temperaturas elevadas y cambios de pH, lo que pudo ocasionar su degradación (Wrolstad, 2005).

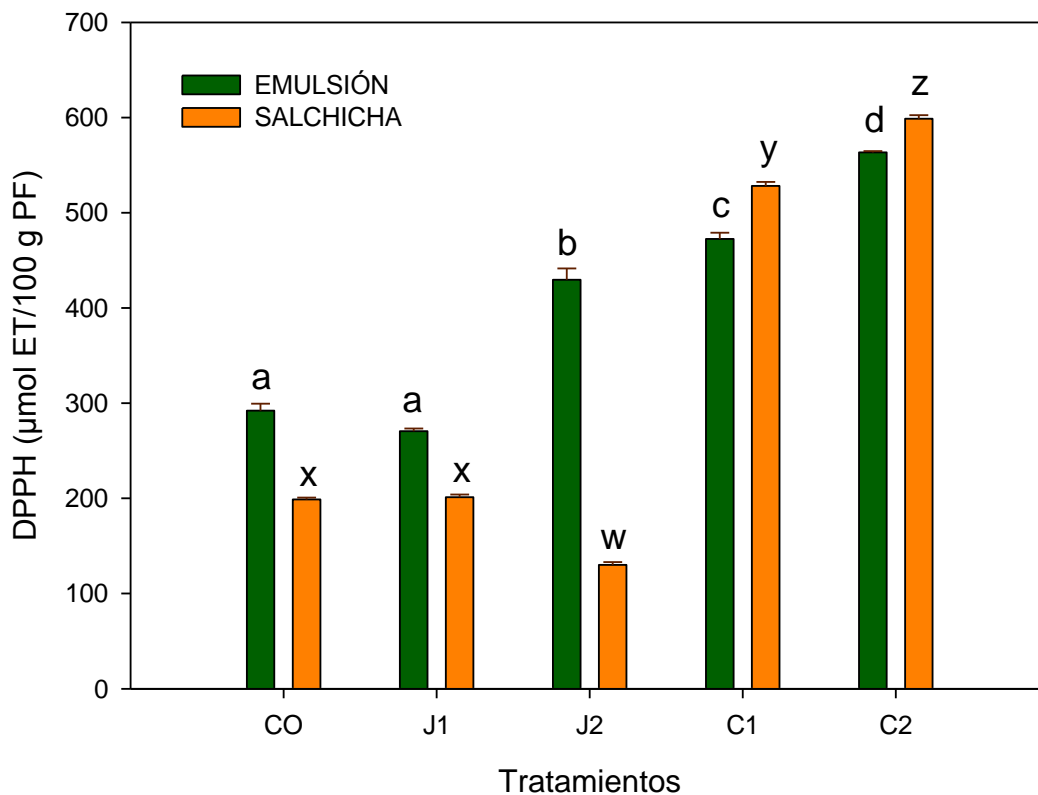


Figura 6. Inhibición de radical DPPH' de los tratamientos evaluados antes y después de tratamiento térmico a 72 °C.

^{abcd, wxyz} Barras del mismo color con diferente literal, indican diferencia estadística (P<0.05). Salchicha control (CO), salchicha 1% jugo (J1), salchicha 2% jugo (J2), salchicha 1% cáscara (C1), salchicha 2% cáscara (C2).

Identificación y Cuantificación de Compuestos Fenólicos

En el desarrollo de alimentos funcionales, los productos cárnicos pueden fungir como un vehículo para la incorporación de bioactivos presentes en polvos o extractos de plantas. Sin embargo, es de relevancia la identificación y cuantificación de los compuestos de interés debido a que nos da una perspectiva sobre su estabilidad al tratamiento térmico así como su accesibilidad al estar en contacto con una matriz compleja como es el caso de las salchichas. En la Figura 7 se muestran los cromatogramas correspondientes a los tratamientos C1 y C2 antes y después del tratamiento térmico. Se puede observar la presencia de pocos compuestos, sin embargo, al minuto 60.4 se observa la presencia de ácido elágico y poca señal de los taninos hidrolizables que se cuantificaron y se presentan en el Cuadro 6.

La razón por la cual no se hayan identificado compuestos en J1 y J2 y se encontraran pocos en C1 y C2 puede ser atribuido a que los compuestos fenólicos quedaron embebidos en el pellet y no haya sido posible su extracción. Por lo tanto, al igual que en la materia prima, se realizó una hidrólisis para romper las posibles interacciones entre los compuestos fenólicos con proteínas, fibras y carbohidratos de la matriz del alimento. En la Figura 8, se muestran los cromatogramas de los residuos de C1 y C2 y se puede observar la presencia de algunos compuestos no identificados y ácido elágico que pudo haberse quedado embebido en el residuo, o bien, sea un monómero procedente del tanino hidrolizable predominante en granada.

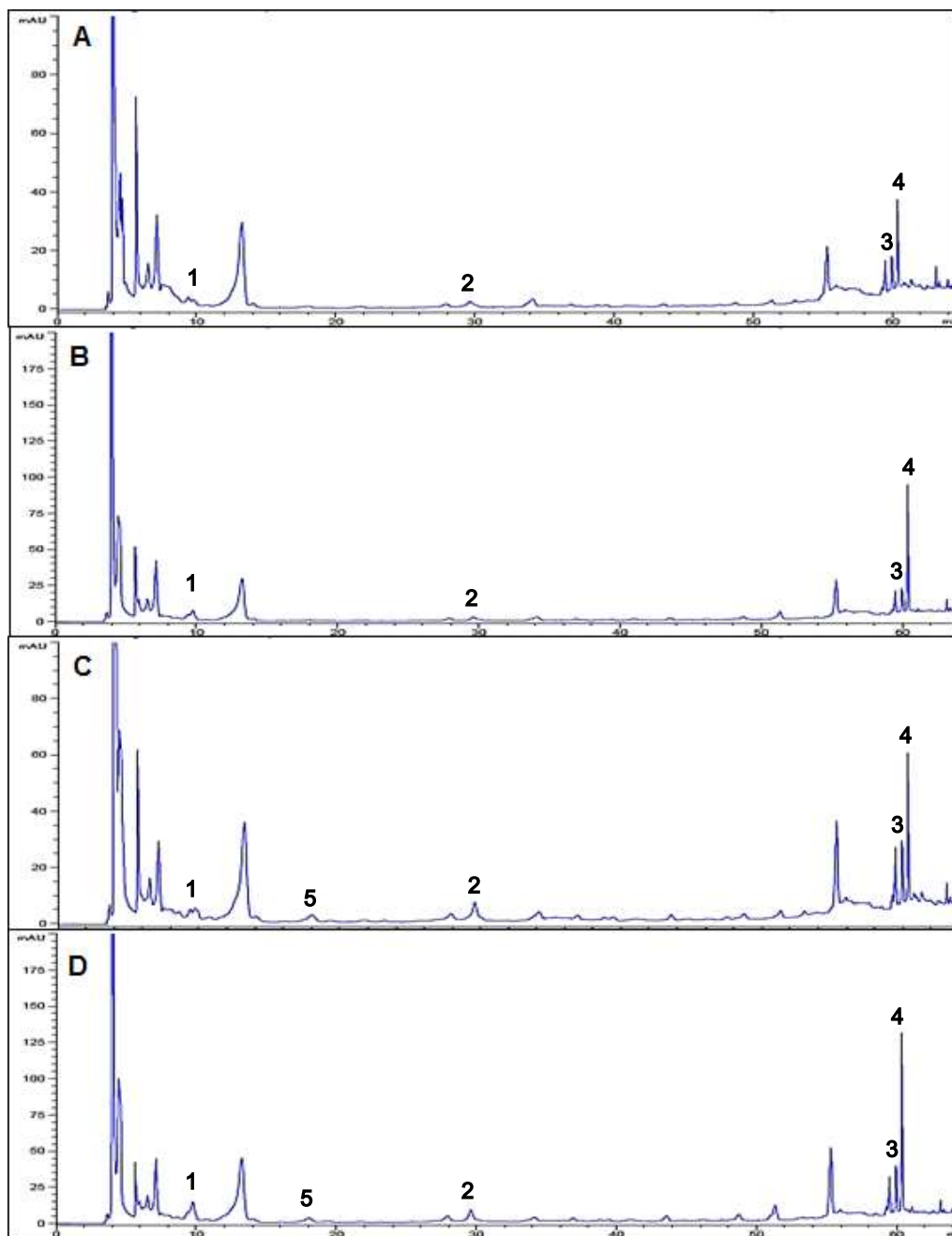


Figura 7. Cromatogramas correspondientes a A) Emulsión C1, B) C1, C) Emulsión C2, D) C2 a 270 nm. 1: Ácido gálico, 2: Punicalagina β , 3: Rutina, 4: Ácido elágico, 5: Punicalagina α .

Cuadro 6. Contenido de compuestos fenólicos en C1 y C2 antes y después del tratamiento térmico.

Compuesto*	C1		C2	
	EMULSIÓN	SALCHICHA	EMULSIÓN	SALCHICHA
Ácido gálico	1.92 ^a	1.99 ^a	2.45 ^a	4.59 ^b
Punicalagina β	15.21 ^a	15.60 ^a	20.61 ^a	22.03 ^a
Ácido elágico	26.82 ^a	81.11 ^b	47.03 ^a	113.51 ^b

*Valores expresados como mg/100 g.

^{ab}Medias con diferente literal en la misma fila para cada tratamiento difieren estadísticamente (P<0.05).

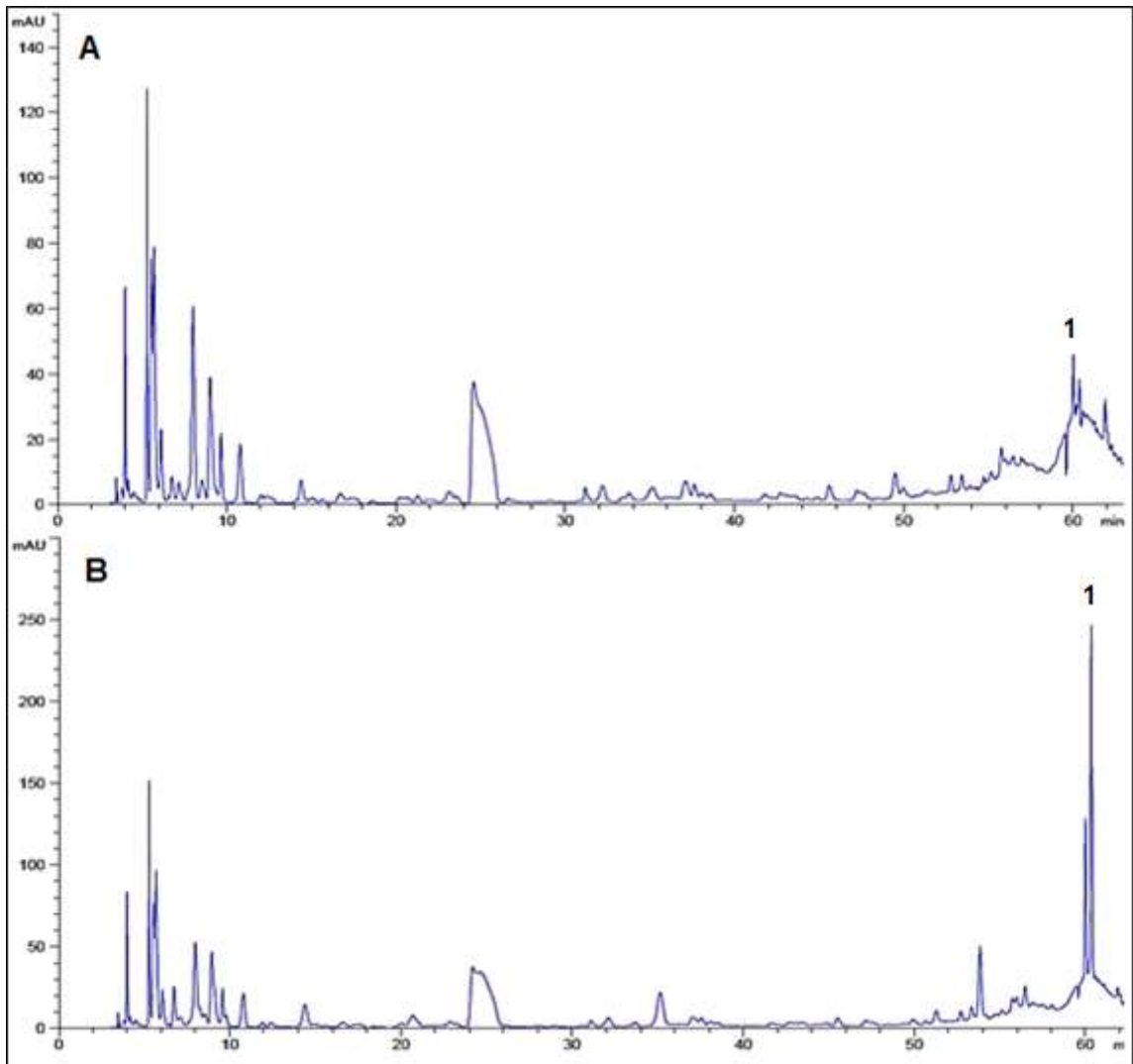


Figura 8. Cromatogramas correspondientes a hidrolizados de pellet de C1 (A) y C2 (B) a 270 nm. 1: Ácido elágico.

Etapa III: Efecto de Jugo y Cáscara de Granada Sobre la Calidad Fisicoquímica,
Sensorial, Microbiológica, Contenido de Fenoles Totales y Capacidad
Antioxidante Durante Almacenamiento en Refrigeración

Contenido de Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante

En la Figura 9 se muestra el contenido de fenoles totales en las salchichas durante 35 días de almacenamiento a 4 °C. Se puede observar que el tratamiento C2 obtuvo el mayor contenido de FT ($P < 0.05$) el cual presentó un ligero aumento del día 14 a 28 con respecto a los demás días de almacenamiento, presentando un contenido final de 183 mg EAG/100 g PF. Este comportamiento es de importancia debido a que no se presenta una pérdida de los compuestos bioactivos de interés presentes en el embutido. Por otro lado, se puede mostrar que el tratamiento C1 presentó una disminución del contenido de FT a partir del día 14. Caso contrario con los tratamientos CO, J1 y J2 en los cuales se presentó un ligero aumento ($P < 0.05$) dentro de los primeros 14 días para permanecer constantes el resto de la vida de anaquel. Resultados similares fueron obtenidos por Isaza Maya y col. (2012) quienes evaluaron durante 60 días el contenido fenólico de salchichas de cerdo adicionadas con extracto de cereza. En dicho estudio disminuyeron los fenoles de manera drástica los primeros 10 días de almacenamiento para permanecer con mínimas fluctuaciones los 50 días restantes.

En la Figura 10 se presentan los resultados de la inhibición del radical DPPH durante el tiempo de almacenamiento y se puede observar una mayor actividad ($P < 0.05$) de C2 con respecto a los demás tratamientos. Por otro lado, C1 presentó una disminución de la CA a partir del día 14. Por su parte, CO, J1 y J2 no presentaron diferencias ($P > 0.05$), sin embargo el factor tiempo de almacenamiento si fue significativo atribuido a un aumento en el potencial antioxidante hasta permanecer estable a partir del día 14.

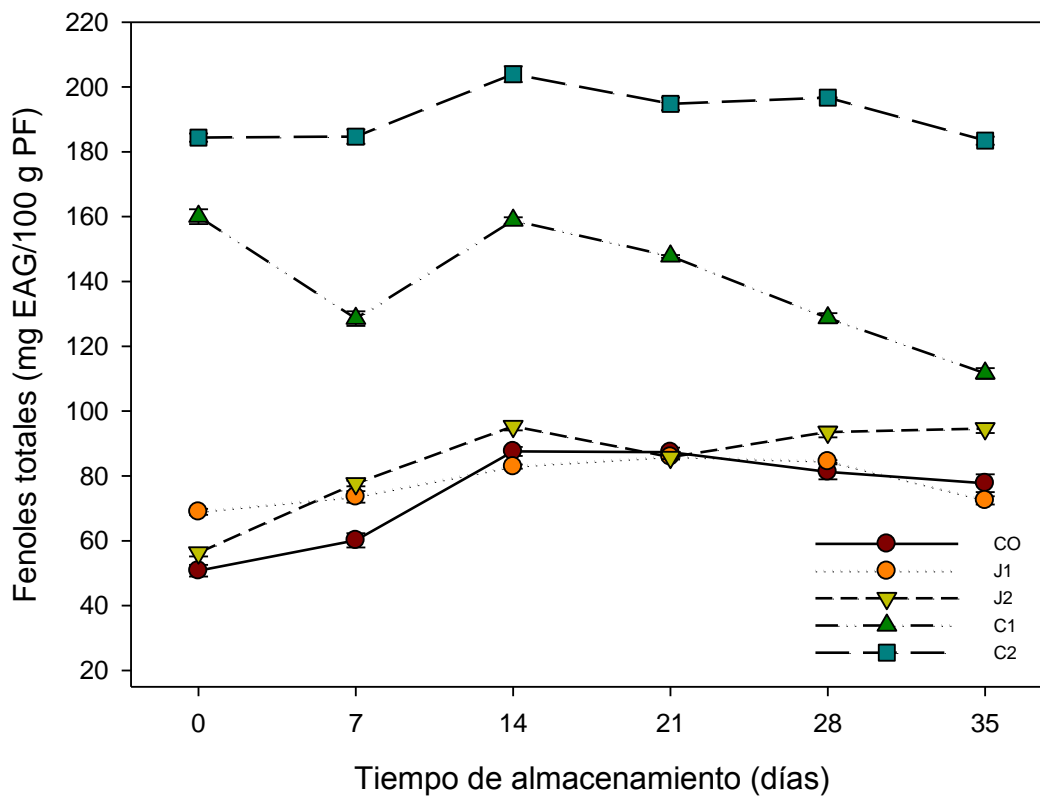


Figura 9. Contenido de fenoles en salchichas almacenadas durante 35 días a 4 °C. Salchicha control (CO), Salchicha 1% jugo (J1), Salchicha 2% jugo (J2), Salchicha 1% cáscara (C1), Salchicha 2% cáscara (C2).

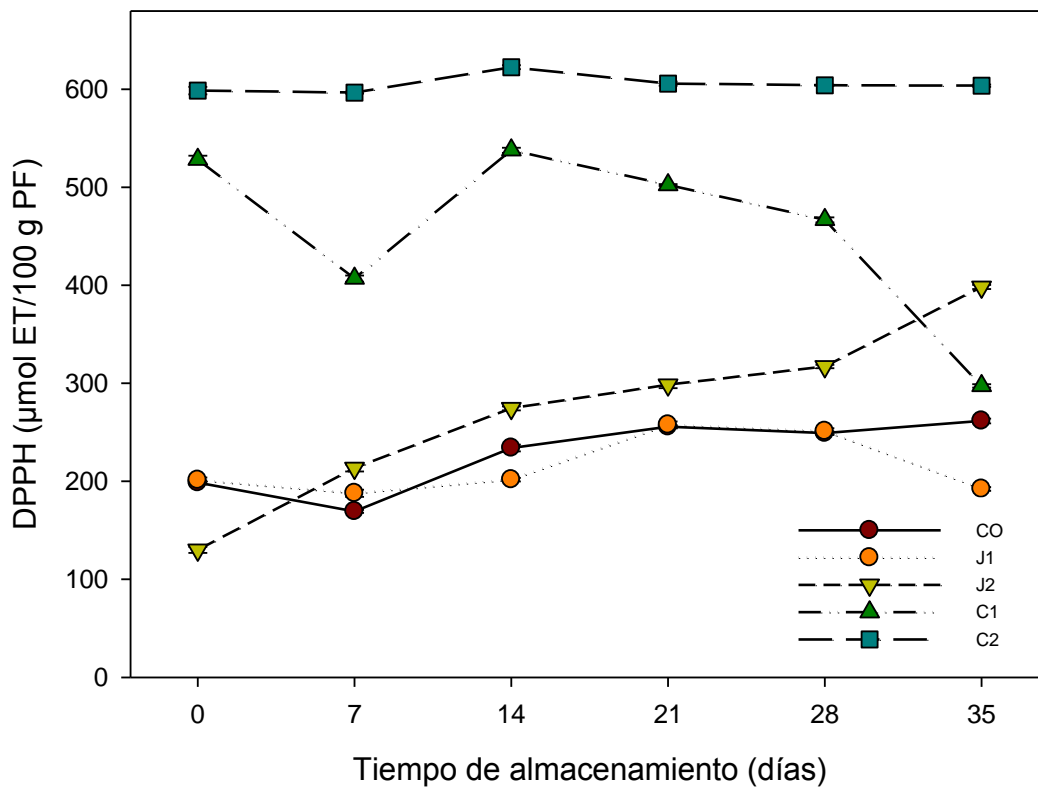


Figura 10. Inhibición de radical DPPH• de los tratamientos almacenados durante 35 días a 4 °C. Salchicha control (CO), Salchicha 1% jugo (J1), Salchicha 2% jugo (J2), Salchicha 1% cáscara (C1), Salchicha 2% cáscara (C2).

En la evaluación de TEAC (Figura 11), se observó un comportamiento similar a los resultados de inhibición del radical DPPH presentando una mayor actividad el tratamiento C2 con 1198 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ al día 14. Sin embargo, fue disminuyendo su actividad conforme transcurría el tiempo de almacenamiento.

En lo que respecta al FRAP (Figura 12), se presentó el mismo comportamiento encontrado en los diferentes métodos de CA. De nueva cuenta, se observó una mayor actividad en los tratamientos de cáscara de granada a diferencia de los demás tratamientos, en los cuales, no se observaron diferencias entre tratamientos ($P>0.05$). Cabe mencionar, que en los métodos utilizados existe una correlación con los resultados de fenoles totales durante vida de anaquel al observarse los mismos comportamientos en los tratamientos. La disminución de la capacidad antioxidante de C1 y C2 puede ser atribuida a que los compuestos fenólicos se encuentren interaccionando con productos de la oxidación de lípidos, pudiendo disminuir su actividad durante la vida de anaquel.

Existen pocos estudios en los cuales se evalúe la CA durante la vida de anaquel de productos cárnicos adicionados con jugo y cáscara de granada. No obstante, se ha evaluado el potencial antioxidante de los mismos por la capacidad para inhibir la oxidación lipídica durante el almacenamiento. Se ha reportado la disminución de los valores de TBARS en hamburguesas cocinadas de pollo (Naveena y col., 2008), hamburguesas cocinadas de carne de cabra (Devatkal y col., 2010), carne molida de cabra (Devatkal y Naveena, 2010), pechuga de pollo (Vaithyanathan y col., 2011a), salchichas de res (El-Gharably y Ashoush, 2011), carne molida de cerdo (Qin y col., 2013).

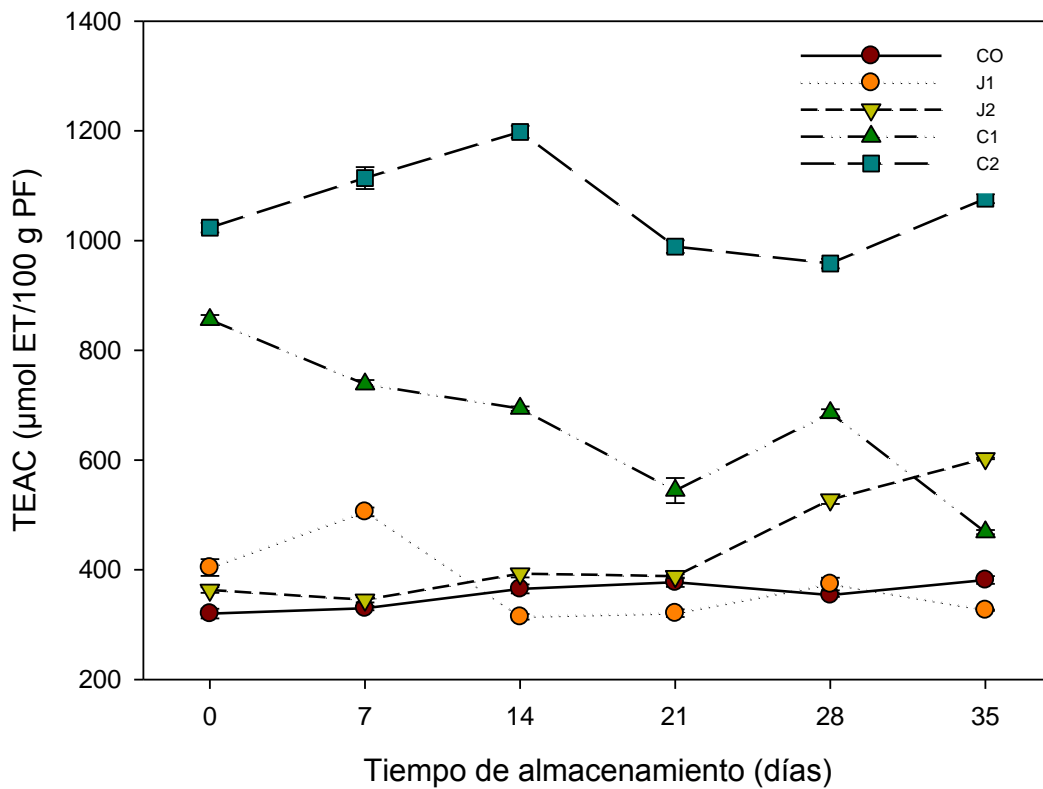


Figura 11. Capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) de los tratamientos almacenados durante 35 días a 4 °C. Salchicha control (CO), Salchicha 1% jugo (J1), Salchicha 2% jugo (J2), Salchicha 1% cáscara (C1), Salchicha 2% cáscara (C2).

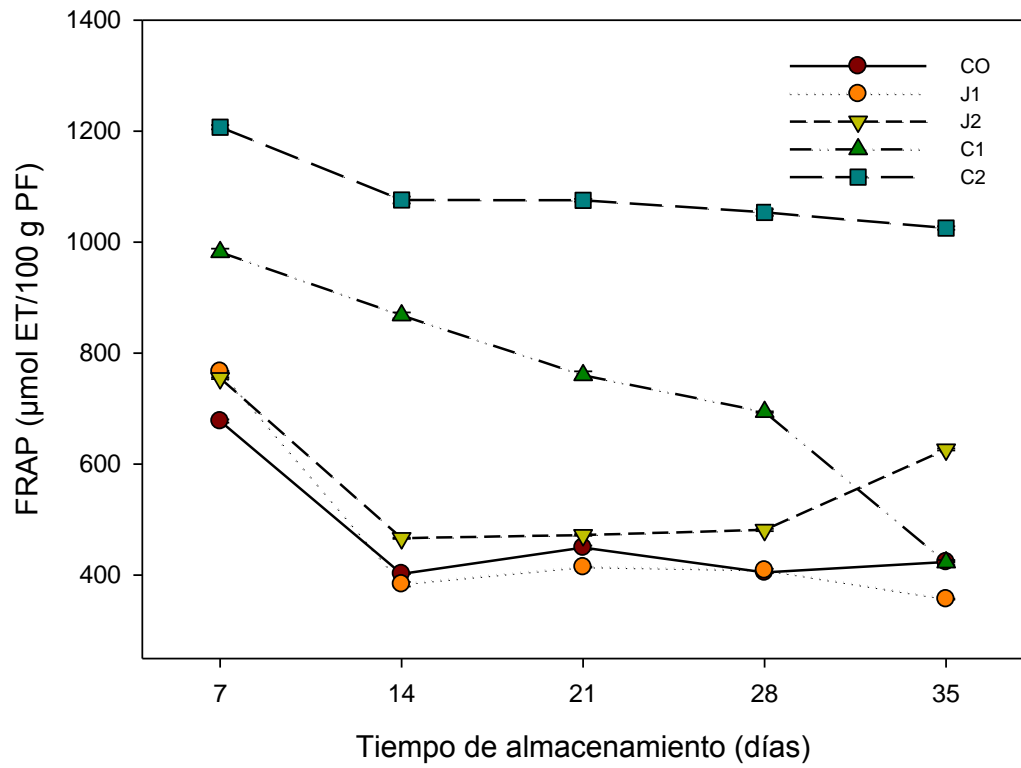


Figura 12. Poder antioxidante reductor de hierro de los tratamientos almacenados durante 35 días a 4 °C. Salchicha control (CO), Salchicha 1% jugo (J1), Salchicha 2% jugo (J2), Salchicha 1% cáscara (C1), Salchicha 2% cáscara (C2).

Estudio de Vida de Anaquel

Una de las características de calidad de mayor influencia en productos cárnicos es el color debido a que la alteración en dicho parámetro durante su almacenamiento define la aceptabilidad por parte del consumidor. En la Figura 13 se presentan los resultados de L^* , a^* y b^* de los tratamientos evaluados, los cuales presentaron interacción con el tiempo de almacenamiento. La incorporación de jugo y cáscara de granada provocaron una disminución de los parámetros de luminosidad con respecto al tratamiento control ($P < 0.05$). El tratamiento J2 presentó los valores más bajos (64.60) atribuidos principalmente al color característico del jugo de granada. Todos los tratamientos a excepción de J2 disminuyeron durante la vida de anaquel para presentar un aumento en L^* al día 35. Comportamientos similares fueron observados por Hayes y col. (2011) en la vida de anaquel de salchichas de cerdo adicionadas con ácido eláxico.

Respecto al parámetro a^* en el primer día de almacenamiento los tratamientos CO, J1 y J2 presentaron valores mayores ($P < 0.05$) con respecto a C1 y C2. Esto es atribuido al color rosado del nitrosilhemocromo formado por la reacción del nitrito de sodio con mioglobina en productos cárnicos curados (Tarté, 2009). La presencia de un color rosado en embutidos es relacionado con buena calidad por parte del consumidor. Sin embargo, se puede observar que al séptimo día de almacenamiento se presentaron disminuciones de a^* de 64, 50, 36, 58, 53% para CO, J1, J2, C1 y C2, respectivamente. La caída drástica de los valores de a^* en los tratamientos puede ser atribuido a la luz utilizada dentro del anaquel. Se ha reportado que el pigmento nitrosilhemocromo a pesar de ser estable al calor, es lábil a la oxidación por efecto de la luz blanca, la cual provoca la disociación del óxido nítrico del pigmento provocando la decoloración del producto cárnico (Dubé y Robles, 2000; Satterlee y Hansmeyer, 1974).

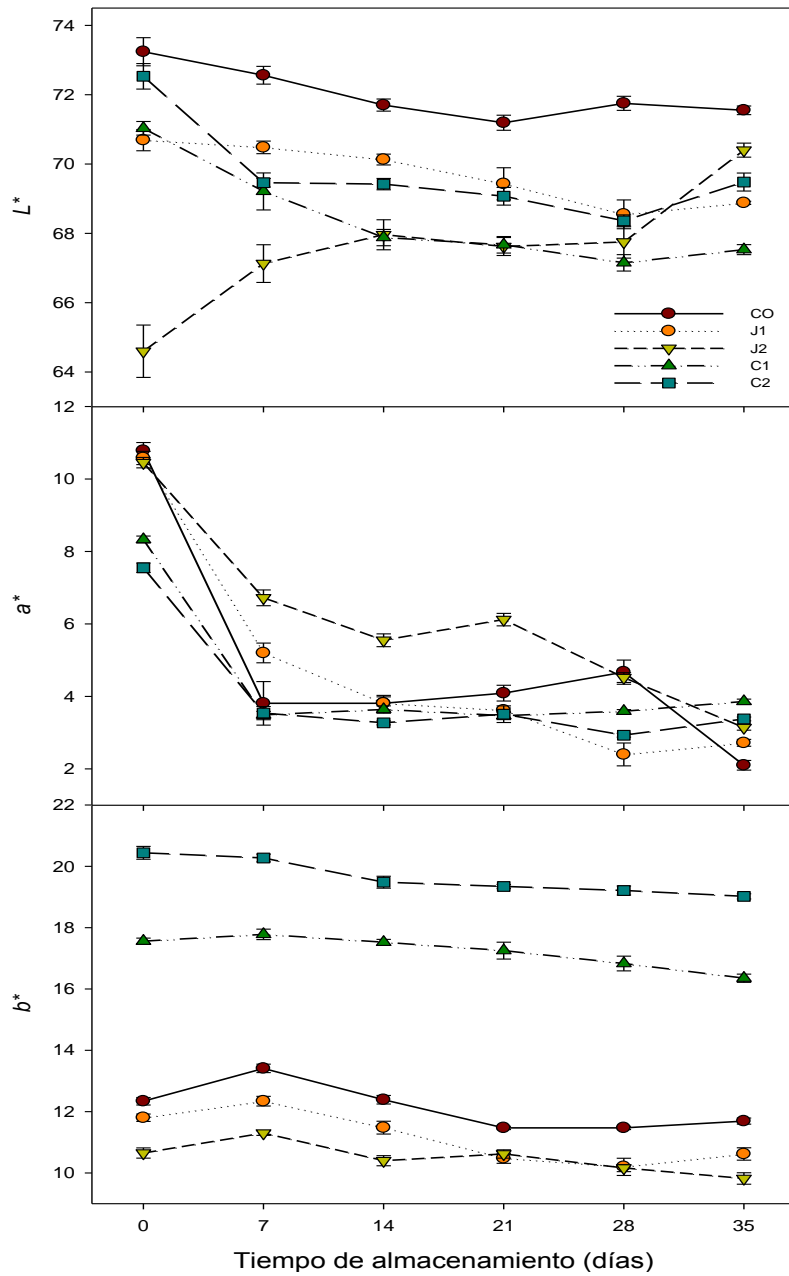


Figura 13. Efecto de tratamientos (CO, J1, J2, C1 y C2) sobre L^* (A), a^* (B) y b^* (C) de salchichas de cerdo en almacenamiento a 4 °C.

No obstante, a pesar de presentarse una disminución en el color, los tratamientos J1 y J2 presentaron valores de a^* mayores al control ($P < 0.05$) durante el almacenamiento atribuido a los pigmentos presentes en jugo, principalmente antocianinas (Santiago y col., 2014). En cuanto al parámetro b^* , los tratamientos C1 y C2 presentaron los valores mayores con respecto a los demás tratamientos ($P < 0.05$). Esto puede ser atribuido a la presencia de pigmentos como clorofila y luteína en cáscara de granada provocando colores amarillo-verdosos en el producto cárnico (Zhao y col., 2015). De igual manera, El-Gharably y Ashoush (2011) observaron un aumento en los valores de b^* tras la incorporación de cáscara de granada en salchichas de res.

En la Figura 14 se muestran los valores de pH de los tratamientos evaluados durante 35 días de almacenamiento a 4 °C. En el día 0 se observó que la incorporación de jugo y cáscara en ambos niveles disminuyó los valores de pH con respecto al control ($P < 0.05$). Esto puede ser atribuido a los pH de jugo y cáscara de granada de 2.7 y 3.7, respectivamente (Mashavhathakha, 2014; Mudau, 2015; Ullah y col., 2012). Por otra parte, durante el tiempo de almacenamiento los valores de pH aumentaron en todos los tratamientos, siendo más elevados en CO y J1 en el día 28. El aumento del pH en productos cárnicos durante el almacenamiento se ha reportado por algunos autores quienes lo han relacionado con la acción bacteriana, principalmente de bacterias Gram negativas que producen metabolitos de amonio. Asimismo, lo han relacionado con la degradación de proteínas que conlleva a la exposición de los grupos amino en sus estructuras provocando aumentos en el pH (Bhat y col., 2013; Kumar y Tanwar, 2011). Sin embargo, se puede observar que al día 35 todos los tratamientos ($P > 0.05$) presentaron una disminución de éstos valores atribuido posiblemente a la proliferación de otros microorganismos como bacterias ácido-lácticas que acidifiquen el medio.

Nuestros resultados contrastan con lo reportado por Vaithiyathan y col. (2011a) quienes observaron durante 28 días una disminución en el pH de

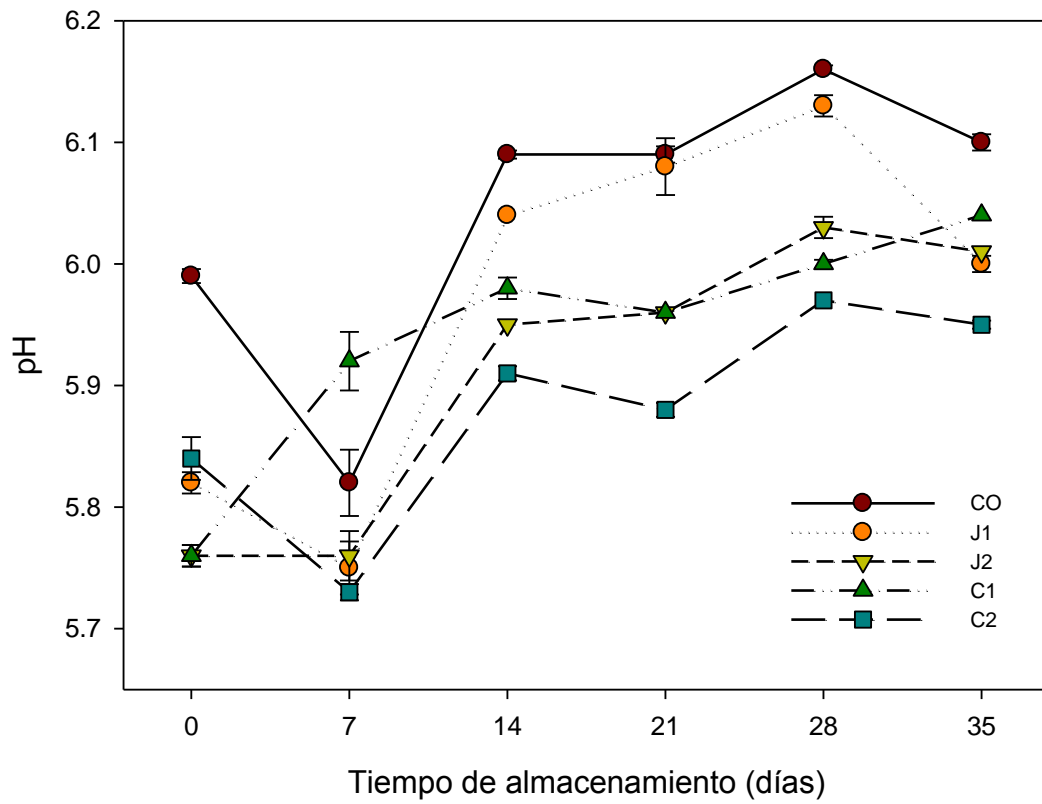


Figura 14. Efecto de tratamientos (CO, J1, J2, C1 y C2) sobre el pH de salchichas de cerdo en almacenamiento a 4 °C.

pechugas de pollo después de ser sumergidas en una solución fenólica de jugo de granada. Por otro lado, Reyes-Padilla (2013) también observó una reducción en los valores de pH en diferentes formulaciones de bolonias adicionadas con nuez, linaza, ciruela y arándano.

La actividad de agua es un parámetro importante en la calidad de los productos cárnicos debido a que determina en gran medida la estabilidad de un alimento durante su vida de anaquel. Un alimento con valores de actividad de agua >0.90 representa un medio ideal para la proliferación de bacterias. En la Figura 15 se muestra el comportamiento de la a_w de los tratamientos durante el tiempo de almacenamiento. Se puede observar que al día 0, todos los tratamientos se encuentran por encima del valor requerido para la proliferación de bacterias en contraste con el tratamiento J2 que presentó una actividad de agua menor con 0.88. Durante los posteriores días de almacenamiento, C1 y C2 presentaron los valores de a_w menores con respecto a los demás tratamientos ($P<0.05$), atribuido posiblemente a la presencia de fibra en su formulación, la cual puede ligar las moléculas de agua disminuyendo su disponibilidad para las reacciones enzimáticas y proliferación microbiana.

En el Cuadro 7 se muestran los resultados del análisis de perfil de textura (APT) y esfuerzo al corte (EC) de los tratamientos evaluados. Con respecto a la dureza, se puede observar que la incorporación de jugo al 2% y cáscara al 1% provocó un aumento de la dureza de las salchichas. Por otro lado, la incorporación de cáscara en su nivel alto redujo de manera significativa la dureza con respecto al tratamiento control ($P<0.05$). Esto puede ser atribuido a que la incorporación de fibra procedente de la cáscara de granada afectó la formación de la red de la emulsión cárnica. Sin embargo, durante el tiempo de almacenamiento se observó un ligero aumento para posteriormente disminuir los siguientes días de almacenamiento. Esto puede atribuirse también a la posible deshidratación del producto cárnico durante la evaluación en vida de anaquel. Otro aspecto a considerar es que los taninos hidrolizables presentes en cáscara

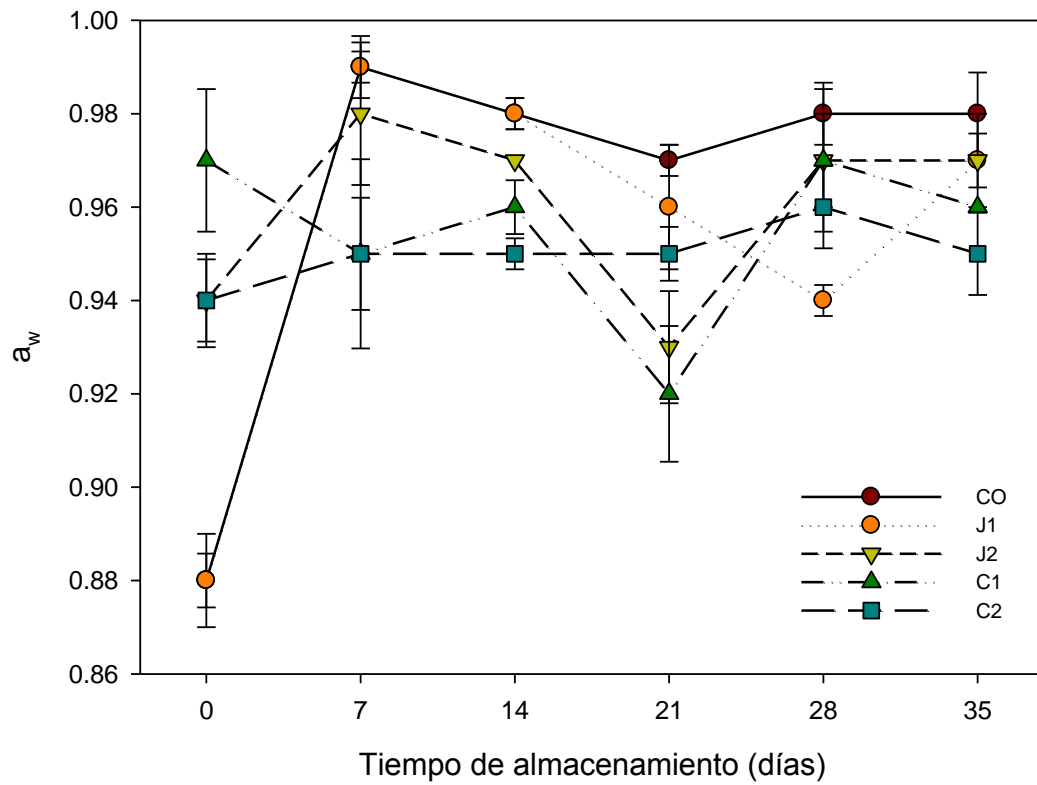


Figura 15. Efecto de tratamientos (CO, J1, J2, C1 y C2) sobre la a_w de salchichas de cerdo en almacenamiento a 4 °C.

Cuadro 7. Análisis de perfil de textura (APT) y esfuerzo al corte (EC) de salchichas de cerdo durante el tiempo de almacenamiento.

Parámetro	Tratamiento	0	7	14	21	28	35
<i>Dureza</i>	CO	6.20 ^{bAB}	5.79 ^{aAB}	8.09 ^{bcC}	6.7 ^{bA}	6.70 ^{cAB}	7.00 ^{cBC}
	J1	6.26 ^{bAB}	7.95 ^{bc}	7.37 ^{bcBC}	6.81 ^{cABC}	6.39 ^{cAB}	5.59 ^{bA}
	J2	8.25 ^{cCD}	7.31 ^{bB}	6.35 ^{bA}	8.36 ^{dD}	7.83 ^{dC}	6.54 ^{cA}
	C1	8.53 ^{cBC}	9.48 ^{cC}	8.34 ^{cBC}	7.22 ^{cB}	4.89 ^{bA}	8.39 ^{dBC}
	C2	3.71 ^{aA}	5.43 ^{aB}	4.26 ^{aA}	4.48 ^{aA}	4.26 ^{aA}	3.97 ^{aA}
	<i>Cohesividad</i>	CO	0.74 ^{bA}	0.71 ^{bB}	0.86 ^{dC}	0.85 ^{cBC}	0.75 ^{bA}
J1		0.75 ^{bAB}	0.81 ^{bA}	0.75 ^{bcAB}	0.76 ^{bAB}	0.77 ^{bAB}	0.77 ^{bcB}
J2		0.72 ^{bA}	0.75 ^{bA}	0.80 ^{cdB}	0.74 ^{bA}	0.72 ^{bA}	0.84 ^{bC}
C1		0.67 ^{aAB}	0.66 ^{bA}	0.70 ^{bABC}	0.72 ^{bBC}	0.76 ^{bC}	0.69 ^{bAB}
C2		0.45 ^{aA}	0.46 ^{aA}	0.46 ^{aA}	0.43 ^{aA}	0.60 ^{aB}	0.53 ^{aAB}
<i>Masticabilidad</i>		CO	4.08 ^{bA}	4.53 ^{bA}	6.09 ^{cB}	4.00 ^{bA}	4.46 ^{bA}
	J1	4.42 ^{bcAB}	5.66 ^{bB}	4.74 ^{bB}	4.68 ^{cB}	4.41 ^{bAB}	3.84 ^{aA}
	J2	5.20 ^{cAB}	5.58 ^{bB}	4.38 ^{bA}	5.17 ^{cAB}	4.91 ^{cAB}	5.27 ^{cAB}
	C1	4.57 ^{bcB}	6.05 ^{bC}	4.19 ^{bB}	4.51 ^{bcB}	2.63 ^{bA}	4.44 ^{bcB}
	C2	1.19 ^{aA}	1.87 ^{aB}	1.66 ^{aB}	1.35 ^a	1.30 ^{aA}	1.46 ^{aAB}
	<i>Firmeza</i>	CO	1.93 ^{bAB}	2.08 ^{AB}	2.24 ^{cB}	2.03 ^{cAB}	2.16 ^{bB}
J1		2.27 ^{cCD}	1.90 ^{AB}	2.37 ^{cD}	2.13 ^{cBCD}	1.82 ^{bA}	2.01 ^{cdBC}
J2		2.02 ^{bcA}	2.19 ^A	2.16 ^{bcA}	2.06 ^{cA}	2.05 ^{bA}	2.12 ^{dA}
C1		1.78 ^{bA}	1.67 ^A	1.71 ^{bA}	1.62 ^{bA}	2.00 ^{bA}	1.65 ^{bA}
C2		0.79 ^{aA}	0.86 ^{AB}	1.10 ^{aB}	0.86 ^{aAB}	1.02 ^{bAB}	0.82 ^{aA}

CO: Salchicha control, J1: Salchicha-Jugo 1%, J2: Salchicha-Jugo 2%, C1: Salchicha-Cáscara 1%, C2: Salchicha-Cáscara 2%. ^{abc} Valores con diferente literal en la misma columna difieren estadísticamente P<0.05. ^{ABC} Valores con diferente literal en la misma fila difieren estadísticamente P<0.05.

de granada pudieron interactuar con las proteínas cárnicas debido a que se les ha reportado la capacidad de formación de complejos y de precipitación de proteínas, lo que pudo conllevar a la formación de una emulsión cárnica débil.

La cohesividad es un parámetro que determina la fuerza con la cual se encuentran unidas las moléculas en un sistema. De igual manera, en el Cuadro 7 se muestran los valores de cohesividad, en los cuales, el tratamiento C2 presentó valores más bajos ($P<0.05$) respecto a los demás tratamientos. Asimismo, al igual que en la dureza se presentaron fluctuaciones durante los 35 días de evaluación. Por otra parte, se pueden observar comportamientos similares para masticabilidad y firmeza, afectándose de manera significativa ($P<0.05$) el tratamiento C2 respecto a los demás tratamientos. Los resultados obtenidos en la evaluación instrumental de firmeza concuerdan con la percepción sensorial por parte de los panelistas (Cuadro 9), los cuales, evaluaron con puntuaciones más bajas a C2 respecto a los demás tratamientos ($P<0.05$).

En el Cuadro 8 se muestran los resultados del análisis sensorial de los tratamientos evaluados. Se puede observar que la incorporación de jugo y cáscara de granada presentó un efecto en los parámetros de sabor, firmeza, color y aceptabilidad general. Con respecto al sabor al día 0, sólo el tratamiento C2 presentó diferencias ($P<0.05$). No obstante, a pesar de presentar valores menores, éstos se encuentran por encima de la escala de Me gusta. Por otro lado, se puede observar un efecto del tiempo de almacenamiento ($P<0.05$) en el cual se presentó una disminución de la aceptabilidad en sabor. En lo que respecta al color, se presentaron diferencias significativas de C1 y C2 respecto a los demás tratamientos ($P<0.05$). La percepción de color por parte de los panelistas concuerda con lo obtenido de la evaluación instrumental. El color verde en C1 y C2 provocó una disminución de la puntuación respecto a los demás tratamientos, presentado valores por debajo de la media de la escala

Cuadro 8. Análisis sensorial de salchichas de cerdo durante el tiempo de almacenamiento.

Parámetro	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (días)				
		0	7	14	21	28
<i>Sabor</i>	CO	8.45 ^{bA}	8.26 ^{bA}	7.97 ^{bA}	8.41 ^{bA}	8.05 ^{bA}
	J1	8.08 ^{bB}	7.83 ^{bAB}	8.16 ^{bB}	8.23 ^{bcB}	7.61 ^{bA}
	J2	8.09 ^{bA}	8.44 ^{bA}	8.25 ^{bA}	7.66 ^{bA}	7.69 ^{bA}
	C1	8.11 ^{bA}	7.78 ^{bA}	7.65 ^{bA}	7.84 ^{bcA}	7.90 ^{bA}
	C2	6.68 ^{aB}	5.69 ^{aA}	6.71 ^{aB}	6.95 ^{aB}	6.51 ^{aB}
<i>Firmeza</i>	CO	7.91 ^{bA}	8.05 ^{bA}	7.79 ^{bA}	7.89 ^{bcA}	7.83 ^{bA}
	J1	7.73 ^{bA}	8.34 ^{bB}	8.05 ^{bAB}	8.04 ^{bcAB}	7.51 ^{bA}
	J2	7.60 ^{bA}	7.90 ^{bA}	7.9 ^{cA}	7.46 ^{cB}	7.53 ^{bA}
	C1	7.61 ^{bB}	7.50 ^{bAB}	7.20 ^{bA}	7.11 ^{bA}	7.90 ^{bB}
	C2	5.55 ^{aA}	5.37 ^{aA}	5.45 ^{aA}	5.56 ^{aA}	5.2 ^{aA}
<i>Color</i>	CO	7.33 ^{bA}	8.25 ^{cB}	7.41 ^{bAB}	7.11 ^{bA}	7.29 ^{bA}
	J1	7.29 ^{bB}	6.13 ^{abA}	6.46 ^{bA}	7.01 ^{bAB}	6.60 ^{bA}
	J2	7.68 ^{bC}	7.16 ^{bcABC}	7.5 ^{bBC}	6.91 ^{bAB}	6.69 ^{bA}
	C1	5.61 ^{aA}	6.29 ^{bAB}	6.34 ^{bAB}	6.65 ^{bB}	6.86 ^{bB}
	C2	4.57 ^{aA}	5.02 ^{aA}	4.11 ^{aA}	5.21 ^{aA}	4.66 ^{aA}
<i>Aceptabilidad General</i>	CO	8.17 ^{cB}	8.05 ^{cAB}	7.49 ^{cAB}	7.76 ^{bAB}	7.29 ^{bA}
	J1	8.05 ^{cB}	7.54 ^{bcAB}	7.35 ^{bcA}	7.51 ^{bAB}	7.16 ^{bA}
	J2	7.91 ^{bcA}	7.59 ^{bcA}	7.68 ^{cA}	7.74 ^{bA}	7.86 ^{bA}
	C1	7.25 ^{abA}	7.38 ^{bA}	6.86 ^{bA}	7.15 ^{abA}	7.09 ^{abA}
	C2	6.80 ^{aB}	6.62 ^{aB}	5.18 ^{aA}	6.10 ^{aB}	6.09 ^{aB}

CO: Salchicha control, J1: Salchicha-Jugo 1%, J2: Salchicha-Jugo 2%, C1: Salchicha-Cáscara 1%, C2: Salchicha-Cáscara 2%. ^{abc}Valores con diferente literal en la misma columna difieren estadísticamente P<0.05. ^{ABC}Valores con diferente literal en la misma fila difieren estadísticamente P<0.05

hedónica utilizada. Asimismo, se puede observar que los panelistas percibieron la decoloración de J1 y J2 en el séptimo día de almacenamiento; sin embargo los resultados se encuentran por encima de la media. Por otro lado, se pueden observar los resultados de la aceptabilidad general en los cuales los tratamientos evaluados presentan valores en el rango de Me gusta.

La evaluación de microorganismos psicrófilos en productos cárnicos es de relevancia debido a que éstos alimentos representan una fuente importante de nutrientes y una elevada a_w . Dichas características los hace susceptibles a la contaminación microbiana comprometiendo la seguridad alimentaria y las características de calidad. En la Figura 16 se puede observar que al día 0, las cuentas totales oscilaron de 1.33 a 1.58 Log UFC/g; sin embargo fueron incrementando durante el tiempo de almacenamiento. Los tratamientos CO y J1 presentaron la mayor cuenta microbiana durante el almacenamiento con 7.3 y 7.23 Log UFC/g, respectivamente. La igualdad entre los resultados puede atribuirse que al igual que en los resultados de fenoles totales, no se observaron diferencias entre ambos tratamientos, lo cual nos indica que no hay compuestos fenólicos disponibles que puedan tener un efecto antimicrobiano en el producto. Caso contrario a lo encontrado con J2, C1 y C2, en los cuales se presentaron valores más bajos, siendo el tratamiento C2 el que presentó una menor cuenta microbiana con 3.21 Log UFC/g al día 35 de almacenamiento.

Se ha reportado un efecto antimicrobiano atribuido a los compuestos fenólicos presentes en cáscara de granada, principalmente a taninos hidrolizables contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Aunque no se tiene elucidado el mecanismo de acción se ha hipotetizado la interacción de los compuestos con proteínas de la membrana celular bacteriana, provocando una desestabilización de la misma (Kanatt y col., 2010). Cabe mencionar que a pesar de que no existe una especificación sobre los límites permitidos para microorganismos psicrófilos en productos cárnicos, los resultados obtenidos se

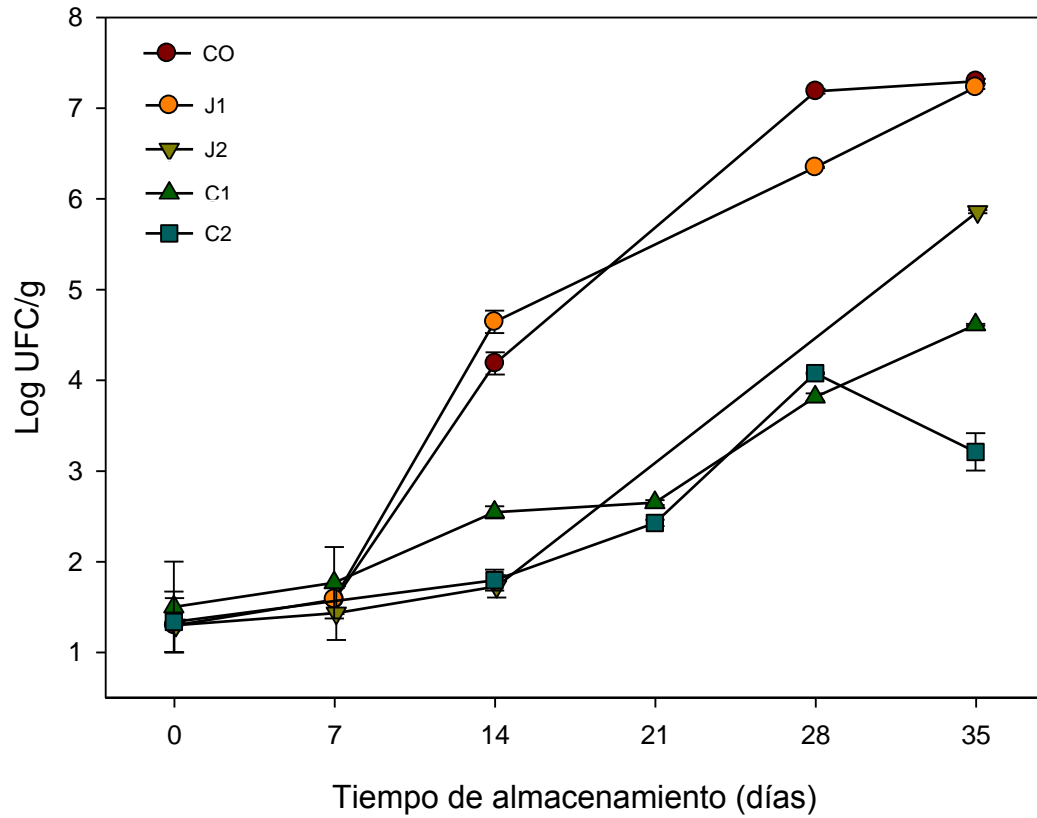


Figura 16. Microorganismos psicrófilos aerobios en salchichas de cerdo durante 35 días de almacenamiento a 4 °C. Salchicha control (CO), Salchicha 1% jugo (J1), Salchicha 2% jugo (J2), Salchicha 1% cáscara (C1), Salchicha 2% cáscara (C2).

encuentran por debajo de lo especificado por la NMX-F-065-1984 la cual establece como límite máximo 5.77 Log UFC/g de mesófilos en salchichas en punto de venta. En base a esto, los tratamientos J2, C1 y C2 permanecieron dentro de lo establecido por la norma mexicana hasta el día 28, mientras que para CO y J1 hasta el día 21 de almacenamiento.

Por lo tanto, en base a los resultados, los tratamientos C1 y C2 presentan potencial como productos cárnicos más saludables por su perfil de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Además presentaron estabilidad al tratamiento térmico, lo cual es de importancia en el desarrollo de productos cárnicos cocinados; sin embargo las características de calidad se vieron afectadas por la incorporación de cáscara en la formulación.

CONCLUSIONES

Se lograron identificar y cuantificar algunos de los compuestos fenólicos presentes en cáscara de granada. La evaluación de los residuos de extracción dio una pauta para la evaluación de la porción no extraíble de la cáscara y la actividad antioxidante asociada a la misma. El jugo de granada resultó ser lábil al tratamiento térmico al incorporarse en el producto cárnico presentándose pérdidas de 38% de la actividad antioxidante después de ser sometido a temperaturas de 72 °C. La incorporación de cáscara de granada tuvo un efecto en el contenido de fenoles y capacidad antioxidante de C1 y C2 durante el tiempo de almacenamiento. Por otro lado, se lograron identificar pocos compuestos en los embutidos, sin embargo, después de una hidrólisis se comprobó la presencia de compuestos asociados a la fibra.

La incorporación de cáscara al 2% presentó un impacto negativo en las características de calidad instrumental y sensorial con respecto a los demás tratamientos. Sin embargo, presentó un efecto positivo en la calidad microbiológica del producto al igual que C1 y J2. Los resultados obtenidos nos muestran el potencial de cáscara de granada para ser utilizada en el desarrollo de productos cárnicos funcionales.

RECOMENDACIONES

Se recomienda seguir evaluando el perfil de compuestos de la materia prima con otros métodos cromatográficos para una mejor identificación. Asimismo, se sugiere la evaluación de los compuestos a través de la vida de anaquel del producto.

Se recomienda evaluar la oxidación de lípidos para tener una mejor correlación entre los comporamientos por los métodos antioxidantes con la oxidación lipídica.

Se sugiere considerar la encapsulación de los bioactivos de jugo de granada para una mayor estabilidad en el producto cárnico.

Se recomienda evaluar con digestibilidad *in vitro*, la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en las diferentes etapas de digestión para evaluar su liberación de la matriz alimentaria.

REFERENCIAS

- Adams, L. S., Zhang, Y., Seeram, N. P., Heber, D. y Chen, S. 2010. Pomegranate ellagitannin–derived compounds exhibit antiproliferative and antiaromatase activity in breast cancer cells in vitro. *Cancer Prevention Research*, 3(1), 108-113.
- Afaq, F., Saleem, M., C.G., K., Reed, J. D. y Mukhtar, H. 2005. Anthocyanin and hidrolizable tannin-rich pomegranate fruit extract modulates MAPK and NF-kappaB pathways and inhibits skin tumorigenesis in CD-1 mice. *Int. J. Cancer*, 113(3), 423-433.
- Alexander, D. D., Weed, D. L., Cushing, C. A. y Lowe, K. A. 2011. Meta-analysis of prospective studies of red meat consumption and colorectal cancer. *European Journal of Cancer Prevention*, 20(4), 293-307.
- Althunibat, O. Y., Al-Mustafa, A. H., Tarawneh, K., Khleifat, K. M., Ridzwan, B. H. y Qaralleh, H. N. 2010. Protective role of *Punica granatum* L. peel extract against oxidative damage in experimental diabetic rats. *Process Biochem.*, 45(4), 581-585.
- Arihara, K. y Ohata, M. (2008). Bioactive Compounds in Meat. In F. Toldrá (Ed.), *Meat Biotechnology*: Springer New Yorkpp. 231-249.
- Aune, D., Chan, D. M., Vieira, A., Navarro Rosenblatt, D., Vieira, R., Greenwood, D., Kampman, E. y Norat, T. 2013. Red and processed meat intake and risk of colorectal adenomas: a systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Cancer Causes Control*, 24(4), 611-627.
- Ayala-Soto. (2014). *Extracto de cáscara de granada como antimicrobiano y potenciador antioxidante en germinados de alfalfa*. Maestría en Ciencias,

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México.

Babbar, N., Oberoi, H. S., Sandhu, S. K. y Bhargav, V. K. 2012. Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *Journal of Food Science and Technology*, 1-8.

Benzie, I. F. y Strain, J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239(1), 70-76.

Bhat, Z. F., Pathak, V. y Fayaz, H. 2013. Effect of refrigerated storage on the quality characteristics of microwave cooked chicken seekh kababs extended with different non-meat proteins. *Journal of food science and technology*, 50(5), 926-933.

Board, N. P. (2010). Quick facts: The pork industry at a glance Retrieved May, 25, 2014, from <http://www.pork.org/Resources/95/QuickFacts.aspx#.U4h-W3J5P3Q>

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. y Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.

Brewer, M. S. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221-247.

Caliskan, O. y Bayazit, S. 2012. Phytochemical and antioxidant attributes of autochthonous Turkish pomegranates. *Scientia Horticulturae*, 147(0), 81-88.

- Çam, M., Hışıl, Y. y Durmaz, G. 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chem.*, 112(3), 721-726.
- Campillo, N., Viñas, P., Férez-Melgarejo, G., Ochotorena, M. L. y Hernández-Córdoba, M. 2014. Determination of Phenolic Acids and Hydrolyzable Tannins in Pomegranate Fruit and Beverages by Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 1-11.
- Carne, C. M. d. I. (2009). Compendio estadístico, from www.comecarne.org
- Cofrades, S., Serrano, A., Ayo, J., Carballo, J. y Jiménez-Colmenero, F. 2008. Characteristics of meat batters with added native and preheated defatted walnut. *Food Chem.*, 107(4), 1506-1514.
- Chinprahast, N., Suwannadath, A. y Homjabok, T. 2012. Use of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf for improving oxidative stability of microwave-precooked traditional Thai pork patty and its frozen storage trial. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(10), 2165-2174.
- Decker, E. A. y Park, Y. 2010. Healthier meat products as functional foods. *Meat Science*, 86(1), 49-55.
- Devatkal, S., Narsaiah, K. y Borah, A. 2010. Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. *Meat Science*, 85(1), 155-159.
- Devatkal, S. y Naveena, B. M. 2010. Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. *Meat science*, 85(2), 306-311.
- Dubé, D. P. y Robles, G. A. 2000. Cambios de coloración de los productos cárnicos. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 14(2), 114-123.

- El-Gharably, A. M. y Ashoush, I. 2011. Utilization impact of adding pomegranate rind powder and red beet powder as natural antioxidant on quality characteristics of beef sausage. *World Journal of Dairy & Food Science*, 6(1), 86-97.
- FAO. (2007). *Meat processing technology. For small to medium scale producers*. Bangkok.
- Fernández-Ginés, J. M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E. y Pérez-Alvarez, J. A. 2005. Meat Products as Functional Foods: A Review. *J. Food Sci.*, 70(2), R37-R43.
- Fischer, U. A., Carle, R. y Kammerer, D. R. 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum L.*) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MS n. *Food Chem.*, 127(2), 807-821.
- García, Amp, x, a-Alonso, M., de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. y Rivas-Gonzalo, J. C. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chem.*, 84(1), 13-18.
- García-Alonso, K., Jacob, F. J., Ros, G. y Periago, M. J. 2010. Stability of carotenoids, phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant capacity of tomatoes during thermal processing.
- Georgé, S., Tourniaire, F., Gautier, H., Goupy, P., Rock, E. y Caris-Veyrat, C. 2011. Changes in the contents of carotenoids, phenolic compounds and vitamin C during technical processing and lyophilisation of red and yellow tomatoes. *Food Chem.*, 124(4), 1603-1611.
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. y Kader, A. A. 2000. Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *J. Agric. Food Chem.*, 48(10), 4581-4589.

- Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Lojek, A., Číž, M., Soliva-Fortuny, R., Park, Y.-S., Caspi, A., Libman, I. y Trakhtenberg, S. 2002. Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *J. Sci. Food Agric.*, 82(10), 1166-1170.
- Granatum Plus. (2014). 2014(16 de Mayo). Retrieved from <http://granatumplus.es/>
- Grasso, S., Brunton, N., Lyng, J., Lalor, F. y Monahan, F. 2014. Healthy processed meat products—Regulatory, reformulation and consumer challenges. *Trends Food Sci. Technol.*, 39(1), 4-17.
- Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D. y Hagerman, A. E. 2002. Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *J. Agric. Food Chem.*, 50(7), 1785-1790.
- Hasnaoui, N., Wathelet, B. y Jiménez-Araujo, A. 2014. Valorization of pomegranate peel from 12 cultivars: Dietary fibre composition, antioxidant capacity and functional properties. *Food Chem.*, 160, 196-203.
- Hayes, J. E., Stepanyan, V., Allen, P., O’Grady, M. N. y Kerry, J. P. 2010. Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Science*, 84(4), 613-620.
- Hayes, J. E., Stepanyan, V., Allen, P., O’Grady, M. N. y Kerry, J. P. 2011. Evaluation of the effects of selected plant-derived nutraceuticals on the quality and shelf-life stability of raw and cooked pork sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 44(1), 164-172.
- Henríquez, C., Almonacid, S., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Cabezas, L., Simpson, R. y Speisky, H. 2010. Determination of antioxidant capacity, total phenolic content and mineral composition of different fruit

tissue of five apple cultivars grown in Chile. Chilean journal of agricultural research, 70(4), 523-536.

Hui, Y. H. 2006. Ciencia y tecnología de carnes Limusa.

Hui, Y. H., Chandan, R. C., Clark, S., Cross, N. A., Dobbs, J. C., Hurst, W. J., Nollet, L. M. L., Shimoni, E., Sinha, N. y Smith, E. B. 2007. Handbook of Food Products Manufacturing John Wiley & Sons Vol. 2.

Isaza Maya, Y., Restrepo Molina, D., López Vargas, J., Ochoa González, O. y González, J. G. 2012. Capacidad antioxidante, a los 10 días de almacenamiento, de sistemas modelo de salchicha tipo frankfurt adicionadas con extracto de cereza (*prunusaviuml.*). Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela, 27(2), 21-29.

Jayathilakan, K., Sharma, G. K., Radhakrishna, K. y Bawa, A. S. 2007. Antioxidant potential of synthetic and natural antioxidants and its effect on warmed-over-flavour in different species of meat. Food Chemistry, 105(3), 908-916.

Jiménez-Colmenero, F., Herrero, A., Cofrades, S. y Ruiz-Capillas, C. (2012). Functional Foods. In Y. H. Hui (Ed.), Handbook of Meat and Meat Processing 2nd ed.: CRC Presspp. 225-248.

Jiménez-Colmenero, F. y Olmedilla-Alonso, B. 2014. Functional meat products; development and evaluation of their health-promoting properties | Alimentos cárnicos funcionales; desarrollo y evaluación de sus propiedades saludables.

Jung, E. y Joo, N. 2013. Roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) and soybean oil effects on quality characteristics of pork patties studied by response surface methodology. Meat Science, 94(3), 391-401.

- Kanatt, S. R., Chander, R. y Sharma, A. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 45(2), 216-222.
- Keşkekoğlu, H. y Üren, A. 2014. Inhibitory effects of pomegranate seed extract on the formation of heterocyclic aromatic amines in beef and chicken meatballs after cooking by four different methods. *Meat Science*, 96(4), 1446-1451.
- Kontogianni, M., Panagiotakos, D., Pitsavos, C., Chrysohoou, C. y Stefanadis, C. 2007. Relationship between meat intake and the development of acute coronary syndromes: The CARDIO2000 case–control study. *European journal of clinical nutrition*, 62(2), 171-177.
- Kosseva, M. y Webb, C. 2013. *Food Industry Wastes: Assessment and Recuperation of Commodities Elsevier Science*.
- Krueger, D. A. 2012. Composition of pomegranate juice. *J. AOAC Int.*, 95(1), 163-168.
- Kumar, D. y Tanwar, V. 2011. Effects of incorporation of ground mustard on quality attributes of chicken nuggets. *Journal of food science and technology*, 48(6), 759-762.
- Larrosa, M., González-Sarrías, A., Yáñez-Gascón, M. J., Selma, M. V., Azorín-Ortuño, M., Toti, S., Tomás-Barberán, F., Dolara, P. y Espín, J. C. 2010. Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(8), 717-725.
- Le, H. M. (2012). *Antioxidative effects of mango wastes on shelf life of pork products*. Lincoln University.

- Lee, C.-J., Chen, L.-G., Liang, W.-L. y Wang, C.-C. 2010. Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne in vitro and in vivo. *Food Chem.*, 118(2), 315-322.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. y Cheng, S. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chem.*, 96(2), 254-260.
- Mashavhathakha, K. L. 2014. Yield and quality of pomegranate on selected geographical areas in Western Cape Province, South Africa.
- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M. W., Bonham, M. P. y Fearon, A. M. 2010. Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, 84(1), 1-13.
- Meerts, I. A. T. M., Verspeek-Rip, C. M., Buskens, C. A. F., Keizer, H. G., Bassaganya-Riera, J., Jouni, Z. E., Van Huygevoort, A. H. B. M., Van Otterdijk, F. M. y Van de Waart, E. J. 2009. Toxicological evaluation of pomegranate seed oil. *Food Chem. Toxicol.*, 47(6), 1085-1092.
- Middha, S. K., Usha, T. y Pande, V. 2013. HPLC Evaluation of Phenolic Profile, Nutritive Content, and Antioxidant Capacity of Extracts Obtained from *Punica granatum* Fruit Peel. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013, 6.
- Mudau, F. N. 2015. Chemical properties, bioactive compounds, organic sugars and acids of harvested pomegranate cv. Wonderful in the Western Cape Province, South Africa.
- Naveena, B. M., Sen, A. R., Vaithiyanathan, S., Babji, Y. y Kondaiah, N. 2008. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Science*, 80(4), 1304-1308.

- Olmedilla-Alonso, B., Jiménez-Colmenero, F. y Sánchez-Muniz, F. J. 2013. Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Science*, 95(4), 919-930.
- Ortega, N., Reguant, J., Romero, M.-P., Macià, A. y Motilva, M.-J. 2009. Effect of fat content on the digestibility and bioaccessibility of cocoa polyphenol by an in vitro digestion model. *J. Agric. Food Chem.*, 57(13), 5743-5749.
- Özvural, E. B. y Vural, H. 2011. Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters. *Meat Science*, 88(1), 179-183.
- Palafox-Carlos, H., Yahia, E. M. y González-Aguilar, G. A. 2012. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chem.*, 135(1), 105-111.
- Pham, A. J., Williams, J. B., Tolentino, A. C., Silva, J. L. y Schilling, M. W. 2014. Changes in the physicochemical, microbial and sensory characteristics of fresh pork sausage containing varying combinations of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and green tea (*Camellia sinensis* L.) extracts during retail display. *Meat Science*, 96(1), 453.
- Qin, Y.-Y., Zhang, Z.-H., Li, L., Xiong, W., Shi, J.-Y., Zhao, T.-R. y Fan, J. 2013. Antioxidant effect of pomegranate rind powder extract, pomegranate juice, and pomegranate seed powder extract as antioxidants in raw ground pork meat. *Food Science and Biotechnology*, 22(4), 1063-1069.
- Qu, W., Breksa Iii, A. P., Pan, Z. y Ma, H. 2012. Quantitative determination of major polyphenol constituents in pomegranate products. *Food Chem.*, 132(3), 1585-1591.

- Rajan, S., Mahalakshmi, S., Deepa, V., Sathya, K., Shajitha, S. y Thirunalasundari, T. 2011. Antioxidant potentials of Punica granatum fruit rind extracts. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(3), 10-15.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biol. Med., 26(9), 1231-1237.
- Reddy, G. V. B., Sen, A. R., Nair, P. N., Reddy, K. S., Reddy, K. K. y Kondaiah, N. 2013. Effects of grape seed extract on the oxidative and microbial stability of restructured mutton slices. Meat Science, 95(2), 288-294.
- Reyes-Padilla, E. (2013). *Diseño y Estabilidad de un Producto Cárnico Enfocado a Preservar la Masa Muscular en Adultos Mayores*. Maestría en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
- Saad, H., Charrier-El Bouhtoury, F., Pizzi, A., Rode, K., Charrier, B. y Ayed, N. 2012. Characterization of pomegranate peels tannin extractives. Industrial Crops and Products, 40(0), 239-246.
- Salmerón-Ruiz, M. L. (2014). *Fracción indigestible, bioaccesibilidad in vitro y actividad antioxidante de compuestos fenólicos de la cáscara de aguacate cv. "Hass"*. Maestría en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México.
- Santiago, M. C. P. d. A., Gouvêa, A. C. M. S., Godoy, R. L. d. O., Borguini, R. G., Pacheco, S., Nogueira, R. I., Nascimento, L. d. S. d. M. y Freitas, S. P. 2014. Analytical standards production for the analysis of pomegranate anthocyanins by HPLC. Brazilian Journal of Food Technology, 17(1), 51-57.

- Satterlee, L. D. y Hansmeyer, W. 1974. THE ROLE OF LIGHT AND SURFACE BACTERIA IN THE COLOR STABILITY OF PREPACKAGED BEEF. *J. Food Sci.*, 39(2), 305-308.
- Saura-Calixto, F., Pérez-Jiménez, J., Touriño, S., Serrano, J., Fuguet, E., Torres, J. L. y Goñi, I. 2010. Proanthocyanidin metabolites associated with dietary fibre from in vitro colonic fermentation and proanthocyanidin metabolites in human plasma. *Mol. Nutr. Food Res.*, 54(7), 939-946.
- Savadkoohi, S., Hoogenkamp, H., Shamsi, K. y Farahnaky, A. 2014. Color, sensory and textural attributes of beef frankfurter, beef ham and meat-free sausage containing tomato pomace. *Meat Science*, 97(4), 410-418.
- Seeram, N., Adams, L. S., Henning, S. M., Niu, Y., Zhang, Y., NAir, M. G. y Heber, D. 2005. In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols as found in pomegranate juice. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(6), 360-367.
- Seeram, N., Lee, R., Hardy, M. y Heber, D. 2005. Rapid large scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Sep. Purif. Technol.*, 41(1), 49-55.
- Shukla, M., Gupta, K., Rasheed, Z., Khan, K. A. y Haqqi, T. M. 2008. Consumption of hydrolyzable tannins-rich pomegranate extract suppresses inflammation and joint damage in rheumatoid arthritis. *Nutrition*, 24(7), 733-743.
- Singh, S. y Immanuel, G. 2014. Extraction of antioxidants from fruit peels and its utilization in paneer. *Journal of Food Processing and Technology*, 5(7).

- Singleton, V. L. y Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Smith, B. G. y Harris, P. J. 2001. Ferulic acid is esterified to glucuronarabinoxylans in pineapple cell walls. *Phytochemistry*, 56(5), 513-519.
- Sogi, D. S., Siddiq, M., Greiby, I. y Dolan, K. D. 2013. Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of 'Tommy Atkins' mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chem.*, 141(3), 2649-2655.
- Tarté, R. 2009. *Ingredients in Meat Products: Properties, Functionality and Applications* Springer New York.
- Tezcan, F., Gültekin-Özgüven, M., Diken, T., Özçelik, B. y Erim, F. B. 2009. Antioxidant activity and total phenolic, organic acid and sugar content in commercial pomegranate juices. *Food Chem.*, 115(3), 873-877.
- Toldra, F. y Reig, M. 2011. Innovations for healthier processed meats. *Trends Food Sci. Technol.*, 22(9), 517-522.
- U.S. Department of Agriculture, U. S. (2010). *Dietary guidelines for Americans*.
- Ullah, N., Ali, J., Khan, F. A., Khurram, M., Hussain, A. y Rahman, I. 2012. Proximate Composition, Minerals Content, Antibacterial and antifungal Activity Evaluation of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peels Powder. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 11(3), 396-401.
- Vaithyanathan, S., Naveena, B., Muthukumar, M., Girish, P. y Kondaiah, N. 2011a. Effect of dipping in pomegranate (*Punica granatum*) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 C). *Meat science*, 88(3), 409-414.

- Vaithyanathan, S., Naveena, B. M., Muthukumar, M., Girish, P. S. y Kondaiah, N. 2011b. Effect of dipping in pomegranate (*Punica granatum*) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 °C). *Meat Science*, 88(3), 409-414.
- Valenzuela-Melendres, M., Torrentera-Olivera, N. G., Gonzalez-Aguilar, G., Villegas-Ochoa, M., Cumplido-Barbeitia, L. G. y Camou, J. P. 2014. Use of Avocado and Tomato Paste as Ingredients to Improve Nutritional Quality of Pork Frankfurter. *Journal of Food Research*, 3(3), p132.
- Vitaglione, P., Napolitano, A. y Fogliano, V. 2008. Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends Food Sci. Technol.*, 19(9), 451-463.
- Viuda-Martos, M., Fernández-López, J. y Pérez-Álvarez, J. A. 2010. Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6), 635-654.
- Wang, Y. y Beydoun, M. A. 2009. Meat consumption is associated with obesity and central obesity among US adults. *Int. J. Obesity*, 33(6), 621-628.
- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I. y Whittington, F. M. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78(4), 343-358.
- Wrolstad, R. E. (2005). Anthocyanins. In G. J. Lauro & F. J. Francis (Eds.), *Natural food colorants* New York: Basel, Marcel Dekker, Inc. pp. 237-252.
- Yildiz, H., Sengul, M., Cetin, B., Karatas, N., Ercisli, S., Okcu, Z., Dzubur, A. y Hadziabulic, S. 2014. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Sour Sauce Extracts. *Comptes Rendus De L Academie Bulgare Des Sciences*, 67(1), 145-156.

- Zahin, M., Aqil, F. y Ahmad, I. 2010. Broad spectrum antimutagenic activity of antioxidant active fraction of Punica granatum L. peel extracts. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 703(2), 99-107.
- Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E. J. y Ahn, D. U. 2010. Improving functional value of meat products. Meat Science, 86(1), 15-31.
- Zhao, X., Yuan, Z., Yin, Y. y Feng, L. 2015. Patterns of Pigment Changes in Pomegranate (Punica granatum L.) Peel during Fruit Ripening.