



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

**EFECTO DEL MÉTODO DE COCCIÓN SOBRE LA
ESTABILIDAD OXIDATIVA DURANTE EL
ALMACENAMIENTO Y DIGESTIÓN *In vitro* DE
HAMBURGUESAS DE RES ADICIONADAS CON ORUJO DE
UVA**

Por:

MITZI ADRIANA PIÑEIRO NAVARRO

TESIS APROBADA POR LA

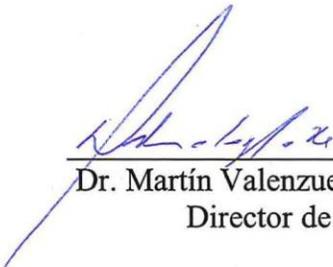
COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

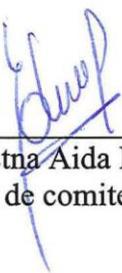
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Mitzi Adriana Piñeiro Navarro, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias.



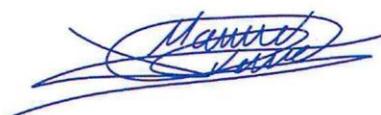
Dr. Martín Valenzuela Melendres
Director de tesis



Dr. Humberto González Ríos
Integrante de comité de tesis



Dra. Etna Aida Peña
Integrante de comité de tesis



Dr. Manuel Viuda Martos
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Efecto del Método de Cocción sobre la Estabilidad Oxidativa Durante el Almacenamiento y Digestión *In vitro* de Hamburguesas de Res Adicionadas con Orujo de Uva" 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 de la autora Mitzi Adriana Piñeiro Navarro, siempre y cuando se dé crédito conespondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección 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 director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Graciela Calre Juvera", is written over a horizontal line.

Dra. Graciela Calre Juvera
Directora General

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) por el apoyo prestado durante el posgrado.

De igual forma agradezco al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), por las enseñanzas impartidas, así como al laboratorio LACYTEC por el apoyo brindado para la realización del experimento, principalmente al Dr. Martin Valenzuela por su guía y apoyo a lo largo de la maestría, le agradezco haber creído en mí y no dejarme desistir.

Agradezco a mi compañera de laboratorio Martha Vázquez por el apoyo en el laboratorio, por las experiencias, risas, lagrimas compartidas en las largas horas que pasamos en el laboratorio, fue una gran experiencia gracias a la buena compañía.

Un especial agradecimiento a Salma Enríquez por su apoyo en el laboratorio y junto con Norma Felix mostrarme la vida en Sonora, dónde compartimos experiencias increíbles, buenas y malas, hicieron estos años muy felices.

El mayor agradecimiento a mi familia mi mamá Adriana, mi abuela Rosario y mis hermanos Tania y Sergio por apoyarme incondicionalmente e impulsarme a seguir adelante. Gracias por creer en mí y hacerme sentir su amor aún en la distancia.

Agradezco a mis amigas Karina y Olivia por estar presente, siempre las llevaré en mi corazón.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis con gran admiración a mi mamá, por su apoyo incondicional y el ejemplo de perseverancia que ha demostrado al perseguir sus estudios de posgrado. A mis hermanos Tania y Sergio por su apoyo incondicional, sus palabras de aliento y creer en mí aún cuando yo flaqueara. Su amor incondicional me ha impulsado en el camino para conseguir este objetivo.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
CONTENIDO	6
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE CUADROS	9
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES	14
2.1. Productos Cárnicos Listos para Consumir	14
2.2. Efecto de la Cocción en la Carne.....	15
2.3. Impacto de los Métodos de Cocción en la Calidad de la Carne y en la Oxidación de Lípidos y Proteínas	15
2.4. Riesgos a la Salud por la Oxidación de Lípidos y Proteínas en Carne	17
2.4.1. Causas de la Oxidación.....	17
2.4.2. Consecuencias de la Oxidación Lipídica y Proteica en la Calidad de la Carne.....	19
2.4.3. Consecuencias de la Oxidación Lipídica y Proteica para la Salud	20
2.5. Estudios de Digestión <i>In vitro</i> en la Oxidación de Lípidos	20
2.6. Carne y Productos Cárnicos Funcionales.....	22
2.7. Utilización de Antioxidantes en Carne	23
2.8. Orujo de Uva como Alternativa de Antioxidante en Carne	25
2.8.1. Impacto Ambiental del Desperdicio de Subproductos del Vino.....	25
2.8.2. Composición Nutricional y Compuestos Fenólicos del Orujo de Uva	26
2.8.3. Beneficios y Aplicación de los Subproductos de Uva en la Carne	27
3. HIPÓTESIS	30
4. OBJETIVOS	31
4.1. Objetivo General.....	31
4.2. Objetivos Específicos.....	31
5. MATERIALES Y MÉTODOS	32
5.1. Diseño Experimental.....	32
5.2. Obtención y Preparación de la Materia Prima.....	32
5.3. Evaluación de la Calidad Inicial de Hamburguesas de Res	33
5.3.1. Análisis Proximal	33
5.3.2. Pérdida de Peso por Cocción	34

CONTENIDO (continuación)

5.3.3. Porcentaje de Encogimiento	34
5.4. Evaluación de la calidad de Hamburguesas de Res a través del Tiempo de Almacenamiento	34
5.4.1. Color Instrumental.....	34
5.4.2. pH.....	35
5.4.3. Análisis de Perfil de Textura.....	35
5.4.4. Oxidación de Lípidos	36
5.4.5. Extractos para Determinación de Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante	36
5.4.6. Fenoles Totales.....	37
5.4.7. Capacidad Antioxidante.....	37
5.4.7.1. Inhibición de radical DPPH.....	37
5.4.7.2. FRAP.....	37
5.5. Digestión Gastrointestinal <i>In vitro</i>	38
5.5.1. Fase Oral.....	38
5.5.2. Fase Gástrica	38
5.5.3. Fase Intestinal	39
5.6. Análisis Estadístico.....	39
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
6.1. Composición Proximal, Pérdida de Peso por Cocción y Porcentaje de Encogimiento	40
6.1.1. Composición Proximal	40
6.1.2. Pérdida de Peso por Cocción y Porcentaje de Encogimiento	41
6.2. Evaluación de la Calidad de Hamburguesas de Res Almacenadas en Refrigeración.....	44
6.2.1. Color Instrumental.....	44
6.2.2. Determinación de pH.....	46
6.2.3. Análisis de Perfil de Textura.....	48
6.2.4. Determinación de Oxidación Lipídica.....	51
6.3. Fenoles Totales, Capacidad Antioxidante y Oxidación de Lípidos Durante la Digestión <i>In vitro</i>	53
6.3.1. Fenoles Totales.....	53
6.3.2. Capacidad Antioxidante.....	55
6.3.3. Oxidación Lipídica después de la Digestión <i>in vitro</i>	57
7. CONCLUSIONES.....	60
8. REFERENCIAS	61

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Pérdida de peso por cocción de hamburguesas de res adicionadas con orujo de uva (<i>Ou</i>) y cocinadas por diferentes métodos de cocción (<i>Mt</i>).....	42
2	Porcentaje de encogimiento de hamburguesas de res adicionadas con orujo de uva (<i>Ou</i>) y cocinadas por diferentes métodos de cocción (<i>Mt</i>).....	43
3	Oxidación de lípidos durante el almacenamiento de hamburguesas de res cocinadas por los métodos (<i>Mt</i>) de plancha (<i>PL</i>), aire caliente (<i>AC</i>) y horno de microondas (<i>HM</i>) preparadas con o sin orujo de uva (<i>OU</i>).....	51
4	Contenido de fenoles totales en las etapas de la digestión (<i>Et</i>) de hamburguesas de res cocinadas por los métodos (<i>Mt</i>) de plancha (<i>PL</i>), aire caliente (<i>AC</i>) y horno de microondas (<i>HM</i>) preparadas con o sin orujo de uva (<i>OU</i>).....	54
5	Capacidad antioxidante medida por los métodos de DPPH (A) y FRAP (B) en las etapas de la digestión (<i>Et</i>) de hamburguesas de res cocinadas por los métodos (<i>Mt</i>) de plancha (<i>PL</i>), aire caliente (<i>AC</i>) y horno de microondas (<i>HM</i>) preparadas con o sin orujo de uva (<i>OU</i>).....	56
6	Figura 6. Oxidación lipídica (TBA) en las etapas de la digestión (<i>Et</i>) de hamburguesas de res cocinadas por los métodos (<i>Mt</i>) de plancha (<i>PL</i>), aire caliente (<i>AC</i>) y horno de microondas (<i>HM</i>) preparadas con o sin orujo de uva (<i>OU</i>).....	58

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Análisis proximal de hamburguesas de res adicionadas con orujo de uva y cocinadas por los métodos de plancha, horno de microondas y aire caliente.....	41
2	Efectos del método de cocción y adición de orujo de uva sobre el color instrumental (L^* , a^* y b^*) de hamburguesas de res a través del tiempo de almacenamiento.....	45
3	Efectos principales e interacciones entre los factores método de cocción (Mt), orujo de uva (Ou) y día de almacenamiento ($Día$) de hamburguesas de res.....	45
4	Efectos del método de cocción (Mt) y adición de orujo de uva (Ou) sobre el pH de las hamburguesas de res a través del tiempo de almacenamiento ($Día$).....	47
5	Efectos del método de cocción y adición de orujo de uva sobre las propiedades de textura de hamburguesas de res a través del tiempo de almacenamiento.....	49
6	Efectos principales e interacciones entre los factores método de cocción (Mt), orujo de uva (Ou) y día de almacenamiento ($Día$) de hamburguesas de res.....	49

RESUMEN

La preparación de hamburguesas puede ser por calor directo en plancha (PL), microondas (HM) o aire caliente (AC), variando las temperaturas y tiempos de exposición para alcanzar su cocción. Esto puede ocasionar cambios diferenciados en la calidad del producto, incluyendo la oxidación de lípidos. Adicionalmente, cuando el alimento es consumido, durante su paso por el tracto gastrointestinal se enfrenta a un ambiente prooxidante, promovido por la presencia de enzimas digestivas, iones metálicos como el hierro, oxígeno reactivo y el bajo pH del estómago lo que promueve también la oxidación de lípidos. Para prevenirla, el uso de subproductos como el orujo de uva (OU) puede ser una buena alternativa; sin embargo, su incorporación en la formulación cárnica puede afectar también la calidad fisicoquímica del alimento. El objetivo del presente estudio fue evaluar el impacto de la adición de OU en hamburguesas de res para la conservación de la calidad y la prevención de la oxidación lipídica generada por la cocción por plancha, microondas, aire caliente y durante la digestión *in vitro*. Se elaboraron hamburguesas para evaluar el efecto del método de cocción (PL, HM, AC) y la adición de OU (0 y 1%), sobre el color instrumental, análisis de perfil de textura, pérdida de peso por cocción (PPC), porcentaje de encogimiento (PE) y oxidación lipídica, así como análisis proximal, determinación de fenoles totales y capacidad antioxidante. La adición de OU disminuyó ($p < 0.05$) la PPC, los valores a^* y b^* y los parámetros de textura, independientemente del método de cocción. Por otro lado, la cocción por PL produce una menor ($p < 0.05$) PPC y PE, en comparación con HM y AC. La adición de OU incrementó el contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante y retardó la oxidación lipídica ($p < 0.05$) durante el almacenamiento refrigerado del producto y después de la digestión *in vitro*. Sin embargo, al final del almacenamiento en las muestras sin orujo de uva, los niveles de oxidación en el alimento cocinado en AC fueron mayores que los mostrados con PL y HM, así como después de la digestión, lo que podría tener un impacto en la salud. El orujo de uva es un ingrediente con potencial de ser utilizado en hamburguesas de res para disminuir la oxidación de lípidos generada por el almacenamiento en refrigeración y por el ambiente prooxidativo durante el proceso de digestión.

Palabras clave: Oxidación de lípidos, hamburguesa, orujo de uva, digestión *in vitro*, calidad de alimentos.

ABSTRACT

Beef patties can be cooked by direct heat in a grill (GL), microwave (MW), or hot air (HA), exposing the product at different temperatures and time to achieve cooking. These variations contribute to different changes in product quality, including lipid oxidation. Additionally, when cooked meat product is consumed, it is exposed to a prooxidant environment throughout the gastrointestinal tract, promoted by the presence of digestive enzymes, metal ions such as iron, reactive oxygen substances, and the low pH of the stomach, which also promotes lipid oxidation. Using by-products such as grape pomace (GP) can be a good alternative to prevent lipid oxidation; however, its incorporation in meat formulation may also affect its physicochemical quality. The objective of the present study was to evaluate the effect of adding GP in beef patties on their physicochemical quality and lipid oxidation after *in vitro* digestion. The cooking treatments were: 1) GL, 2) MW, 3) HA, 4) GL+ 1% GP, 5) MW+ 1% GP, 6) HA+ 1% GP. Instrumental color, texture profile analysis, cooking weight loss (WL), percent shrinkage (SP), lipid oxidation, proximate analysis, and determination of total phenols and antioxidant capacity were measured. The addition of GP decreased ($p < 0.05$) WL, a^* and b^* values, and texture parameters, regardless of the cooking method.

On the other hand, GL cooking produced lower ($p < 0.05$) WL and SP compared to MW and HA. GP addition increases total phenol content, antioxidant capacity and retards lipid oxidation ($p < 0.05$) during refrigerated storage or when the product is consumed. However, at end of storage, oxidation levels for samples without GP were higher in samples cooked by HA than those in GP and MW, as well as after digestion, which could impact health. Grape pomace is an ingredient with the potential to be used in beef patties to decrease lipid oxidation generated during cold storage and by the prooxidative environment during the digestion process.

Key words: lipid oxidation, beef patties, grape pomace, *in vitro* digestion, food quality.

1. INTRODUCCIÓN

El estilo de vida acelerado de la sociedad actual impacta en los hábitos de consumo de los alimentos debido al poco tiempo dedicado para su elaboración; derivado de ello, se buscan formas más rápidas y sencillas para cocinarlos. Los métodos más utilizados para cocinar son el sartén o plancha, horno, vapor (agua) y el microondas, así como una nueva tecnología que cada vez es más asequible, la freidora de aire caliente, que adicionalmente brinda a los alimentos la percepción de ser más saludables. Por otro lado, la carne a pesar de ser una excelente fuente de proteína, minerales, lípidos y vitaminas (Olmedilla-Alonso & Jiménez-Colmenero, 2014), es vista con recelo por un sector de la población pues su consumo se ha relacionado a una mayor probabilidad de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer, por lo que se buscan alternativas que mejoren su percepción. Una de ellas es incorporar ingredientes con propiedades bioactivas, que favorezcan tanto a la calidad de la carne como su percepción por el consumidor.

La cocción de la carne es indispensable para su consumo, afectando el color, mejora el sabor y textura; además, aumenta la biodisponibilidad de nutrientes (Hur *et al.*, 2014). Sin embargo, dependiendo del método de cocción que se utilice, tiene un impacto distinto en la calidad de la carne y posiblemente en la biodisponibilidad de nutrientes, debido a que la transferencia de calor es diferente dependiendo del método de cocción utilizado. Por ejemplo, la plancha o sartén utilizan la conducción, el microondas la radiación, y el horno, al igual que el freído en aire caliente, utilizan la convección.

Es indispensable considerar la oxidación al estudiar la calidad de la carne cocinada, debido a que produce características indeseables en ella como la decoloración, defectos en la textura, cambios en la funcionalidad de la proteína, peroxidación de lípidos y un aspecto que cada vez es más estudiado son los cambios en su digestibilidad (Serra *et al.*, 2021). Factores como la exposición al calor, tiene un impacto considerable en la oxidación de lípidos y proteínas del alimento afectando a su vez a la calidad y estabilidad durante el almacenamiento. Así mismo, durante la digestión, el alimento se expone a un ambiente prooxidante como un bajo pH del estómago, iones metálicos (hierro), enzimas digestivas, adicional al oxígeno reactivo presente en el alimento (Larsson *et al.*, 2012). Todo ello promueve la formación de especies químicas de oxígeno (ERO) y peróxido de hidrógeno (ROO), causando el estrés oxidativo y dañando a sustratos oxidables como proteína y

ADN, promoviendo el desarrollo de enfermedades crónicas y aquellas relacionadas con el envejecimiento como Alzheimer y Parkinson (Falowo *et al.*, 2014; Domínguez *et al.*, 2019).

Por lo anterior, es importante retardar el proceso de oxidación desde la preparación de los alimentos y una de las estrategias nuevas que se encuentra en estudio, es la incorporación de ingredientes con alto contenido de compuestos fenólicos, como los provenientes de los subproductos de las frutas (Manassis *et al.*, 2020). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la incorporación de estos ingredientes tiene un impacto en la calidad fisicoquímica, sensorial y nutricional de la carne. Un subproducto de gran interés es el proveniente del proceso de vinificación, el orujo de uva formado por piel, tallo y semilla. Su producción puede tener consecuencias ambientales si no es aprovechado (Beres *et al.*, 2017). Se estima que, por cada 100 kg de uva de vinificación, se produce entre 20 y 25 kg de orujo de uva, lo cual equivale aproximadamente entre 5 y 9 millones de toneladas al año a nivel mundial (Camou *et al.*, 2018). Así mismo, el orujo de uva tiene una alta capacidad antioxidante y un alto contenido de compuestos fenólicos, como flavonoides (kaemferol), antocianinas (malvidina) y uno de los más conocidos el resveratrol, del grupo de estilbenos (Camou *et al.*, 2018). Por estas características, el orujo de uva es un ingrediente con alto potencial de ser utilizado en formulaciones cárnicas.

Estudios previos, como el realizado por Bambeni *et al.* (2021) observaron una mayor reducción de la oxidación con la adición de extracto de orujo de naranja y orujo de uva. Resultados, que coinciden con los obtenidos por Ramírez (2021) al añadir pasta de tomate a la carne, quien pudo observar una mayor oxidación con la cocción por microondas y horno en comparación con la plancha, adicionalmente una menor oxidación al añadir este ingrediente en comparación con las que no fueron adicionadas. A pesar de haberse estudiado anteriormente los distintos métodos de cocción, las investigaciones sobre la cocción en la freidora de aire caliente son muy recientes, hace falta más investigación sobre su impacto en la oxidación lipídica en las hamburguesas de res. De igual forma, aunque el orujo es reconocido y estudiado por su aporte de antioxidantes, es importante continuar buscando alternativas para el aprovechamiento de este subproducto, ya que al tener un pH bajo y un alto contenido de fenoles puede llegar a tener un impacto negativo en el ambiente. Es por ello por lo que en la presente investigación se propone la adición del orujo de uva en hamburguesas de res cocinadas por distintos métodos de cocción: plancha, microondas y aire caliente, para determinar su efecto en la calidad y la oxidación de lípidos. Así como, el efecto del método de cocción y la adición de orujo de uva durante la digestión *in vitro*.

2. ANTECEDENTES

2.1. Productos Cárnicos Listos para Consumir

El estilo de vida actual de las personas con poco tiempo disponible para sus actividades diarias busca la comodidad y la reducción del tiempo para la preparación de los alimentos, es por ello por lo que el consumo de alimentos precocinados a base de carne ha aumentado. Gracias a que es fácil de envasar y no requiere una cocción adicional para que su consumo sea seguro, además a su aporte energético y su contenido bajo de humedad, favorece a su estabilidad durante el tiempo de almacenamiento prolongado (Wazir *et al.*, 2019). El interés por mejorar la vida en los consumidores en la mayoría de los países al ofrecer una variedad de formas de selección de alimentos continúa aumentando. La dieta no es el único factor que influye en el bienestar y la salud del consumidor, pero sigue siendo un factor importante. Un sector importante de la población ha tomado conciencia sobre los problemas de salud, y como consecuencia ha aumentado la demanda de artículos manufacturados más saludables. Los científicos de la alimentación se están interesando más en investigar cómo proporcionar artículos seguros y saludables de una calidad deseada por la mayoría de los consumidores (Al-Shibli *et al.*, 2022).

La carne y sus productos son de los componentes más significativos de la dieta humana, ya que aportan proteínas, lípidos, vitaminas y minerales, lo cual ha contribuido al aumento de su consumo. Sin embargo, este consumo se ve afectado por muchos factores como el sabor, las características nutricionales e higiénicas del producto final. Así como, el costo y los factores de consumo y ambientales como condiciones psicológicas, sanitarias, familiares, educativas y económicas (Al-Shibli *et al.*, 2022). La carne se cocina para conseguir productos apetitosos y seguros y, por tanto, aceptables para su consumo. Se aplica calor a la carne siguiendo diferentes procedimientos para mejorar su calidad higiénica, potenciar su sabor, aroma y aumentar su vida útil (Dominguez *et al.*, 2014). Por su composición biológica y química, la carne es un alimento percedero afectada por factores como la temperatura, el oxígeno atmosférico, las enzimas endógenas, la humedad, la luz y los microorganismos. Tanto la carne fresca como la procesada son los productos más percederos y fácilmente propensos a deteriorarse, manifestándose en cambios en su composición, y cambios en el color, la textura, el olor y el sabor (Al-Shibli *et al.*, 2022).

2.2. Efecto de la Cocción en la Carne

La cocción es un proceso indispensable para el consumo de la carne, contribuye a la producción de un sabor característico agradable y terneza, así mismo disminuye la carga microbiana, por lo que puede promover su inocuidad y alargar la vida de anaquel. Sin embargo, contribuye a una disminución del valor nutricional de la carne al reducir algunos componentes importantes como vitaminas. Por otro lado, disminuye el contenido de humedad, desnaturaliza las proteínas musculares y cambia la estructura del tejido miofibrilar y conectivo, favoreciendo a la terneza de la carne (Abdel-Naeem *et al.*, 2021). Además, la cocción promueve la oxidación de lípidos, provocando olor rancio, pérdida de valor nutritivo, deterioro de la textura y acumulación de compuestos tóxicos como el malondialdehído, un potente mutágeno y/o carcinógeno. A diferencia de las carnes crudas, en las que la oxidación lipídica se produce a lo largo de días o semanas, estas reacciones se producen rápidamente en las carnes cocinadas, de forma que los ácidos oxidados son detectables horas después de la cocción. El sabor oxidado se denomina rancio, acartonado o rancio, y se conoce como sabor "recalentado" (WOF, por sus siglas en inglés), que suele aparecer entre 4 y 48 h después del recalentamiento (Villalobos-Delgado *et al.*, 2020).

Este deterioro de la calidad se acumula durante el almacenamiento y afecta negativamente a la comercialización y a la aceptación de estos productos por parte de los consumidores. Así pues, es necesario investigar en profundidad para comprobar el efecto de los distintos métodos de cocción en los productos cárnicos antes de su aplicación industrial (Song *et al.*, 2022).

2.3. Impacto de los Métodos de Cocción en la Calidad de la Carne y en la Oxidación de Lípidos y Proteínas

La aplicación de un tratamiento térmico como la cocción a pesar de ser esencial para tener un producto sabroso e inocuo, ya que durante este proceso se generan sustancias volátiles que dan sabor y olor a los alimentos cocinados, puede provocar modificaciones indeseables. Por ejemplo, disminución del aporte nutrimental, modificaciones oxidativas de las proteínas provocando menor digestibilidad, así como cambios en la composición de ácidos grasos (Gruffat *et al.*, 2021). La

pérdida del valor nutricional de la carne se puede atribuir principalmente a la formación de productos de oxidación del colesterol (Hur *et al.*, 2014). Por lo anterior, se ha establecido que los cambios en la calidad de la carne durante la cocción se relacionan con la temperatura y los tiempos de cocción, debido a que la exposición prolongada a altas temperaturas genera productos altamente oxidados (Gruffat *et al.*, 2021).

En el estudio realizado por Hur *et al.* (2014) realizaron la comparación del contenido total de lípidos de las carnes en crudo y cocinada, en la cual observaron ganancia en las concentraciones de lípidos totales (100 g de producto inicial). Estas ganancias se atribuyen a la pérdida de humedad de la carne a través de la cocción, que varía según los métodos de cocción (temperatura, tiempo de cocción, calor húmedo) y del contenido de grasa de la carne. Así mismo, observaron que la digestibilidad de los lípidos totales fue significativamente mayor en las muestras cocinadas con microondas. Por su parte, en las hamburguesas al sartén la digestibilidad de los lípidos totales fue significativamente menor en comparación con las cocinadas con los otros métodos. De la misma forma, las hamburguesas cocinadas en microondas mostraron un contenido de ácidos grasos libres significativamente mayor tras la digestión *in vitro* que las cocinadas al sartén o hervido. Por lo que concluyen, que todos los métodos de cocción dieron lugar a un aumento de los niveles de ácidos grasos libres en las muestras digeridas. Con este estudio, se observa que, según el método de cocción, tendrán un impacto diferente en la digestibilidad de la carne.

Así mismo, se debe considerar que dependiendo el método de cocción que se utilice, es el impacto que puede tener en la calidad de la carne, debido a la forma de transferencia de calor, un factor importante que puede afectar la calidad de la carne influyendo de forma negativa es la oxidación lipídica. Los métodos comúnmente utilizados para la cocción de hamburguesas son la plancha, asador, horno de convección y horno de microondas. Por su parte la plancha o sartén utilizan la transferencia de calor por medio de conducción desde la superficie al interior del alimento, el microondas, funciona por radiación a través de ondas electromagnéticas, y el horno, al igual que el cocimiento en aire caliente, utilizan la convección a través de la circulación de aire caliente alrededor del alimento.

Por otro lado, un estudio realizado por Domínguez *et al.* (2014b), en el que evaluaron diferentes procedimientos de cocción (asado, asado a la parrilla, microondas y freído en aceite), en filetes de carne de caballo, pudieron observar que el freído y el asado tienen menor impacto en la oxidación de lípidos, en comparación con los otros métodos; así mismo el microondas es el que causa mayor

impacto en la oxidación de lípidos. De igual manera, los autores establecieron que a medida que aumenta la temperatura de cocción, hay mayor formación de compuestos volátiles (aldehídos y alcanos). Finalmente, para el consumo de carne molida con buenas cualidades nutricionales, se debe tener un producto bajo en grasa (principalmente saturada), un almacenamiento que conserve la calidad y limite su oxidación, y al cocinarlas usar tiempos de cocción cortos (Kim & Hur, 2018). Gracias a la información anterior, se aprecia la relación entre el proceso de cocción y la oxidación de lípidos; sin embargo, se debe profundizar con estudios que permitan vislumbrar las condiciones de cocción que promueva el cuidado de la calidad del alimento.

2.4. Riesgos a la Salud por la Oxidación de Lípidos y Proteínas en Carne

La oxidación lipídica y proteica tiene efectos potenciales de perjuicio no solo para la calidad de la carne, sino también para la salud de los consumidores; los productos de oxidación se forman y van acumulándose en los alimentos durante su procesamiento y almacenamiento, así mismo durante la ingesta al exponerse al tracto gastrointestinal. Es por ello por lo que se vuelve indispensable entender que ocasiona la oxidación para buscar alternativas tecnológicas o de formulación para prevenirla o reducir su impacto, tanto para la calidad de la carne como para la salud de los consumidores.

2.4.1. Causas de la Oxidación

La oxidación de lípidos es un proceso complejo, que incluye múltiples mecanismos que interactúan entre sí, de forma general los ácidos grasos insaturados reaccionan con el oxígeno molecular mediante un mecanismo de radicales libres. Derivado de esta reacción, se producen los primeros productos de la oxidación, los hidroperóxidos, que se descomponen y producen compuestos secundarios como hidrocarburos, aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres y ácidos, los cuales provocan malos olores y sabores. Por su parte, los procesos de oxidación pueden darse por tres

mecanismos: autooxidación, oxidación enzimática-catalizada y foto-oxidación. De esta forma, la autooxidación, es el mecanismo más común de oxidación lipídica en la carne; consiste en una reacción en cadena continua de radicales libres, la cual consta de tres fases. La primera es iniciación, fase en la cual se presenta la producción de radicales libres; la propagación donde se multiplican los compuestos reactivos, y la terminación, donde los compuestos reactivos se degradan o reaccionan entre sí produciendo compuestos no reactivos. Es necesario considerar que la estabilidad oxidativa de la carne depende del equilibrio de los compuestos antioxidantes y prooxidantes (Domínguez *et al.*, 2019).

Así mismo, hay varios aspectos que pueden influir en la oxidación de los lípidos, que pueden ser intrínsecos o extrínsecos a la carne. Por ejemplo, dentro de los parámetros intrínsecos se encuentra la composición de ácidos grasos, los cuales actúan como sustrato para el desarrollo de la oxidación. De igual manera, el contenido de compuestos prooxidantes como hemoproteínas, metales, enzimas prooxidantes, al igual que compuestos antioxidantes como vitaminas, enzimas antioxidantes y péptidos, los cuales influyen en el desarrollo de la oxidación. Adicionalmente, factores como el tipo de músculo, la especie o raza, el sistema de cría, localización anatómica y la dieta que reciben los animales influyen en el proceso de oxidación debido a que modifican significativamente la composición lipídica de la carne (Domínguez *et al.*, 2019).

Por otro lado, dentro de los factores extrínsecos se consideran las condiciones de almacenamiento, ya que tienen un gran impacto en la promoción de la oxidación de lípidos, debido a que los factores como la temperatura, la luz y oxígeno la pueden aumentar. Así mismo, los procesos de corte, deshuesado, trituración o la cocción aceleran el desarrollo de la oxidación lipídica. De forma general, se puede afirmar que todos los procesos que causan la disrupción de la membrana de las células musculares promueven reacciones oxidativas, derivado de la liberación de fosfolípidos que la componen. Además, los procesos de corte, deshuesado o molido de la carne aumenta la superficie de contacto y su exposición al oxígeno y otros compuestos prooxidantes, aumentando la probabilidad de oxidación. Todas estas condiciones descritas, impactan la vida útil de la carne la cual está determinada por el momento en que el consumidor es capaz de detectar los cambios sensoriales en el producto, incluyendo el sabor, textura, color y olor, muchos de ellos derivados de la oxidación de los lípidos (Estévez *et al.*, 2017).

De igual forma, hay otros factores externos que pueden incrementar la oxidación; por ejemplo, el tiempo y la temperatura de almacenamiento, favorecen el contacto entre los sustratos y oxígeno.

Sumado, la descomposición de los hidroperóxidos, aumentan con el incremento de la temperatura, así como temperaturas bajas en congelación y las posibles fluctuaciones que sufre, por la formación de cristales y el rompimiento de la membrana celular de las células musculares. Por su parte, durante la descongelación puede ocurrir la oxidación lipídica, la cual se ve influida por la velocidad en que se realice. La reducción del tiempo de almacenamiento favorece a la formación de menos exudado y capacidad de retención de agua, provocando una disminución de la alteración de la estructura de la fibra muscular. Por otro lado, el aumento en el tiempo de almacenamiento aumenta la posibilidad de que los radicales libres causen daños a los lípidos, así como favorecer a la liberación de hierro y hemoproteínas que actúan como catalizadores (Estévez *et al.*, 2017). Por todo ello, es indispensable buscar estrategias tecnológicas, químicas o de reformulación que favorezcan a la prevención de los procesos de deterioro de la carne.

2.4.2. Consecuencias de la Oxidación Lipídica y Proteica en la Calidad de la Carne

Productos derivados de la oxidación de lípidos, incluyendo los radicales libres inducen la oxidación de proteínas, provocando cambios fisicoquímicos y disminución del valor nutritivo de la carne y productos cárnicos. Como consecuencia de la oxidación, puede darse la degradación de aminoácidos, disminución de solubilidad de las proteínas, inactivación de enzimas y alteración en la digestibilidad de proteínas. Así mismo, la oxidación de proteínas puede provocar cambios indeseables en las propiedades de los productos cárnicos, como la decoloración, olores y sabores extraños, defectos en la textura y pérdida del valor nutricional. Adicionalmente, aumenta la hidrofobicidad en la superficie, provocando mayor susceptibilidad de las proteasas, lo que a su vez perjudica la ternura de la carne. Por su parte, los radicales libres y grupos aldehídos, generados por la oxidación de los lípidos, se combinan covalentemente con los residuos de las proteínas, causan cambios en su solubilidad, funcionalidad, digestibilidad, emulsión y capacidad de retención de agua (Estévez, 2021).

2.4.3. Consecuencias de la Oxidación Lipídica y Proteica para la Salud

Los productos de oxidación tanto de los lípidos como de las proteínas se acumulan en los alimentos durante su procesamiento y almacenamiento, así como en el momento de la ingesta y durante las fases posteriores de la digestión, exponiendo al tracto gastrointestinal a condiciones de estrés oxidativo (Estévez *et al.*, 2017). La evidencia científica muestra el impacto que tienen las proteínas y lípidos oxidados de la dieta sobre la alteración de la flora intestinal y la subsecuente generación de condiciones patológicas derivado de la exposición del tracto gastrointestinal y los órganos internos al potencial citotóxico y mutagénico de estas especies (Xiong & Foegeding, 2015; Estévez *et al.*, 2017). Es por ello por lo que se debe estudiar a profundidad estos procesos y el impacto en la salud de los consumidores, así como buscar alternativas para su prevención.

La ingesta de alimentos oxidados se ha asociado a condiciones como el envejecimiento y enfermedades relacionadas con la edad como alzhéimer, párkinson, inflamación del intestino, artritis reumatoide, diabetes, distrofia muscular y cataractogenesis (Estévez *et al.*, 2017). Por otro lado, los péptidos oxidados pueden inducir el deterioro de la homeostasis y toxicidad celular en diferentes mecanismos, por ejemplo, por modificación oxidativa postraducciona, fuentes externas, como los alimentos por la síntesis de *novo*. Sumado a estos factores, se ha establecido anteriormente, que la absorción de aminoácidos oxidados no naturales como la meta-tirosina o la 3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), dan lugar a proteínas disfuncionales, teniendo un efecto tóxico (Estévez, 2021). Es por ello, que se debe tener presente los procesos de oxidación de un producto cárnico en todo momento de la elaboración hasta su almacenamiento para prevenir que estos compuestos tóxicos sean consumidos.

2.5. Estudios de Digestión *In vitro* en la Oxidación de Lípidos

Una de las principales estrategias para inhibir la oxidación de lípidos ha sido la adición de antioxidantes a la carne y a los productos cárnicos. En la actualidad los consumidores están más interesados en productos más naturales, lo cual representa un reto para la industria, al limitar el

uso de antioxidantes sintéticos en los alimentos (Manassis *et al.*, 2020).

Los estudios de digestión *in vitro* son valiosos debido a que, a través de la información generada junto con otros análisis complementarios, se puede observar los efectos potenciales de un alimento en su digestión. La finalidad es simular la digestión *in vitro* para intercambiar la complejidad del sistema digestivo de un organismo vivo por condiciones de laboratorio controladas. Por su parte, el tracto digestivo presenta un entorno propicio para reacciones de oxidación, que pueden conducir a patrones de salud negativos (Campos González Nill *et al.*, 2018), por ejemplo, los lípidos de la carne procesada sufren la reacción oxidativa en cadena (Horbańczuk *et al.*, 2019a). Por lo anterior, la búsqueda de estrategias que limiten los procesos oxidativos una vez que el alimento es consumido, son indispensables.

Por ello, cada vez surgen en el mercado más extractos vegetales destinados a la industria cárnica que se utilizan para complementar las carnes procesadas, con el fin de formular de nuevo esos productos. Esta tendencia, forma parte del movimiento global por el que los productos alimentarios se reformulan con ingredientes menos procesados, menos aditivos alimentarios y más naturalidad (Domínguez *et al.*, 2019). Por lo mismo, se han realizado múltiples pruebas de alimentos vegetales como el té, el café, las verduras o los zumos de frutas ricos en compuestos bioactivos como fibras, vitaminas, minerales, polifenoles o carotenoides, con beneficios potenciales para la salud (Keuleyan *et al.*, 2021). Los estudios de digestión *in vitro* pueden favorecer a generar información valiosa respecto a los efectos de compuestos naturales adicionados en la formulación cárnica sobre la oxidación de lípidos; ello representa una herramienta valiosa en la búsqueda de alternativas para la prevención de su oxidación (Li *et al.*, 2020).

Los diferentes métodos utilizados para la cocción de los alimentos pueden incrementar diferencialmente la oxidación de los lípidos. Por ejemplo, en estudios como el de Hur *et al.* (2014) pudieron observar que la producción de productos de oxidación del colesterol puede aumentar durante la digestión, mayormente por los métodos de cocción fáciles y rápidos como el calentamiento por microondas. Domínguez *et al.* (2014b), encontraron que el horno de microondas y rostizado causan una mayor oxidación de la carne de caballo en comparación con los métodos de freído o a la parrilla. Vieira *et al.* (2017) hacen una extensa revisión sobre los efectos negativos que tiene el consumo de alimentos oxidados en la salud. A pesar de todo ello, con estrategias adecuadas para el consumo de alimentos, se ha demostrado que puede disminuirse la oxidación de los lípidos contenidos en ellos. Tal como se evidencia en los estudios realizados por Martini *et al.*

(2020) quienes encontraron que una dieta mediterránea puede limitar la oxidación de lípidos después de la digestión *in vitro* de la carne de pavo. De acuerdo con sus resultados, el consumo de alimentos como la cebolla y el aceite de oliva extra virgen contenidos en la dieta mediterránea son más efectivos para disminuir los hidroperóxidos tras la digestión de la carne. Adicionalmente, en otro estudio Martini *et al.* (2021), evaluaron el efecto de la incorporación de diferentes tipos de pimienta (negra, verde y rosa) en carne de pavo sobre la oxidación lipídica después de la digestión gastrointestinal *in vitro*. Sus resultados indican una inhibición del 80 y 72% en la formación de hidroperóxidos y prueba de TBARS después de la digestión, respectivamente, cuando se añade a la carne pimienta rosa.

Es importante destacar que no solo la combinación de alimentos como la cebolla y aceite extra virgen, o especias como la pimienta pueden limitar la oxidación de los lípidos en la carne después de su digestión. Extractos naturales con capacidad antioxidante tienen también esa propiedad, tal como lo demuestra un estudio realizado por Martínez *et al.* (2014), quienes adicionaron extracto de semilla de uva como antioxidante en emulsiones de carne de pavo y cerdo, encontrando que la incorporación del 0.5% del extracto fue adecuada para prevenir la oxidación lipídica y mejorar la actividad antioxidante de las emulsiones después de la digestión gástrica simulada.

2.6. Carne y Productos Cárnicos Funcionales

El Codex Alimentarius (2018) define la carne como todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin. Así mismo, la NOM-009-Z00-1994 la define como estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos, de especies animales autorizadas para el consumo humano. Por otro lado, un producto cárnico de acuerdo con la NOM-009-Z00-1994 se define como preparado que se obtiene de la carne y/o sus derivados, destinados a la alimentación humana. En cuanto a un alimento funcional, se considera así al demostrar científicamente, que tiene un efecto benéfico en la salud en una o más funciones biológicas, adicional a su aporte nutricional, por lo que mejora el estado de salud y/o reduce el riesgo de enfermedades (Siro *et al.*, 2008).

De esta forma, los productos cárnicos funcionales surgen de la necesidad de transformar a los productos cárnicos tradicionales en alimentos novedosos y atractivos desde el punto de vista de la salud (Camou *et al.*, 2018). Un producto cárnico funcional puede desarrollarse con diferentes aplicaciones, por ejemplo, incorporando un ingrediente con propiedades bioactivas en la alimentación animal, que posteriormente se vea reflejado en la carne y que al ser consumida tenga un posible beneficio para la salud. Así mismo, puede aplicarse en la reformulación de los productos cárnicos tradicionales adicionando ingredientes novedosos que tengan una actividad biológica probada (Camou *et al.*, 2018). Por lo que, de acuerdo con las definiciones anteriores, el fin que persiguen los productos cárnicos funcionales es que adicional a su aporte nutricional, puedan ayudar a mejorar el estado de salud.

2.7. Utilización de Antioxidantes en Carne

Los compuestos antioxidantes son aquellos que protegen a la carne de la acción de los radicales libres o catalizadores que promueven la oxidación de los lípidos. Es así, que su principal mecanismo de acción se debe principalmente a su capacidad de neutralizar los radicales o secuestrando los metales que catalizan el proceso de oxidación (Domínguez *et al.*, 2019). El uso de compuestos antioxidantes es necesario en alimentos propensos a la oxidación, y un reto en la industria cárnica pues el uso de aquellos antioxidantes sintéticos se ve limitado por las tendencias actuales de los consumidores por productos más naturales.

Los alimentos como la carne y productos cárnicos están continuamente expuestos a prooxidantes endógenos y ambientales, conduciendo a la degradación de los ácidos grasos y a la generación de compuestos potencialmente tóxicos (Domínguez *et al.*, 2019). Los lípidos en la carne y sus productos son susceptibles a la oxidación debido a la presencia de compuestos prooxidantes del músculo como el hierro hemo, o por el uso de tecnologías que lo exponen al oxígeno y la formación de especies reactivas de oxígeno, por ejemplo, la cocción (Domínguez *et al.*, 2019). Adicionalmente, las defensas antioxidantes endógenas del tejido muscular se colapsan tras el sacrificio del animal, facilitando las reacciones oxidativas durante el añejamiento, procesamiento y almacenamiento (Bekhit *et al.*, 2013).

Por su parte, la oxidación de las proteínas también supone efectos importantes en la calidad de la carne, por ejemplo, en la terneza y la capacidad de retención de agua, pérdida de aminoácidos esenciales y disminución del perfil nutricional (Soladoye *et al.*, 2015). También se ha comprobado que los aminoácidos oxidados provenientes de la dieta, como las ditirosinas y el ácido α -amino adípico, influyen de manera negativa en los procesos fisiológicos de células humanas cultivadas (Estévez, 2021) y modelos murinos (Li *et al.*, 2020).

Para prevenir estas reacciones de deterioro, una de las estrategias más utilizadas es el uso de antioxidantes, justificada principalmente por la pérdida económica que supone para la industria cárnica el rechazo de los consumidores de productos procesados (Falowo *et al.*, 2014). Por ello, la industria cárnica busca soluciones antioxidantes eficaces e inocuas, y en los últimos años se ha realizado una gran cantidad de investigación para evaluar a los antioxidantes de origen vegetal como una alternativa viable. De esa forma, se vuelve indispensable identificar la combinación entre el producto cárnico objetivo y la fuente vegetal apropiada de antioxidantes (Gruffat *et al.*, 2021). Se aprecia la necesidad creciente por el consumidor y la industria de tener productos con aditivos naturales que favorezcan a la promoción de la salud y la conservación de la calidad de los productos cárnicos, respectivamente.

Se pueden añadir antioxidantes de diferentes fuentes, pudiendo ser de origen sintético o natural. En la carne algunos de los antioxidantes de origen sintéticos utilizados son BHT (2,6-diterc-butyl-*p*-creso) y BHA (2,3-terc-butyl-4-hidroxianisol), conocidos por su capacidad de donar H⁺ o electrones a especies reactivas que inhiben eficazmente la oxidación (Cilli *et al.*, 2019). Sin embargo, ha crecido la preocupación por su consumo, debido a su capacidad para unirse las sustancias químicas con los receptores hormonales y su alteración en la generación de hormonas endógenas (Yang *et al.*, 2018).

Por lo anterior, se vuelve necesario estudiar alternativas de componentes naturales que puedan desempeñar un papel antioxidante y antimicrobiano actuando como conservadores en la carne, y protegiéndola durante su procesamiento y almacenamiento. Algunos ejemplos de alimentos ricos en compuestos bioactivos que pueden ser utilizados son frutas, verduras, hierbas y especias, ya sea en su forma original, en polvos o extractos, y en su caso sus aceites. Así mismo, la semilla de uva, el aceite de oliva y las hojas pueden tener un efecto antioxidante gracias a su elevada cantidad de polifenoles (Horbańczuk *et al.*, 2019b). Sin embargo, es esencial identificar la combinación conveniente de producto cárnico objetivo y fuente vegetal apropiada de compuestos bioactivos con

los mayores beneficios en la calidad del producto (Domínguez *et al.*, 2019). Por mencionar algunos ejemplos de investigaciones en las que se ha explorado el uso de fuentes vegetales en carnes, se tiene el uso de un extracto de residuos de aceite de oliva (1%) en hamburguesas de cordero para extender su vida de anaquel hasta por 15 días (Saleh *et al.*, 2020). Así mismo, la adición de 2% orujo de mora azul en la carne de cerdo cocida y refrigerada disminuye la oxidación de lípidos durante el almacenamiento a 4 °C por 7 días (Peiretti *et al.*, 2020). Algunas alternativas de ingredientes con propiedades bioactivas son los subproductos, que adicional a poder beneficiar al medio ambiente reduciendo su desperdicio, tienen un potencial efecto en la salud. Un ejemplo, de uno de los subproductos más estudiados por su contenido de compuestos fenólicos es el orujo de uva.

2.8. Orujo de Uva como Alternativa de Antioxidante en Carne

El orujo de uva es un subproducto generado ampliamente a lo largo del mundo y su forma de aprovechamiento no se ha definido, sin embargo, sus propiedades antioxidantes han sido ampliamente descritas en estudios anteriores (Pereira *et al.*, 2022; Cilli *et al.*, 2020), gracias a que favorecen a la quelación de iones metálicos y de su capacidad para donar hidrógeno de los grupos hidroxilo situados a lo largo del anillo aromático. Es por ello por lo que tiene el potencial de utilizarse como un ingrediente en formulaciones cárnicas al aportarle propiedades funcionales y tecnológicas.

2.8.1. Impacto Ambiental del Desperdicio de Subproductos del Vino

Los subproductos se refieren a la sustancia resultante de un proceso de producción o extracción cuya reutilización es segura, sin transformación previa y sin solución de continuidad del proceso de producción y cuyo uso ulterior es legal (DPEJ, 2023). Mayormente se utilizan para la producción de concentrados aplicados a la alimentación animal, fertilizantes o se desechan al medio ambiente contaminando el suelo y el agua; en algunas ocasiones se utilizan como

ingredientes para la industria alimentaria y farmacéutica (Camou *et al.*, 2018).

El proceso de vinificación de vino tinto, el cual comprende las etapas de cosecha de uva roja, despalillado, maceración y fermentación, prensado, drenado y maduración en tanque o bodega, genera aproximadamente un 45% de orujo de uva (Torres-Aguirre *et al.*, 2018). Se estima que, por cada 100 kg de uva de vinificación, se produce entre 20-25 kg de orujo de uva, lo cual equivale aproximadamente entre 5 y 9 millones de toneladas al año de orujo a nivel mundial (Camou *et al.*, 2018). El orujo de uva es utilizado mayormente como fertilizante o como alimento para animales (Antonić *et al.*, 2020) así mismo tiene un uso comercial como aceite de semilla de uva y como composta (Torres-Aguirre *et al.*, 2018).

Sin embargo, se ha visto que los desechos de la uva crean problemas ambientales como contaminación de aguas subterráneas y superficiales, consumo de oxígeno en el suelo y atracción de vectores acarreadores de enfermedades. Incluso en temporada de cosecha, los desechos aumentan a un nivel que no permite la biodegradación del orujo por su bajo pH y la presencia de sustancias antibacterianas, como los polifenoles. Otro efecto negativo, es que, a pesar de ser rico en proteínas, la mayoría de los animales no pueden digerirlo y utilizarlo como fuente de energía (Antonić *et al.*, 2020). A nivel mundial hay una crisis en el nivel de desperdicios que se generan, al ser México uno de los principales productores de vino el impacto en el desperdicio del subproducto es significativo, por lo que es indispensable buscar alternativas para su aprovechamiento.

2.8.2. Composición Nutricional y Compuestos Fenólicos del Orujo de Uva

El orujo de uva se compone generalmente por 25% de semilla, 50% de piel y pulpa, y 25% de tallo (Torres-Aguirre *et al.*, 2018). Por otro lado, el contenido de fibra del orujo de uva en polvo es aproximadamente del 50%, es decir, una porción de 10 g contribuye aproximadamente con el 20% de la ingesta diaria recomendada de fibra en adultos (Beres *et al.*, 2017). La semilla de las variedades rojas es rica en minerales como potasio, sodio, calcio, magnesio, hierro, cobre y zinc (Lachman *et al.*, 2013). La composición del orujo de uva, en general, es 30% polisacáridos, 20% pectinas y 20% proantocianidinas, lignina, proteínas y compuestos fenólicos; sin embargo, cada

componente del orujo difiere en los compuestos polifenólicos presentes (Dávila *et al.*, 2017), por ejemplo, los tallos tienen un contenido promedio 45 mg/g peso seco (PS) de proantocianidinas, siendo los más abundantes los polímeros de catequina y epicatequina. Otros compuestos que abundan son los flavonoides aproximadamente 1.5 mg/g PS, principalmente quercetina y kaempferol (forma más común glucosilada: quercetin-3-glucosido). Adicionalmente, otros compuestos presentes son los estilbenos, principalmente resveratrol y su dímero ϵ -viniferina. Así mismo, hay presencia de los ácidos fenólicos derivados de los ácidos hidroxicinámicos, como el gálico (concentración de 0.17-0.18 mg/g PS) y siríngico, y de derivados del ácido hidroxibenzoicos cafeico, p-cumárico y ferúlico (Anastasiadi *et al.*, 2012; Teixeira *et al.*, 2014)

En cuanto a la piel, esta representa casi la mitad del peso del orujo, su pared celular está conformada por celulosa, hemicelulosa y pectina, así mismo se concentra gran cantidad de antocianinas y proantocianidinas (Dávila *et al.*, 2017). De las proantocianidinas se encuentran los monómeros catequina y epicatequina, así mismo de las antocianinas están presentes la delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina unidas a un glucósido. De los flavonoides, se encuentran rutina, miricetina, kaempferol, isoramnetina, quercetina (forma glucosilada), así mismo están presentes los estilbenos como el resveratrol (como monómero libre y glicosilado, llamado piceido). Por otro lado, hay presencia de piceanol y derivados de ácidos fenólicos como el p-coumárico, elálgico y vanílico (Caldas *et al.*, 2018).

Respecto a la semilla, esta representa el 5% de la uva, y es utilizada mayormente en la elaboración de aceites. Cuenta con un contenido de 40% fibra, 11% proteína, 16% lípidos y 7% compuestos polifenólicos como proantocianidinas (aprox. 90%) conformadas por monómeros de catequina y epicatequina, así como ácido gálico y ácido protocatéico (Dávila *et al.*, 2017). Gracias a sus múltiples propiedades nutrimentales y sus potenciales beneficios a la salud, el orujo es uno de los subproductos más estudiados y con mayores propiedades antioxidantes caracterizadas.

2.8.3. Beneficios y Aplicación de los Subproductos de Uva en la Carne

El orujo ejerce su efecto antioxidante a través de diferentes mecanismos, incluyendo la quelación de radicales libres por los polifenoles que lo componen (Teixeira *et al.*, 2014). Así mismo, estos

compuestos polifenólicos pueden disminuir daños a las membranas de eritrocitos, inhibiendo su hemólisis (Caldas *et al.*, 2018). Por todas sus propiedades evidenciadas en múltiples estudios científicos (Beres *et al.*, 2017; Pereira *et al.*, 2022; Cilli *et al.*, 2020), el orujo de uva representa una excelente alternativa como ingrediente en alimentos funcionales y para la obtención de nutraceuticos. Sin embargo, se debe tener presente que habrá una variación entre el contenido de macronutrientes y fitoquímicos derivada de la variedad de uva utilizada, zona de cultivo, proceso de vinificación aplicado lo cual afecta su composición (Torres-Aguirre *et al.*, 2018). Por lo que se infiere que el efecto antioxidante del orujo de uva depende de diferentes factores (intrínsecos y extrínsecos), que se deben tener en cuenta al momento de su aplicación durante la creación de nuevos productos.

Amin y Edris (2017), determinaron el impacto del extracto semilla de uva en las características sensoriales de hamburguesas de res. Así mismo, midieron la inhibición de la oxidación lipídica en el producto durante su almacenamiento a 4 °C por 10 d comparando con un antioxidante sintético como el BHT. Los investigadores pudieron evidenciar la eficiencia del extracto de semilla de uva en la protección contra la oxidación de lípidos durante el almacenamiento refrigerado, sugieren que el componente estudiado es una buena alternativa a antioxidantes sintéticos, como el BHT. De igual forma, Gómez *et al.* (2015), realizaron un estudio con carne molida en refrigeración adicionada con omega-3 y extracto de semilla de uva. Durante la investigación, pudieron observar que el extracto de semilla de uva disminuyó la oxidación y favoreció la conservación de su color y olor. Los autores afirman que el extracto de semilla de uva puede ser una alternativa a los estabilizadores sintéticos para prevenir la oxidación lipídica en productos cárnicos frescos. La información de los diferentes estudios sustenta los beneficios potenciales de combinar una matriz cárnica con el orujo de uva, para la prevención de la oxidación lipídica y proteica.

Por otro lado, estudios como el de García-Lomillo *et al.* (2017) profundizaron en el efecto del orujo de uva en la oxidación de la proteína en hamburguesas de res, sometidas en atmósfera alta en oxígeno; así mismo compararon el orujo de uva roja contra la de uva blanca. Concluyeron que la uva roja tiene un mayor potencial antioxidante, gracias a su alto aporte de fenoles y estilbenos que protege a las proteínas de los radicales libres. Adicionalmente, otros autores evaluaron la capacidad del orujo para inhibir la oxidación lipídica en hamburguesas vacunas, haciendo una comparación entre cruda y cocida, así como con tres diferentes condimentos. Con este estudio se llegó a una conclusión similar a los estudios anteriores, el orujo de uva demostró una mejor

capacidad para inhibir la oxidación lipídica sobre los otros condimentos. El orujo demostró ser eficaz para inhibir la formación de compuestos volátiles y retrasó la formación de olor a rancio durante el almacenamiento, lo que reafirma su utilidad como alternativa natural para la conservación de productos cárnicos (Amin & Edris, 2017). En la búsqueda de alternativas de conservadores naturales, el orujo de uva puede ser una opción potencial.

3. HIPÓTESIS

La adición de orujo de uva a hamburguesas de res favorece la prevención de la oxidación de lípidos, generada por la cocción por plancha, microondas, aire caliente y durante la digestión *in vitro*, sin provocar un decremento de su calidad fisicoquímica.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar el impacto de la cocción por plancha, microondas, aire caliente junto con la adición de orujo de uva a la hamburguesa de res en su calidad y la prevención de la oxidación de lípidos durante el almacenamiento y durante la digestión *in vitro*.

4.2. Objetivos Específicos

1. Estudiar los efectos e interacciones del método de cocción y adición de orujo de uva sobre la composición proximal, pérdida de peso por cocción y porcentaje de encogimiento de hamburguesas de res
2. Determinar efectos e interacciones del método de cocción y adición de orujo de uva sobre el color instrumental, pH, análisis de perfil de textura y oxidación de lípidos de hamburguesas de res almacenadas en refrigeración
3. Evaluar efectos e interacciones del método de cocción y adición de orujo de uva sobre los fenoles totales, capacidad antioxidante y oxidación de lípidos de hamburguesas de res sujetas a una digestión gastrointestinal *in vitro*

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Diseño Experimental

La presente investigación fue realizada en tres etapas, correspondientes a los objetivos previamente descritos. Todos los experimentos fueron realizados mediante un diseño completo al azar con arreglo factorial. En la primera etapa, los factores abordados fueron el método de cocción (horno de microonda, plancha y aire caliente) y adición de orujo de uva (0 y 1%). Fueron estudiados los efectos principales e interacciones entre ambos factores sobre la composición proximal (humedad, grasa, proteína y ceniza), pérdida de peso y porcentaje de encogimiento después de someter a cocimiento los tratamientos resultantes. En la segunda parte, además de los factores método de cocción y adición de orujo de uva en los niveles antes descritos, se incluyó el tiempo de almacenamiento (1, 4 y 8 d) como factor de estudio para evaluar sus efectos e interacciones sobre el color instrumental (L^* , a^* y b^*), pH, análisis de perfil de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) y oxidación lipídica. Finalmente, se estudiaron los efectos e interacciones del método de cocción y adición de orujo de uva antes y después de la digestión *in vitro*, sobre los fenoles totales, capacidad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP) y oxidación de lípidos de hamburguesas de res.

5.2. Obtención y Preparación de la Materia Prima

Para el experimento se utilizó el músculo *Semimembranoso* de bovino con 48 h postmortem, de ganado proveniente de Hermosillo, Sonora. Se utilizó grasa de cobertura bovina, se añadió 20% de grasa a la formulación cárnica buscando emular los productos más utilizados comercialmente. El músculo y la grasa fueron limpiados y molidos (modelo 5749, Hobart Dayton, Ohio, EE.UU.) por separado. Posteriormente se añadió la grasa a la carne, se homogenizaron y se molieron nuevamente. Durante el homogenizado se añadió 1% de sal, después se dividió en dos partes el total de la carne y a una parte de ellas se añadió harina de orujo de uva previamente obtenida. Para las hamburguesas se tomaron $60 \text{ g} \pm 0.5$ de carne, se formaron manualmente hasta obtener un

grosor de 1 cm con un diámetro 8 cm. Se cocinó a través de diferentes métodos de cocción que incluyó plancha a 180 °C por 3 min con 20 s, horno de microondas de un solo haz de 700 W que funciona a 2450 MHz (General Electric, Modelo: JES638WF, Louisville, EE.UU.) por 3 min con 20 s y freidora de aire caliente a 180 °C por 9 min utilizando una freidora de aire caliente digital de 6.7 L (Gourmia, GAF798, China). Las hamburguesas se cocinaron hasta alcanzar 71 °C en temperatura interna en los tres métodos, medida a través de un termopar. Se realizaron 3 réplicas por tratamiento.

Para la obtención del orujo de uva se utilizó uva de la variedad *Tempranillo* proveniente de Ensenada, Baja California; se homogeneizó en húmedo para posteriormente secar en horno de convección forzada (Enviro-pack MP 1000, Oregon, EE.UU.) a 60 °C por 6 h con 20 min. Posteriormente, se molió con un calibre de 1 mm (Pulvex MP 200, Estado de México, México) y se empacó al vacío para conservar en almacenamiento a temperatura ambiente, hasta su uso posterior. Las características del orujo obtenido fueron las siguientes: pH de 3.6, humedad del 5.0%, fenoles totales de 19.67 mg EAG/g, FRAP de 47.77 mg ET/g y DPPH de 25.51 mg ET/g.

5.3. Evaluación de la Calidad Inicial de Hamburguesas de Res

5.3.1. Análisis Proximal

Se determinó el contenido de humedad, grasa, proteína y ceniza, siguiendo los métodos establecidos por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 1990). La determinación de humedad se realizó utilizando una estufa de secado a una temperatura de 100 °C durante 16 h (Método 950.46), por triplicado. El contenido de ceniza se realizó en una mufla a 550 °C por 2 h (Método 945.38). La grasa se cuantificó por el método de extracción de Goldfish a partir de muestras deshidratadas (Método 920.39). Por último, el contenido de proteína fue determinado mediante método de microkjeldahl (Método 955.04) a partir de muestras deshidratadas y desgrasadas. Los resultados se reportaron en porcentaje.

5.3.2. Pérdida de Peso por Cocción

El rendimiento por cocción se obtuvo durante la elaboración de las hamburguesas de res en el día 0. Se registró el peso antes y después de la cocción de hamburguesas de res por los métodos de plancha, microondas o freidora de aire caliente. El porcentaje de pérdida por cocción se registró de acuerdo con lo descrito por (Jeong *et al.*, 2016), con la ecuación:

$$\% \text{ pérdida por cocción} = \frac{\text{Peso de la carne cruda} - \text{Peso de la carne cocida}}{\text{Peso de la carne cruda}} * 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

5.3.3. Porcentaje de Encogimiento

El porcentaje de encogimiento se obtuvo durante la elaboración de las hamburguesas de res (día 0). Se midió el diámetro de las hamburguesas de res antes y después de la cocción por plancha, microondas o freidora de aire caliente. El porcentaje de encogimiento de las hamburguesas de res se determinó con la ecuación descrita por Jeong *et al.* (2016):

$$\% \text{ Reducción de diámetro} = \frac{\text{Diámetro carne cruda} - \text{Diámetro carne cocida}}{\text{Diámetro carne cruda}} * 100 \quad (\text{Ec. 2})$$

5.4. Evaluación de la calidad de Hamburguesas de Res a través del Tiempo de Almacenamiento

5.4.1. Color Instrumental

El color se evaluó en la superficie de cada muestra durante los días 1, 4 y 8 de almacenamiento a 4 °C. Previo a la medición, las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 5 min. Se utilizó un colorímetro (Chroma meter CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka,

Japan) con iluminante D65, observador de 10° y apertura de 11 mm del instrumento para iluminación y 8 mm para medición. Así mismo, un cristal espectralmente puro (CRA51: Minolta Co.) se colocó entre la muestra y el equipo, la medición de color abarcó la determinación de los valores L^* , a^* y b^* . Donde el parámetro L^* representa la luminosidad y tiene una escala que va desde 0 que es negro total, hasta 100, que representa un blanco perfecto. El valor a^* tiene una escala de -60 a +60, siendo el rojo positivo y verde cuando es negativo. El valor b^* toma una escala de -60 a +60 y determina el color amarillo si los valores son positivos y azul cuando son negativos (Minolta Co., 1994). Se realizaron 5 mediciones por muestra y se reportó el promedio de ellas.

5.4.2. pH

Se determinó el pH de las hamburguesas de res en muestras almacenadas en los días 1, 4 y 8 a 4 °C. Para ello, se utilizó un potenciómetro de punción modelo HI98140 (Hanna, Woonsocket, RI, USA). La evaluación fue realizada directamente sobre la muestra.

5.4.3. Análisis de Perfil de Textura

El análisis de perfil de textura se realizó en un texturómetro Texture Analyzer TAXT2 (Stable Micro System, Ltd, Goldaming, Surrey UK), siguiendo la metodología de Bourne (2002). De cada muestra se tomaron trozos de dimensiones uniformes (1 x 1 x 1 cm). Para los análisis se utilizó un dispositivo de 75 mm de diámetro unido a una celda de carga de 50 kg, usando una doble compresión al 50% de deformación con una velocidad de cabezal de 5 mm/s, con un tiempo de espera de 5 s entre compresión, generando una curva de fuerza vs tiempo para cada muestra analizada. Los atributos de textura evaluados fueron: dureza (N), elasticidad (cm), cohesividad y masticabilidad (N x cm). La dureza está representada por el pico máximo alcanzado durante la primera compresión y expresada en newtons. La elasticidad, se estimó dividiendo la distancia desde el inicio de la segunda compresión entre el área bajo la curva de la primera compresión. La

cohesividad se obtuvo de la división entre el área bajo la curva de la segunda compresión y el área bajo la curva de la primera compresión. La masticabilidad (N x cm) se calculó multiplicando los valores de dureza, elasticidad y cohesividad.

5.4.4. Oxidación de Lípidos

La prueba de oxidación de lípidos consistió en la medición de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBAr), de acuerdo con el método descrito por Pfalzgraf *et al.* (1995). Primeramente, se homogenizan 5 g de muestra con 15 mL de ácido tricloroacético (TCA, 7.5% + 0.1% EDTA + 0.1% galato de propilo) durante 20 a 30 s en ultraturrax a 11 000 rpm. Posteriormente, el homogeneizado se filtró a través de papel Whatman no. 1. A continuación, se mezcló 2 mL de filtrado y 2 mL de solución de ácido tiobarbitúrico (0.02 M) y se mantuvo en baño de agua hirviendo durante 40 min. Posterior a su enfriamiento se midió la absorbancia de las muestras a 530 nm frente al blanco. Los resultados se presentaron en mg de malondialdehído/kg. La curva estándar fue preparada utilizando 1,1,3,3-tetraetoxipropano.

5.4.5. Extractos para Determinación de Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante

El extracto se realizó de acuerdo con la técnica de Sogi *et al.* (2013), por duplicado cada muestra. Consistió en pesar 1 g de la muestra y disolverla en 20 mL de etanol, se homogenizó utilizando ultraturrax, posteriormente se sonicó por 30 min y centrifugó a 5,500 x g 15 min a 4 °C, enseguida se filtró en papel Whatman no. 1, y se repitió el proceso de sonicar y centrifugar en cada lavado, el cual se realizó dos veces. Posteriormente, se aforó a 50 mL y se vertió en un tubo Falcón opaco para reservar durante su almacenamiento en congelación a -18 °C y su uso posterior.

5.4.6. Fenoles Totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método descrito por Singleton y Rossi (1965), con algunas modificaciones. Se mezclaron 20 μL del extracto diluido (2:8) con etanol al 80%, se agregaron 150 μL del reactivo Folin-Ciocalteu diluido con agua destilada y se agregó a 120 μL de Na_2CO_3 (7.5%). Posteriormente, se dejó reposar en la oscuridad por 30 min. Finalmente, se leyó la absorbancia a 765 nm en un lector de microplacas Fluorstar Omega (BMG Labtech Inc., Durham, NC, EE.UU.). La concentración de fenoles totales se calculó utilizando una curva estándar de ácido gálico y los resultados se expresaron como mg EAG/g peso fresco.

5.4.7. Capacidad Antioxidante

5.4.7.1. Inhibición de radical DPPH. El fundamento de esta prueba se basa en la medición de la habilidad de los antioxidantes para inhibir el radical estable DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (González-Aguilar et al., 2007). Para ello, se preparó una solución 0.0634 mM de DPPH en metanol, posteriormente se agregaron 280 μL de ésta, con 20 μL de cada extracto previamente diluido (1:10) para llevar a cabo la reacción. Finalmente, se dejó reposar la mezcla por 30 min en oscuridad y se leyó la absorbancia a 518 nm Fluorstar Omega (BMG Labtech Inc., Durham, NC, EE. UU.). Los resultados se calcularon utilizando una curva estándar de Trolox y se expresaron como mg Equivalentes Trolox (ET) por gramo de peso fresco.

5.4.7.2. FRAP. Para esta determinación, se adoptó la metodología descrita por Benzie et al. (1996), la cual consiste en la reducción del hierro férrico (Fe^{+3}), que se encuentra en el reactivo FRAP por la presencia de antioxidantes. Para esta técnica se generó el reactivo FRAP a partir de un buffer de acetato de sodio ($\text{pH} = 3.6$), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) y FeCl_3 . Se utilizaron 280 μL de solución FRAP en 20 μL del extracto de la muestra previamente diluido (2:8) con etanol al 80%. La reacción generó una coloración azul, cuya tonalidad es proporcional a la capacidad

reductora de la muestra, formando el complejo ferroso-TPTZ. Finalmente, se dejó reposar por 30 min en la oscuridad y se leyó la absorbancia a 593 nm. Los resultados se calcularon utilizando una curva estándar de Trolox y se expresan como mg equivalentes de Trolox (ET/g) por gramo de peso fresco.

5.5. Digestión Gastrointestinal *In vitro*

Para la evaluación de la digestión *in vitro*, se utilizó la técnica de Minekus *et al.* (2014), con las modificaciones propuestas por Brodkorb *et al.* (2019). Las determinaciones de fenoles totales y capacidad antioxidante se realizaron antes y después de la digestión en muestras liofilizadas

5.5.1. Fase Oral

Se realizó una simulación de lo que ocurre con el alimento al introducirlo en la boca, considerando la salivación y enzimas liberadas. Primeramente, se simuló el bolo alimenticio, se molieron 7 g de muestra y se combinó con 5.6 mL de la solución madre de fluido salival simulado, se homogenizó en ultraturrax hasta que se obtuvo una pasta fina. Al bolo resultante, se le añadió 1.05 mL de salival humana con una concentración de 75 U/mL de amilasa en la mezcla, y 0.035 mL de CaCl₂ para obtener 0.75 mM en la mezcla. Finalmente se añadió agua para conseguir un volumen de 14 mL, se mezcló en el vortex para homogeneizar. Esta etapa se realizó a un pH de 7 que se comprobó antes de colocar el tubo con la mezcla en el baño con agitación a 37 °C por 2 min. Se realizó un precalentamiento de todos los reactivos a 37 °C (Minekus *et al.*, 2014).

5.5.2. Fase Gástrica

Durante la fase gástrica se añadió al alimento líquido de la etapa anterior “bolo alimenticio” 11.2 mL de la solución electrolítica madre de fluido gástrico simulado (FGS), posteriormente se

comprobó y se ajustó el pH a 3 con HCl 1 M. Enseguida, se añadieron 0.934 mL de pepsina porcina para conseguir una concentración 2,000 U/mL, 0.672 mL lipasa gástrica y 0.007 mL de CaCl₂, para conseguir 0.075 mM en la mezcla de digestión. Finalmente, se añadió a la mezcla agua para conseguir un volumen de 28 mL; se mezcló en el vortex para homogeneizar, se comprobó y ajustó nuevamente el pH antes de colocar el tubo con la digestión nuevamente en el baño con agitación a 37° C, donde permaneció por 2 h (Minekus *et al.*, 2014).

5.5.3. Fase Intestinal

En esta fase se simuló el paso del bolo alimenticio por el intestino. Primeramente, se añadió 11.2 mL de la solución madre de fluido intestinal simulado, se comprobó y ajustó el pH a 7 con NaOH 1 M, para simular las condiciones del intestino. Posteriormente, se añadió 7 mL de pancreatina porcina, la cual fue calculada basada en la actividad de la tripsina, para conseguir una concentración de 2,000 U/mL en la mezcla. Enseguida se añadieron sales biliares para obtener una concentración de 10 mM en la mezcla, y 0.056 mL de CaCl₂ para alcanzar 0.3 mM en la mezcla de digestión. Previo a colocar nuevamente en el baño, se comprobó y se ajustó nuevamente el pH, finalmente se añadió agua para alcanzar un volumen de 56 mL y se mezcló en el vortex para homogeneizar. Se colocó en el baño con agitación a 37 °C por 2 h (Minekus *et al.*, 2014).

5.6. Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el software Number Cruncher Statistical Systems 2023 (NCSS, Kaysville, UT). Las tres fases del experimento, tal como se especifica en la sección de diseño experimental, se realizaron con dos repeticiones y en cada repetición todas las variables de respuesta se midieron por triplicado. Para analizar las varianzas, se aplicó un modelo mixto a todas las variables de respuesta, en el que los grupos de tratamiento se asignaron como efectos fijos y las réplicas como efecto aleatorio. Cuando se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, se realizó la prueba de Tukey-Kramer a un nivel de probabilidad de $p < 0.05$.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Composición Proximal, Pérdida de Peso por Cocción y Porcentaje de Encogimiento

6.1.1. Composición Proximal

El análisis proximal incluye las evaluaciones de grasa, proteína, ceniza y humedad de las hamburguesas de acuerdo con el método de cocción al que se sometieron y con o sin adición de OU; estos resultados se muestran en el Cuadro 1. El contenido de proteína fue similar ($p > 0.05$) entre los tratamientos evaluados, oscilando entre 24.31 y 27.0%. Por otro lado, se puede observar que las hamburguesas cocinadas en plancha mantienen una humedad significativamente mayor ($p < 0.05$) a la mostrada por horno de microonda. Estas diferencias pueden atribuirse a que durante la cocción en plancha los tiempos de exposición al calor son más cortos en comparación con la cocción en microondas, pero también podría ser el resultado de la formación de una costra en la superficie del alimento que atrapaba físicamente el agua en el interior del producto. Estos resultados están en concordancia con la pérdida de peso por cocción (Figura 1), pues se observa que aquellos productos cocinados en plancha muestran también valores menores en esta evaluación. Resultados similares fueron reportados por Domínguez *et al.* (2014b) en carne de caballo cocinada por los métodos antes descritos. Por otro lado, se puede observar que la adición de OU en la formulación cárnica, reduce el contenido de humedad de las hamburguesas. Esta reducción puede deberse a la naturaleza ácida del OU (pH = 3.6, datos no mostrados) que, al ser incorporado en la formulación de las hamburguesas, en promedio, hacen descender el pH desde 5.72 a 5.60 (Cuadro 4), valor donde la capacidad de retención de agua es menor. Otro factor que puede contribuir a esta reducción puede ser el hecho de que la carne en la formulación es sustituida por un ingrediente seco como el OU. Resultados similares fueron reportados por Bilek y Turhan (2009) en hamburguesas de res adicionadas con harina de linaza.

El contenido promedio de grasa de las hamburguesas sin OU fue 16.41%, significativamente menor ($p < 0.05$) que en los tratamientos con OU (18.34%). Es posible que las proteínas del orujo de uva incluyen más cadenas laterales no polares que pueden unirse a las unidades de

hidrocarburos de los aceites, lo que resulta en una mayor absorción de grasa (Rainero *et al.* 2021); además, por sí mismo el OU contiene grasa proveniente de la semilla de la uva (Cilli *et al.*, 2020), lo que contribuye a elevar los valores en los tratamientos que lo contienen.

Cuadro 1. Análisis proximal de hamburguesas de res adicionadas con orujo de uva y cocinadas por los métodos de plancha, horno de microondas y aire caliente.

		Grasa (%)	Proteína (%)	Ceniza (%)	Humedad (%)
<i>A: Método de cocción (Mt)</i>					
Plancha (PL)		16.74	25.25	2.30 ^{ab}	50.88 ^b
Aire caliente		17.76	25.46	2.49 ^b	49.10 ^{ab}
Horno microonda (HM)		17.62	26.52	2.11 ^a	48.96 ^a
<i>B: Orujo de uva (Ou)</i>					
0%		16.41 ^a	26.17	2.27	50.38 ^a
1%		18.34 ^b	25.32	2.33	48.92 ^b
<i>Interacción A x B</i>					
PL	0	15.80	26.18	2.32	52.02
AC	0	17.01	25.32	2.53	49.36
HM	0	16.41	27.00	2.14	49.75
PL	1	17.68	24.31	2.28	49.74
AC	1	18.50	25.60	2.45	48.47
HM	1	18.83	26.03	2.08	48.17
<i>Efectos</i>					
<i>Mt</i>		0.088	0.267	<0.01	0.034
<i>Ou</i>		<0.01	0.210	0.398	0.027
<i>Mt x Ou</i>		0.594	0.421	0.953	0.484

Las literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada variable de respuesta

6.1.2. Pérdida de Peso por Cocción y Porcentaje de Encogimiento

En la Figura 1 se presentan los resultados de la pérdida de peso por cocción (PPC) donde se observa que los tratamientos cocinados en PL muestran valores significativamente menores ($p < 0.05$) en comparación con el resto de los tratamientos. Una de las razones de estas diferencias puede deberse, como se mencionó con anterioridad, a la formación de una costra superficial. De hecho, los tratamientos cocinados en PL muestran valores de humedad superior al resto de los tratamientos (Cuadro 1). Resultados similares fueron reportados por Lorenzo *et al.* (2015) en carne de caballo cocinada por diferentes métodos, incluyendo PL, y por Ramírez (2021) en hamburguesas de res,

en las que obtuvieron un mayor rendimiento en la cocción por plancha en comparación por la cocción en otros métodos, como horno de convección y horno microondas. Es importante recalcar que la PPC es el resultado de la pérdida de humedad y grasa debido a la desnaturalización proteica inducida por el calor durante el cocimiento (Lorenzo y Domínguez, 2014).

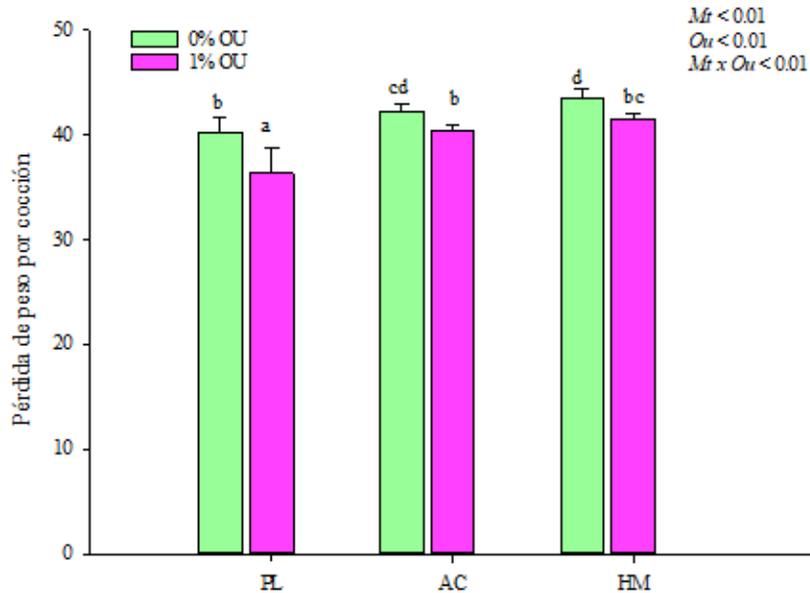


Figura 1. Pérdida de peso por cocción (%) de hamburguesas de res adicionadas con orujo de uva (*Ou*) y cocinadas por diferentes métodos de cocción (*Mt*). Las literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). PL = Plancha, HM = Horno de microondas, AC = Aire caliente

Por otro lado, en los tratamientos a los que se les adicionó OU, muestran valores menores de PPC ($p < 0.05$) en comparación con aquellos que no lo contienen. El OU posee un pH ácido (3.6) que contribuye a un mayor grado de desnaturalización de las proteínas miofibrilares y por lo tanto a una menor capacidad de retención de agua; por esta razón se esperaba que la PPC fuera mayor en los tratamientos con OU. Una de las razones de estas discrepancias podría ser a que el OU es un ingrediente que retiene mayor cantidad de grasa durante el cocinado, tal como se explicó en la sección anterior y cuyos resultados fueron corroborados con el análisis proximal mostrado en el Cuadro 1.

En relación con el porcentaje de encogimiento, los resultados se muestran la Figura 2. Se observa que los tratamientos cocinados en PL presentan valores más bajos ($p < 0.05$) que el resto de los

tratamientos. La reducción en el diámetro del producto durante el cocinado es resultado de la desnaturalización proteica y la pérdida de humedad durante el cocinado (Al-Juhaimi *et al.*, 2017). Los valores más bajos observados por el cocimiento en PL pueden ser debido a una menor desnaturalización de las proteínas contenidas en el interior del producto debido a la formación de la costra superficial. Por el contrario, los tratamientos cocinados en HM muestran mayor reducción en su diámetro. De acuerdo con Lorenzo y Domínguez (2014), el alto campo electromagnético, alta potencia y corto tiempo de temperatura de cocimiento alcanzado en el HM causa una mayor desnaturalización de proteínas y desintegración de la matriz proteica, lo que provoca una mayor reducción del diámetro y afectación a las propiedades de textura del producto.

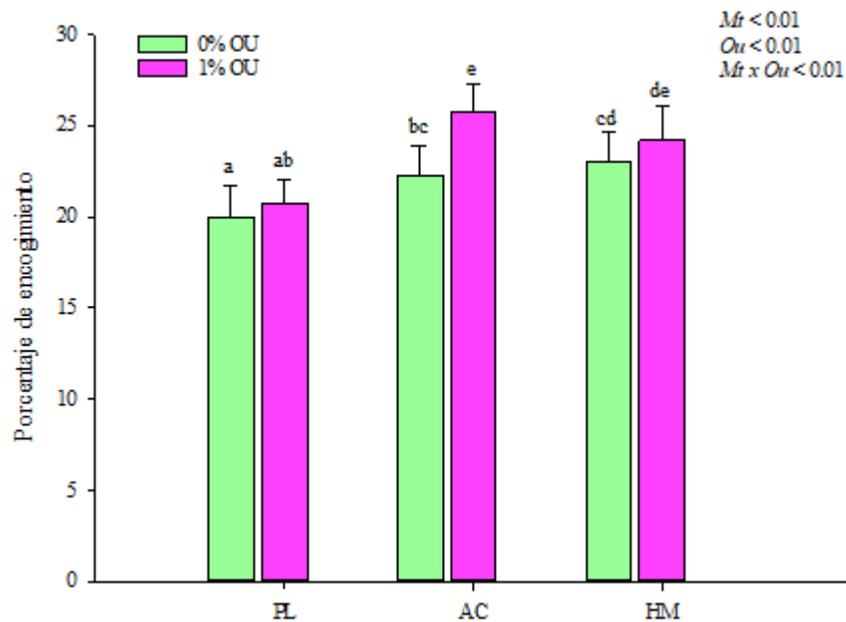


Figura 2. Porcentaje de encogimiento de hamburguesas de res adicionadas con orujo de uva (*Ou*) y cocinadas por diferentes métodos de cocción (*Mt*). Las literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$). PL = Plancha, HM = Horno de microondas, AC = Aire caliente

Por otro lado, la reducción del diámetro fue mayor ($p < 0.05$) en los tratamientos que fueron adicionados con OU y cocinados en AC y HM, probablemente a una mayor desnaturalización de las proteínas y menor retención de agua en el producto, derivado de un pH menor respecto a los tratamientos que no contiene OU (5.60 vs 5.72). Es importante notar que la adición de OU sobre la reducción en el diámetro no fue significativo ($p < 0.05$) cuando el producto fue cocinado en PL.

Los factores que contribuyen a la reducción del diámetro durante el cocinado del producto es la desnaturalización de proteínas y a la pérdida de agua y grasa. La costra superficial formada durante el cocimiento en PL probablemente fue más efectiva en proteger la capacidad de gelificación térmica de las proteínas cárnicas traduciéndose en un menor impacto en el porcentaje de encogimiento.

6.2. Evaluación de la Calidad de Hamburguesas de Res Almacenadas en Refrigeración

6.2.1. Color Instrumental

En el Cuadro 2 se presentan los resultados del análisis de color instrumental de hamburguesas adicionadas con OU y cocinadas por diferentes métodos. Los efectos principales e interacciones de los factores en estudio método de cocción (*Mt*), orujo de uva (*Ou*) y día de almacenamiento (*Día*) sobre los valores de color se muestran en el Cuadro 3. Se observan que *Ou*, *Mt*, *Día* y sus interacciones fueron significativos ($p < 0.05$) en todos los valores de color, excepto *Ou* en L^* ($p = 0.98$).

De acuerdo con los resultados obtenidos se observa que, en promedio la incorporación del 1% de OU en la formulación cárnica no afectó ($p > 0.05$) el valor L^* pero si disminuyó los valores de a^* y b^* ($p < 0.05$). El orujo de uva es un ingrediente con alto contenido de antocianinas que puede impactar el color de hamburguesas tornándolas más oscuras (Pereira *et al.*, 2022). Los estudios consultados indican que, si la adición es mayor al 2%, la reducción del valor L^* es significativa (Ryu *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2022). Estos mismos autores reportan un incremento en los valores de a^* y b^* cuando el OU se incrementa en más del 2% en la formulación (los resultados de los análisis preliminares de la presente investigación indicaron la misma tendencia; más del 2% de incorporación causa una disminución del valor L^* y un aumento en los valores de a^* y b^* , datos no mostrados). El color característico del OU se debe a su alto contenido de antocianinas y que al ser incorporado en productos cárnicos inclina el color hacia tonalidades al amarillo (incremento de b^*) y rojo (incremento de a^*). Bambeni *et al.* (2021), estudiaron los efectos de la adición de diferentes extractos de subproductos, incluyendo OU (0.72%) en hamburguesas de res reportando

que las antocianinas del OU, principalmente la malvidina es la que mayor impacto tienen en los incrementos de los valores a^* y b^* , pero sin efecto sobre el valor L^* .

Cuadro 2. Efectos del método de cocción y adición de orujo de uva sobre el color instrumental (L^* , a^* y b^*) de hamburguesas de res a través del tiempo de almacenamiento.

Método (<i>Mt</i>)	OU (%)	Día			EEM
		1	4	8	
<i>Valor L*</i>					
PL	0	35.97 ^{bA}	37.40 ^{cA}	38.01 ^{bA}	0.382
AC	0	35.57 ^{bB}	31.77 ^{aA}	34.49 ^{aB}	0.478
HM	0	31.67 ^{aA}	34.83 ^{bB}	35.13 ^{aB}	0.459
PL	1	36.70 ^{bA}	38.48 ^{cA}	40.64 ^{cB}	0.510
AC	1	30.34 ^{aA}	31.10 ^{aA}	33.71 ^{aB}	0.407
HM	1	35.05 ^{bB}	32.75 ^{aA}	36.04 ^{bB}	0.444
<i>Valor a*</i>					
PL	0	8.37 ^{cB}	7.73 ^{bA}	7.52 ^{cA}	0.101
AC	0	8.36 ^{cA}	8.40 ^{cA}	8.38 ^{dA}	0.024
HM	0	8.93 ^{dB}	8.54 ^{cA}	8.41 ^{dA}	0.077
PL	1	7.03 ^{aB}	6.79 ^{aB}	6.33 ^{aA}	0.093
AC	1	7.75 ^{bB}	7.59 ^{bB}	6.95 ^{bA}	0.093
HM	1	7.48 ^{bA}	7.47 ^{bA}	7.64 ^{cA}	0.052
<i>Valor b*</i>					
PL	0	12.98 ^{cA}	12.35 ^{cA}	12.75 ^{cA}	0.152
AC	0	10.50 ^{aA}	11.44 ^{bB}	12.22 ^{cB}	0.216
HM	0	11.52 ^{bB}	10.52 ^{abA}	11.19 ^{bAB}	0.152
PL	1	11.57 ^{bA}	11.60 ^{bA}	11.08 ^{abA}	0.094
AC	1	10.33 ^{aA}	10.73 ^{bA}	10.73 ^{abA}	0.074
HM	1	9.79 ^{aA}	9.72 ^{aA}	10.19 ^{aA}	0.084

Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) por columna para cada variable de respuesta. Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada variable de respuesta por fila. OU = Orujo de uva, PL= plancha, HM = horno microondas, AC = aire caliente

Cuadro 3. Efectos principales e interacciones entre los factores método de cocción (*Mt*), orujo de uva (*Ou*) y día de almacenamiento (*Día*) de hamburguesas de res

Efectos	L^*	a^*	b^*
<i>Mt</i>	<0.001	<0.001	<0.001
<i>Ou</i>	0.98	<0.001	<0.001
<i>Mt x Ou</i>	<0.001	0.043	0.041
<i>Día</i>	<0.001	<0.001	0.008
<i>Mt x Día</i>	<0.001	<0.001	<0.001
<i>Ou x Día</i>	0.009	0.037	0.009
<i>Mt x Ou x Día</i>	<0.001	<0.001	0.001

Por otro lado, se puede observar que la cocción en PL, en promedio e independientemente de la adición de OU, presenta valores L^* superiores ($p < 0.05$) al resto de los tratamientos. El contenido de humedad en el producto es un factor muy importante relacionado con la luminosidad del alimento. La humedad en la superficie del alimento refleja la luz que incide en él, por ello los valores de L^* se ven incrementados. Santos *et al.* (2022) incorporaron a hamburguesas de res harina de flor de calabaza obtenida por diferentes métodos y reportaron valores de L^* mayores en aquellos tratamientos con mayor contenido de humedad. Esta misma tendencia se observa en la presente investigación; los productos cocinados en PL retienen mayor cantidad de humedad y presentan menor pérdida por cocción que aquellos cocinados en HM o AC (Cuadro 1, Figura 1). Es de destacar también que, de forma general, el tiempo de almacenamiento provoca una pérdida del color que se traduce en un aumento en los valores de L^* y una disminución del valor a^* y b^* . La causa probable de esta pérdida del color está asociada a los procesos de oxidación proteica y a la pérdida de la capacidad de retención de agua del producto derivado del almacenamiento (Ferreira *et al.* 2016). Estos mismos autores reportan una pérdida del valor a^* y un aumento del valor L^* en hamburguesas de pollo cocinadas por diferentes métodos y almacenadas en refrigeración (4 °C) por 14 días. Resultados similares fueron también reportados por Eshag Osman *et al.* (2021) en hamburguesas de res cocidas y almacenadas en congelación (-20 °C) durante por 60 días.

De igual forma, se observa que la cocción por PL independiente de la incorporación del OU, en promedio presenta valores menores ($p < 0.05$) de a^* y mayores de b^* , en comparación con la cocción por HM y AC. Lo cual se puede atribuir a que sufre un patrón diferente de desnaturalización térmica de las proteínas heme debido a diferencia en la temperatura final alcanzada en la superficie de las hamburguesas cocinadas por los distintos métodos (Yildiz, 2016).

6.2.2. Determinación de pH

En el Cuadro 4 se presentan los resultados del pH de los tratamientos evaluados. Se incluyen, además, los efectos e interacciones de los factores método de cocción (Mt), orujo de uva (Ou) y

tiempo de almacenamiento (*Día*). Hubo efectos significativos ($p < 0.05$) de todos los factores y sus interacciones, respecto al valor de pH en las hamburguesas. Se puede observar que al adicionar OU en la formulación cárnica, de forma general, el pH disminuye ($p < 0.05$); esto puede atribuirse al bajo pH propio del OU que es de aproximadamente 3.6, y que, al ser incorporado en la formulación cárnica, causó un descenso en el pH desde 5.72 en los tratamientos sin adición de OU hasta un 5.60 en aquellos que si lo contenían. Un comportamiento similar al presente estudio fue reportado por Pereira *et al.* (2022) en hamburguesas de res adicionadas con 2 y 4% de OU. Estos autores reportaron un descenso en el pH desde 5.83 en tratamientos sin la adición de OU hasta un 5.68 en los tratamientos con 4% de OU.

Cuadro 4. Efectos del método de cocción (*Mt*) y adición de orujo de uva (*Ou*) sobre el pH de las hamburguesas de res a través del tiempo de almacenamiento (*Día*).

Método (Mt)	OU (%)	Día			EEM		
		1	4	8			
PL	0	5.67 ^{bB}	5.74 ^{bC}	5.65 ^{bA}	0.012		
AC	0	5.73 ^{bB}	5.75 ^{bB}	5.62 ^{abA}	0.017		
HM	0	5.77 ^{bA}	5.85 ^{cB}	5.69 ^{cA}	0.021		
PL	1	5.61 ^{aAB}	5.63 ^{aB}	5.59 ^{aA}	0.008		
AC	1	5.59 ^{aA}	5.64 ^{aA}	5.56 ^{aA}	0.009		
HM	1	5.59 ^{aA}	5.63 ^{aB}	5.59 ^{aA}	0.007		
Efectos (valor de <i>p</i>)							
	<i>Mt</i>	<i>Ou</i>	<i>Mt x Ou</i>	<i>Dia</i>	<i>Mt x Dia</i>	<i>Ou x Dia</i>	<i>Mt x Ou x Dia</i>
	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.020

Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada variable de respuesta por columna.

Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada variable de respuesta por fila.

* $p < 0.05$, *ns* = no significativo

OU = Orujo de uva PL=plancha HM= horno microondas AC= aire caliente

Por otro lado, se observa que al final del tiempo de almacenamiento el pH disminuyó en todos los tratamientos evaluados; esto puede deberse a la acumulación de compuestos ácidos derivados del crecimiento de bacterias en el producto. Este comportamiento es consistente a lo reportado por Al-Juhaimi *et al.* (2017) en hamburguesas de carne de camello adicionadas con harina de hojas de argel, quienes observaron una reducción en el pH desde un valor aproximado de 5.9 en el día inicial de almacenamiento hasta un valor aproximado de 5.6 después de 12 días en refrigeración a 4 °C, atribuyendo esta disminución a la acumulación de sustancias ácidas por bacterias productoras de

ácido. Cabe aclarar que este estudio no especifica el tipo de empaque utilizado en el producto. Por otro lado, al final del almacenamiento, los valores de pH entre los diferentes métodos con adición de OU fue similar ($p > 0.05$), oscilando entre 5.56 y 5.59. Sin embargo, cuando no se adicionó OU, al final del almacenamiento los productos cocinados en PL y AC presentaron un valor de pH menor ($p < 0.05$) que aquellos cocinados en HM.

6.2.3. Análisis de Perfil de Textura

En el Cuadro 5 presentan los resultados del análisis de perfil de textura de hamburguesas adicionadas con OU y cocinadas por diferentes métodos; los parámetros evaluados incluyeron: dureza (N), elasticidad (cm), cohesividad (adimensional) y masticabilidad (N x cm). Los efectos principales e interacciones de los factores en estudio método de cocción (Mt), orujo de uva (Ou) y día de almacenamiento ($Día$) sobre las propiedades de textura se muestran en el Cuadro 6. Se observan que Ou , Mt , $Día$ y sus interacciones fueron significativos ($p < 0.05$) en todos los parámetros de textura, excepto Mt en la cohesividad ($p = 0.897$), la interacción doble $Mt \times OU$ para elasticidad ($p = 0.131$) y cohesividad ($p = 0.079$), la interacción doble $Ou \times Día$ para cohesividad ($p = 0.777$), y la interacción triple $Mt \times OU \times Día$ para masticabilidad ($p = 0.254$).

Cuadro 5. Efectos del método de cocción y adición de orujo de uva sobre las propiedades de textura de hamburguesas de res a través del tiempo de almacenamiento.

Método	OU (%)	Día			EEM
		1	4	8	
<i>Dureza (N)</i>					
PL	0	15.25 ^{abA}	17.30 ^{bA}	18.49 ^{bA}	0.367
AC	0	14.97 ^{aA}	22.86 ^{cdB}	22.48 ^{cB}	1.103
HM	0	25.12 ^{dA}	27.84 ^{dAB}	30.09 ^{dB}	0.704
PL	1	12.80 ^{aA}	12.93 ^{aA}	11.66 ^{aA}	0.227
AC	1	19.78 ^{bcA}	20.53 ^{bcA}	16.96 ^{bA}	0.573
HM	1	20.35 ^{cA}	25.08 ^{dB}	18.39 ^{bA}	0.888
<i>Elasticidad (cm)</i>					
PL	0	0.86 ^{bcA}	0.86 ^{bcA}	0.84 ^{bA}	0.004
AC	0	0.88 ^{cA}	0.86 ^{bcA}	0.86 ^{bA}	0.003
HM	0	0.84 ^{abA}	0.88 ^{cB}	0.87 ^{bB}	0.006
PL	1	0.83 ^{aA}	0.83 ^{aA}	0.81 ^{aA}	0.003
AC	1	0.83 ^{aA}	0.84 ^{abA}	0.83 ^{abA}	0.003
HM	1	0.83 ^{aA}	0.83 ^{aA}	0.81 ^{aA}	0.002
<i>Cohesividad</i>					
PL	0	0.59 ^{aA}	0.58 ^{cdA}	0.57 ^{bcA}	0.006
AC	0	0.65 ^{bB}	0.56 ^{bcdA}	0.57 ^{bA}	0.011
HM	0	0.60 ^{abA}	0.61 ^{dA}	0.57 ^{bA}	0.008
PL	1	0.59 ^{ab}	0.54 ^{abcA}	0.50 ^{aA}	0.010
AC	1	0.58 ^{aB}	0.50 ^{aA}	0.51 ^{aA}	0.011
HM	1	0.56 ^{aA}	0.51 ^{abA}	0.52 ^{aA}	0.007
<i>Masticabilidad (N x cm)</i>					
PL	0	8.51 ^{abA}	8.59 ^{bA}	8.88 ^{bA}	0.126
AC	0	9.24 ^{bA}	11.20 ^{cB}	11.48 ^{cB}	0.414
HM	0	12.26 ^{cA}	15.15 ^{dB}	14.93 ^{dB}	0.431
PL	1	6.77 ^{aA}	5.88 ^{aA}	4.61 ^{aA}	0.271
AC	1	10.49 ^{bA}	9.10 ^{bcA}	8.40 ^{bA}	0.394
HM	1	9.22 ^{bAB}	10.79 ^{cB}	7.70 ^{bA}	0.390

Literales minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada variable de respuesta por columna.

Literales mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) para cada variable de respuesta por fila.

OU = Orujo de uva, PL = plancha, HM = horno microondas, AC = aire caliente.

Cuadro 6. Efectos principales e interacciones entre los factores método de cocción (*Mt*), orujo de uva (*Ou*) y día de almacenamiento (*Día*) de hamburguesas de res

Efectos	Dureza	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad
<i>Mt</i>	<0.001	<0.001	0.897	<0.001
<i>Ou</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<i>Mt x Ou</i>	<0.001	0.131	0.079	<0.001
<i>Día</i>	<0.001	0.003	<0.001	0.004
<i>Mt x Día</i>	0.007	<0.001	<0.001	<0.001
<i>Ou x Día</i>	<0.001	0.777	0.034	<0.001
<i>Mt x Ou x Día</i>	<0.001	<0.001	0.042	0.254

Los resultados mostrados en el Cuadro 5 indican que al adicionar OU, de manera general se reducen ($p < 0.05$) todas las propiedades de textura del producto, tendencia que se observa en cada uno de los días de muestreo. Este comportamiento posiblemente sea debido a una mayor desnaturalización de las proteínas miofibrilares ocasionada por la disminución del pH de las hamburguesas al adicionar OU. Otra posible causa puede ser debido a la incorporación de un ingrediente no cárnicos como el OU lo que provoca un efecto de interferencia en la interacción de las proteínas miofibrilares en el sistema cárnico, resultando en la formación de una red tridimensional más débil e impactando a las propiedades de textura (Valenzuela-Melendres *et al.* 2014). Sin embargo, efectos diferentes pueden obtenerse al adicionar un mayor porcentaje de OU a las hamburguesas, como el reportado por Pereira *et al.* (2022), con la adición de 2 y 4% de OU en hamburguesas de res. Estos autores reportaron un incremento en los valores de textura cuando el porcentaje de OU aumentó de 2 a 4%, atribuible a un incremento en el contenido de fibra

Por otro lado, los métodos de cocción en HM y AC, de manera general provocan un aumento en las propiedades de textura ($p < 0.05$) en comparación con el cocinado en PL. Esto probablemente pueda ser atribuido a una mayor deshidratación del producto. Al haber una mayor pérdida de líquidos durante la cocción, ocasionada por la desnaturalización proteica inducida por el calor, queda menos agua atrapada dentro de las estructuras proteicas, promoviendo una mayor dureza en la hamburguesa (Lorenzo *et al.*, 2015). Con el cocimiento con los métodos en HM y AC, probablemente se da una mayor desnaturalización y agregación de las proteínas miofibrilares resultando en un mayor encogimiento de la matriz proteica y expulsión de fluidos (Vu *et al.*, 2022). Como se reportó anteriormente, la humedad de los productos cocinados en HM y AC presentaron valores significativamente menores (Cuadro 1) al cocinado en PL, además de mayor PPC y PE (Figura 1 y Figura 2, respectivamente).

El almacenamiento en refrigeración de los tratamientos evaluados en la presente investigación resulta en una disminución de los valores de pH (Cuadro 4), esta podría ser una de las causas por las cuales los parámetros de textura de manera general se ven disminuidos al final del almacenamiento. Otra causa probable es la pérdida de humedad durante el almacenamiento en refrigeración. Parte del agua en el interior del producto migra hacia la superficie, formando una capa de agua condensada, de manera que tanto la pérdida por goteo como la pérdida por cocción aumentan lo que a su vez afecta las propiedades de textura, principalmente la dureza y masticabilidad (Cerón-Guevara *et al.*, 2019).

6.2.4. Determinación de Oxidación Lipídica

Los efectos principales e interacciones de los factores en estudio método de cocción (*Mt*), orujo de uva (*Ou*) y día de almacenamiento (*Día*) sobre la oxidación de lípidos se muestran en la Figura 3. Se observan que *Ou* y *Día* y sus interacciones fueron significativos ($p < 0.05$).

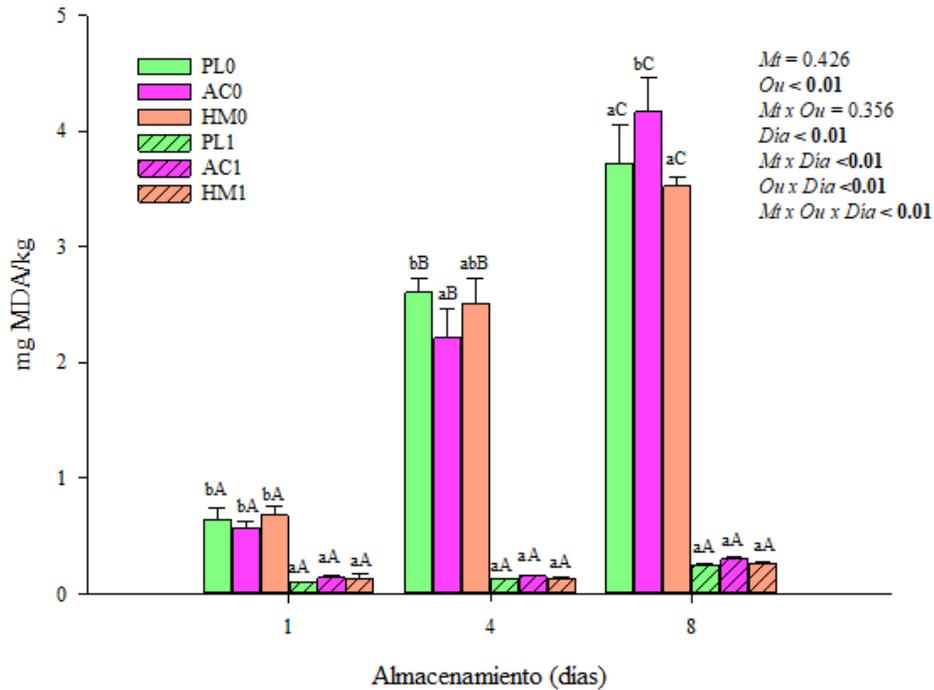


Figura 3. Oxidación de lípidos durante el almacenamiento de hamburguesas de res cocinadas por los métodos (*Mt*) de plancha (PL), aire caliente (AC) y horno de microondas (HM) preparadas con o sin orujo de uva (OU). PL0 = PL + 0% OU, AC0 = AC + 0% OU, HM = HM + 0% OU, PL1 = PL + 1% OU, AC1 = AC+ 1% OU, HM1 = HM + 1% OU. Letras minúsculas indican diferencias entre tratamientos dentro de cada día de muestreo ($p < 0.05$); letras mayúsculas indican diferencias de cada tratamiento a través del periodo de almacenamiento ($p < 0.05$).

Se observa que la oxidación lipídica en el producto incrementa ($p < 0.05$) con el tiempo de almacenamiento. Es de destacar que al final del almacenamiento, los productos sin adición de OU cocinados mediante el método de AC exhibieron valores de oxidación significativamente mayor ($p < 0.05$) al resto de los tratamientos, mientras que la cocción en PL y HM presentaron los valores más bajos. El grado de oxidación depende del método, la temperatura de procesado y el tiempo de

la cocción (Hur *et al.*, 2014). En la preparación con AC se requiere mayor tiempo (9 min) para la cocción en comparación con los otros métodos (3.20 min), condición que pudo influir en los valores de TBA pero que si bien, en el primer día de almacenamiento no se presentaron diferencias con respecto a PL y HM, éstas fueron evidentes solo al final. Para el caso de la cocción en PL, un factor importante por considerar es que en este tipo de preparación se forma una costra superficial lo cual reduce su pérdida de agua como se puede observar en PPC (Figura 2) y en los valores de humedad (Cuadro 1) a diferencia de los otros métodos. Domínguez *et al.* (2014a) compararon diferentes métodos de cocción y evaluaron la oxidación lipídica en hamburguesas de caballo, observando que en la cocción por PL hay una menor oxidación, pero a diferencia de en nuestro estudio los autores reportan una mayor oxidación cuando el cocimiento es en HM. Estas discrepancias pueden deberse a diferencias en las condiciones de cocimiento, incluyendo la potencia del equipo utilizado (1000W vs 700W en nuestro estudio).

Por otra parte, se observa en la Figura 3 que la incorporación de OU disminuye significativamente ($p < 0.05$) la oxidación lipídica. Efecto que se mantiene a través del tiempo de almacenamiento ($p < 0.05$) indistinto de que método de cocción se utilice. Se puede observar que desde el día 1, las hamburguesas con OU presentan una menor ($p < 0.05$) oxidación. Este efecto es de suma relevancia ya que la adición de OU podría proteger al alimento desde el momento de la cocción, permitiendo que la carne se encuentre menos oxidada previo a su consumo. El efecto antioxidante del OU puede ser atribuido al contenido de fenoles y capacidad antioxidante atendiendo del mecanismo de acción previamente descrito (Villalobos-Delgado *et al.*, 2020). Dicho mecanismo se relaciona con la reducción de los radicales libre al donar un electrón lo cual neutraliza al oxígeno reactivo, evitando la propagación. Resultados similares reportaron Hyun-Joo *et al.* (2017) al estudiar la adición de OU en lomo de cerdo almacenado a 4 °C, quienes observaron que gracias a la incorporación OU se conserva mejor la calidad de la carne y sus características durante el tiempo de almacenamiento incluyendo una reducción en la oxidación lipídica. De igual forma, los resultados reportados Cilli *et al.* (2020) quienes estudiaron los efectos de la incorporación de OU en hamburguesas de salmón, refuerzan que al adicionar OU a una matriz cárnica se reduce la oxidación lipídica a través del tiempo de almacenamiento en comparación con las hamburguesas que no se les incorpora.

6.3. Fenoles Totales, Capacidad Antioxidante y Oxidación de Lípidos Durante la Digestión *In vitro*

6.3.1. Fenoles Totales

En la Figura 4 se muestra el contenido de fenoles totales de las hamburguesas de res adicionadas con OU y sin adicionar, antes y después de la digestión *in vitro*. En la Figura 4 se incluyen los efectos e interacciones del método de cocción (*Mt*), orujo de uva (*Ou*) y etapa de la digestión (*Et*) sobre la variable de respuesta en estudio. Se observa que *Mt*, *Ou*, *Día* y sus interacciones tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) respecto al contenido de fenoles totales. Es de destacar que antes de la digestión no hay diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los tratamientos evaluados; un incremento significativo ($p < 0.05$) se observa después de la digestión en todos los tratamientos evaluados, incluyendo aquellos en los que el OU no fue adicionado, aunque en menor medida en comparación con los adicionados. De acuerdo con Ashaolu *et al.* (2023), el incremento en los FT observado después de la digestión puede ser atribuido a los péptidos derivados de la hidrólisis proteica por las enzimas digestivas y que son cuantificados por las técnicas utilizadas para la medición de FT. Por otro lado, Kim y Hur (2018), atribuyen el aumento en el contenido de fenoles posterior a la digestión al pH, mencionan que el cambio de entorno ácido a uno alcalino mejora la disponibilidad de los fenoles, debido a que se promueve la desprotonación de los hidroxilos, presentes en sus anillos aromáticos. Así mismo, mencionan que en las condiciones alcalinas del intestino delgado los fenoles sufren cambios en sus estructuras químicas y tienen diferentes biodisponibilidades y actividades biológicas.

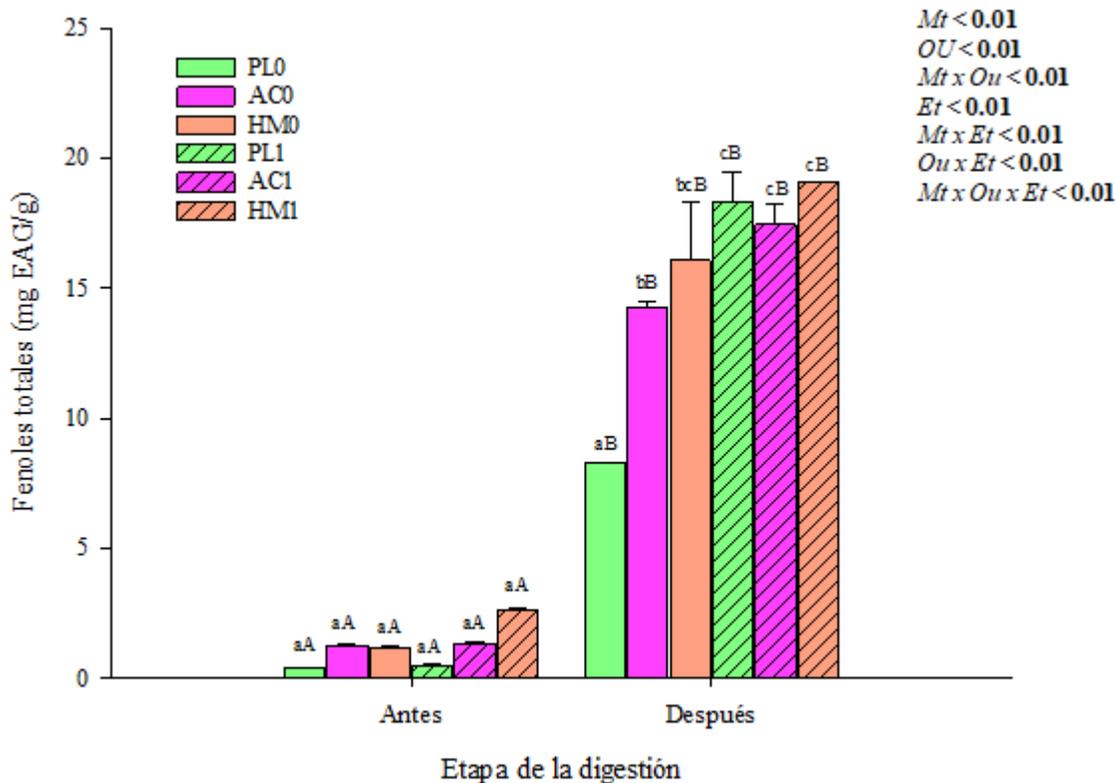


Figura 4. Contenido de fenoles totales en las etapas de la digestión (*Et*) de hamburguesas de res cocinadas por los métodos (*Mt*) de plancha (PL), aire caliente (AC) y horno de microondas (HM) preparadas con o sin orujo de uva (OU). PL0 = PL + 0% OU, AC0 = AC + 0% OU, HM = HM + 0% OU, PL1 = PL + 1% OU, AC1 = AC + 1% OU, HM1 = HM + 1% OU. Letras minúsculas indican diferencias entre tratamientos dentro de cada etapa de la digestión ($p < 0.05$); letras mayúsculas indican diferencias de cada tratamiento entre las etapas de la digestión ($p < 0.05$).

Por otro lado, si se comparan solo los tratamientos después de la etapa de digestión *in vitro*, se observa que aquellos que contienen OU muestran un contenido de fenoles totales similar ($p > 0.05$) entre ellos, con valores en su conjunto mayores al grupo de tratamientos que no contienen OU. El OU es un subproducto derivado del procesamiento de la uva alto en contenido de compuestos fenólicos que incluyen estilbenos como el resveratrol, flavonoides como el kamferol y antocianinas como maldivinas (Antonic *et al.*, 2020) Los fenoles contenidos en materiales vegetales como el orujo de uva se encuentran de forma libre o unidos mediante enlaces covalentes a la matriz del alimento, principalmente a fibra (Jiang *et al.*, 2021) y que durante la digestión *in vitro* pueden ser liberados y detectados (Kim & Hur, 2018). En cambio, cuando se comparan los tratamientos sin la adición de OU después de la digestión *in vitro*, se observan diferencias dependiendo del método de cocción utilizado. En este sentido, el producto cocinado en PL muestra un contenido de FT

significativamente menor ($p < 0.05$) a los productos cocinados en HM y AC. Estas diferencias pueden deberse a que las hamburguesas cocinadas por AC y HM presentan una mayor desnaturalización de la proteína al tener una mayor pérdida de agua, que pudiera facilitar su hidrólisis digestiva, en comparación con la cocción por PL (Cuadro 1).

6.3.2. Capacidad Antioxidante

En la Figura 5 se muestran los resultados de la capacidad antioxidante de hamburguesas de res adicionadas con OU y sin adicionar, antes y después de la digestión, evaluadas por las técnicas de DDPH (Figura 5A) y FRAP (Figura 5B). En esta figura se incluyen también los efectos e interacciones de los factores método de cocción (Mt), orujo de uva (Ou) y etapa de la digestión (Et) sobre las variables de respuesta estudiadas. Se observa que Mt , Ou , Et y sus interacciones tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) respecto a la capacidad antioxidante por los métodos de FRAP y DPPH, en este último exceptuando la interacción doble $Mt \times Ou$ ($p = 0.052$) y la interacción triple $Mt \times Ou \times Et$ ($p = 0.077$). Se observa que la capacidad antioxidante antes de la digestión es similar ($p > 0.05$) indistinto del método utilizado y la adición del OU. Por el contrario, se observa un incremento ($p < 0.05$) de la capacidad antioxidante posterior a la digestión. Esto puede atribuirse como se observa en el contenido de fenoles (Figura 4), a que posterior a la digestión éstos son liberados (Kim & Hur, 2018). Por otro lado, Navajas-Porras *et al.* (2020) estudiaron la capacidad antioxidante de diferentes alimentos de origen animal cocinados por diferentes métodos, plancha, horno de microondas y aire caliente en la digestión *in vitro*; encontrando que no había diferencia en la cocción entre los diferentes métodos sobre la capacidad antioxidante de la carne en la digestión, sino que la diferencia ocurre posterior a la fermentación por el intestino grueso por la acción del microbiota.

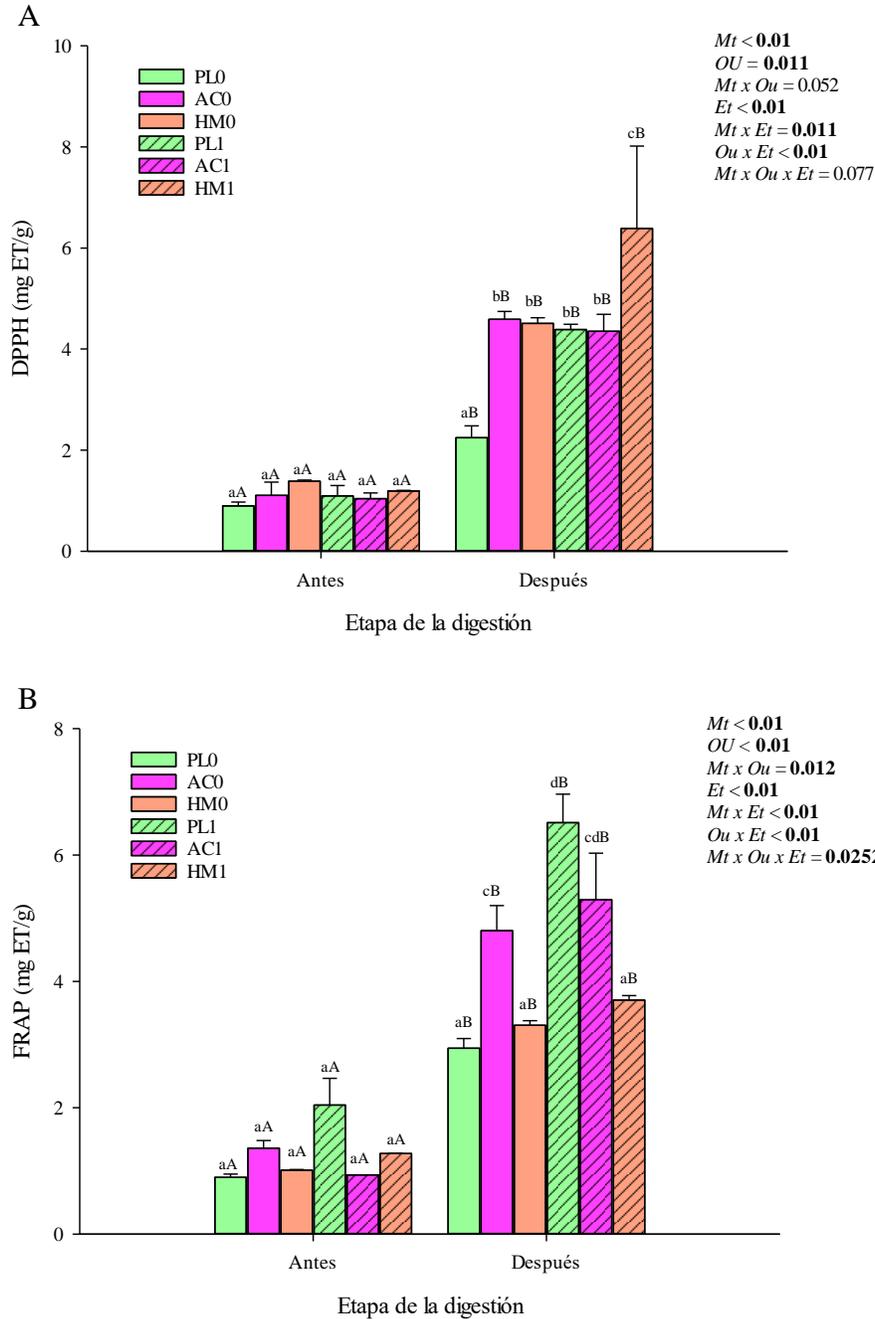


Figura 5. Capacidad antioxidante medida por los métodos de DPPH (A) y FRAP (B) en las etapas de la digestión (*Et*) de hamburguesas de res cocinadas por los métodos (*Mt*) de plancha (PL), aire caliente (AC) y horno de microondas (HM) preparadas con o sin orujo de uva (OU). PL0 = PL + 0% OU, AC0 = AC + 0% OU, HM = HM + 0% OU, PL1 = PL + 1% OU, AC1 = AC + 1% OU, HM1 = HM + 1% OU. Letras minúsculas indican diferencias entre tratamientos dentro de cada etapa de la digestión ($p < 0.05$); letras mayúsculas indican diferencias de cada tratamiento entre las etapas de la digestión ($p < 0.05$).

Por otro lado, considerando solo los tratamientos posteriores a la digestión, en promedio los

tratamientos con la adición de OU tienen una mayor ($p < 0.05$) capacidad antioxidante, en comparación con los tratamientos sin adicionar. De igual forma, se observa un comportamiento similar con el contenido de fenoles totales (Figura 4). Considerando únicamente los tratamientos posteriores a la digestión se observa que las hamburguesas cocinadas con PL presentan una menor ($p < 0.05$) capacidad antioxidante, en comparación con las cocinadas por otros métodos. Estas diferencias pueden atribuirse a que las hamburguesas cocinadas por PL sufren una menor pérdida de agua (Cuadro 1), gracias a la formación de la costra superficial, pudiendo sufrir una menor desnaturalización de la proteína y una menor hidrólisis durante la digestión lo cual puede reflejarse en una menor capacidad antioxidante o bien menor identificación durante la prueba. Como anteriormente se mencionó, los péptidos derivados de la hidrólisis proteica por las enzimas digestivas pueden contribuir al aumento en los valores de capacidad antioxidante (Ashaolu *et al.*, 2023).

6.3.3. Oxidación Lipídica después de la Digestión *in vitro*.

En la Figura 6 se muestran los resultados de la oxidación lipídica de las hamburguesas de res adicionadas con OU y sin adicionar, antes y después de la digestión. Los efectos e interacciones del método de cocción (*Mt*), orujo de uva (*Ou*) y etapa de la digestión (*Et*) se incluyen también en esta figura. Se observa que *Mt*, *Ou*, *Et* y sus interacciones fueron significativos ($p < 0.05$), respecto al valor de TBA evaluado. En cuanto al método de cocción, en promedio, el cocimiento en PL muestra los valores más bajos de oxidación, seguido de HM y AC. Esto puede atribuirse a que en la cocción por plancha se forma una costra superficial lo cual reduce su pérdida de agua como se puede observar en PPC (Figura 1) y en los valores de humedad (Cuadro 1) a diferencia de los otros métodos. Resultados similares observaron Domínguez *et al.* (2014b) al comparar diferentes métodos de cocción y evaluar la oxidación lipídica, observando que en la cocción por PL hay una menor oxidación en comparación con otros métodos incluyendo horno de microonda y aire caliente.

Por otro lado, se observa que al añadir OU en la formulación cárnica la oxidación se reduce significativamente ($p < 0.05$), indistinto de que método de cocción se utilice para la preparación del producto, tanto antes como después de la digestión simulada.

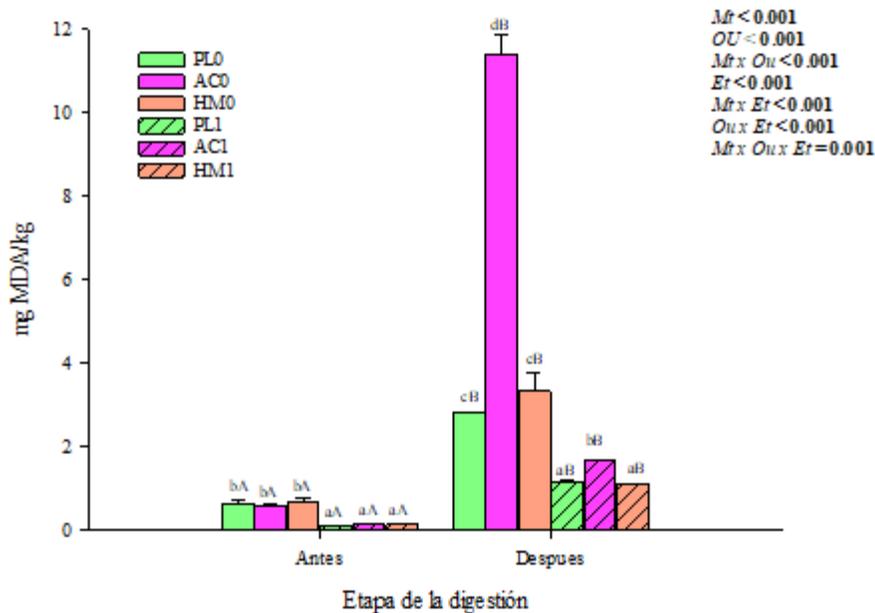


Figura 6. Oxidación lipídica (TBA) en las etapas de la digestión (*Et*) de hamburguesas de res cocinadas por los métodos (*Mt*) de plancha (PL), aire caliente (AC) y horno de microondas (HM) preparadas con o sin orujo de uva (OU). PL0 = PL + 0% OU, AC0 = AC + 0% OU, HM = HM + 0% OU, PL1 = PL + 1% OU, AC1 = AC + 1% OU, HM1 = HM + 1% OU. Letras minúsculas indican diferencias entre tratamientos dentro de cada etapa de la digestión ($p < 0.05$); letras mayúsculas indican diferencias de cada tratamiento entre las etapas de la digestión ($p < 0.05$).

Si se comparan los tratamientos después de la digestión *in vitro*, se aprecia que aquellos a los que no se les adicionó OU, presentan un grado de oxidación mayor a los tratamientos que si fueron adicionados. Resultados similares observaron Trujillo-Mayola *et al.* (2022) cuando estudiaron el efecto de la incorporación de un extracto de cáscara de aguacate sobre la oxidación lipídica después de la digestión simulada de hamburguesas de res, observando un incremento de los valores de TBA en muestras digeridas, que sin embargo disminuyeron al adicionar 0.5% del extracto de cáscara de aguacate en la formulación cárnica. Así mismo, Martini *et al.* (2021) observaron que al adicionar diferentes especies de pimienta a carne de pavo antes de cocinarla se redujo la oxidación lipídica después de la digestión. Estos resultados, permiten aseverar que el adicionar un subproducto como el OU con buena capacidad antioxidante favorece a la reducción de la oxidación lipídica después de la digestión.

En relación con los tratamientos después de la digestión, aquellos sin adición de OU muestran diferencias, siendo mayor ($p < 0.05$) en los productos cocinados en AC, comparado con PL y HM. De igual forma, Hur *et al.* (2014) plantearon que los métodos de cocción pueden influir en la

digestibilidad total de los lípidos y al aumento de la oxidación lipídica potencialmente debido al daño de la membrana celular causado por el calentamiento. Así mismo, indican que el aumento en la oxidación posterior a la digestión *in vitro* puede deberse a que los lípidos son hidrolizados por las enzimas digestivas y las sales biliares.

7. CONCLUSIONES

Con la investigación realizada, se puede concluir que el orujo de uva es una buena alternativa como antioxidante en las hamburguesas de res pues inhibe la oxidación lipídica de los productos durante al menos 8 d de almacenamiento en refrigeración, independientemente del método de cocción se utilice. Así mismo, durante el proceso digestivo de hamburguesas de res, se incrementa la oxidación de lípidos; sin embargo, el impacto fue significativamente menor al añadir orujo de uva como fuente de antioxidantes. A pesar de estos beneficios, la adición de 1% de orujo de uva en la formulación cárnica provoca cambios en la calidad fisicoquímica de las hamburguesas como disminución de la textura y el color, razón por la cual se recomienda realizar evaluaciones de las propiedades sensoriales. Así mismo, el método de cocción por AC incrementa el nivel de oxidación del alimento ya sea después de 8 d de almacenamientos en refrigeración o después de la digestión, sin la adición de orujo de uva, lo que podrían tener un impacto en la salud. En la presente investigación se generó información valiosa que pone de manifiesto las diferencias entre los métodos de cocción de hamburguesas de res respecto su impacto en la calidad fisicoquímica y oxidación de lípidos después de la digestión *in vitro*. La cocción por AC expone al producto a altas temperaturas por tiempos más largos en comparación con los métodos por PL y HM, reflejándose en una mayor oxidación de lípidos después de la digestión *in vitro* que puede ser controlada por la adición del 1% de OU.

8. REFERENCIAS

- Abdel-Naeem, H., Sallam, K. & Zaki, H. (2021). Effect of different cooking methods of rabbit meat on topographical changes, physicochemical characteristics, fatty acids profile, microbial quality and sensory attributes. *Meat Science* 181, 108612.
- Al-Juhaimi, F. Y., Mohamed Ahmed, I. A., Adiamo, O. Q., Adisa, A. R., Ghafoor, K., Özcan, M. M., & Babiker, E. E. (2018). Effect of Argel (*Solenostemma argel*) leaf powder on the quality attributes of camel patties during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13496.
- Al-Shibli, M. A., Al-Ali, R. M., & Hashim, A. Z. (2022, July). Oxidative reaction of frozen-stored and heat treatments meat products. in IOP conference series: Earth and Environmental Science (Vol. 1060, No. 1, p. 012063). IOP Publishing.
- Amin, R. A., & Edris, S. N. (2017). Grape seed extract as natural antioxidant and antibacterial in minced beef. *PSM Biol. Res*, 2(2), 89–96.
- Anastasiadi, M., Pratsinis, H., Kletsas, D., Skaltsounis, A.-L., & Haroutounian, S. A. (2012). Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their *in vitro* antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 48(2), 316–322.
- Antonić, B., Jančíková, S., Dordević, D., & Tremlová, B. (2020). Grape pomace valorization: A systematic review and meta-analysis. *Foods*, 9(11), 1627.
- A.O.A.C. (1990). Official Methods of Analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemist, Washington DC.
- Ashaolu T., Le T. & Suttikhana I. (2023). An updated review of the biological activities, production and safety of meat-derived peptides. *International Journal of Food Science and Technology*, 58, 1712–1719.
- Bambeni T., Tayengwa T., Chikwanha O., Manley M., Gouws P., Marais J., Fawole O., Mapiye C. (2021). Biopreservative efficacy of grape (*Vitis vinifera*) and clementine mandarin orange (*Citrus reticulata*) by-product extracts in raw ground beef patties. *Meat Science*, 181, 108609.
- Bekhit, A. E. D. A., Hopkins, D. L., Fahri, F. T., & Ponnampalam, E. N. (2013). Oxidative processes in muscle systems and fresh meat: Sources, markers, and remedies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5), 565–597.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bilek A. & Turhan S. (2009). Enhancement of the nutritional status of beef patties by adding flaxseed flour. *Meat Science*, 82, 472–477.
- Beres, C., Costa, G. N. S., Cabezudo, I., da Silva-James, N. K., Teles, A. S. C., Cruz, A. P. G., Mellinger-Silva, C., Tonon, R. v, Cabral, L. M. C., & Freitas, S. P. (2017). Towards integral utilization of grape pomace from winemaking process: A review. *Waste Management*, 68, 581–594.

- Bourne, M. (2002). Food texture and viscosity: concept and measurement: Academic press.
- Caldas, T. W., Mazza, K. E. L., Teles, A. S. C., Mattos, G. N., Brígida, A. I. S., Conte-Junior, C. A., Borguini, R. G., Godoy, R. L. O., Cabral, L. M. C., & Tonon, R. v. (2018). Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*, *111*, 86–91.
- Camou, J. P., Ríos, H. G., & Melendres, M. V. (2018). Alimentos funcionales cárnicos. In *Los Alimentos Funcionales: Un nuevo reto para la industria de alimentos*. AGT EDITOR.
- Camou, J. P., Valenzuela-Melendres, M., González-Ríos, H., & Luis Dávila-Ramírez, J. (2018). Subproductos de la industria alimentaria como ingredientes para el desarrollo de productos cárnicos funcionales. In *Aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria para la obtención de compuestos bioactivos*. AGT EDITOR, S.A.
- Campos González Nill, Fontes Zepeda Alejandro, Zepeda Ruíz Clarisa G., Pacheco Ordaz Ramón, Domínguez Ávila Abraham J., Hernández-Mendoza Adrián, González-Córdova Aarón, Ayala-Zavala Fernando Jesus, & González Aguilar Gustavo A. (2018). Validación de alimento funcionales a través de técnicas *in vitro*. In *Aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria para la obtención de compuestos bioactivos*. AGT EDITOR, S.A.
- Cerón-Guevara, M. I., Rangel-Vargas, E., Lorenzo, J. M., Bermúdez, R., Pateiro, M., Rodriguez, J. A., & Santos, E. M. (2020). Effect of the addition of edible mushroom flours (*Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*) on physicochemical and sensory properties of cold-stored beef patties. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(3), e14351.
- Cilli L., Contini L., Patricia Sinnecker P., Lopes P., Andreo M., Neiva C., Nascimento M., Yoshida C. & Venturini A. (2020). Effects of grape pomace flour on quality parameters of salmon burger. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*:e14329.
- Dávila, I., Robles, E., Egüés, I., Labidi, J., & Gullón, P. (2017). 2 - The Biorefinery Concept for the Industrial Valorization of Grape Processing By-Products. In C. M. Galanakis (Ed.), *Handbook of Grape Processing By-Products* (pp. 29–53). Academic Press.
- Domínguez, R., Gómez, M., Fonseca, S., & Lorenzo, J. M. (2014a). Influence of thermal treatment on formation of volatile compounds, cooking loss and lipid oxidation in foal meat. *LWT - Food Science and Technology*, *58*(2), 439–445.
- Domínguez, R., Gómez, M., Fonseca, S., & Lorenzo, J. M. (2014b). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. *Meat Science*, *97*(2), 223–230.
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019a). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, *8* (10), 429.
- Eshag-Osman, M. F. E., Mohamed, A. A., Ahmed, I. A. M., Alamri, M. S., Al Juhaimi, F. Y., Hussain, S. & Qasem, A. A. (2022). Acetylated corn starch as a fat replacer: Effect on physiochemical, textural, and sensory attributes of beef patties during frozen storage. *Food Chemistry*, *388*, 132988.
- Estévez, M. (2021). Critical overview of the use of plant antioxidants in the meat industry: Opportunities, innovative applications, and future perspectives. *Meat Science*, *181*.

- Estévez, M., & Luna, C. (2017). Dietary protein oxidation: A silent threat to human health? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(17), 3781-3793.
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64: 171–181). Elsevier Ltd.
- Ferreira, V. C., Morcuende, D., Madruga, M. S., Hernández-López, S. H., Silva, F. A., Ventanas, S., & Estévez, M. (2016). Effect of pre-cooking methods on the chemical and sensory deterioration of ready-to-eat chicken patties during chilled storage and microwave reheating. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 2760-2769.
- García-Lomillo, J., Gonzalez-SanJose, M. L., del Pino-García, R., Ortega-Heras, M., & Muñiz-Rodríguez, P. (2017). Antioxidant effect of seasonings derived from wine pomace on lipid oxidation in refrigerated and frozen beef patties. *LWT-Food Science and Technology*, 77, 85–91.
- Gómez, I., Beriain, M. J., Mendizabal, J. A., Realini, C., & Purroy, A. (2015). Shelf life of ground beef enriched with omega-3 and/or conjugated linoleic acid and use of grape seed extract to inhibit lipid oxidation. *Food Science & Nutrition*, 4(1), 67–79.
- González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Martínez-Téllez, M. A., Gardea, A. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2007). Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *Journal of Food Science*, 72(3), S197–S202.
- Gruffat, D., Bauchart, D., Thomas, A., Parafita, E., & Durand, D. (2021). Fatty acid composition and oxidation in beef muscles as affected by ageing times and cooking methods. *Food Chemistry*, 343.
- Horbańczuk, O. K., Kurek, M. A., Atanasov, A. G., Brnčić, M., & Brnčić, S. R. (2019a). The effect of natural antioxidants on quality and shelf life of beef and beef products. In *Food Technology and Biotechnology* (Vol. 57, Issue 4, pp. 439–447). University of Zagreb.
- Horbańczuk, O. K., Kurek, M. A., Atanasov, A. G., Brnčić, M., & Brnčić, S. R. (2019b). The effect of natural antioxidants on quality and shelf life of beef and beef products. In *Food Technology and Biotechnology* (Vol. 57, Issue 4, pp. 439–447). University of Zagreb.
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Moon, S. S., & Lee, S. J. (2014). *In vitro* effects of cooking methods on digestibility of lipids and formation of cholesterol oxidation products in pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34(3), 280–286.
- Hyun-Joo L., Lee J., Jung M., Choi J., Jung J., Choi Y. & Lee J. (2017). Meat quality and storage characteristics of pork loin marinated in grape pomace. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(5): 726-734.
- Jeong, J. Y., Lim, S. T., & Kim, C. J. (2016). The quality characteristics of salted ground pork patties containing various fat levels by microwave cooking. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(4), 538–546.
- Jiang, G., Wu, Z., Ramachandra, K., Zhao, C., & Ameer, K. (2021). Changes in structural and chemical composition of insoluble dietary fibers bound phenolic complexes from grape pomace by alkaline hydrolysis treatment. *Food Science and Technology*, 42, e50921.
- Keuleyan, E., Bonifacie, A., Gatellier, P., Ferreira, C., Blinet, S., Promeprat, A., Nassy, G., Santé-

- lhoutellier, V., & Théron, L. (2021). Design of an *in vitro* model to screen the chemical reactivity induced by polyphenols and vitamins during digestion: An application to processed meat. *Foods*, 10(9).
- Kim, H. S., & Hur, S. J. (2018). Effects of *in vitro* human digestion on the antioxidant activity and stability of lycopene and phenolic compounds in pork patties containing dried tomato prepared at different temperatures. *Journal of Food Science*, 83(7), 1816–1822.
- Lachman, J., Hejtmánková, A., Hejtmánková, K., Horníčková, Š., Pivec, V., Skala, O., Dědina, M., & Přibyl, J. (2013). Towards complex utilisation of winemaking residues: Characterisation of grape seeds by total phenols, tocopherols and essential elements content as a by-product of winemaking. *Industrial Crops and Products*, 49, 445–453.
- Larsson, K., Cavonius, L., Alminger, M., & Undeland, I. (2012). Oxidation of cod liver oil during gastrointestinal *in vitro* digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7556–7564.
- Li, W., Zhang, X., He, Z., Chen, Y., Li, Z., Meng, T., Li, Y., & Cao, Y. (2020). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of eucalyptus leaf polyphenols extract and its effect on chicken meat quality and cecum microbiota. *Food Research International*, 136.
- Lorenzo J. & Dominguez R. (2014). Cooking losses, lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat as affected by cooking procedure. *Flavour and Fragrance Journal*, 29, 240–248.
- Lorenzo J., Cittadini A., Munekata P. & Dominguez R. (2015). Physicochemical properties of foal meat as affected by cooking methods. *Meat Science*. 108, 50-54.
- Manassis, G., Kalogianni, A. I., Lazou, T., Moschovas, M., Bossis, I., & Gelasakis, A. I. (2020). Plant-derived natural antioxidants in meat and meat products. *Antioxidants*, 9(12), 1215.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., le Feunteun, S., Lesmes, U., MacIerzanka, A., MacKie, A., Brodkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, 5(6), 1113–1124.
- Martínez, J., Nieto, G., Castillo, J., & Ros, G. (2014). Influence of *in vitro* gastrointestinal digestion and/or grape seed extract addition on antioxidant capacity of meat emulsions. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 834-840.
- Martini S., Conte A., Bottazzi S., Tagliazucchi D. (2020). Mediterranean diet vegetable foods protect meat lipids from oxidation during *in vitro* gastro-intestinal digestion. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 71:4, 424-439.
- Martini S., Cattivelli A., Conte A., Tagliazucchi D. (2021). Black, green, and pink pepper affect differently lipid oxidation during cooking and *in vitro* digestion of meat. *Food Chemistry* 350, 129246.
- Navajas-Porras, B., Pérez-Burillo, S., Valverde-Moya, Á., Hinojosa-Nogueira, D., Pastoriza, S., Rufián-Henares, J.Á. Effect of cooking methods on the antioxidant capacity of foods of animal origin submitted to *in vitro* digestion- fermentation. *Antioxidants*, 10, 445.
- Olmedilla-Alonso, B., & Jiménez-Colmenero, F. (2014). Alimentos cárnicos funcionales;

- desarrollo y evaluación de sus propiedades saludables. *Nutricion Hospitalaria*, 29(6), 1197–1209.
- Peiretti, P. G., Gai, F., Zorzi, M., Aigotti, R., & Medana, C. (2020). The effect of blueberry pomace on the oxidative stability and cooking properties of pork patties during chilled storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(7).
- Pereira A., Lee H., Lammert R., Wolberg C., Ma D., Immoos C., Casassa F., Kang I. (2022). Effects of red-wine grape pomace on the quality and sensory attributes of beef hamburger patty. *International Journal of Food Science and Technology*, 57, 1814–1823.
- Pfalzgraf A., Frigg M., Steinhart H. (1995). Alpha-tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and adipose tissue during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 5, 1339–1342.
- Rainero, G., Bianchi, F., Rizzi, C., Cervini, M., Giuberti, G., & Simonato, B. (2022). Breadstick fortification with red grape pomace: Effect on nutritional, technological and sensory properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(6), 2545-2552.
- Ramírez C. (2021). Efecto del tipo de tratamiento térmico sobre la calidad de hamburguesas de res adicionadas con pasta de tomate (Teis de maestría). CIAD, Hermosillo, Sonora.
- Ryu K., Shim K., Shin D. (2014). Effect of grape pomace powder addition on tbars and color of cooked pork sausages during storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 34: 2, pp. 200-206.
- Saleh, E., Morshdy, A. E., El-Manakhly, E., Al-Rashed, S., Hetta, H. F., Jeandet, P., Yahia, R., El-Saber Batiha, G., & Ali, E. (2020). Effects of olive leaf extracts as natural preservative on retailed poultry meat quality. *Foods*, 9(8).
- Santos, E. M., Rodriguez, J. A., Lorenzo, J. M., Mondragón, A. C., Pateiro, M., Gutiérrez, E., & Ferreira, T. A. (2022). Antioxidant effect of pumpkin flower (*Cucurbita maxima*) in chicken patties. *Foods*, 11(15), 2258.
- Serra, V., Salvatori, G., & Pastorelli, G. (2021). Dietary polyphenol supplementation in food producing animals: Effects on the quality of derived products. *Animals*, 11(2), 401.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144.
- Siro, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51(3), 456-467.
- Sogi, D. S., Siddiq, M., Greiby, I., & Dolan, K. D. (2013). Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of “tommy atkins” mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chemistry*. 141(3), 2649–2655.
- Soladoye O., Juárez M., Aalhus J., Shand P., Estévez M. (2015). Protein oxidation in processed meat: mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2):106-122.
- Song Y., Zhang H., Huang F., Li X., Liu J., Mehmood W., Zheng J., Zhang C. (2022). Changes in eating quality and oxidation deterioration of pork steaks cooked by different methods during refrigerated storage. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 29, 100576.

- Teixeira, A., Baenas, N., Dominguez-Perles, R., Barros, A., Rosa, E., Moreno, D. A., & Garcia-Viguera, C. (2014). Natural bioactive compounds from winery by-products as health promoters: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(9), 15638-15678.
- Trujillo-Mayola I., Viegasc O., Sobral M., Casas-Forero N., Fiallos N., Pastene-Navarrete E., Faria M., Alarcón-Enos J., Pinho O., Ferreira I. (2022). *In vitro* gastric bioaccessibility of avocado peel extract in beef and soy-based burgers and its impact on Helicobacter pylori risk factors. *Food Chemistry*. 373, 131505.
- Torres-Aguirre, G. A., Muñoz-Bernal, Ó. A., Álvarez-Parrilla, E., Núñez-Gastélum, J. A., Wall-Medrano, A., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Rosa, L. A. (2018). Optimización de la extracción e identificación de compuestos polifenólicos en anís (*Pimpinella anisum*), clavo (*Syzygium aromaticum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) mediante HPLC acoplado a espectrometría de masas. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 21(2).
- Valenzuela-Melendres, M., Camou, J. P., Olivera, N. T., Almora, E. Á., Mendoza, D. G., Reyes, L. A., & Ríos, H. G. (2014). Response surface methodology for predicting quality characteristics of beef patties added with flaxseed and tomato paste. *Meat Science*, 97(1), 54-61.
- Vieira, S. A., Zhang, G., & Decker, E. A. (2017). Biological implications of lipid oxidation products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94, 339-351.
- Villalobos-Delgado L., González-Mondragón E., Ramírez-Andrade J., Salazar-Govea A., Santiago-Castro J. (2020). Oxidative stability in raw, cooked, and frozen ground beef using Epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.). *Meat Science*. 168, 108187.
- Vu, G., Zhou, H., & McClements, D. J. (2022). Impact of cooking method on properties of beef and plant-based burgers: Appearance, texture, thermal properties, and shrinkage. *Journal of Agriculture and Food Research*, 9, 100355.
- Wazir H., Chay S., Zarei M., Hussin F., Mustapha N., Ibadullah W., Saari N. (2019). Effects of storage time and temperature on lipid oxidation and protein co-oxidation of low-moisture shredded meat products. *Antioxidants*. 8, 486.
- Xiong, Y., & Foegeding, E. A. (2015). Protein oxidation--the less appreciated sibling of lipid oxidation. In *Journal of Food Science* (Vol. 80, Issue 7, p. iii).
- Yang X., Song W., N Liu, Sun Z., Liu R., Liu Q., Zhou Q., Orcid, Jiang G. (2018). Synthetic phenolic antioxidants cause perturbation in steroidogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Environmental Science & Technology*. 2018, 52, 850–858.
- Yildiz G. (2016). Effects of four different cooking methods on some quality characteristics of low fat inegol meatball enriched with flaxseed flour. *Meat Science*.