



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

**PREDICCIÓN DE LA CALIDAD Y LA RESISTENCIA  
TÉRMICA DE *Escherichia coli* O157:H7 EN  
HAMBURGUESAS DE RES ADICIONADAS CON NUEZ,  
JAMAICA Y SAL**

---

Por:

**Q.A. Anna Judith Pérez Báez**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Q. A. Anna Judith Pérez Báez, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



---

Dr. Martin Valenzuela Melendres  
Director de Tesis



---

Dr. Juan Pedro Camou Arriola  
Asesor



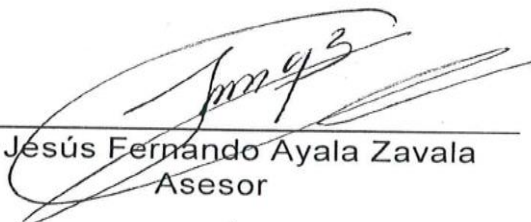
---

Dr. Humberto González Ríos  
Asesor



---

Dra. Etna Aida Peña Ramos  
Asesor



---

Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala  
Asesor

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

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

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



---

Dr. Pablo Wong González

Director General

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado durante estos dos años, el cual fue indispensable para poder realizar mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD ,A.C.), por permitirme formar parte de su programa de posgrado y darme la oportunidad de llevar a cabo mis estudios de maestría para poder cumplir un objetivo más en mi formación académica, así como permitirme el uso de sus instalaciones.

A la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal (CTAOA), por darme la oportunidad de trabajar en esta área de investigación, por su respaldo académico y administrativo otorgado.

A mi Director de Tesis, Dr. Martin Valenzuela Melenses por haberme permitido ser parte de su grupo, por su contribución al trabajo de investigación, por sus consejos, apoyo y amistad, pero sobre todo, por haberme permitido estar a su lado y aprender de usted. Gracias, por los días en que era Anita y sobre todo por los días en que era Anna Judith porque cualquier consejo siempre fue para mejorar, las palabras no son suficientes para agradecerle.

A mi comité de Tesis, Dr Juan Pedro Camou, Dr. Humberto González, Dra. Etna Aida Peña y Dr. Jesús Fernando Ayala por el tiempo invertido, el apoyo brindado, consejos y contribuciones a este trabajo de Investigación. Muchas Gracias.

Al I. Q. Germán Cumplido Barbeitia por los consejos y ayuda técnica los cuales fueron muy útiles para la elaboración de este proyecto. Pero sobre todo por compartir su experiencia, porque ha estado conmigo desde ya hace años acompañándome en mi formación académica y ofreciendo su amistad. Muchas gracias Sr. Cumplido.

Al Laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Carne, a la Q.B. Thalía Islava por su enorme paciencia y apoyo en todo momento. A la M.C. Libertad Zamorano por la ayuda y asesoría en las determinaciones sensoriales. Al Dr. José Luis Dávila por cada consejo dado y por las infinitas pláticas donde siempre estuvieron enriquecidas con conocimiento. A mis compañeros Q.A. Samaria Gutiérrez, M.C. Julio López, M.C. Edgar Peña, Q.A. Julio Gonzales, Q.A. Roció Murillo, I.B.Q. Edgar Valle, I.B.Q. Aarón Santiaguin y Ilse Camarena. Muchas gracias a todo el equipo de carnes porque fueron piezas fundamentales en este proyecto, porque siempre están brindándome su apoyo, conocimientos, consejos, y su linda amistad. Son personas muy importantes para mí, gracias.

Laboratorio de Tecnologías Emergentes, por brindarme el apoyo en este proyecto y en especial al M.C. Luis Ortega y M.C. María Melissa por la ayuda brindada en el laboratorio, gracias por esas horas de desvelo.

A los miembros del Laboratorio de Antioxidantes y Alimentos Funcionales muy en especial a la Q.B. Mónica Alejandra Villegas, por la capacitación y apoyo técnico durante este proyecto.

Al Laboratorio de Productos Pesquero, muchas gracias por el apoyo.

Al grupo de panelistas, que siempre estuvieron apoyándome para poder culminar este proyecto; Julián Palomares, Gustavo Velderrain, Ramón Pacheco, Ana Elena Quiros, Gabriela Goñi, Sinaí Ojeda, Javier Vázquez, Eduardo Trillo, Melvin Tapia, Aarón Santiaguin, Melissa Gutiérrez, Samaria Gutiérrez, Luis Ortega, Deynali González, Thalía Bernal, Fernanda González, Rigel Valle y Pablo Lara muchas gracias chicos.

***Anna Judith Pérez Báez***

## DEDICATORIA

A Dios por llenar mi vida de bendiciones y especialmente hoy que me ha permitido cumplir este gran sueño. Por darme fuerza y paciencia para seguir adelante con mis proyectos de vida, guiándome con fe por el buen camino.

A mis padres Ana Isabel Báez y Rosario Pérez por apoyarme en cada una de mis metas y tener siempre confianza en que las cumpliría, por sus consejos, por ser unas personas que siempre están ahí tratando de darme lo mejor, por ser unos padres ejemplar a los cuales estaré eternamente agradecida. Por ser mis amigos, consejeros y mi motor que impulsa mis aspiraciones. Gracias por estar dándome porras siempre, por estar presente de corazón en cada momento y por enseñarme a amar a la familia. Papa y Mama Los AMO.

A mis hermanas Rosa Jeanneth y Analletzin Edith por estar más locas que yo y hacerme reír siempre con sus ocurrencias y chistes, por ser unas personas ejemplares que me ha enseñado que en la vida hay que luchar para salir adelante en todo momento, porque solo queda levantarse y luchar por algo mejor. Muchas gracias por ser tan unidas y por su gran cariño que me tienen. Las amo mana`s.

A mis sobrinas bellas Jeaninne, Jackelinne y Jocelinne porque con una sola sonrisa de ellas basta para llenar mi vida de alegrías y bellos recuerdos.

A mis amigas Lisdeth, Melissa, Roció y Susy por ser unas personas inigualables y mis grandes compañeras de trabajo, amigas y confidentes. A mis cuatitas porque siempre me han apoyado en mi formación académica y por ser unas personas llenas de alegría y siempre dispuestas a escucharme. A Roció porque es una personita muy especial, llena de ocurrencias, que me llena de alegría siempre que podemos platicar. A Susana, a mi amiga la golda bella porque siempre está ahí para escucharme y acompañarme a comer. Porque siempre está cuidándome y lista para una buena platica.

A mis amigos Julio López, Julio González, Edgar Valle, Edgar Peña por ser los repetidos, a Roció, Samaria, José Luis porque siempre es un gusto venir

a trabajar y compartir con ustedes el café y una buena conversación, muchas gracias. Por qué se han vuelto unas personas importantes en mi vida.

A los compañeros del laboratorio de tecnologías emergentes, a los goldos. Porque siempre alegran mi día, a Melissa, Luis, Ramón, Melvin, Pancho, Julián, Thalía.

A mis amigos de Obregón porque a pesar de que los veo muy poco siempre están ahí ofreciéndome su amistad en especial a José Luis Arenas por estar siempre al pendiente de mí.

A mis amigos de la Universidad porque siempre es un gusto verlos y platicar con ustedes, aunque a veces es difícil reunirnos por los diferentes roles que llevamos. Pero su amistad es muy valiosa.

A la M.C. Guadalupe Cañez porque se convirtió en un gran apoyo en mi vida profesional y porque me brinda una muy bonita amistad. Muchas gracias maestra.

A Jorge Duarte por ser una persona que siempre está al pendiente de mí y un gran apoyo en mi formación profesional y personal. Muchas Gracias.

***Anna Judith Pérez Báez***

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	xi
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xiii
<b>RESUMEN</b> .....	xv
<b>ABSTRACT</b> .....	xvii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. ANTECEDENTES</b> .....	3
2.1 Beneficios del Consumo de Carne y Productos Cárnicos.....	3
<b>2.1.1 Composición Nutricional de la Carne de-Res</b> .....	3
<b>2.1.2 Aspectos de Salud Relacionados con el Consumo de Carne y sus Productos</b> .....	4
<b>2.1.3 Consumo de Carne Fresca y Procesada</b> .....	6
2.2 Alimentos Funcionales una Estrategia para Mejorar la Salud.....	7
2.3 Uso de Jamaica para la Elaboración de Productos Cárnicos .....	9
2.4 Uso de Nuez para la Elaboración de Productos Cárnicos .....	11
2.5 Uso de Cloruro de Sodio en Productos Cárnicos.....	12
2.6 Metodología de Superficie de Respuesta .....	13
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	16
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	17
4.1 Objetivo General .....	17
4.2 Objetivos Específicos.....	17
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	18
5.1 Diseño de Experimento.....	18
5.2 Ingredientes y Preparación de Hamburguesas .....	21



## CONTENIDO (Continuación)

<b>5.2.1 Obtención y Preparación de Materia Prima</b> .....	21
<b>5.2.2 Elaboración de Hamburguesas</b> .....	21
5.3 Análisis Físico-químicos.....	22
<b>5.3.1 Determinación de Color (CIE L*a*b*)</b> .....	22
<b>5.3.2 Potencial de Hidrógeno (pH)</b> .....	22
<b>5.3.3 Actividad de Agua (a<sub>w</sub>)</b> .....	22
<b>5.3.4 Pérdida por Cocción (PPC)</b> .....	22
<b>5.3.5 Análisis de Perfil de Textura (APT)</b> .....	23
<b>5.3.6 Esfuerzo al Corte</b> .....	23
5.4 Capacidad Antioxidante .....	24
<b>5.4.1 Elaboración de Extractos</b> .....	24
<b>5.4.2 Inhibición de Radical DPPH•</b> .....	24
<b>5.4.3 Inhibición de Radical ABTS•</b> .....	25
<b>5.4.4 Capacidad de Absorbancia del Radical Oxígeno (ORAC)'</b> .....	25
<b>5.4.5 Determinación de Fenoles Totales</b> .....	25
5.5 Análisis Sensorial.....	26
5.6 Resistencia Térmica de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 .....	26
<b>5.6.1 Preparación del Inoculo</b> .....	26
<b>5.6.2 Preparación de Muestras</b> .....	27
<b>5.6.3 Tratamiento Térmico</b> .....	27
<b>5.6.4 Enumeración de Bacterias Supervivientes</b> .....	27
5.7 Optimización .....	28
5.8 Análisis Estadístico .....	29

## CONTENIDO (Continuación)

<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	31
6.1 Análisis Físico-químicos.....	31
<b>6.1.1 Determinación de Color (CIE <math>L^*a^*b^*</math>)</b> .....	31
<b>6.1.2 Potencial de Hidrógeno (pH), Pérdida de Peso por Cocción (PPC) y Actividad de Agua (<math>a_w</math>)</b> . ....	36
<b>6.1.3 Análisis de Perfil de Textura (APT) y Esfuerzo al Corte (EC)</b> .....	43
6.2 Análisis de la Capacidad Antioxidante .....	48
<b>6.2.1 Inhibición del Radical DPPH•, ABTS• y ORAC</b> .....	49
<b>6.2.2 Determinación de Fenoles Totales</b> .....	54
6.3 Análisis Sensorial.....	56
6.4 Resistencia Térmica de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 .....	62
6.5 Optimización y Validación de los Modelos de Regresión.....	67
<b>VII. CONCLUSIONES</b> .....	77
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	78

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Valores codificados y experimentales de las variables independientes en estudio. ....	19
2	Valores codificados y experimentales de los factores estudiados mediante el diseño central compuesto (DCC). ....	20
3	Valores reales de color objetivo en hamburguesas de res adicionadas con nuez, jamaica y sal. ....	32
4	Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para color de hamburguesas de res. ....	33
5	Valores promedio para las variables de pH, pérdida de peso por cocción y $a_w$ de hamburguesas de res. ....	37
6	Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para el pH, pérdida de peso por cocción y actividad de agua de hamburguesas de res. ....	39
7	Promedios para las variables de respuesta en relación a los análisis físico-químicos. ....	44
8	Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para características físico-químicas de hamburguesas de res. ....	45
9	Promedios para las variables de respuesta en la capacidad antioxidante. ....	50
10	Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para capacidad antioxidante de hamburguesas de res. ....	51

11	Promedios para las variables de sensorial en hamburguesas de res.	57
12	Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para el análisis sensorial. ....	58
13	Promedios de las reducciones logarítmicas de <i>E. coli</i> O157:H7. ....	63
14	Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para RLog. ....	64
15	Valores predichos y experimentales de las condiciones óptimas basadas en las propiedades estudiadas. ....	74

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de color L* y a* en función de la adición jamaica nuez y sal. ....	35
2	Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de pH y PPC en función de la adición de jamaica, nuez y sal. ....	40
3	Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de análisis de perfil de textura para dureza y elasticidad en función de la adición de la jamaica, nuez y sal. ....	46
4	Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de análisis de perfil de textura para cohesividad y masticabilidad en función de la adición de jamaica, nuez y sal. ....	47
5	Gráficas de superficie de respuesta en 3D para la capacidad antioxidante por el método DPPH• y ABTS• en función de la adición de jamaica, nuez y sal. ....	52
6	Gráficas de superficie de respuesta en 3D para el contenido de fenoles totales en función de la adición de jamaica, nuez y sal. .	55
7	Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de análisis sensorial de sabor y firmeza en función de la adición de jamaica, nuez y sal. ....	59
8	Graficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de análisis sensorial de jugosidad y aceptación general en función de la adición de jamaica, nuez y sal. ....	60
9	Gráficas de superficie de respuesta en 3D de las reducciones logarítmicas de <i>E. coli</i> O157:H7 para la evaluación de la resistencia térmica del patógeno en hamburguesas de res cocinadas moderadamente en función de la adición de jamaica, nuez y sal. ....	65

10	Gráficas de deseabilidad para la obtención de fórmula óptima de los análisis físico-químicos y sus perfiles predictores de cada una de las variables a evaluar en función de nuez, jamaica y sal. ....	68
11	Gráficas de deseabilidad para la obtención de fórmula óptima de la capacidad antioxidante y sus perfiles predictores de cada una de las variables a evaluar en función de nuez, jamaica y sal. ....	70
12	Gráficas de deseabilidad para la obtención de fórmula óptima de los parámetros sensoriales y sus perfiles predictores de cada una de las variables a evaluar en función de nuez, jamaica y sal. ....	71
13	Gráficas de deseabilidad para la obtención de fórmula óptima y su perfil predictor de las reducciones logarítmicas de <i>E. coli</i> O157:H7 en función de la adición de nuez, jamaica y sal. ....	72

## RESUMEN

El reto actual de la industria cárnica es el desarrollo de productos seguros y saludables a través de la incorporación de ingredientes novedosos y/o la disminución de los tradicionales. Se utilizó la metodología de superficie de respuesta para evaluar los efectos de incorporación de jamaica (0 al 2%), nuez (0 al 10%) y sal (0 al 2%) en la calidad de hamburguesas de res y en la resistencia térmica de *Escherichia coli* O157:H7 en hamburguesas de res. Se evaluaron las características físico-químicas ( $a_w$ , pH, pérdida por cocción (PPC), color y textura), capacidad antioxidante (DPPH<sup>\*</sup>, ABTS<sup>\*</sup>, AAPH<sup>\*</sup> y fenoles totales), características sensoriales (firmeza, jugosidad, color, sabor y aceptación general). Por otra parte, se evaluó la resistencia térmica de *Escherichia coli* O157:H7 en hamburguesas sometidas a un proceso de cocción moderado. Se observó que la incorporación de nuez y sal mejoran ( $p < 0.05$ ) las características sensoriales y que la nuez y jamaica aumentan ( $p < 0.05$ ) la capacidad antioxidante pero afectan negativamente las características físicoquímicas. Por otro lado, es importante hacer notar que la jamaica redujo en las hamburguesas hasta 6.28 log de *E. coli* O157:H7 en las hamburguesas. Se desarrollaron modelos de predicción para cada variable con los cuales se establecieron 4 formulaciones óptimas (nuez, jamaica y sal): 7.97, 0.75, y 1.59; 7.97, 1.59 y 1.59; 4.19, 0.4 y 1.59; 2.02, 1.59 y 0.4% respectivamente, y se midieron los parámetros físicoquímicos, capacidad antioxidante, sensorial y reducción logarítmica de *E. coli* O157:H7, respectivamente. Hamburguesas con las formulaciones óptimas se llevaron a cabo experimentalmente y los valores predichos por los modelos fueron comparados con los valores obtenidos, no encontrándose diferencia entre ellos ( $p > 0.05$ ). Además, se obtuvo una formulación óptima tomando en cuenta todos los parámetros de calidad evaluados, resultando ésta con un contenido de 7.25% de nuez, 1.59% de jamaica y 0.40% de sal. Los valores predichos de color fueron  $L^* = 43.12$ ,  $a^* = 12.51$ ,  $b^* = 8.05$ ; pH = 8; PPC = 27.7%; 0.58 de cohesividad, 0.73 de elasticidad, 0.40 masticabilidad y 1.49 de firmeza; con una aceptación sensorial de sabor de 6.22, firmeza 6.83, jugosidad de 6.49 y una

aceptación general de 6.55, y con una capacidad antioxidante determinada por el método DDPH de 0.51 mgET/gPF y por el método ABTS de 0.54 mgET/gPF y finalmente con una reducción logarítmica de 5.99 log UFC/g de *E coli*. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que los modelos generados son útiles para predecir y optimizar no solo la calidad de hamburguesas de res sino también la resistencia térmica, en este caso, de *Escherichia coli* O157:H7 al incorporar los nuevos ingredientes

**Palabras clave:** metodología de superficie de respuesta, inocuidad alimentaria, productos cárnicos, alimentos funcionales.



## ABSTRACT

The current challenge of the meat industry is the development of safe and healthy products through the incorporation of novel ingredients and/or the decrease of the traditional ones. Surface response methodology was used to evaluate the effect of of roselle (0 to 2%), pecan nuts (0 to 10%) and salt (0 to 2%) incorporation in the quality of beef burgers and in thermal resistance of *Escherichia coli* O157:H7. Physicochemical characteristics ( $a_w$ , pH, loss by cooking, color and texture), antioxidant capacity (DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, AAPH and total phenols), sensory characteristics (firmness, juiciness, color, taste and overall acceptance) and microbiological analysis. On the other hand, *E. coli* O157:H7 thermal resistance was assessed in burgers subjected to a moderate cooking process. It was observed that salt and pecan nut addition improve ( $p < 0.05$ ) sensory characteristics and pecan nut and roselle increase ( $p < 0.05$ ) antioxidant capacity, but adversely affect physicochemical characteristics. On the other hand, it is important to note that roselle reduced up to 6.28 log CFU/g of *E. coli* O157: H7 in hamburgers. Predictive models for each variable with 4 optimal formulations were obtained (pecan nut, roselle and salt): 7.97, 0.75, and 1.59; 7.97, 1.59 and 1.59; 4.19, 0.4 and 1.59; 2.02, 1.59 and 0.4%, respectively, and physicochemical parameters, antioxidant capacity, sensory analysis and log reduction of *E. coli* O157:H7 were measured. Burgers with optimal formulations were carried out experimentally and the predicted values by the model were compared with the obtained values, finding no differences between them ( $p > 0.05$ ). In addition, an optimal formulation was obtained by taking into account all evaluated quality parameters, resulting this with a content of 7.25% of pecan nut, 1.59% of roselle and 0.40% of salt. Predicted values were color  $L^* = 43.12$ ,  $a^* = 12.51$ .  $b^* = 8.05$ ; pH= 8; PPC= 27.7%; 0.58 of cohesiveness, 0.73 of elasticity, 0.40 of chewiness and 1.49 of firmness; with a flavor sensory acceptance of 6.22, firmness of 6.83, juiciness of 6.49 and a general acceptance of 6.55, and with an antioxidant capacity determined by DPPH and ABTS assays of 0.51 and 0.54 mg ET/g PF respectively, and finally with a *E. coli* O157:H7 log reduction of 5.99. The results

obtained in this study demonstrate that the generated models are useful to predict and optimize not only the quality of beef burgers but also heat resistance, in this case, of *Escherichia coli* O157: H7 by adding new ingredients.

**Keywords:** surface response methodology, food safety, meat products, functional foods.

## I. INTRODUCCIÓN

Dos de los aspectos más importantes que el consumidor actual busca al momento de adquirir sus alimentos es que sean inocuos y saludables. Cubrir ambos aspectos es un reto y al mismo tiempo una oportunidad del sector alimentario para desarrollar los nuevos productos que se demandan. Por su naturaleza, la carne fácilmente puede contaminarse con microorganismos patógenos, principalmente *Escherichia coli*; además de tener una perspectiva negativa por su contenido de ácidos grasos saturados y colesterol. Por un lado, se ha asociado a brotes de enfermedades alimentarias debido a un cocimiento insuficiente durante su preparación (Sofos et al., 2008); por otro lado, se ha asociado al desarrollo de enfermedades relacionadas con la dieta, tales como las enfermedades cardiovasculares (ECV) (McAfee et al., 2010; McNeill y Van Elswyk, 2012) y ciertos tipos de cáncer (McAfee et al., 2010; Steck et al., 2014).

Desarrollar productos saludables e inocuos es el reto actual de la industria de la carne. Una de las oportunidades para lograr la innovación y transformación de la carne está en el campo de los alimentos funcionales (Decker y Park, 2010; Jiménez-Colmenero, 2007; Jiménez-Colmenero et al., 2010). Las estrategias para el desarrollo de productos cárnicos funcionales son diversas, siendo una de ellas la reformulación de los productos cárnicos mediante el uso de ingredientes no tradicionales (Jiménez-Colmenero et al., 2010) o bien, la disminución de los tradicionales, como la sal. Varios estudios han demostrado la viabilidad de la adición de diferentes ingredientes en la formulación de productos cárnicos tales como fibra dietética (Choi et al., 2010; Johnson, 2004; Navarro-González et al., 2011), antioxidantes y antimicrobianos naturales (George et al., 2004; Gorinstein et al., 2001; Lansky y Newman, 2007 Valenzuela-Melendres et al., 2014); y perfil

nutrimental;(Choi et al., 2010; Jung y Joo, 2013; Valenzuela-Melendres et al., 2014)

La jamaica y nuez son frutos que cuando se consumen como parte de la dieta pueden proporcionar beneficios a la salud. La jamaica es una fuente excelente de antioxidantes, fibra, vitaminas, minerales y compuestos fitoquímicos (Higginbotham et al., 2014; Patel, 2014), además sus extractos han demostrado tener un efecto antimicrobiano contra *Escherichia coli* (Yin y Chao, 2008). Por otro lado, la nuez es un alimento rico en ácidos grasos insaturados, fenoles, flavonoides, isoflavonas, terpenos y vitamina E. Los estudios epidemiológicos muestran que el consumo frecuente de frutos secos, en especial la nuez, se correlacionan inversamente con ECV (Iwamoto et al., 2002).

Para aprovechar las ventajas que ofrecen la jamaica y la nuez, éstas pueden ser utilizadas como ingredientes no tradicionales en productos como hamburguesas de res. Sin embargo, es necesario conocer la cantidad correcta a la cual deben añadirse, sin comprometer la calidad del nuevo producto y al mismo tiempo conservar sus efectos benéficos a la salud del consumidor. Una de las técnicas más populares utilizadas para optimizar los ingredientes en una nueva formulación es la metodología de superficie de respuesta (MSR). Con esta herramienta se evalúa simultáneamente varios factores y se estiman sus efectos lineales, cuadráticos y de interacción. Por todo lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la adición de nuez, jamaica y sal sobre las características de calidad y resistencia térmica de *Escherichia coli* O157:H7 en hamburguesas de res utilizando MSR.

## **II. ANTECEDENTES**

### **2.1 Beneficios del Consumo de Carne y Productos Cárnicos**

La carne y productos cárnicos son alimentos importantes para la salud y el desarrollo del cuerpo humano (Jiménez-Colmenero et al., 2010; Khan et al., 2011) debido a que poseen un alto valor nutritivo por su contenido proteico y micronutrientes esenciales como vitaminas y minerales (Biesalski, 2005). La carne provee aminoácidos esenciales en cantidades que se consideran muy adecuadas para promover la salud y prevenir enfermedades (McAfee et al., 2010; McNeill y Van Elswyk, 2012). En personas con algún tipo de riesgo alimentario como ancianos, embarazadas o niños, se recomienda el consumo de carne (Biesalski, 2005; Saletti et al., 2000), el cual oscila entre 60 a 90 g/día para adultos (FAO, 2014) y entre 50 y 85 g/día para la población infantil según la Fundación Española de la Nutrición (FEN) (Olmedilla et al., 2008). Sin embargo, se ha comprobado que el consumo de carnes rojas (100 a 140 g/día) se asocia con un aumento significativo en el riesgo de padecer cáncer de colon y recto (Chan et al., 2011). Por lo tanto, es importante resaltar que el impacto de la carne en la salud dependerá de la cantidad que se consuma.

#### **2.1.1 Composición Nutricional de la Carne de Res**

La carne de bovino es un alimento altamente nutritivo, la cual está compuesta por un 65-75% de agua, 15-20% de proteínas de alto valor biológico y 5-10% de lípidos. Es una excelente fuente de nutrientes importantes para la salud como el ácido fólico, aminoácidos esenciales (Biesalski, 2005; Decker y Park, 2010), hierro, zinc y fósforo, con cantidades significativas de otros elementos traza

esenciales como selenio, magnesio y cobalto así como una excelente fuente de vitaminas del grupo B como B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, niacina, ácido pantoténico, vitamina B<sub>6</sub> y vitamina B<sub>12</sub> (Jiménez-Colmenero, 2007). Sin embargo, la composición de nutrientes varía según la edad del animal, el sexo, la raza, la dieta y el corte de la carne y su consumo se ha asociado siempre con la buena salud y prosperidad. En la actualidad los consumidores no solo se preocupan por consumir productos cárnicos de buena calidad, también que éstos contengan ciertos nutrientes como proteínas, fibra, vitaminas y minerales.

### **2.1.2 Aspectos de Salud Relacionados con el Consumo de Carne y sus Productos**

La dieta y la nutrición son factores importantes en la promoción y mantenimiento de la salud durante toda la vida. La percepción de la carne, especialmente de carne roja, en la dieta global es bajo dos ópticas. En los países desarrollo, la carne de todo tipo ofrece un medio para reducir la desnutrición y el aumento de la seguridad alimentaria, mientras que en los países en desarrollados, la carne roja es a menudo vista como culpable en el desarrollo de las enfermedades no transmisibles relacionadas con la dieta (McNeill y Van Elswyk, 2012; Rodríguez-Medina et al., 2009). La carne y productos cárnicos se han relacionado como promotores de enfermedades cardiovasculares (ECV) y cáncer. Sin embargo, la carne es rica en nutrientes que tienen beneficio para la salud, y que son necesarios para el desarrollo del cuerpo humano.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), varios patrones de la dieta, junto con los hábitos de vida, constituyen los principales factores de riesgo modificables en relación con el desarrollo de las ENT (Enfermedades no trasmisibles). Sin embargo recientemente, varios estudios epidemiológicos han asociado el consumo de carne roja y procesada con ECV y el cáncer de colon (Biesalski, 2005; Boer et al., 2014; McAfee et al., 2010). Esto es influenciado por el contenido de grasa, la composición de ácidos grasos y la posible formación de compuestos

cancerígenos, como las aminas heterocíclicas (HCA), por la cocción de la carne a altas temperaturas (Biesalski, 2005). Al igual que cualquier otro producto la carne contiene elementos que en determinadas circunstancias y en proporciones inadecuadas tienen un efecto negativo sobre la salud humana.

La carne roja y el consumo de productos cárnicos se han asociado con un mayor riesgo a desarrollar ciertas enfermedades crónicas, principalmente ECV y cáncer (FAO, 2003). De hecho, una serie de recientes revisiones han resumido la evidencia relacionada con los riesgos y beneficios sobre el consumo de carne roja (Biesalski, 2005; Decker y Park, 2010; McAfee et al., 2010; McNeill y Van Elswyk, 2012). Debido a la asociación del consumo de carne roja y productos cárnicos con el desarrollo de obesidad, ECV y cáncer, algunas investigaciones empiezan a buscar estrategias para reducir el consumo de carne (de Boer et al., 2014).

La carne y los productos cárnicos se consideran perjudiciales a la salud debido a sus altos niveles de ácidos grasos saturados, colesterol, sodio y elevado contenido calórico (McNeill y Van Elswyk, 2012). Sin embargo, algunos de los compuestos presentes en carne pueden minimizarse mediante la selección de cortes magros, eliminación de la grasa adiposa y la ingesta adecuada de la porción para disminuir el consumo de grasa e ingesta calórica (Jiménez-Colmenero, 2007). Asimismo, el perfil nutricional de los productos cárnicos podría mejorarse aún más mediante la adición de nutrientes para la promoción de la salud (Biesalski, 2005; Jiménez-Colmenero, 2007; Jiménez-Colmenero et al., 2001). Estos productos se pueden clasificar como alimentos funcionales que se definen como alimentos que afectan satisfactoriamente una o más funciones del cuerpo más allá de los efectos que una nutrición adecuada ya tiene, de tal manera que mejora la salud o reduce el riesgo de alguna enfermedad.

Otro riesgo relacionado con la salud, es la higiene e inocuidad de la carne. Retos y preocupaciones relacionadas con el consumo de productos cárnicos actuales pueden dividirse en aquellos asociados con patógenos microbianos y en otras cuestiones de seguridad de la carne (Sofos et al., 2008). Los principales desafíos relacionados con patógenos microbianos incluyen brotes de

enfermedades de origen alimentario (Kim et al., 2013). Otros temas son la aparición de patógenos con mayor virulencia y bajas dosis infecciosas, resistencia de los patógenos a los antibióticos o tensiones relacionadas con los alimentos y la contaminación cruzada de alimentos (Sofos et al., 2008). En la categoría de otras preocupaciones de inocuidad en la carne podemos incluir aditivos alimentarios, residuos químicos, la trazabilidad, la seguridad y calidad de los productos (Muñoz-Cuevas et al., 2012; Nakayama et al., 2012).

*Escherichia coli* es una de las bacterias patógenas de mayor preocupación en la industria cárnica debido a su presencia en carne molida. Esto es atribuido a que el patógeno tiene mayor superficie de contacto con la matriz cárnica y en ocasiones puede sobrevivir en el interior de los productos durante el proceso de cocción. Se ha reportado que el patógeno causa algunas enfermedades, especialmente si los ingredientes en la matriz cárnica interfieren con la inactivación térmica o aumentan la resistencia del patógeno al calor (Sofos et al., 2008). Durante el 2014 el CDC (Centro para el Control y Prevención de Enfermedades) registró 79420 casos de contaminación con *E. coli*, de los cuales el 41 % fueron a causa de carne molida. Es importante que en productos cárnicos especialmente carne molida, se pueda asegurar que el patógeno no está presente.

### **2.1.3 Consumo de Carne Fresca y Procesada**

A pesar de los problemas que ha enfrentado la industria cárnica, relacionados con calidad, inocuidad y salud, el consumo de carne ha aumentado. A nivel mundial, la demanda de carne y otros productos animales se incrementa a un ritmo sustancial impulsado por una combinación de crecimiento demográfico, la urbanización y el aumento de los ingresos. En relación a nuestro país, informes de la Coordinación General de Ganadería (SAGARPA, 2010), dieron a conocer que la tasa media de crecimiento anual de México fue de 2.9% para ubicar la oferta interna de la producción de carne en 5.6 millones de toneladas.



La carne roja forma parte del consumo habitual de muchas personas que viven en México ya que representa una fuente de proteína, vitaminas y minerales, pero sobre todo por su buen sabor. Algunos de los factores relacionados con el consumo de carne, están relacionados con el sexo, la edad, el índice de masa corporal, la ingesta total de energía y más que nada con el nivel económico (Anónimo, 2010). Normalmente del dinero dedicado a la compra de la despensa familiar, el 24.8% está destinado a la compra de carne y pescado (SAGARPA, 2013). Los cortes más demandados son el bistec, milanesa y carne molida, esta última se comercializa a granel, en forma de hamburguesas o albóndigas de res. En México, la ingesta diaria de carne en hombres y mujeres es de 115 y 75 g respectivamente (Jasso y Becerra, 2003) y la cantidad recomendada es de 60 a 90 g/día (FAO, 2003). Está claro que la industria cárnica crece, pero también es importante que ésta ofrezca productos de buena calidad y con mejor valor nutritivo.

## 2.2 Alimentos Funcionales una Estrategia para Mejorar la Salud

Cada año, las principales enfermedades crónicas, como las enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, osteoporosis y obesidad son de gran preocupación para el individuo y para el sector salud de nuestro gobierno pues además de disminuir la calidad de vida, generan grandes gastos en su atención (de Competencia y de Desarrollo, 2011). Muchos de estos trastornos están directamente vinculados a la dieta humana (McAfee et al., 2010). Por eso, uno de los retos a enfrentar es implementar acciones urgentes que permitan disminuir la incidencia de dichas enfermedades, y una de las estrategias puede ser producir alimentos con una connotación más saludable (Decker y Park, 2010; Navarro-González et al., 2011). Sin embargo, esto no se logra fácilmente ya que la mejora de la oferta de alimentos debe hacerse sin alterar drásticamente las necesidades del consumidor, tales como la calidad, aceptabilidad, comodidad y costos. La investigación y producción de alimentos funcionales es un área que aún no está

ampliamente explotada en nuestro país y con gran potencial para enfrentar muchos de los problemas de salud que nuestra población padece.

Sin embargo, es de suma importancia darse cuenta de que el éxito del desarrollo de productos con connotación saludable, depende de la eficacia y cumplimiento. *Eficacia* se refiere a la capacidad del alimento para mejorar la salud, mientras que el *cumplimiento* se refiere al interés de la persona en consumir un producto de promoción de la salud (Decker y Park, 2010). No importa qué tan eficaz sea un alimento, mientras el consumidor no quiera cuidar su salud con la ingesta de productos saludables debido a que tengan niveles de aceptación bajos. Esto es especialmente cierto para alimentos funcionales, ya que además de ser eficaz, debe tener buen sabor, conveniencia y precio razonable.

La elaboración de los alimentos funcionales cárnicos ha ido en aumento en las últimas décadas (Biswas et al., 2012; Çam et al., 2009). Sin embargo, un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que afecta beneficiosamente una o más funciones del cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, de una manera que mejore el estado de salud y el bienestar y/o reduzca el riesgo de enfermedad (Olmedilla-Alonso et al., 2013). Las propiedades funcionales de un alimento pueden lograrse de la siguiente forma: adición de ingredientes funcionales a una matriz tradicional, modificación del proceso tecnológico (fermentación, extracción, tratamiento térmico) y mejora de los nutrientes funcionales (Decker y Park, 2010; Jiménez-Colmenero, 2007; Jiménez-Colmenero et al., 2001; Jiménez-Colmenero et al., 2010).

En este contexto una de las mejores alternativas en la elaboración de cárnicos funcionales es la reformulación de los productos. Con esta estrategia se busca adicionar ingredientes no tradicionales en función a una mejora nutricional y con posible beneficio a la salud. Las principales categorías de los ingredientes utilizados en los alimentos funcionales son: probióticos (De Vuyst et al., 2008; Pennacchia et al., 2004), prebióticos (oligosacáridos, almidón resistente, pectinas) (Arihara, 2006; Menegas et al., 2013), vitaminas (ácido fólico, B6, B12, D, K), minerales (Ca, Mg, Zn), antioxidantes (carotenoides, flavonoides,

polifenoles) (Jayathilakan et al., 2007; Kim et al., 2013), proteínas, péptidos, aminoácidos, ácidos grasos (omega-3 y ácido linoleico conjugado) (Ayo et al., 2008; Colmenero et al., 2005) y fitoquímicos (terpenos, alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, etc.) (García-Alonso et al., 2004). Los estudios disponibles indican que el uso de materia vegetal es una de las mejores alternativas para la elaboración de alimentos funcionales (Rodríguez-Carpena et al., 2012; Vural et al., 2004). Existe una gran gama de ingredientes no tradicionales por probar para la reformulación de productos cárnicos entre las que se pueden incluir el uso de jamaica y nuez para dotarlos de antioxidantes, antimicrobianos y ácidos grasos poliinsaturados.

### 2.3 Uso de Jamaica para la Elaboración de Productos Cárnicos

La flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es un ingrediente no tradicional con alto potencial para la elaboración de productos cárnicos funcionales (Mohamed et al., 2007). El cáliz es de color rojo, que consta de 5 válvulas los cuales forman una flor, esta es rica en antocianinas las cuales son responsables del color rojo (Mohamed et al., 2007). La flor de jamaica se utiliza comúnmente para hacer infusiones como té y agua de jamaica o para la elaboración de mermeladas, además de ser usada para tratar o prevenir enfermedades (hipertensión, ECV, aterosclerosis, diabetes, cáncer, etc.) (Ali et al., 2005). Muchas antocianinas diferentes han sido reportados en los tejidos de *H. sabdariffa* como delfinidina 3-sambubiosido, cianidina 3-sambubiosido, cianidina 3-glucósido y delfinidina 3-glucósido (Gradinaru et al., 2003). La flor de jamaica tiene propiedades bioactivas que pueden desempeñar un papel crucial en la elaboración de productos cárnicos funcionales.

El uso de cáliz o extractos de flor de jamaica han sido investigados para la elaboración de productos cárnicos. Karabacak y Bozkurt (2008) elaboraron salchichas fermentadas adicionadas con el 0.6% de flor de jamaica con la finalidad de adicionar antioxidantes naturales en vez de sintéticos y evaluaron la seguridad y calidad del producto durante el almacenamiento. Se tuvo como

resultado que los valores de pH, L\*, b\* no fueron afectados ( $P>0.05$ ) y la formación del ácido tiobarbitúrico y aminas biogénicas tuvieron un menor porcentaje de formación ( $P<0.05$ ). Concluyeron que el uso de flor de jamaica como fuente de antioxidante natural en la elaboración de productos cárnicos es una alternativa viable para mejorar el proceso de almacenamiento de estos productos sin afectar los parámetros de calidad.

Por otra parte Jung y Joo (2013) estudiaron el efecto de la adición de extractos de jamaica a niveles del 0.1 al 1.3% y aceite de soya del 5 al 20% para la elaboración de hamburguesas de cerdo. Obtuvieron como resultado que agregar 0.85% de extracto de flor de jamaica en combinación con 12.72% de aceite de soya es la formulación óptima para crear una hamburguesa baja en grasa y con antioxidantes naturales. En este estudio se evidencia que agregar dichos ingrediente no afecta las características de calidad y sensoriales. Sin embargo los autores de este estudio manifestaron problemas en cuanto a la adición de aceite debido a su composición líquida. Al estudio le faltó buscar la manera técnica de incorporar el aceite a la matriz cárnica o buscar otro tipo de alternativa de fuente de ácidos grasos poliinsaturados. También se necesita más investigación para examinar la estabilidad de los lípidos de la matriz cárnica hacia la oxidación por efecto de la incorporación de la jamaica así como evaluar la actividad antimicrobiana de la jamaica.

Otros autores que han estudiado la adición de extractos de jamaica en diversos productos han reportado un efecto antimicrobiano (Mohamed et al., 2007). Algunas revisiones bibliográficas mencionan que el uso de extracto de jamaica tiene un gran potencial para reducir la contaminación con patógenos, sin embargo falta mucho por estudiar (Barbosa-Pereira et al., 2014; Shah et al., 2014). Algunas de las técnicas consisten en aplicar agua de jamaica en los lavados de las piezas de carne o canal con la finalidad de disminuir el crecimiento microbiano (Higginbotham et al., 2014); otra técnica es la utilización de extractos provenientes de jamaica para prevenir la formación de biopelículas (Higginbotham et al., 2014; Sadhana Ravishankar et al., 2012). Otros estudios se

han enfocado a la adición de extractos de jamaica a productos cárnicos para estudiar su efecto antimicrobiano (Gibis y Weiss, 2010; Jung y Joo, 2013).

Alp y Aksu (2010) estudiaron la adición de un extracto de jamaica sobre carne molida de res con el objetivo de incrementar su inocuidad microbiológica y con ello ampliar la vida de anaquel. Encontraron que usar extracto de jamaica a 500 ppm y una atmósfera modificada de 80% de O<sub>2</sub> + 20% de CO<sub>2</sub> es una excelente alternativa para mejorar la inocuidad de la carne molida. Por otra parte Yin y Chao (2008) determinaron la concentración mínima inhibitoria de extractos de jamaica sobre *E. coli* y encontraron valores de 96 a 156 mg/g. En este contexto, se puede ver la gran diversidad de las propiedades de la jamaica esto gracias a los compuestos bioactivos que contiene. Es por ello que este alimento ha ganado la atención de la industria cárnica y se ve como un posible ingrediente con alto potencial para la elaboración de productos cárnicos funcionales.

#### 2.4 Uso de Nuez para la Elaboración de Productos Cárnicos

La nuez pecanera (*Carya illinoensis*) es un fruto seco compuesto principalmente por lípidos (62-68% de materia seca), de los cuales el 18% está compuesto por ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y el resto por ácidos grasos poliinsaturados (AGP) entre los que se encuentran el linoleico y  $\alpha$ -linolénico con el 58 y 12% respectivamente (Colmenero et al., 2005). La nuez es también una buena fuente de fitoquímicos, incluyendo fenoles, flavonoides, isoflavonas, terpenos y vitamina E. Además de éstos, existen otros compuestos de interés como la fibra con una proporción de 5-10% de materia seca, 14% de proteínas y minerales (Ayo et al., 2008; Colmenero et al., 2005; Jiménez-Colmenero et al., 2010). Debido a su rica composición nutrimental, y a sus efectos benéficos a la salud se considera como un ingrediente no tradicional para la elaboración de productos funcionales.

Los estudios disponibles han demostrado que la nuez mejora el perfil de lípidos en suero de humanos debido a su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados (J. Yang et al., 2009). Además como ya se mencionó

anteriormente es un alimento con un alto contenido de compuestos fenólicos, los cuales se cree que reducen la incidencia de enfermedades crónicas como el Alzheimer, Parkinson y algunos tipos de cáncer, entre otros (Fraser et al., 1992; Villarreal-Lozoya et al., 2007; J. Yang et al., 2009). Investigaciones previas han mostrado que el consumo de 42.5 g de nueces como parte de una dieta baja en grasas saturadas y baja en colesterol puede reducir el riesgo de enfermedades coronarias (Fraser et al., 1992; Villarreal-Lozoya et al., 2007; J. Yang et al., 2009). En estudios epidemiológicos se ha demostrado que el consumo de frutos secos está relacionado con la disminución del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares como la cardiopatía coronaria e infarto de miocardio (Fraser et al., 1992; Villarreal-Lozoya et al., 2007; J. Yang et al., 2009).

El impacto de la nuez sobre la calidad físico-química y sensorial ha sido también estudiado en productos cárnicos. Colmenero et al. (2005) compararon el efecto de la adición de distintos ingredientes no cárnicos donde incluyeron a la nuez en la elaboración de salchichas sin sal. Encontraron que estas salchichas tenían una red de gel más firme. Por otro lado Ayo et al. (2008) analizaron las propiedades físico-químicas y sensoriales de salchichas frankfurt, con un 25% de nuez y las compararon con salchichas con 6% y 18% de grasa de cerdo. Los resultados indican que las propiedades físico-químicas y sensoriales fueron aceptables al reemplazar la nuez por la grasa de cerdo en la elaboración de salchichas. En resumen, es factible producir salchichas con la adición de nuez sin demérito en las propiedades físico-químicas y sensoriales, potencialmente funcionales para que puedan responder a las demandas del consumidor para una alimentación más saludable.

## 2.5 Uso de Cloruro de Sodio en Productos Cárnicos

La principal fuente de sodio en la dieta es el cloruro de sodio (NaCl) o sal común. La sal es uno de los ingredientes más frecuentes e importantes en la elaboración de productos cárnicos. La sal realza el sabor, mejora la retención de agua y grasa afectando así a la textura, y alarga la vida de anaquel. Es difícil eliminar

completamente la sal de los productos cárnicos debido a las propiedades antes mencionadas. El consumo de sal está estrechamente relacionado con la hipertensión arterial (SAIEH y LAGOMARSINO, 2009), es por ello que se busca disminuir su consumo. Se busca en la reformulación de productos cárnicos disminuir la adición de este ingrediente, mediante la ayuda de antioxidantes naturales que puedan dar el beneficio de conservador.

## 2.6 Metodología de Superficie de Respuesta

El desarrollo de alimentos cárnicos funcionales no es tarea fácil ya que se incluyen ingredientes no tradicionales que afectan las características físicas, químicas y sensoriales del producto. La metodología de superficie de respuesta es una herramienta muy útil en el desarrollo de nuevos productos por que pueden generarse modelos matemáticos para predecir el comportamiento de la calidad al incorporar los ingredientes de interés. De ésta manera, pueden seleccionarse las formulaciones de acuerdo a las características de calidad que se busquen en el producto final (Jung y Joo, 2013; Valenzuela-Melendres et al., 2014). La MSR es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para modelar y analizar problemas en los cuales una variable de interés es influenciada por varios factores, con el objetivo de optimizar la respuesta (Montgomery, 2011).

En cuanto al proceso de elaboración de nuevos productos, recientemente el estudio de la incorporación o sustitución de ingredientes se hace mediante la optimización usando la MSR, debido a que es un diseño ampliamente utilizado para optimizar los parámetros experimentales. Esta metodología es útil debido al ahorro de tiempo, reactivos y además de que el modelo proporciona información acerca de las interacciones de los parámetros (Duarte y Duarte, 2011). Los Diseños experimentales para la optimización de procesos a través de la MSR ha sido estudiada por muchos investigadores. Los Diseños experimentales disponibles para la optimización de procesos son los siguientes: diseño factorial completo (FFD), diseño Plackett-Burman (PBD), diseño de Taguchi (TD), diseño de Box.Behnken (BBD) y diseño central compuesto (DCC) (Sharif et al., 2014).

Entre estas opciones, el DCC es el más utilizado en la formulación de productos cárnicos (Jung y Joo, 2013; Lowder et al., 2013; Resconi et al., 2015; Valenzuela-Melendres et al., 2014). Es un diseño de segundo orden, el cual se construye a partir de un diseño con estructura factorial o fraccionado agregando puntos sobre los ejes y al centro. Se compone de una réplica de un diseño con arreglo factorial, repeticiones al centro del diseño y dos puntos sobre cada eje a una distancia dada ( $\alpha$ ) del origen que corresponde a los axiales (Muñoz-Cuevas et al., 2012). Esta técnica matemática es útil para predecir una óptima donde se busque el equilibrio de todos los parámetros de interés evaluando diferentes factores.

Empleando la MSR a través de un DCC (Jung y Joo, 2013) estudiaron el efecto de la incorporación de extracto de jamaica (0.1-1.3%) y aceite de soya (5-20%) sobre las propiedades físicoquímicas, textura y propiedades sensoriales en hamburguesas de puerco. Lograron optimizar a 12.72g de aceite de soya y 9.5g de extracto de jamaica para crear una hamburguesa de cerdo baja en grasa, con propiedades físico-químicas y sensoriales aceptables con posibles efectos funcionales. Por otro lado (Resconi et al., 2015) estudiaron el efecto de almidón de arroz y fructo-oligosacáridos para la sustitución de fosfatos y dextrosa en jamones cocidos utilizando la MSR con un DCC. Encontraron que el almidón de arroz y fructo-oligosacáridos podrían ser utilizados para reducir los niveles de fosfato y de dextrosa en jamón, alcanzando una calidad tecnológica satisfactoria, lo que puede ser más saludables que muchos productos comerciales.

Se han realizado diversas investigaciones aplicando la MSR con diferentes diseños experimentales en las cuales buscan la optimización de materia prima, la incorporación o disminución de un aditivo entre otros. Es útil para la optimización de un proceso como la deshidratación osmótica de tomate cherry en una solución compleja de sal y azúcar (Derossi et al., 2015). Otros estudios se enfocan en buscar la máxima capacidad antioxidante por ejemplo la optimización de antioxidantes y actividad inhibidora de la tirosinasa en cáscara de mango (Sai-Ut et al., 2015), optimización de la actividad antioxidante y



polifenoles totales de extractos de albaricoque (Wani et al.), optimización de extracción de compuestos fenólicos de hojas de ortiga (Vajić et al., 2015).

Otros estudios han evaluado la incorporación de un ingrediente en busca del desarrollo de productos más saludables. Yang et al. (2015). Optimizaron la alta presión para el desarrollo salchichas de puerco reducidas en grasa, otro estudio optimizó la temperatura de incubación y la concentración de prebiótico y probiótico para la elaboración de un yogurt de soya simbiótico (Mishra Pandey y Mishra, 2015). También se optimizó la incorporación de suspensión de avellana para un yogurt, para mejorar los beneficios a la salud (Ilyasoğlu et al., 2015). Por otra parte Homayoonfal et al (2015) optimizaron las condiciones de proceso para la preparación de emulsiones de la incorporación de aceite de nuez con la máxima estabilidad y viscosidad, tamaño mínimo de partícula, la tasa de pérdida de la turbidez, el índice de tamaño y los cambios de valor de peróxido.

La MSR es una herramienta de modelado, ampliamente utilizada para predecir las condiciones del proceso ya sean científicos, e industriales, para la optimización de las operaciones en procesamiento (Fang et al., 2012; Harkouss et al., 2014). Es una herramienta muy útil para la reformulación de productos cárnicos. Cuando se tiene el objetivo de elaborar productos cárnicos con un posible efecto funcional, primero se debe de realizar una formulación que no afecte las características de calidad del producto cárnico, debido que el consumidor busca productos de alta calidad y de buen sabor; después poder realizar estudios que comprueben esos posibles efectos saludables que el producto puede llegar a tener.

### III. HIPÓTESIS

La nuez, jamaica y cloruro de sodio son ingredientes que pueden utilizarse en el desarrollo de hamburguesas de res con una connotación saludable, sin demerito en su calidad y más seguras para su consumo al disminuir la resistencia térmica de *Escherchia coli* O157:H7 durante el cocimiento del producto.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la adición de nuez, jamaica y sal sobre las características de calidad y resistencia térmica de *E. coli* O157:H7 en hamburguesas de res.

### 4.2 Objetivos Específicos

Obtener modelos de regresión para estimar el efecto de la incorporación de nuez, jamaica y sal sobre las características físico-químicas, capacidad antioxidante y propiedades sensoriales en hamburguesas de res utilizando la MSR.

Obtener un modelo de regresión para estimar el efecto de la incorporación de nuez, jamaica y sal en hamburguesas de res, sobre la resistencia térmica de *Escherichia coli* O157:H7 durante el cocimiento moderado del producto.

Proponer y validar cuatro formulaciones de hamburguesas de res adicionadas con nuez, jamaica y sal, tomando en cuenta las características físico-químicas, capacidad antioxidante, propiedades sensoriales y reducciones logarítmicas de *Escherichia coli* O157:H7 durante un cocimiento moderado.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Diseño de Experimento

Para determinar el efecto de la incorporación de jamaica en polvo, nuez y sal sobre las características de calidad y resistencia térmica de *E. coli* O157:H7 en hamburguesas de res, se utilizó la MSR a través de un diseño central compuesto (DCC). Los niveles de los factores fueron: jamaica (0 a 2%), nuez (0 a 10%) y sal (0 a 2%). Los niveles de las variables codificadas y reales se muestran en el Cuadro 1. El diseño consistió de 20 corridas experimentales (Cuadro 2), incluyendo 6 réplicas en el punto central, mismas que se realizaron aleatoriamente. Se llevaron a cabo tres repeticiones del experimento completo y en cada repetición se analizaron tres muestras por tratamiento. Las mediciones que se realizaron se agruparon en cuatro grupos: a) determinaciones físico-químicas (color objetivo, actividad de agua, potencial de hidrógeno, pérdida de peso por cocinado, análisis de perfil de textura y esfuerzo al corte), b) capacidad antioxidante (inhibición de los radicales DPPH<sup>·</sup>, ABTS<sup>·</sup>, ORAC<sup>·</sup> y fenoles totales), c) análisis sensorial (jugosidad, firmeza, color, sabor, aceptación general), y d) resistencia térmica de *Escherichia coli* O157:H7 (reducciones logarítmicas) al simular condiciones de cocimiento moderadas del producto. Para cada grupo de variables estudiadas, se estimó una formulación óptima tomando en cuenta los modelos de predicción que fueron significativos, no tuvieron falta de ajuste y presentaron un coeficiente de determinación mayor a 0.8. Las formulaciones óptimas predichas obtenidas fueron verificadas, a través de la elaboración experimental de hamburguesas con los niveles óptimos de los factores estudiados, para finalmente ser validados estadísticamente, comparando los valores predichos por el modelo y los observados experimentalmente.

Cuadro 1. Valores codificados y experimentales de las variables independientes en estudio.

Factor*	Niveles codificados de las variables				
	- $\alpha$	-1	0	1	$\alpha$
X <sub>1</sub> = Nuez	0	2.03	5.00	7.97	10.00
X <sub>2</sub> = Jamaica	0	0.41	1.00	1.59	2.00
X <sub>3</sub> = Sal	0	0.41	1.00	1.59	2.00

\*Expresado como g/100g de producto

Cuadro 2. Valores codificados y experimentales de los factores estudiados mediante el diseño central compuesto (DCC).

Corrida	Valores codificados			Valores experimentales*		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	-1	-1	-1	2.03	0.41	0.41
2	1	-1	-1	7.97	0.41	0.41
3	-1	1	-1	2.03	1.59	0.41
4	-1	-1	1	2.03	0.41	1.59
5	1	1	-1	7.97	1.59	0.41
6	1	-1	1	7.97	0.41	1.59
7	-1	1	1	2.03	1.59	1.59
8	1	1	1	7.97	1.59	1.59
9	- $\alpha$	0	0	0	1.0	1.0
10	$\alpha$	0	0	10.0	1.0	1.0
11	0	- $\alpha$	0	5.0	0	1.0
12	0	$\alpha$	0	5.0	2.0	1.0
13	0	0	- $\alpha$	5.0	1.0	0
14	0	0	$\alpha$	5.0	1.0	2.0
15	0	0	0	5.0	1.0	1.0
16	0	0	0	5.0	1.0	1.0
17	0	0	0	5.0	1.0	1.0
18	0	0	0	5.0	1.0	1.0
19	0	0	0	5.0	1.0	1.0
20	0	0	0	5.0	1.0	1.0

X<sub>1</sub>: Nuez, X<sub>2</sub>: Jamaica, X<sub>3</sub>: Sal

\*expresado como g/100g de producto

## 5.2 Ingredientes y Preparación de Hamburguesas

### 5.2.1 Obtención y Preparación de Materia Prima

La materia prima que se utilizó para el trabajo experimental fue obtenida de mercados comerciales de la región. Se empleó carne del músculo *Semimembranosus* (pulpa bola) de bovino, a la cual se le removió el exceso de grasa y tejido conectivo superficial y posteriormente se lavó con agua corriente. Se cortó en trozos no mayores a 5 cm<sup>3</sup>, se empacó en bolsas al vacío y se congeló hasta su posterior uso. La flor de jamaica y nuez se sometieron a una molienda individualmente en un procesador de alimentos (NUBPT0101, NutriBullet, USA) y se almacenaron hasta su posterior uso. Para cada repetición del experimento completo se obtuvieron lotes de materia prima diferentes.

### 5.2.2 Elaboración de Hamburguesas

La carne congelada se molió en un molino (modelo 4152, Hobart Dayton, Ohio USA) con una placa de 4 mm de grosor. Una vez molida la carne se mezcló por 10 minutos en una mezcladora (modelo 5749, Hobart Dayton, Ohio USA) donde se incorporó el 1% de una mezcla de ajo y pimienta (50:50). Posteriormente se pesó en lotes para cada tratamiento. Para incorporar los ingredientes se pesó la carne y se agregaron los porcentajes de nuez, jamaica y sal de acuerdo a lo especificado en el DCC del cuadro 2. Una vez incorporados los ingredientes se mezclaron manualmente por 2 min. La operación para formar las hamburguesas se realizó de forma manual fabricando hamburguesas con un diámetro de 9 cm y un espesor de 1 cm de aproximadamente 70 g por hamburguesa. Posteriormente se empacaron y almacenaron a 4°C para sus posteriores análisis.

## 5.3 Análisis Físico-químicos

### 5.3.1 Determinación de Color (CIE $L^*a^*b^*$ )

El color se midió en la superficie de cada muestra con un colorímetro (Chroma meter CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc. Japan) la medición de color incluyó la determinación de los valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Donde el parámetro de color  $L^*$  representa 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.

### 5.3.2 Potencial de Hidrógeno (pH)

El pH se midió directamente de las muestras, utilizando un potenciómetro de punción (Model HI98140, Hanna, Woonsocket, RI, USA). El análisis se realizó por triplicado a una temperatura de 25°C.

### 5.3.3 Actividad de Agua ( $a_w$ )

La  $a_w$  se midió utilizando un equipo Aqualab CX-2 (Decagon Devices Inc, Pulliman, WA) previamente calibrado siguiendo las especificaciones del proveedor. Las muestras se distribuyeron de manera uniforme cubriendo la superficie de los recipientes de plástico que utiliza el equipo. La evaluación se realizó por triplicado a una temperatura de 25°C.

### 5.3.4 Pérdida por Cocción (PPC)

Se colocaron las hamburguesas en una parrilla George Foreman a 90°C durante 1 minuto por cada lado hasta alcanzar una temperatura interna de 71°C. Después de la cocción, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente durante 30 min



y el porcentaje de pérdida por cocción se registró de acuerdo a los descrito por Franco et al. (2008).

### **5.3.5 Análisis de Perfil de Textura (APT)**

El APT se realizó en un texturómetro Texture Analyzer TAXT2 (Stable Micro Systems, Ltd, Godalming, Surrey UK). Se siguió la metodología descrita por Bourne (2002). De cada hamburguesa cocida se tomaron muestras de dimensiones uniformes (1cm de diámetro x 1 cm de altura). Para los análisis se utilizó un dispositivo de 75 mm de diámetro unido a una celda de carga de 50kg, aplicando una doble compresión al 50% de deformación con una velocidad de cabezal de 5 mm/s, con 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 (kg), elasticidad (cm), cohesividad (sin unidades) y masticabilidad (kg\*cm). La dureza está representada por el pico máximo alcanzado durante la primera compresión y está expresada en kg. La elasticidad fue calculada dividiendo la distancia desde el inicio de la segunda compresión hasta su pico máximo, entre la distancia del inicio de la primera compresión hasta su pico máximo. La cohesividad se determinó dividiendo el área bajo la curva de la segunda compresión entre el área bajo la curva de la primera compresión. La masticabilidad se calculó multiplicando los valores de dureza, elasticidad y cohesividad.

### **5.3.6 Esfuerzo al Corte**

Para las evaluaciones de textura se utilizó un texturómetro Texture Analyzer TAXT2 (Stable Micro Systems, Ltd, Godalming, Surrey UK) siguiendo la metodología descrito por Bourne (2002), y las muestras fueron cortadas después de 24 h posteriores de la cocción. Para la evaluación de esfuerzo al corte se utilizaron muestras de 3 x 1 x 1 cm. Se utilizó la navaja Warner Bratzler, unida a una celda de carga de 50 kg con una velocidad de cabezal de 5 mm/s, generando una curva de fuerza contra tiempo para cada muestra analizada.

## 5.4 Capacidad Antioxidante

### 5.4.1 Elaboración de Extractos

Se utilizó la metodología descrita por de Ciriano et al. (2009) con algunas modificaciones. Primero, se mezclaron 20 mL de metanol al 80% con 10 g de muestra y se homogenizaron durante 1 min a 11,000 rpm (Ultra Turrax X25, IKA-Werke, USA). Posteriormente, la mezcla fue sonicada (Branson, 2510R-DTH) durante 15 min y centrifugada a 14,000 rpm durante 15 min a 4°C. El sobrenadante fue filtrado y el proceso fue repetido dos veces más, adicionando 10 mL del solvente.

El sobrenadante fue aforado hasta 50 mL con metanol al 80%. Posteriormente, los extractos se almacenaron a -35°C hasta su uso para la medición de capacidad antioxidante por el método de DPPH, ABTS, ORAC y fenoles totales.

### 5.4.2 Inhibición de Radical DPPH•

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). Se preparó una solución 0.0634 mM de DPPH en metanol y se mezcló 140 µL de la misma con 10 µL de cada extracto para que se llevara a cabo la reacción. Se dejó reposar la mezcla por 30 min en oscuridad. Posteriormente se leyó la absorbancias a 518 nm Fluorstar Omega (BMG Labtech Inc., Durham, NC, EE.UU.). Los resultados fueron calculados utilizando una curva estándar de Trolox y se expresaron como mg Equivalentes Trolox (ET) por gramo de muestra fresca.

#### **5.4.3 Inhibición de Radical ABTS•**

Este análisis se basa en la habilidad de los antioxidantes para inhibir el radical ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) (Re et al., 1999). Para esta determinación se adicionaron 88 µL de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (0.139 mM) en 5 mL de una solución 7 mM de ABTS y se dejó reposar por 16 h. Posteriormente se ajustó la absorbancia a  $0.7 \pm 0.02$  diluyéndolo en etanol. Se tomó 245 µL del radical y se le adicióno 5 µL del extracto o estándar Trolox (curva estándar). Se leyó la absorbancia a 734 nm y se monitoreo al minuto 1 y 6 después de mezclarlas. Los resultados se calcularon utilizando una curva estándar de Trolox y se expresaron como mg equivalentes de Trolox por g (ET/g).

#### **5.4.4 Capacidad de Absorbancia del Radical Oxígeno (ORAC)'**

La capacidad antioxidante por el método ORAC se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Robles-Sánchez et al. (2009). El reactivo ORAC se utilizó como generador de radicales piróxilo, fluoresceína y Trolox como estándar. La mezcla de reacción contenía 25 µL de extracto, 25 µL de buffer de fosfatos 75 mM (pH 7.4), 75 µL del reactivo ORAC (0.8 M) y 200 µL de fluoresceína (0.106 µM). Se utilizó un buffer de fosfatos como muestra blanco. Enseguida, la muestra se pre-incubó 37°C durante 15 min y se adicióno el reactivo ORAC para iniciar la reacción (generación de radicales piróxilo). Se monitoreó la fluorescencia durante intervalos de 2 min. La longitud de onda de excitación y de emisión fue de 484 nm y 515 nm, respectivamente, y cada extracto se analizó por triplicado. Los valores se calcularon utilizando una ecuación de regresión entre la concentración de Trolox y el área bajo la curva de cada fluorescencia. Los resultados se expresaron en µmol ET/g de muestra.

#### **5.4.5 Determinación de Fenoles Totales**

El contenido de fenoles totales se determinó por el método descrito por Singleton y Rossi (1965) con algunas modificaciones. Se mezcló 15 µL del extracto con 75

$\mu\text{L}$  del reactivo Folin-Ciocalteu diluido 1:10 con agua destilada. Se dejó reposar y se agregó 60  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7.5%) y se dejó en reposo en oscuridad por 30 min. Posteriormente 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.

## 5.5 Análisis Sensorial

El análisis sensorial se llevó a cabo con un grupo de 20 panelistas semientrenados utilizando un método de análisis cuantitativo-descriptivo, donde se evaluó los atributos de color, jugosidad, firmeza, sabor y aceptación general, siguiendo las recomendaciones de (Pedrero y Pangborn, 1989). Las hamburguesas a evaluar fueron cocinadas hasta una temperatura interna de 71°C. Para evaluar los atributos se utilizó una escala hedónica de 0 (disgusta extremadamente) a 10 (gusta extremadamente).

## 5.6 Resistencia Térmica de *Escherichia coli* O157:H7

En este estudio se utilizó la cepa de *Escherichia coli* O157:H7 ATCC (American type culture collection) 43890. Esta cepa se mantuvo como stock congelado a -80°C en caldo Mueller Hinton (Difco, Detroit, MI) suplementado con 10% de glicerol.

### 5.6.1 Preparación del Inoculo

Para la preparación del inoculo, se siguió la metodología descrita por Juneja y Novak (2003). Se descongeló el tubo que contenía la cepa y se tomó 1 mL para ser transferido a un matraz de 250 mL con 50 mL en caldo Mueller Hinton y se incubó por 24 h a 37°C. Posteriormente, se tomó 0.1 mL del cultivo y se pasó a un tubo de 10 mL que contenía caldo Mueller Hinton, mismo que se incubó por 24 h a 37°C. Para preparar la suspensión celular se inoculó la muestra y se tomó

0.1 mL del cultivo y se transfirió a un matraz de 250 mL que contenía 50 mL de caldo Mueller Hinton y se incubó por 24 h a 37°C. El medio se centrifugó a 5000 rpm por 15 min a 4°C. El líquido sobrenadante se descartó y el precipitado obtenido se disolvió en 10 mL de agua peptonada al 0.1% (Becton Dickinson, USA) y se centrifugó a las mismas condiciones. Se prepararon las diluciones correspondientes para obtener un inóculo de 9 Log UFC/mL, que se utilizó para inocular la muestra.

### **5.6.2 Preparación de Muestras**

Se tomaron  $5 \pm 0.2$  g de producto y se pasaron a bolsas estériles para vacío de 9 x 14 cm (Whirl Pak®, USA). Se inoculó 100 µL/5 g de producto para obtener una concentración final de 7 Log UFC/g y se procedió a sellar las bolsas.

### **5.6.3 Tratamiento Térmico**

Las bolsas fueron colocadas dentro de un baño con agua caliente (marca Precisión Scientific modelo 50, USA) a una temperatura de 60°C por 10 min, simulando condiciones de cocimiento inadecuado. Se removieron a un tiempo específico para posteriormente colocarlas en una mezcla de agua-hielo hasta alcanzar una temperatura menor de 4°C, para posteriormente realizar el conteo de microorganismos sobrevivientes.

### **5.6.4 Enumeración de Bacterias Supervivientes**

Para realizar el conteo de las bacterias sobrevivientes, se utilizó la técnica descrita por Juneja y Novak (2003), misma que permite recuperar las bacterias estresadas por el calor. Después del tratamiento térmico, se abrieron las bolsas en condiciones estériles y se agregó 5 mL de agua peptonada al 0.1% y se homogenizaron por 1 min. Se realizaron diluciones seriadas utilizando agua peptonada (0.1%) y se inoculó 0.1 mL sobre agar tripticasa de soya (TSA, Becton Dickinson, USA). Las placas se incubaron a 37°C durante 2 h para

permitir la recuperación de las bacterias estresadas por calor. Posteriormente se agregaron 7 mL del medio selectivo agar MacConkey Sorbitol (Becton Dickinson, USA) para *Escherichia coli* O157:H7. Las placas se incubaron 48 h en total y se contaron las colonias típicas blancas. Se realizó un conteo de la reducción decimal del patógeno.

## 5.7 Optimización

Es relativamente fácil encontrar las condiciones óptimas para una sola respuesta utilizando diseños de superficie de respuesta. Sin embargo, cuando se tiene un sistema multicomponente como en el presente estudio, donde se buscó optimizar en función de varias variables de respuesta, la estrategia más simple fue utilizar las superficies superpuestas obtenidas para cada una de ellas para realizar la búsqueda de la región experimental que pueda satisfacer todas las respuestas estudiadas (Bruns et al., 2006). El método utilizado para resolver la optimización de varias respuestas es el uso de la metodología de multicriterio (Bezerra et al., 2008). La función utilizada fue la de deseabilidad que es una de las metodologías multicriterio más útil e importante en la optimización. Esta metodología se basa en la construcción de una función de conveniencia para cada respuesta individual. La escala de la función de conveniencia individual osciló entre 0, para una respuesta completamente indeseable, y 1, una respuesta totalmente deseada. Esta transformación hace que sea posible combinar los resultados obtenidos para las propiedades medidas en diferentes órdenes de magnitud.

Se seleccionó la deseabilidad para cada una de las variables respuesta, dependiendo del interés de la misma; así, para algunas de ellas se buscaba maximizarlas, es decir valores altos ponderados a 1 y valores bajos ponderados a 0. En otras respuestas el interés fue minimizarlas, es decir valores bajos ponderados a 1 y valores altos ponderados a 0. Para algunas de las respuestas fue la búsqueda de un valor intermedio, es decir valores intermedios ponderados a 1 y tanto valores altos como bajos ponderados a 0. Una vez ponderadas todas

las respuestas se utilizó la herramienta de optimización por superposición de superficies buscando maximizar la deseabilidad en términos de los parámetros físico-químicos, capacidad antioxidante, características sensoriales y reducciones logarítmicas de *E. coli* O157:H7. Con esto se obtuvieron cuatro formulaciones óptimas en función de los ingredientes utilizados, nuez, jamaica y sal. Se obtuvieron además los perfiles de predicción de cada variable respuesta de acuerdo a las propiedades seleccionadas. Finalmente, se propuso una formulación única tomando en cuenta todas las propiedades evaluadas.

### 5.8 Análisis Estadístico

Una vez obtenidos los valores de las variables respuesta de cada corrida experimental, se utilizaron para modelar el efecto de la adición de nuez ( $X_1$ ), jamaica ( $X_2$ ) y sal ( $X_3$ ), a través de un modelo polinomial de segundo orden (Ecuación 1), el cual incluyó términos lineales, cuadráticos y de interacción de los factores. El análisis estadístico con base en el diseño antes mencionado, se realizó con el paquete estadístico JMP® (SAS, versión 11). Se utilizó la metodología de superficie de respuesta (MSR) para determinar los coeficientes de regresión y significancia estadística de los términos en los modelos.

$$VR = \beta_0 + \beta_1(X_1) + \beta_2(X_2) + \beta_3(X_3) + \beta_{11}X_1^2 + \beta_{22}X_2^2 + \beta_{33}X_3^2 + \beta_{12}X_1 * X_2 + \beta_{13}X_1 * X_3 + \beta_{23}X_2 * X_3$$

Ecuación 1

Donde:

VR = Variable respuesta

$\beta_0$  = Intercepto

$X_1$  = Factor nuez

$X_2$  = Factor Jamaica

$X_3$  = Factor sal

$\beta_1$  = Coeficiente de regresión lineal para  $X_1$

$\beta_2$  = Coeficiente de regresión lineal para  $X_2$

$\beta_3$  = Coeficiente de regresión lineal para  $X_3$

$\beta_{11}$ = Coeficiente de regresión para  $X_1$  con efecto cuadrático  
 $\beta_{22}$ = Coeficiente de regresión para  $X_2$  con efecto cuadrático  
 $\beta_{33}$ = Coeficiente de regresión para  $X_3$  con efecto cuadrático  
 $\beta_{12}$ = Coeficiente de regresión para la interacción  $X_1 * X_2$   
 $\beta_{13}$ = Coeficiente de regresión para la interacción  $X_1 * X_3$   
 $\beta_{23}$ = Coeficiente de regresión para la interacción  $X_2 * X_3$

La significancia de los factores y sus interacciones se consideraron a niveles de probabilidad de  $P < 0.05$ . El modelo más adecuado, se seleccionó tomando en cuenta al coeficiente de determinación  $R^2$ , la adecuación del modelo determinado por la significancia del análisis de varianza (ANDEVA) y la falta de ajuste. Los niveles de los ingredientes óptimos de jamaica, nuez y sal se determinaron utilizando la función de deseabilidad proporcionada por el mismo software. Se seleccionaron cuatro formulaciones óptimas tomando en cuenta los parámetros físicos, capacidad antioxidante, sensoriales y resistencia térmica de *E. coli* O157:H7. Para la verificación de los modelos, las formulaciones óptimas fueron realizadas experimentalmente y comparadas entre sí a través de una prueba de T a un nivel de confianza del 95% (NCSS, 2007).



## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Análisis Físico-químicos

En este apartado se presentan los resultados del análisis físico-químico de hamburguesas de res en la que la adición de nuez, jamaica y sal se tomó como factores de estudio. Las variables determinadas fueron: color objetivo, pH, actividad de agua, pérdida de peso por cocción y textura. A continuación se describen cada uno de ellos.

#### 6.1.1 Determinación de Color (CIE $L^*a^*b^*$ )

El Cuadro 3 muestra los datos experimentales del color instrumental ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) de hamburguesas de res para todos los tratamientos evaluados. Los valores de  $L^*$  estuvieron entre 36.34 y 47.09, siendo menor en el tratamiento 9 (0% nuez, 1% jamaica, 1% sal) y mayor en el tratamiento 5 (8% nuez, 0.4% jamaica, 0.4% sal). En cuanto a los valores  $a^*$  y  $b^*$ , los más bajos fueron en el tratamiento 9 con 11.62 y 7.03, respectivamente, y los valores más altos en el tratamiento 11 (5% nuez, 0% jamaica, 1% sal) con 17.06 y 13.16, respectivamente.

En el Cuadro 4, se presentan los modelos de regresión para los parámetros de color, los coeficientes de determinación, las significancias y la falta de ajuste. Todos los modelos para estimar el color fueron significativos ( $P < 0.05$ ), ninguno presentó falta de ajuste ( $P > 0.05$ ) y los coeficientes de determinación estuvieron en el rango de 0.87 a 0.97, lo que indica que los modelos obtenidos son adecuados para predecir las variables respuesta por el efecto de la incorporación de nuez, jamaica y sal a los niveles establecidos en la formulación

Cuadro 3. Valores reales de color objetivo en hamburguesas de res adicionadas con nuez, jamaica y sal.

Corrida	Tratamientos (%)			Valores experimentales		
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	L*	a*	b*
1	2.03	0.41	0.41	42.34	14.99	10.49
2	2.03	0.41	1.59	37.07	13.31	9.27
3	2.03	1.59	0.41	40.65	12.37	7.03
4	2.03	1.59	1.59	39.27	11.67	6.94
5	7.97	0.41	0.41	<b>47.09</b>	13.86	11.59
6	7.97	0.41	1.59	42.68	14.62	11.23
7	7.97	1.59	0.41	44.52	12.89	8.48
8	7.97	1.59	1.59	42.26	12.31	8.16
9	0.00	1.00	1.00	<b>36.34</b>	<b>11.62</b>	<b>6.72</b>
10	10.00	1.00	1.00	43.91	13.31	9.76
11	5.00	0.00	1.00	43.60	<b>17.06</b>	<b>13.16</b>
12	5.00	2.00	1.00	41.07	11.62	7.57
13	5.00	1.00	0.00	44.75	12.90	8.85
14	5.00	1.00	2.00	40.48	12.70	8.55
15	5.00	1.00	1.00	41.97	12.73	8.64
16	5.00	1.00	1.00	42.50	13.65	9.57
17	5.00	1.00	1.00	42.31	13.51	9.15
18	5.00	1.00	1.00	42.30	13.63	9.59
19	5.00	1.00	1.00	42.03	12.55	8.98
20	5.00	1.00	1.00	43.59	13.38	9.84

X1 = (%) Nuez, X2 = (%) Jamaica, X3 = (%) Sal.

L\*: luminosidad, a\*:rojo-verde b\*:amarillo-azul.

Cuadro 4. Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para color de hamburguesas de res.

	Color objetivo					
	L*		a*		b*	
	CR	EE	CR	EE	CR	EE
<b>Intercepto</b>	42.43*	0.24	13.24*	0.25	9.29*	0.15
<b>N</b>	2.19*	0.16	0.30	0.16	0.79*	0.10
<b>J</b>	-0.49*	0.16	-1.22*	0.16	-1.56*	0.10
<b>S</b>	-1.50*	0.16	-0.18	0.16	-0.18	0.10
<b>N*J</b>	-0.43	0.21	0.12	0.22	-0.04	0.13
<b>N*S</b>	-0.00	0.21	0.31	0.22	0.07	0.13
<b>J*S</b>	0.75*	0.21	-0.04	0.22	0.14	0.13
<b>N*N</b>	-0.74*	0.15	-0.26	0.16	-0.36*	0.10
<b>J*J</b>	0.03	0.15	0.40*	0.16	0.39*	0.10
<b>S*S</b>	0.12	0.15	-0.14	0.16	-0.19	0.10
R <sup>2</sup>	0.96		0.87		0.97	
P valor	<0.001*		<0.01*		<0.001*	
F. A.	0.45		0.18		0.80	

N= Nuez, J= Jamaica, S= Sal, \*= P<0.05, F.A.= Falta de ajuste.

de hamburguesas de res. La Figura 1 muestra las gráficas de superficie de respuesta en 3D para los valores  $L^*$  y  $a^*$  en función de la adición de nuez, jamaica y sal. Estas gráficas fueron construidas utilizando las ecuaciones polinomiales de segundo orden mostradas en el Cuadro 4.

Las gráficas facilitan la observación de los efectos directos de los factores a evaluar (nuez, jamaica y sal) sobre la variable respuesta de interés. Además las gráficas de superficie de respuesta en 3D se observa el efecto de dos factores, cuando se mantiene constante el tercer factor, facilitando la comprensión de las interacciones y efectos cuadráticos. En la figura 1 se muestra la superficie de respuesta del valor  $L^*$ , en el eje de las Y se muestran los valores predichos de la variable por el modelo. En la gráfica a) se observa el efecto de la incorporación de jamaica y nuez donde el factor de incorporación de sal se encuentra fijo. Se puede ver el efecto directo y cuadrático de jamaica y nuez así como su interacción siempre y cuando el efecto sea significativo.

El color es una de las características más importantes de un producto ya que el consumidor se guía por este parámetro a la hora de realizar su compra. Los parámetros de  $L^*$  (luminosidad) y  $a^*$  (matiz rojo-verde) se consideran los más informativos para analizar los cambios de color en productos cárnicos (Mielnik y Slinde, 1983). El color de los productos cárnicos como las hamburguesas de res puede ser alterado por la proporción de ingredientes no cárnicos en la formulación (Whyte, 2006). De acuerdo a la información presentada en el Cuadro 4, la adición de nuez aumenta el valor de  $L^*$  y no tiene efecto alguno sobre el valor de  $a^*$  es decir, el producto tiende a ser más claro. Este efecto se puede observar en la gráfica a (figura 1) donde se observa que a niveles bajos de nuez los valores de  $L^*$  son bajos y estos aumentan a medida que la nuez va siendo incorporada en porcentajes más altos.

Esta misma tendencia fue reportada por Jiménez-Colmenero (2007) en albóndigas de res adicionadas con 25% de nuez. Por otro lado (Jiménez Colmenero et al., 2003) encontró que la adición de nuez al 5, 10 y 15% aumentaba significativamente los valores de  $L^*$  y disminuía los valores de  $a^*$  relacionándolos con una dilución de los pigmentos de los filetes cárnicos en

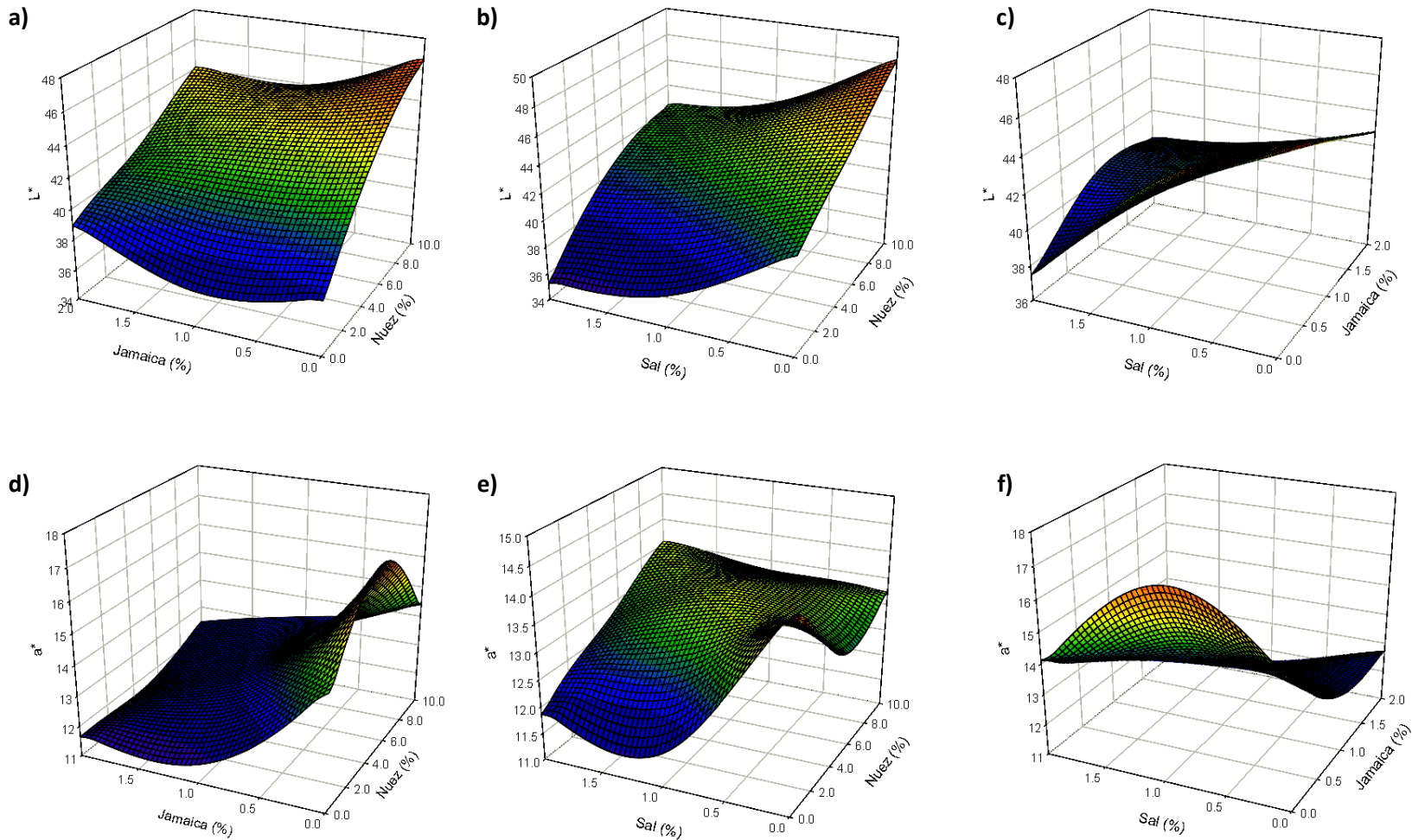


Figura 1. Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de color  $L^*$  y  $a^*$  en función de la adición jamaica nuez y sal.

Valores predichos de  $L^*$  a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) sal vs nuez, c) sal vs jamaica.

Valores predichos de  $a^*$  d) efecto de la adición de jamaica vs nuez, f) sal vs nuez, g) sal vs jamaica

presencia del ingrediente añadido. En este estudio la adición de nuez no presentó significancia en valores de  $a^*$  esto se puede deber a que se están estudiando otros ingredientes al mismo tiempo como jamaica y sal.

En la gráfica d (figura 1) se observa el efecto de la incorporación de jamaica, donde se ve que a niveles bajos de jamaica el valor de  $a^*$  se encuentra a niveles altos y a medida que la jamaica se incorpora el valor tiende a disminuir. También se encontró que agregar jamaica disminuye el valor de  $L^*$  hacia tonos más oscuros, resultados que concuerdan a los reportados por Jung y Joo (2013) en hamburguesas de cerdo adicionadas con jamaica en un rango de 0.1 a 1.3%. En cuanto a los valores de  $a^*$ , éste es dependiente de la concentración de jamaica en el producto. A concentraciones menores a 1%, se observa una disminución lineal en el valor de  $a^*$ , lo cual se revierte a valores cercanos al 2%. En la gráfica f (figura 1) se puede observar este efecto cuadrático de la adición de jamaica, donde se ve una curvatura en cierto punto donde el efecto se revierte. Probablemente este efecto sea debido al pH en el producto final. A pH más ácidos la jamaica toma su color rojo intenso característico, mientras que a pH cercano a la neutralidad cambia a un tono café marrón (Builders et al., 2010). Como más adelante se presentará, el pH del producto disminuye a medida que aumenta la concentración de jamaica en el producto.

### **6.1.2 Potencial de Hidrógeno (pH), Pérdida de Peso por Cocción (PPC) y Actividad de Agua ( $a_w$ ).**

Las determinaciones de pH, PPC y  $a_w$  de las hamburguesas de res se presentan en el Cuadro 5 para todos los tratamientos evaluados. Los valores de pH oscilaron entre 5.03 y 5.69, se observó que el pH más elevado fue en la hamburguesa con 5% nuez, 0% jamaica y 1% sal. Este mismo tratamiento fue quien presentó menor porcentaje de PPC con un valor de 19.21. El tratamiento con el menor valor de pH fue el que contenía 8% nuez, 1.6% jamaica y 0.4% sal. La mayor PPC (34.41%) fue el tratamiento con 2% nuez, 1.6% jamaica y 0.4% sal, coincidiendo con los pH más bajos (5.05) entre los tratamientos evaluados.

Cuadro 5. Valores promedio para las variables de pH, pérdida de peso por cocción y  $a_w$  de hamburguesas de res.

Corrida	Tratamientos (%)			pH	PPC	$a_w$
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>			
1	2.03	0.41	0.41	5.53	23.16	<b>0.97</b>
2	2.03	0.41	1.59	5.45	19.64	0.97
3	2.03	1.59	0.41	5.05	<b>34.41</b>	<b>0.95</b>
4	2.03	1.59	1.59	5.15	31.27	0.95
5	7.97	0.41	0.41	5.59	22.37	0.95
6	7.97	0.41	1.59	5.42	20.65	0.94
7	7.97	1.59	0.41	<b>5.03</b>	26.34	0.95
8	7.97	1.59	1.59	5.16	23.68	0.95
9	0.00	1.00	1.00	5.26	29.46	0.97
10	10.00	1.00	1.00	5.27	23.95	0.97
11	5.00	0.00	1.00	<b>5.69</b>	<b>19.21</b>	0.97
12	5.00	2.00	1.00	5.07	25.59	0.97
13	5.00	1.00	0.00	5.40	25.08	0.96
14	5.00	1.00	2.00	5.20	23.72	0.95
15	5.00	1.00	1.00	5.19	26.54	0.95
16	5.00	1.00	1.00	5.25	27.27	0.96
17	5.00	1.00	1.00	5.22	25.46	0.96
18	5.00	1.00	1.00	5.27	24.79	0.96
19	5.00	1.00	1.00	5.26	25.27	0.96
20	5.00	1.00	1.00	5.24	23.88	0.96

X<sub>1</sub> = Nuez, X<sub>2</sub> = Jamaica, X<sub>3</sub> = Sal.

pH: potencial de hidrógeno,  $a_w$ : actividad de agua, PPC: pérdida por cocción (%).

En general se observa que valores de pH debajo de 5.15 presentan los mayores valores de PPC. En referencia a la  $a_w$ , no se observa mucha variación entre los tratamientos, oscilando este valor entre 0.94 y 0.97.

El Cuadro 6 muestra los modelos de regresión, su significancia, falta de ajuste y coeficiente de determinación para los parámetros de pH, PPC y  $a_w$ . Los modelos de regresión para los dos primeros fueron significativos ( $P < 0.05$ ), no tuvieron falta de ajuste ( $P > 0.05$ ) y tuvieron una  $R^2$  mayor a 0.9, indicadores suficientes para afirmar que los modelos generados son adecuados para predecir estas variables. En cuanto a la  $a_w$ , el modelo no fue significativo ( $P > 0.05$ ) y tuvo una  $R^2$  relativamente baja de 0.6. Lo anterior indica que la adición de ingredientes a la matriz cárnica no provoca cambio en este parámetro, sin embargo algunos estudios han reportado que a pesar de que la adición de ingredientes a la carne no modifican la  $a_w$  en un inicio, a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento puede llegar a modificarla debido a la deshidratación que presentan los productos (Morais et al., 2013; Utrilla et al., 2014). La Figura 2 muestra las gráficas de superficie de respuesta en 3D tanto para pH como para la PPC donde se observan los valores predichos de la variable respuesta, en función de los factores evaluados nuez, jamaica y sal. Las gráficas 3D correspondientes a la variable de respuesta  $a_w$  no se presentaron debido a que el modelo de regresión no fue significativo.

De acuerdo a la información del Cuadro 6, la jamaica es la que más influye en el valor de pH, disminuyendo éste a medida que aumenta la cantidad de jamaica en la formulación. Este efecto se observa en la gráfica a (figura 2) donde se ve claramente el efecto de disminución de pH por la incorporación de jamaica a las hamburguesas. Esta disminución en los valores de pH de las hamburguesas de res se debe a la naturaleza ácida de la jamaica ( $pH = 2.4$ ) debido a su composición de ácidos como gálico y elágico principalmente (Sindi et al., 2014). Por otro lado, la adición de sal disminuye el pH del producto (gráfica b, figura 2), aunque no tan marcado como lo hace la jamaica. Este efecto se puede observar en el modelo de regresión (Cuadro 6) donde indica que la adición de jamaica disminuye 0.19 unidades en cambio la sal disminuye el parámetro 0.02 unidades.



Cuadro 6. Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para el pH, pérdida de peso por cocción y actividad de agua de hamburguesas de res.

	pH		PPC		aw	
	CR	EE	CR	EE	CR	EE
<b>Intercepto</b>	5.24*	0.02	25.51*	0.99	0.96*	0.00
<b>N</b>	0.00	0.01	-1.80*	0.66	-0.002	0.00
<b>J</b>	-0.19*	0.01	2.97*	0.66	-0.001	0.00
<b>S</b>	-0.02*	0.01	-0.97*	0.66	-0.003	0.00
<b>N*J</b>	-0.00	0.01	-1.98*	0.86	0.004	0.00
<b>N*S</b>	-0.00	0.01	0.28	0.86	0.001	0.00
<b>J*S</b>	0.05*	0.01	-0.06	0.86	0.002	0.00
<b>N*N</b>	0.00	0.01	0.57	0.64	0.001	0.00
<b>J*J</b>	0.04*	0.01	-0.95	0.64	-0.003	0.00
<b>S*S</b>	0.01	0.01	-0.24	0.64	-0.002	0.00
R <sup>2</sup>	0.98		0.90		0.60	
V.P.	<0.001*		<0.001*		0.23	
F. A.	0.08		0.19		0.08	

V.P.= Valor P, N= Nuez, J= Jamaica, S= Sal, \*= P<0.05, F.A.= Falta de ajuste. pH: potencial de hidrógeno, Aw: actividad de agua, PPC: pérdida por cocción.

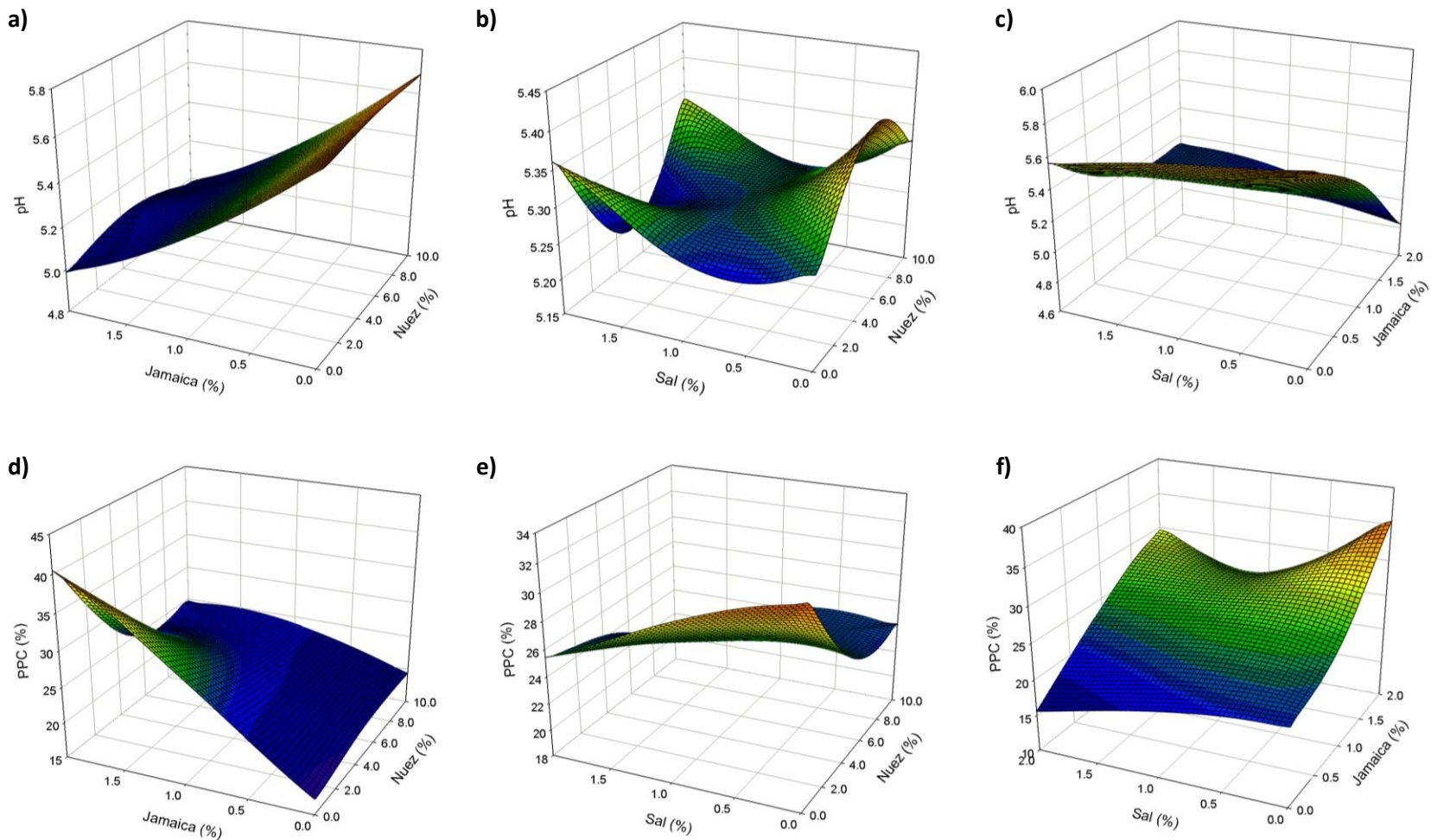


Figura 2. Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de pH y PPC en función de la adición de jamaica, nuez y sal.

Valores predichos para la variable respuesta de pH a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) sal vs nuez, c) sal vs jamaica.

Valores predichos para valores de PPC d) efecto de la adición de jamaica vs nuez, f) sal vs nuez, g) sal vs jamaica

Un mecanismo posible se basa en la distribución desigual de iones dentro de la red miofibrilar y la donación de iones hidrógeno, lo que provoca la repulsión electrostática y la solubilización de proteínas en el medio por efecto de la adición de sal (Puolanne y Peltonen, 2013). La adición de nuez no tiene efecto alguno en la modificación del pH, en el estudio de Jiménez Colmenero et al. (2003) se observó que la adición de nuez al 5, 10 y 20% no produce diferencias significativas en filetes de carne de res reestructurados con un pH de  $5.84 \pm 0.04$ . El pH final del producto es importante debido a que se relaciona con la PPC; pH cercanos al punto isoeléctrico de la proteínas miofibrilares (5.5) (Matak et al., 2015) ocasionan una mayor PPC (Swatland, 2008).

En cuanto a la PPC, ésta disminuye al adicionar nuez y sal en la formulación de hamburguesas de res, mientras que aumenta si se incrementa el contenido de jamaica. En la gráfica e (figura 2) se observa los efectos de la incorporación de sal y nuez, donde el efecto no es muy pronunciado, sin embargo se alcanza a apreciar que a niveles bajos de estos ingredientes se tiene una cierta PPC predicha y a medida que los ingredientes se incorporan esta variable empieza a disminuir. Por lo contrario en la gráfica d (figura 2) se observa el efecto de la incorporación de jamaica, a niveles bajos se predicen valores alrededor de 15% pero conforme se incorpora jamaica la PPC tiende a aumentar.

La sal ocasiona un aumento en la retención de agua, esto en función de la distribución de los iones dentro de la red miofibrilar de la matriz cárnica (Offer y Trinick, 1983) y de los puentes cruzados entre los elementos estructurales donde se da un efecto sobre la retención de agua, así como en la solubilización de las proteínas estructurales que pueden formar un gel para hacer más estable la unión de las partículas con la matriz cárnica (Tornberg, 2005). Puolanne y Peltonen (2013) mencionan que la retención del agua se centra en la estructura misma del agua y de los iones vinculantes. También discutieron la unión de iones sodio y cloruro en las proteínas y los efectos de las interacciones proteína-sal en la estructura del agua. Argumentan que el efecto de la sal sobre la retención de agua es a causa de la unión selectiva de iones cloruro en las zonas hidrofóbicas de filamentos de miosina.

En cuanto al efecto que ejerce la nuez (contenido graso del 64.8%) sobre la disminución de la PPC, Tekin et al. (2010) especifican que el rendimiento de la cocción y la retención de grasa aumentan a medida que se incrementa la grasa en el producto. Esto es debido a que disminuye el espacio libre que hay entre las gotas de grasa, lo que ocasiona menos fuga de la misma (Joo et al., 2013). En el estudio de Jiménez Colmenero et al. (2003) observaron que adicionar nuez en concentraciones menores del 10% no tiene un efecto ( $P>0.05$ ) en la PPC, solo cuando esta se agrega del 10 al 15% obteniendo como resultado un 19.2 a 19.6% de PPC en filetes reestructurados. Los resultados obtenidos son comparables con el obtenido, en el tratamiento 11 (5% nuez, 0% jamaica y 1% sal) donde se obtuvo una PPC del 19.21 pero es importante resaltar que a una concentración de nuez del 5% donde en el estudio el otro estudio adicionar nuez a esta concentración tenían una PPC del 21.7%. Estos resultados se pudieron mejorar debido a una combinación de nuez y sal, es importante destacar que los cambios dimensionales son importantes en el mantenimiento de la calidad, por lo tanto adicionar nuez mejora la PPC en las hamburguesas.

Se mencionó anteriormente que la disminución de pH ocasiona un aumento en la PPC, esto debido a valores de pH cercanos o por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas cárnicas (Kim et al., 2013; Puolanne y Peltonen, 2013), con ello se explica que cuando se adiciona jamaica en la formulación hay una disminución de pH y por consecuencia un aumento en la PPC. Durante la cocción en la parrilla se pierden compuestos como agua, grasa y proteínas solubles, esto puede ocasionar cambios en la textura de las hamburguesas, parámetro que a continuación se presenta.

### **6.1.3 Análisis de Perfil de Textura (APT) y Esfuerzo al Corte (EC).**

El APT y EC se llevó a cabo en las hamburguesas ya cocinadas, y para el caso del APT, las variables de respuesta fueron dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad. En el Cuadro 7 se muestran los resultados de todas las variables de respuesta en las 20 corridas experimentales realizadas. La dureza varió en el rango de 0.61 a 1.22 kg, la elasticidad estuvo entre 0.65 y 0.82 cm, la cohesividad entre 0.53 a 0.67 y la masticabilidad entre 0.22 y 0.66 kg\*cm. El EC para todos los tratamientos estuvo alrededor de 1.5 kg. En general se observa que la incorporación de nuez en la formulación de hamburguesas de res disminuye todos los parámetros del APT, pues los menores valores fueron registrados en el tratamiento con 8% nuez, 1.6% jamaica y 1.6% sal, mientras que los valores mayores fueron en el tratamiento con 0% nuez, 1% jamaica y 1% sal.

En el Cuadro 8 se presentan los modelos de regresión, su significancia, falta de ajuste y coeficiente de determinación  $R^2$ . En cuanto al APT, todos los modelos fueron significativos ( $P < 0.05$ ), no presentaron falta de ajuste ( $P > 0.05$ ), y a excepción del modelo de regresión para la dureza, todos tuvieron una  $R^2$  mayor a 0.8. En este mismo cuadro se muestra que el EC no fue significativo por lo que no se incluyó en la discusión. En un estudio donde se adiciono nuez al 5 y 10% comparada con un control no encontraron diferencias en EC de un filete reestructurado de carne de res Jiménez Colmenero et al. (2003). Pero se encontraron significancias en producto con 15% de nuez, este efecto se podría relacionar al contenido de grasa, sin embargo en nuestro estudio solo se manejó concentraciones máximas del 10% lo cual no imparte algún efecto en este parámetro de calidad.

Las Figuras 3 y 4 muestran las gráficas de superficie de respuesta para dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad. De acuerdo a la información que se presenta en el Cuadro 8, la dureza de las hamburguesas disminuye a medida que se incrementa la incorporación de nuez en la formulación, siendo éste el único factor que influye en esta propiedad. Por su parte, la elasticidad, cohesividad y masticabilidad se vieron disminuidas por la incorporación tanto de

Cuadro 7. Promedios para las variables de respuesta en relación a los análisis físico-químicos.

Corrida	Tratamientos (%)			Análisis de Perfil de Textura				
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	Dureza (kg)	Cohesividad	Elasticidad (cm)	Masticabilidad (kg*cm)	EC Kg
1	2.03	0.41	0.41	1.19	0.64	0.76	0.58	1.71
2	2.03	0.41	1.59	1.21	<b>0.67</b>	0.82	<b>0.66</b>	1.56
3	2.03	1.59	0.41	1.04	0.63	0.79	0.52	1.94
4	2.03	1.59	1.59	1.14	0.63	0.81	0.58	<b>1.98</b>
5	7.97	0.41	0.41	0.67	0.60	0.79	0.32	1.18
6	7.97	0.41	1.59	1.13	0.63	0.78	0.55	<b>1.16</b>
7	7.97	1.59	0.41	0.76	0.57	0.67	0.29	1.37
8	7.97	1.59	1.59	<b>0.61</b>	0.55	<b>0.65</b>	<b>0.22</b>	1.32
9	0.00	1.00	1.00	<b>1.22</b>	0.65	<b>0.82</b>	0.64	1.76
10	10.00	1.00	1.00	0.82	0.58	0.71	0.33	1.22
11	5.00	0.00	1.00	0.97	0.66	0.81	0.52	1.71
12	5.00	2.00	1.00	1.04	0.59	0.75	0.46	1.17
13	5.00	1.00	0.00	0.75	<b>0.53</b>	0.73	0.34	1.69
14	5.00	1.00	2.00	0.96	0.63	0.77	0.46	1.52
15	5.00	1.00	1.00	1.18	0.62	0.75	0.55	1.56
16	5.00	1.00	1.00	0.90	0.62	0.75	0.42	1.26
17	5.00	1.00	1.00	0.99	0.64	0.80	0.50	1.37
18	5.00	1.00	1.00	1.11	0.58	0.78	0.50	1.56
19	5.00	1.00	1.00	1.17	0.64	0.80	0.60	1.69
20	5.00	1.00	1.00	1.04	0.62	0.77	0.50	1.33

X<sub>1</sub> = Nuez, X<sub>2</sub> = Jamaica, X<sub>3</sub> = Sal. pH: potencial de hidrógeno, a<sub>w</sub>: actividad de agua, PPC: pérdida por cocción, EC: esfuerzo al corte.

Cuadro 8. Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para características físico-químicas de hamburguesas de res.

	Dureza		Cohesividad		Elasticidad		Masticabilidad		EC	
	CR	EE	CR	EE	CR	EE	CR	EE	CR	EE
<b>Intercepto</b>	1.067	0,05	0.618*	0.01	0.773*	0.03	0.509*	0.03	1.45*	0.08
<b>N</b>	-0.153*	0,03	-0.024*	0.01	-0.033*	0.02	-0.107*	0.02	-0.224*	0.05
<b>J</b>	-0.039	0,03	-0.019*	0.01	-0.023*	0.02	-0.043*	0.02	0.006	0.05
<b>S</b>	0.057	0,03	0.014*	0.01	0.005	0.02	0.036	0.02	-0.032	0.05
<b>N*J</b>	-0.027	0,04	-0.009	0.01	-0.032*	0.03	-0.028	0.03	-0.036	0.07
<b>N*S</b>	0.022	0,04	0.002	0.01	-0.017*	0.03	0.001	0.03	0.006	0.07
<b>J*S</b>	-0.065	0,04	-0.010	0.01	-0.007	0.03	-0.041	0.03	0.019	0.07
<b>N*N</b>	-0.013	0,34	0.001	0.01	-0.005	0.02	-0.006	0.02	0.014	0.05
<b>J*J</b>	-0.018	0,03	0.003	0.01	-0.002	0.02	-0.005	0.02	-0.004	0.05
<b>S*S</b>	-0.072	0,03	-0.011	0.01	-0.009	0.02	-0.036	0.02	0.055	0.05
R <sup>2</sup>	0.75		0.80		0.93		0.86		0.63	
V.P.	0.04		0.015		0.0001		0.003		0.17	
F. A.	0.26		0.52		0.93		0.44		0.19	

Int= Intercepto, V.P.= Valor P, N= Nuez, J= Jamaica, S= Sal, \*= P<0.05, F.A.= Falta de ajuste, E.C.= Esfuerzo al corte.

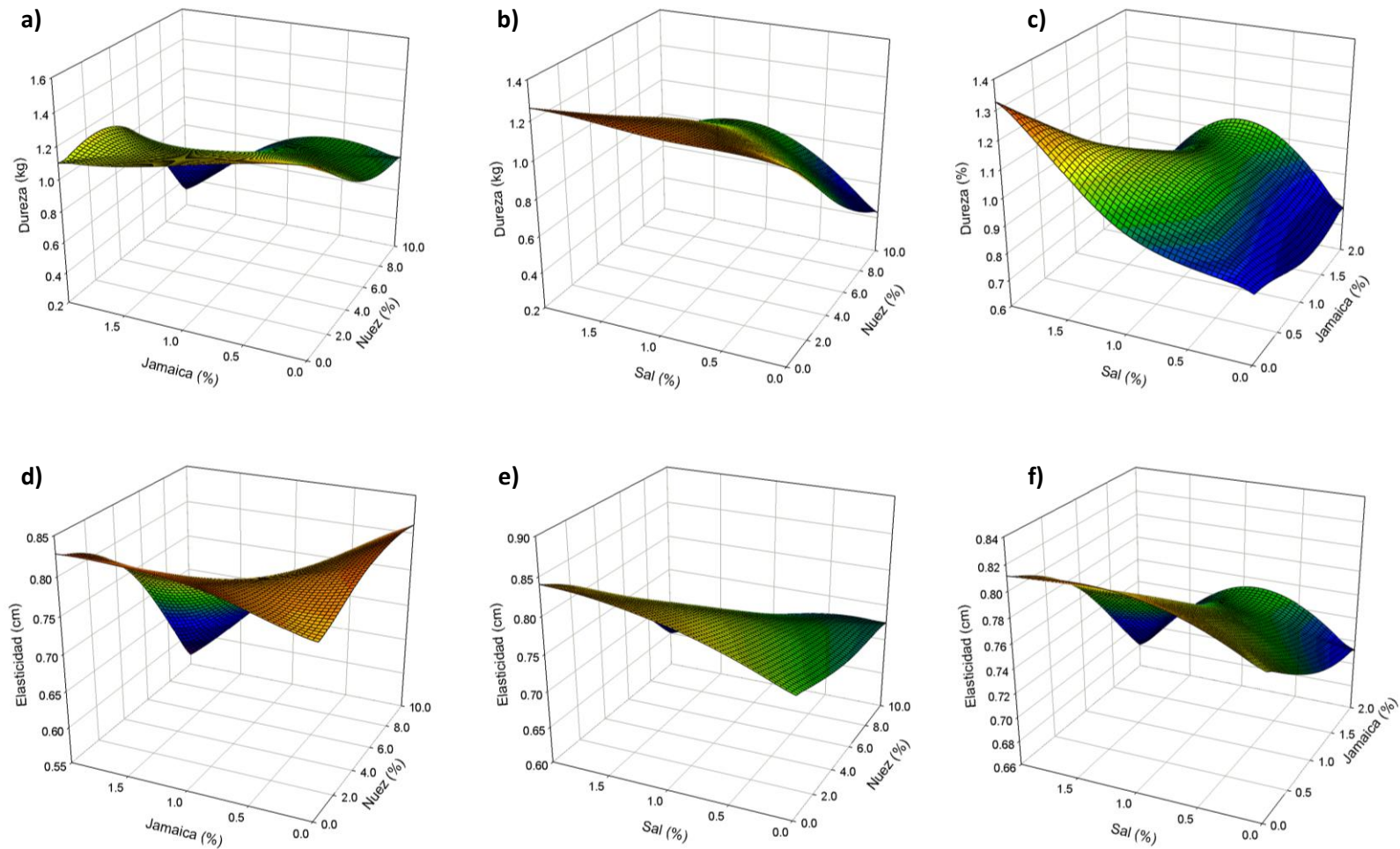


Figura 3. Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de análisis de perfil de textura para dureza y elasticidad en función de la adición de la jamaica, nuez y sal.

Valores predichos para la variable respuesta de dureza a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) sal vs nuez, c) sal vs jamaica. Valores predichos para la variable respuesta de elasticidad d) efecto de la adición de jamaica vs nuez, f) sal vs nuez, g) sal vs jamaica



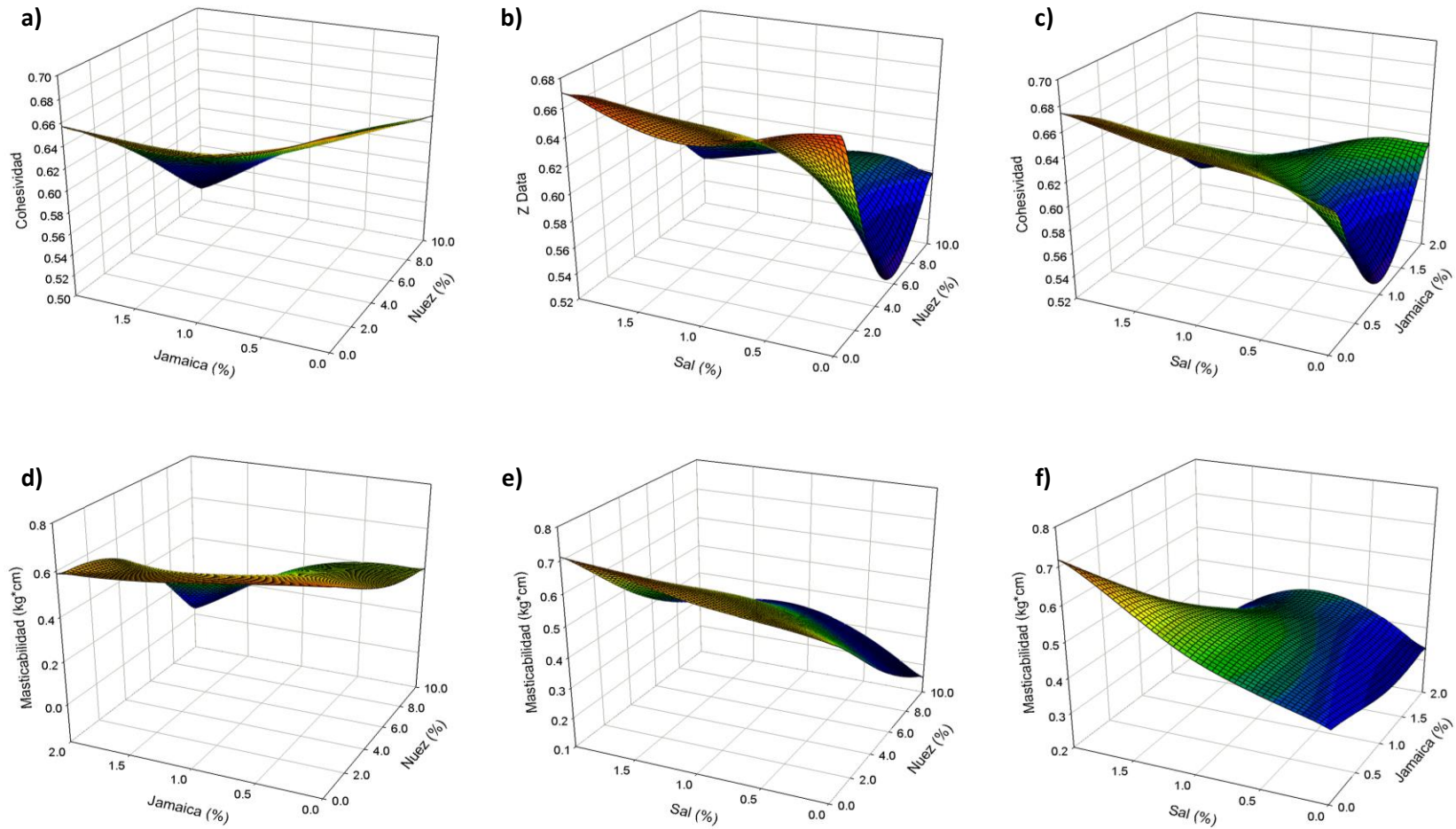


Figura 4. Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de análisis de perfil de textura para cohesividad y masticabilidad en función de la adición de jamaica, nuez y sal.

Valores predichos para la variable de cohesividad a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) sal vs nuez, c) sal vs jamaica.

Valores predichos para la variable de masticabilidad d) efecto de la adición de jamaica vs nuez, f) sal vs nuez, g) sal vs jamaica

nuez como de jamaica. En general, la incorporación de nuez y jamaica en las hamburguesas de res disminuyeron significativamente los atributos de textura, teniendo mayor efecto la nuez. En el estudio de (Jiménez Colmenero et al., 2003) se encontraron resultados similares, la adición de nuez 5, 10 y 15% disminuye los parámetros del APT, relacionándolo al contenido de grasa la cual al ocasionar una disminución en la cohesividad existe una ruptura más fácil de la estructura cárnica, por lo cual se requiere una aplicación de fuerza menor.

Esta diferencia podría ser atribuida a la composición y características de la grasa que se incorpora en el sistema cárnico, la cual tiene un fuerte impacto sobre las propiedades de textura de los productos cárnicos según Lawrie et al. (1998). Tendencias similares al presente estudio fueron obtenidos por Rodríguez-Carpena et al. (2012) al desarrollar hamburguesas adicionadas con aceite de aguacate, y por Valenzuela-Melendres et al. (2014) en hamburguesas adicionadas con linaza y pasta de tomate. La adición de ingredientes a la matriz cárnica reduce la proporción de agua disponible para la formación de geles en la matriz, ocasionando la formación de estructuras menos rígidas y más fácil de romper (Farouk et al., 2000). Este comportamiento se atribuye principalmente al efecto de dilución de los ingredientes no cárnicos en el sistema proteico, o por su capacidad para reducir la fricción y/o unión entre las partículas o bien en relación con la PPC (Shao et al., 1999).

## 6.2 Análisis de la Capacidad Antioxidante

En la actualidad existe una diversidad de métodos para evaluar la capacidad antioxidante (CA) los cuales emplean sustratos, cinéticas de reacción y técnicas analíticas diferentes. Los procedimientos se basan en una reacción de oxidación acelerada involucrando un iniciador para manipular una o más variables en el sistema de prueba; tales iniciadores incluyen la exposición a la luz para promover la oxidación fotosensitizada por el oxígeno singlete y fuentes de radicales libres (Antolovich et al., 2002). Este es el principio de los métodos más modernos de ensayo tales como DPPH (1,1-difenil-2- picrilhidrazilo), ABTS (ácido 2,2'azinobis-

(3- etilbenziazolina)-6-sulfónico) y AAPH 2,2'-azo-bis (2-amidinopropano) (MOSQUERA et al., 2005). La CA guarda una relación directa con el contenido de fenoles totales por lo que también se incluyó en esta parte del estudio.

### **6.2.1 Inhibición del Radical DPPH•, ABTS• y ORAC**

El Cuadro 9 se muestra los resultados experimentales de la CA determinada por los métodos de DPPH, ABTS y ORAC en hamburguesas de res. Para el caso de la determinación de DPPH y ABTS, los valores oscilaron entre 0.15 y 0.77 mgET/gPF (miligramos equivalentes trolox/ gramo de peso fresco) para el primero y 0.2 a 0.7 mgET/gPF para el segundo. Los valores más bajos de CA determinada por éstos métodos se presentó en el tratamiento 11 (5% nuez, 0% jamaica, 1% sal), mientras que el tratamiento 12 (5% nuez, 2% jamaica, 1% sal) tuvo la más alta CA debido a su mayor contenido de jamaica, alimento en el que se ha demostrado un contenido alto de antioxidantes (Borrás-Linares et al., 2015; Higginbotham et al., 2014). En relación a la determinación ORAC, todos los valores oscilaron alrededor de 2.5 mgET/gPF.

En el Cuadro 13, se presenta los modelos de regresión, su significancia, falta de ajuste y coeficientes de determinación para la CA determinada por los métodos DPPH, ABTS y ORAC. Los modelos de regresión para los dos primeros fueron significativos ( $P < 0.05$ ), no presentaron falta de ajuste ( $P > 0.05$ ) y tuvieron una  $R^2$  mayor a 0.92, mientras que para ORAC, el modelo no fue significativo ( $P > 0.05$ ) y tuvo un coeficiente de determinación de 0.39. En la Figura 5 se muestran las gráficas de superficie de respuesta en 3D para las variables de respuesta DPPH y ABTS, en función del contenido de nuez, jamaica y sal. Por falta de significancia en el modelo y una  $R^2$  muy baja, no se presenta la correspondiente a ORAC.

En la gráfica a y d (figura 5) se observa los valores predichos por el modelo de la capacidad antioxidante por el método DPPH y ABTS del efecto de la incorporación de jamaica y nuez. Se observa que ambos ingredientes ocasionan un aumento en la CA. Para el método de DDPH se observó un efecto

Cuadro 9. Promedios para las variables de respuesta en la capacidad antioxidante.

Corrida	Tratamientos (%)			DPPH' mgET/gPF	ABTS mgET/gPF	ORAC µmET/gPF	Fenoles Totales [mgAG/g PF]
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>				
1	2.03	0.41	0.41	0.246	0.397	2.44	0.359
2	2.03	0.41	1.59	0.218	0.260	2.74	0.341
3	2.03	1.59	0.41	0.459	0.506	2.36	0.414
4	2.03	1.59	1.59	0.461	0.502	2.45	0.415
5	7.97	0.41	0.41	0.338	0.498	2.48	0.409
6	7.97	0.41	1.59	0.260	0.517	2.38	0.399
7	7.97	1.59	0.41	0.530	0.603	2.38	0.388
8	7.97	1.59	1.59	0.540	0.705	2.53	0.446
9	0.00	1.00	1.00	0.281	0.402	2.32	0.367
10	10.00	1.00	1.00	0.407	0.617	2.52	0.442
11	5.00	0.00	1.00	<b>0.149</b>	<b>0.200</b>	2.41	0.461
12	5.00	2.00	1.00	<b>0.771</b>	<b>0.687</b>	<b>2.73</b>	<b>0.565</b>
13	5.00	1.00	0.00	0.363	0.440	2.48	0.382
14	5.00	1.00	2.00	0.360	0.473	2.56	0.411
15	5.00	1.00	1.00	0.280	0.431	2.38	0.428
16	5.00	1.00	1.00	0.198	0.428	2.46	0.405
17	5.00	1.00	1.00	0.227	0.439	2.38	0.430
18	5.00	1.00	1.00	0.318	0.376	2.46	0.392
19	5.00	1.00	1.00	0.333	0.397	2.58	0.418
20	5.00	1.00	1.00	0.286	0.471	2.38	0.441

X<sub>1</sub> = Nuez, X<sub>2</sub> = Jamaica, X<sub>3</sub> = Sal.

mgET/gPF= miligramos equivalentes trolox por gramo de peso fresco, µmET/gPF= micro moles equivalentes a trolox por gramo de peso fresco, mgAG/gPF= miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra fresca

Cuadro 10. Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para capacidad antioxidante de hamburguesas de res.

	DPPH		ABTS		ORAC		Fenoles Totales	
	CR	EE	CR	EE	CR	EE	CR	EE
<b>Intercepto</b>	0.273*	0.023	0.422*	0.019	2.44*	0.05	0.42*	0.011
<b>N</b>	0.036*	0.015	0.074*	0.013	0.008	0.033	0.017*	0.007
<b>J</b>	0.145*	0.015	0.107*	0.013	0.015	0.033	0.024*	0.007
<b>S</b>	-0.007	0.015	0.002	0.013	0.044	0.033	0.006	0.007
<b>N*J</b>	0.002	0.019	-0.007	0.017	0.052	0.043	-0.013	0.01
<b>N*S</b>	-0.015	0.019	0.032	0.017	-0.004	0.043	0.008	0.01
<b>J*S</b>	0.014	0.019	0.027	0.017	0.004	0.043	0.011	0.01
<b>N*N</b>	0.021	0.015	0.036	0.012	-0.015	0.032	-0.014	0.007
<b>J*J</b>	0.063*	0.015	0.012	0.012	0.037	0.032	0.024*	0.007
<b>S*S</b>	0.028	0.015	0.017	0.012	0.019	0.032	-0.017	0.007
R <sup>2</sup>	0.92		0.92		0.39		0.79	
V.P.	<0.001*		<0.001*		0.68		0.02	
F. A.	0.41		0.11		0.09		0.07	

V.P.= Valor P, N= Nuez, J= Jamaica, S= Sal, \*= P<0.05, F.A.= Falta de ajuste.

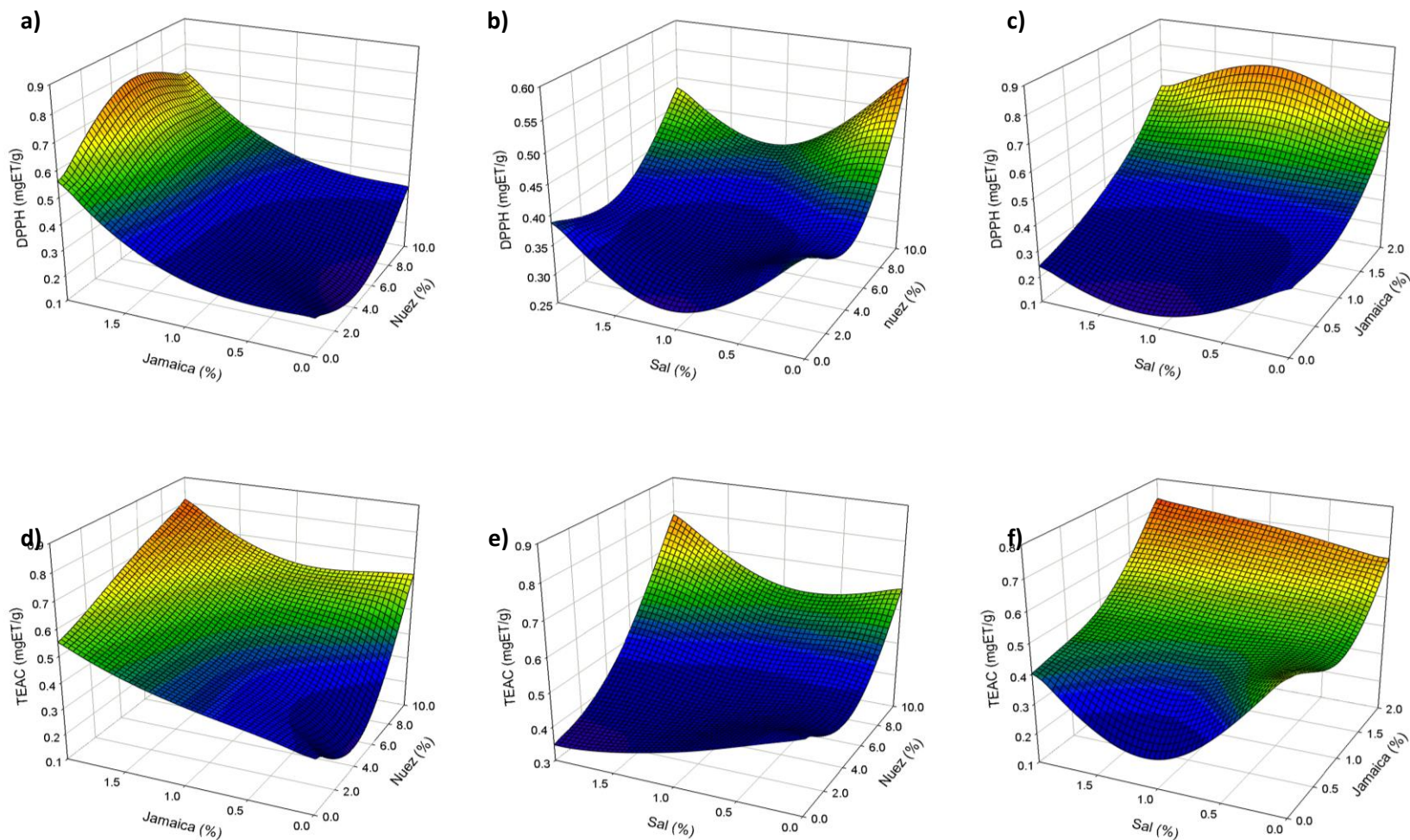


Figura 5. Gráficas de superficie de respuesta en 3D para la capacidad antioxidante por el método DPPH y ABTS en función de la adición de jamaica, nuez y sal.

Valores predichos para la variable DDPH a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) sal vs nuez, c) sal vs jamaica.

Valores predichos para la variable ABTS d) efecto de la adición de jamaica vs nuez, f) sal vs nuez, g) sal vs jamaica

cuadrático por la incorporación de jamaica que se puede observar en la gráfica a y c (figura 5). De acuerdo con a los resultados presentados en el Cuadro 10, la jamaica es la que mayor influye en la CA, a medida que ésta se va incorporando en la matriz cárnica, aumenta la CA. Este aumento en los valores de CA de las hamburguesas de res se debe a que la jamaica es un fruto rico en antioxidantes, en su mayoría fenoles. Se ha reportado que en esta planta se encuentran ácidos orgánicos y compuestos fenólicos, tales como ácido cítrico, ácido hidroxicítrico, ácido hibisco y ácido protocatechuico (Borrás-Linares et al., 2015). Los flavonoides tales como quercetina, luteolina o gossipetin y sus respectivos glucósidos también están presentes. Las antocianinas más frecuentes en la jamaica son cianidina-3-glucósido, delphinidina-3-glucósido, cianidina-3-sambubiosido y delphinidina-3-sambubiosido (Ali et al., 2005; Rodríguez-Medina et al., 2009).

Borrás-Linares et al. (2015) realizaron un estudio donde evaluaron la CA con el método DPPH en 25 variedades de jamaica cultivadas en México. Los valores oscilaron entre 6.86 a 28 mgET/g peso seco (PS), lo cual indica que la CA de este fruto dependerá de la variedad que se esté empleando. Con la finalidad de llevar un control de las materias primas en el presente trabajo se realizó la determinación de CA para la flor de jamaica utilizada en la formulación de hamburguesas de res. Se encontró que posee un 6.05mgET/gPS que en comparación con el estudio de (Borrás-Linares et al., 2015) se encuentra entre los valores más bajos que reportan.

Por otro lado, la adición de nuez también ejerce un aumento en la capacidad antioxidante a medida que ésta se va incorporando a la matriz cárnica. Este fruto seco también posee numerosos compuestos polifenólicos con potente capacidad captadora de radicales libres (Fukuda et al., 2003). Recientemente se ha reportado de la actividad antioxidante de extractos liposolubles de una gran variedad de frutos secos (Pérez-Jiménez et al., 2008), reportando una mayor CA en extractos liposolubles que hidrosolubles; en nuestro trabajo sólo se determinó en extractos metanólicos, por lo que haría falta revisar la CA en extractos liposolubles para tener una mejor comparación.

## 6.2.2 Determinación de Fenoles Totales

El Cuadro 9 muestra los datos experimentales del contenido de fenoles totales medido por el ensayo Folin Ciocalteu, valores expresados en mg equivalentes de ácido gálico (AG) por gramo de peso fresco evaluados en hamburguesas de res. El contenido de fenoles totales osciló de 0.34 a 0.56 mgAG/gPF, teniendo un menor contenido de fenoles en el tratamiento 2 (2.03% nuez, 0.41% jamaica, 1.59% sal) y el tratamiento 12 (5% nuez, 2% jamaica, 1% sal) con el mayor contenido de fenoles.

En el Cuadro 10, se presenta el modelo de regresión, su significancia, falta de ajuste y coeficiente de determinación para fenoles totales. El modelo de regresión fue significativo ( $P < 0.05$ ), no presentó falta de ajuste ( $P > 0.05$ ) y tuvo una  $R^2$  de 0.79. Anteriormente se mencionó que debería de tener mínimo un 0.80 el coeficiente de determinación, pero como quedó casi en el límite se consideró como indicadores suficientes para determinar que el modelo obtenido es adecuado para la predicción de la variable respuesta. En la Figura 6 se muestran las gráficas de superficie de respuesta en 3D del contenido de fenoles totales en función de las variables nuez, jamaica y sal. En la gráfica a (figura 6) se observa el efecto de la incorporación de jamaica y nuez en donde se observa que la variable respuesta tiende a aumentar. El mismo comportamiento se observó en la determinación de CP por el método DDPH y ABTS.

De acuerdo con a los resultados presentados en el Cuadro 10 y la figura 6, la jamaica y la nuez son las que influyen en la variable de respuesta, a medida que estos ingredientes son incorporados, el contenido de fenoles aumenta. Estos valores concuerdan a lo ya reportado en diversos estudios que indican que tanto la jamaica como la nuez son ricos en compuestos fenólicos (Borrás-Linares et al., 2015; Fukuda et al., 2003; Pérez-Jiménez et al., 2008). Los fenoles son compuestos fitoquímicos que han sido relacionados positivamente con disminuir procesos de deterioro en el cuerpo, debido a su capacidad de inactivar y reducir la formación de radicales libres (Antolovich et al., 2002).



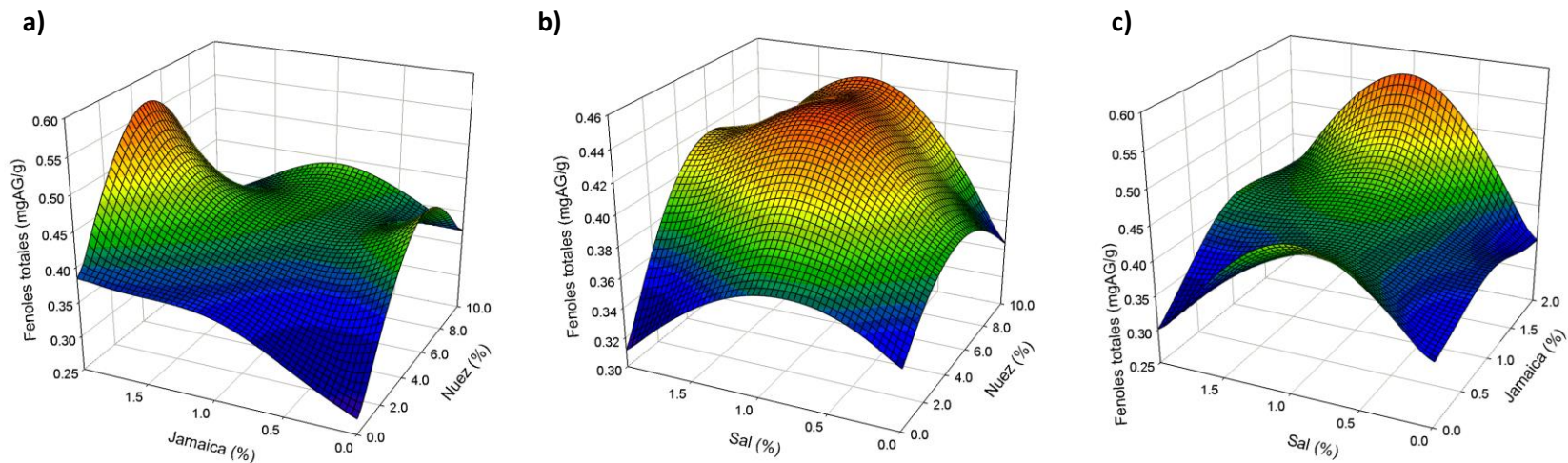


Figura 6. Gráficas de superficie de respuesta en 3D para el contenido de fenoles totales en función de la adición de jamaica, nuez y sal.

Valores predichos para la variable de contenido de fenoles por el a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) efecto de la adición de sal vs nuez y c) efecto de la adición de sal vs jamaica.

### 6.3 Análisis Sensorial

El análisis sensorial de los alimentos se define como una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído (Hernández Alarcón, 2005). Éste análisis es de suma importancia para el mejoramiento y optimización de los productos alimenticios. El análisis sensorial del presente trabajo se llevó a cabo en las hamburguesas cocinadas y las variables de respuesta fueron sabor, firmeza, jugosidad y aceptación general. En el Cuadro 11 se muestran los datos experimentales para todos los tratamientos evaluados. Los panelistas evaluaron todos los tratamientos en el rango de 5.71 a 8.07, valores que pueden considerarse buenos. Estos valores los podemos ubicar en la escala hedónica que se utilizó para la evaluación entre me es indiferente a me gusta.

En el Cuadro 12, se muestran los modelos de regresión para cada variable estudiada, además de la significancia del modelo, falta de ajuste y coeficiente de determinación. Todos los modelos de regresión fueron significativos ( $P < 0.05$ ), no tuvieron falta de ajuste ( $P > 0.05$ ) y a excepción de la jugosidad presentaron una  $R^2 > 0.85$ . Las gráficas de superficie de respuesta generadas con los modelos obtenidos para cada una de las variables del análisis sensorial, se presentan en las Figuras 7 y 8. En las gráficas a y d (figura 7 y 8) se observan los valores predichos por el efecto de la incorporación de jamaica la cual afecta las características de sabor, firmeza, jugosidad y aceptación general ocasionando una disminución en todos los parámetros sensoriales. Por otra parte en las gráficas b y e (figura 7 y 8) se observan los valores predichos de los parámetros sensoriales y como estos incrementan por la incorporación de sal y nuez.

De acuerdo a los datos mostrados en el Cuadro 12, la adición de nuez y sal en la formulación de hamburguesas de res mejora el sabor, contrario a lo que sucede si se adiciona jamaica. El efecto que tiene la nuez sobre el sabor, textura y aceptación general de los productos cárnicos también fue observado por (Colmenero et al. (2005); Jiménez Colmenero et al., 2003) en un producto cárnico

Cuadro 11. Promedios para las variables de sensorial en hamburguesas de res.

Corrida	Tratamientos (%)			Sabor	Firmeza	Jugosidad	Aceptación general
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>				
1	2.03	0.41	0.41	7.15	7.09	7.49	7.23
2	2.03	0.41	1.59	7.41	<b>7.97</b>	<b>8.15</b>	7.61
3	2.03	1.59	0.41	<b>5.71</b>	6.27	<b>5.78</b>	<b>5.82</b>
4	2.03	1.59	1.59	6.86	7.13	7.17	6.82
5	7.97	0.41	0.41	7.09	6.59	6.14	6.64
6	7.97	0.41	1.59	<b>8.07</b>	7.41	7.77	<b>7.80</b>
7	7.97	1.59	0.41	6.36	6.82	6.33	6.61
8	7.97	1.59	1.59	7.28	6.9	7.81	7.24
9	0.00	1.00	1.00	6.39	6.82	6.57	6.59
10	10.00	1.00	1.00	7.32	<b>6.41</b>	6.88	7.04
11	5.00	0.00	1.00	7.32	7.5	7.26	7.16
12	5.00	2.00	1.00	6.8	6.99	7.66	7.1
13	5.00	1.00	0.00	5.93	6.46	6.21	6.19
14	5.00	1.00	2.00	7.77	7.73	7.21	7.62
15	5.00	1.00	1.00	7.25	7.66	7.45	7.56
16	5.00	1.00	1.00	7.27	7.46	7.13	7.44
17	5.00	1.00	1.00	7.3	7.75	7.37	7.59
18	5.00	1.00	1.00	7.26	7.19	6.94	7.14
19	5.00	1.00	1.00	7.15	7.14	6.63	7.15
20	5.00	1.00	1.00	7.34	7.41	7.59	7.47

X<sub>1</sub> = Nuez, X<sub>2</sub> = Jamaica, X<sub>3</sub> = Sal.

Cuadro 12. Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para el análisis sensorial de hamburguesas de res.

	<b>Sabor</b>		<b>Firmeza</b>		<b>Jugosidad</b>		<b>AG</b>	
	<b>CR</b>	<b>EE</b>	<b>CR</b>	<b>EE</b>	<b>CR</b>	<b>EE</b>	<b>CR</b>	<b>EE</b>
<b>Intercepto</b>	7.26*	0.09	7.43*	0.08	7.18*	0.17	7.39*	0.11
<b>N</b>	0.23*	0.06	-0.10	0.05	-0.00	0.11	0.11	0.07
<b>J</b>	-0.32*	0.06	-0.20*	0.05	-0.13	0.11	-0.21*	0.07
<b>S</b>	0.46*	0.06	0.34*	0.05	0.50*	0.11	0.40*	0.07
<b>N*J</b>	0.06	0.08	0.17*	0.07	0.36*	0.15	0.20	0.10
<b>N*S</b>	0.06	0.08	-0.10	0.07	0.13	0.15	0.05	0.10
<b>J*S</b>	0.10	0.08	-0.09	0.07	0.07	0.15	0.01	0.10
<b>N*N</b>	-0.12*	0.06	-0.27*	0.05	-0.13	0.11	-0.19*	0.07
<b>J*J</b>	-0.05	0.06	0.05	0.05	0.12	0.11	0.08	0.07
<b>S*S</b>	-0.13*	0.06	-0.10	0.05	-0.14	0.11	-0.16*	0.07
<b>R<sup>2</sup></b>	0.91		0.91		0.75		0.85	
<b>P valor</b>	<0.001*		<0.001*		0.035*		<0.01*	
<b>FA</b>	0.221		0.83		0.25		0.14	

N= Nuez, J= Jamaica, S= Sal, \*= P<0.05, FA= Falta de ajuste, AG= Aceptación global

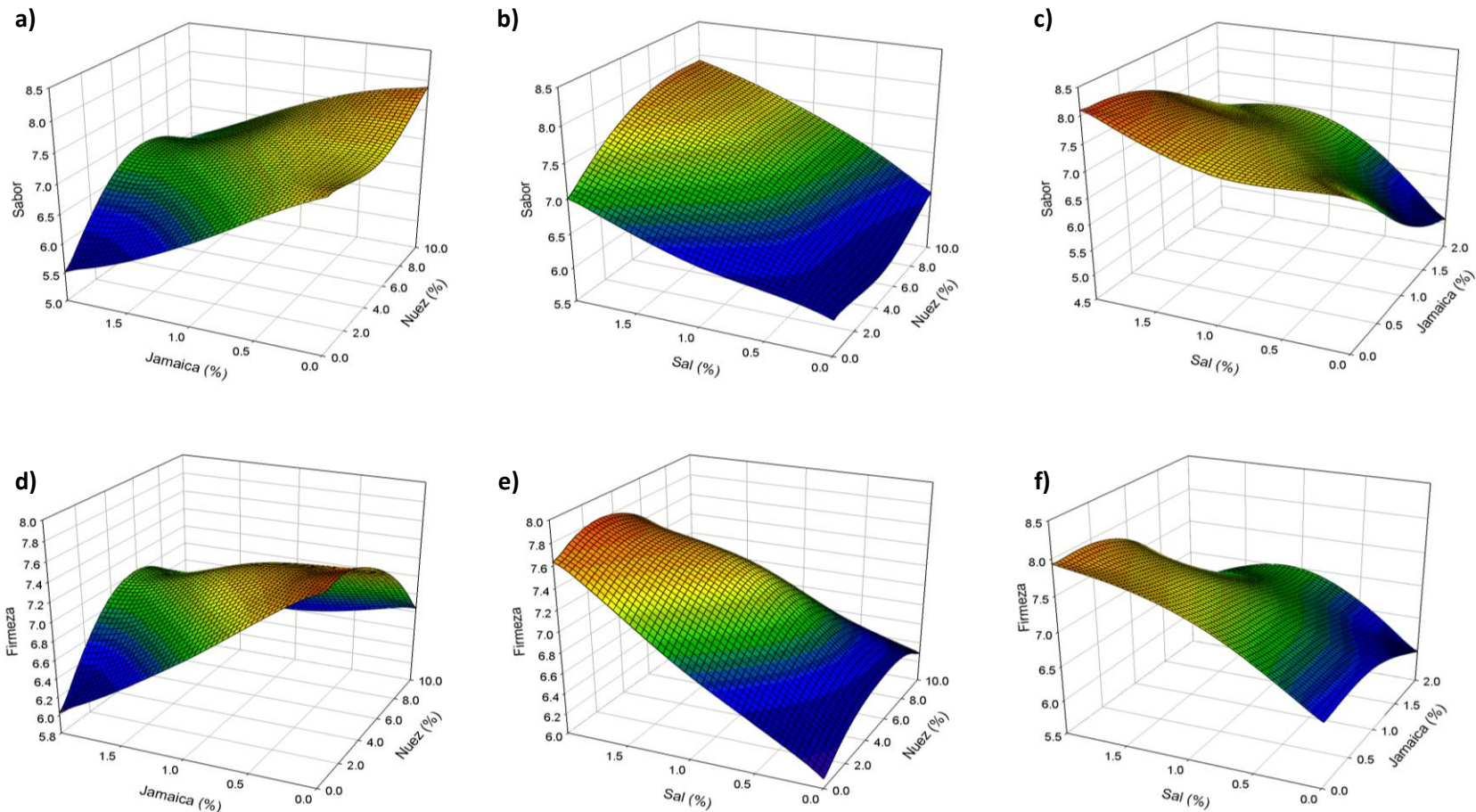


Figura 7. Gráficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de análisis sensorial de sabor y firmeza en función de la adición de jamaica, nuez y sal.

Valores predichos para sabor por el a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) sal vs nuez, c) sal vs jamaica.

Valores predichos para firmeza por el d) efecto de la adición de jamaica vs nuez, f) sal vs nuez, g) sal vs jamaica

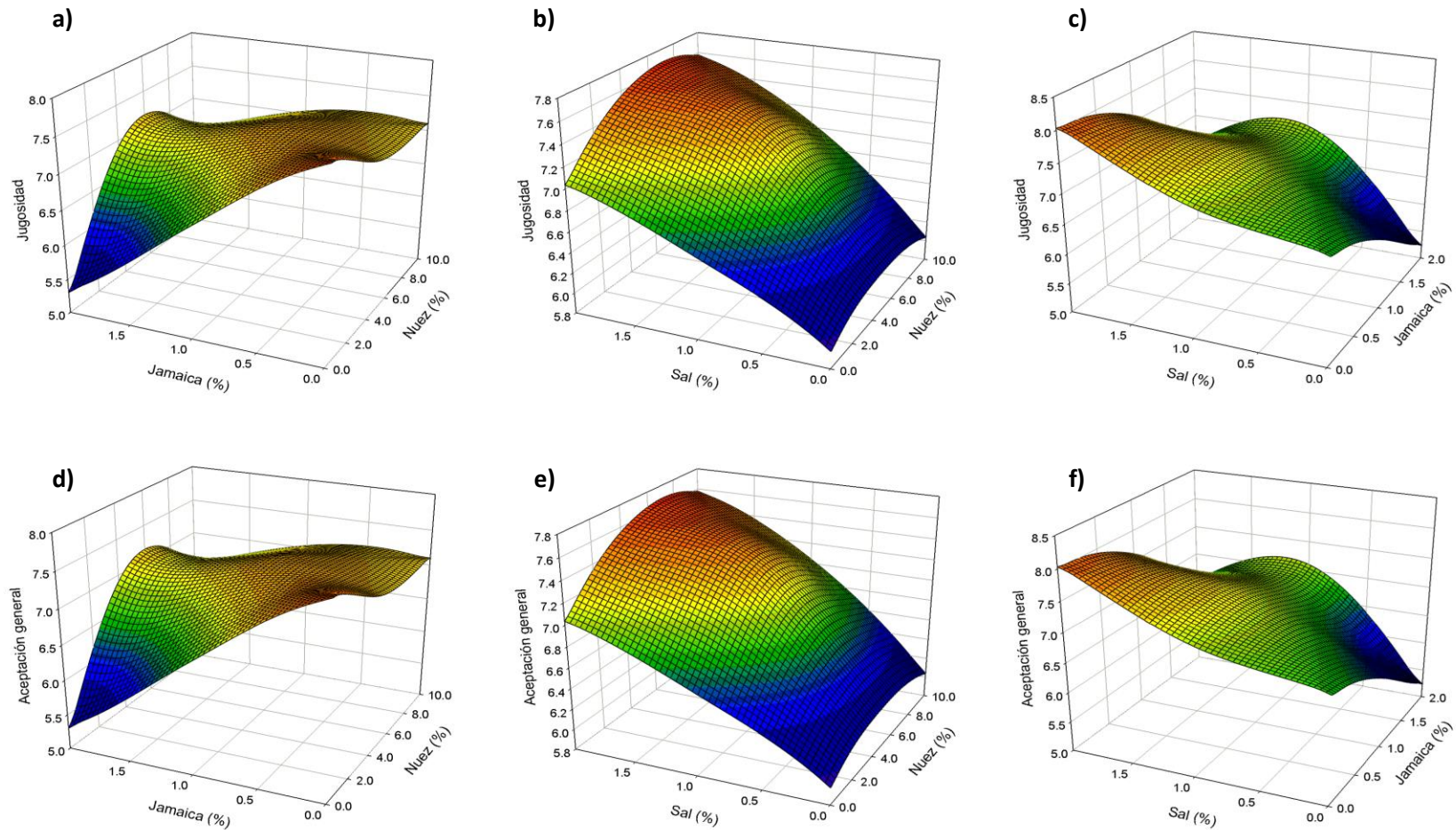


Figura 8. Graficas de superficie de respuesta en 3D para los parámetros de análisis sensorial de jugosidad y aceptación general en función de la adición de jamaica, nuez y sal.

Valores predichos para jugosidad por el a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) sal vs nuez, c) sal vs jamaica.

Valores predichos para aceptación general por el d) efecto de la adición de jamaica vs nuez, f) sal vs nuez, g) sal vs jamaica

reestructurado adicionado con 5, 10 y 15% de nuez donde tuvieron niveles de aceptación mayores ( $P < 0.05$ ) al control (0% de nuez). En las gráficas b y e (figura 7 y 8) se observa como la nuez mejora las propiedades sensoriales pero en algún momento el efecto se revierte, donde lo podemos observar por su efecto cuadrático. Esto quiere decir que a pesar de que la nuez es aceptada por los panelistas en ciertos niveles no es adecuada para optimizar las propiedades sensoriales.

La adición de jamaica en las hamburguesas de res disminuye todos los parámetros sensoriales evaluados. La jamaica es rica en compuestos ácidos como gálico y elágico (Sindi et al., 2014) mismos que pudieron influir en una menor evaluación por parte de los panelistas. Por otro lado, la sal incrementó todas las propiedades sensoriales evaluadas. La sal en los productos cárnicos mejora la retención de agua y grasa, contribuye a la formación de una estructura más estable de la matriz cárnica, y mejora el sabor y la aceptación general (Pietrasik y Gaudette, 2014).

La evaluación indicó que la adición de nuez y jamaica tienen una mejora en la calidad sensorial de hamburguesas de res. El panel fue capaz de detectar la adición de jamaica relacionándola con sabores ácidos. Por ellos es importante encontrar una formulación donde la presencia de ingredientes no tradicionales que puedan ser incorporados sin afectar los parámetros evaluados. Ante ello la industria de la carne tiene que enfrentar el reto de la adición de estos ingredientes para modificar la composición cualitativa y cuantitativa de estos ingredientes, para obtener un efecto en la salud. Anteriormente se habló que la nuez y jamaica proporcionan efectos benéficos para la salud. Por ello es importante adicionarlos en una matriz cárnica y obtener resultados aceptables en las evaluaciones sensoriales. Aunque la adición de nuez, jamaica y sal produce ciertos cambios en la matriz, los productos resultantes tienen características sensoriales aceptables.

#### 6.4 Resistencia Térmica de *Escherichia coli* O157:H7

En el presente estudio se determinó la resistencia térmica de *E. coli* O157:H7 en hamburguesas adicionadas con nuez, jamaica y sal, simulando condiciones de cocimiento moderado de 60°C durante 10 min. Las muestras fueron inoculada con aproximadamente 7 Log UFC/g (unidades formadoras de colonias / gramo) y se determinaron las reducciones logarítmicas (RLog) después de los 10 min de exposición al calor. Un valor alto en la RLog significa menor resistencia al calor; por el contrario, un valor de RLog menor es indicativo de mayor resistencia al calor. En el Cuadro 13, se muestran los promedios obtenidos para las 20 corridas experimentales donde las RLog oscilaron entre 2.43 y 6.85. El tratamiento 18 fue el que menor RLog, el cual fue una de las repeticiones del punto central del modelo, con concentraciones de 5% nuez, 1% jamaica y 1% sal. Para el caso del tratamiento con más RLog, éste fue el correspondiente a la corrida 13 mismo que evalúa la ausencia de sal (5% nuez, 1% jamaica y 0% sal). Se observa que la adición de sal protege a la bacteria; por ejemplo en la corrida 1 en cuya composición se tiene 2% nuez, 0.4% jamaica y 0.4% sal, se tuvieron 4.35 RLog, disminuyendo hasta 3.31 Rlog cuando el contenido de sal aumentó a 1.6% y el resto de los componentes se mantuvo constante (corrida 2). El mismo comportamiento se observa entre las corridas 3 (2% nuez, 1.6% jamaica, 0.4% sal) y 4 (2% nuez, 1.6% jamaica, 1.6% sal).

En el Cuadro 14 se presenta el modelo de regresión para la variable de respuesta RLog, la significancia del modelo, la falta de ajuste y el coeficiente de determinación. De acuerdo a la información aquí presentada, el modelo fue significativo ( $P < 0.05$ ), no tuvo falta de ajuste ( $P > 0.05$ ) y su  $R^2$  fue de 0.96, lo que en conjunto indican que el modelo es adecuado para predecir la variable de respuesta. Este modelo sirvió para la construir la gráfica de superficie de respuesta (Figura 9) en la que se observa el comportamiento de la variable de respuesta RLog en cualquier combinación de los factores bajo estudio, nuez, jamaica y sal.



Cuadro13. Promedios de las reducciones logarítmicas de *E. coli* O157:H7 en hamburguesas de res

Corrida	Tratamientos (%)			R Log (UFC/g)
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	
1	2.03	0.41	0.41	4.35
2	2.03	0.41	1.59	3.31
3	2.03	1.59	0.41	6.22
4	2.03	1.59	1.59	3.85
5	7.97	0.41	0.41	4.21
6	7.97	0.41	1.59	3.56
7	7.97	1.59	0.41	6.31
8	7.97	1.59	1.59	4.75
9	0.00	1.00	1.00	3.74
10	10.00	1.00	1.00	3.18
11	5.00	0.00	1.00	4.25
12	5.00	2.00	1.00	5.42
13	5.00	1.00	0.00	<b>6.85</b>
14	5.00	1.00	2.00	3.45
15	5.00	1.00	1.00	2.77
16	5.00	1.00	1.00	2.51
17	5.00	1.00	1.00	2.52
18	5.00	1.00	1.00	<b>2.43</b>
19	5.00	1.00	1.00	3.09
20	5.00	1.00	1.00	2.94

X<sub>1</sub> = Nuez, X<sub>2</sub> = Jamaica, X<sub>3</sub> = Sal.

RLog= Reducciones logarítmicas, UFC/g= Unidades formadoras de colonias por gramo de producto

Cuadro 14. Coeficientes de regresión estimados (CR) y análisis de varianza de los modelos de regresión para RLog.

	RLog	
	CR	EE
<b>Intercepto</b>	2.71*	0.16
<b>N</b>	0.01	0.10
<b>J</b>	0.56*	0.10
<b>S</b>	-0.83*	0.10
<b>N*J</b>	0.10	0.13
<b>N*S</b>	0.14	0.13
<b>J*S</b>	-0.28	0.13
<b>N*N</b>	0.26	0.10
<b>J*J</b>	0.74*	0.10
<b>S*S</b>	0.85*	0.10
R <sup>2</sup>	0.96	
P valor	<0.001*	
F. A.	0.11	

N= Nuez, J= Jamaica, S= Sal, \*= P<0.05, F.A.= Falta de ajuste, EE = error estándar  
RLog= Reducciones logarítmicas (UFC/g)

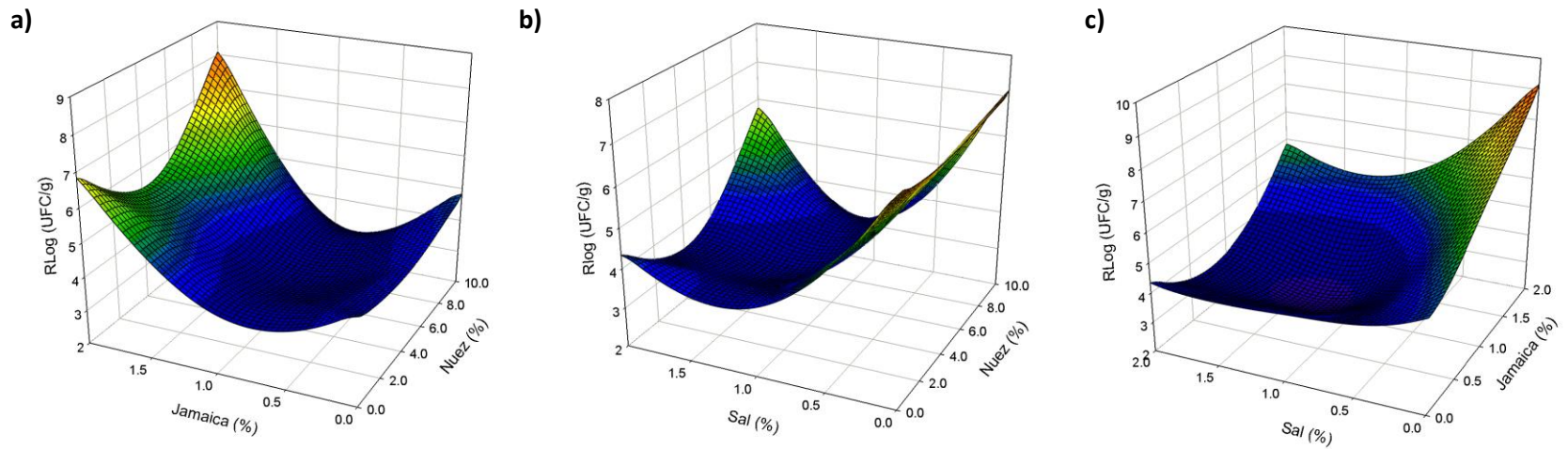


Figura 9. Gráficas de superficie de respuesta en 3D de las reducciones logarítmicas de *E. coli* O157:H7 para la evaluación de la resistencia térmica del patógeno en hamburguesas de res cocinadas moderadamente en función de la adición de jamaica, nuez y sal.

Valores predichos para las RLog de *E. coli* O157:H7 por el a) efecto de la adición de jamaica vs nuez, b) el efecto de la sal vs nuez y c) el efecto de la sal vs jamaica.

En las graficas a (figura 9) se observa el efecto lineal y cuadrático de la incorporación de jamaica donde se observa un aumento en las reducciones logarítmicas. Por otro lado en la gráfica b (figura 9) se observa el efecto de la incorporación de sal donde encontramos que su efecto lineal tiende a disminuir las RLog pero en cierto punto el efecto se revierte, observando el efecto cuadrático donde se puede apreciar en concentraciones más elevadas como la tendencia aumenta en las R:Log.

Los resultados presentados en el Cuadro 14, indican que el factor que más influyó en la resistencia térmica de *E. coli* O157:H7 fue la sal, seguido de jamaica, mientras que la nuez no tuvo efecto alguno. El signo negativo que tiene el término lineal del factor sal en el modelo, indica que agregar este componente en la formulación de hamburguesas de res, vuelve más resistente a la bacteria al momento de cocinar el producto, caso contrario sucede si se adiciona jamaica en la formulación. Juneja et al. (1999) estudiaron el efecto de la incorporación de cloruro de sodio (0 al 6%) en gravy de res sobre la resistencia al calor de *Escherichia coli* O157:H7. En su estudio reportaron un aumento en el valor  $D_{60^{\circ}\text{C}}$  a medida que se incrementó la concentración de sal en el alimento. Resultados similares fueron reportados por Kotrola y Conner (1997) en carne de pavo. Este efecto protector de la sal puede deberse a que ésta interacciona con el agua dificultando la penetración de calor a través de un medio menos acuoso durante el cocimiento del producto. Se ha reportado también que *E. coli* O157:H7 en presencia de cloruro de sodio genera tolerancia debido a que puede llevar a cabo una síntesis de proteínas de estrés y alcoholes polivalentes de protección (S. Ravishankar y Juneja, 2014)

Como se mencionó anteriormente, la jamaica vuelve más lábil la bacteria al calor, debido al efecto antimicrobiano que presenta. La jamaica es un alimento rico en flavonoides y antocianinas, compuestos que son conocidos por su capacidad antioxidante pero además tienen capacidad antimicrobiana. Borrás-Linares et al. (2015) estudiaron el efecto de extractos de jamaica sobre el crecimiento de bacterias patógenas, realizando ensayos tanto en bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*), como en bacterias Gram

positivas (*Staphylococcus aureus* y *Micrococcus luteus*). En ambos casos encontró que existe un efecto antimicrobiano de extractos de jamaica hacia las bacterias en estudio. (Chao y Yin, 2009), utilizaron extractos acuosos y etanólicos de jamaica para determinar el efecto antimicrobiano contra *Listeria monocytogenes*. En su estudio reportan una concentración mínima inhibitoria de  $136 \pm 24$  mg/mL del extracto acuoso y  $84 \pm 8$  mg/mL del extracto de etanólico.

### 6.5 Optimización y Validación de los Modelos de Regresión

La calidad de la carne y sus productos siempre ha sido importante para el consumidor, y es un tema especialmente crítico para la industria cárnica actual. La calidad de la carne es un concepto difícil de definir pues está determinado por las preferencias de los consumidores (Joo et al., 2013). Desde el punto de vista científico, la calidad de la carne y sus productos es evaluada atendiendo los aspectos físico-químicos, nutricionales, sensoriales y microbiológicos, entre otros. En este sentido, en el presente trabajo se propusieron cuatro formulaciones tomando en cuenta las propiedades físico-químicas, capacidad antioxidante, propiedades sensoriales y resistencia térmica de *Escherichia coli* O157:H7 simulando condiciones de cocimiento moderado del producto. Los modelos de regresión obtenidos anteriormente se utilizaron para optimizar la adición de nuez, jamaica y sal en hamburguesas de res. Cada una de las variables de respuesta de las formulaciones óptimas predichas por los modelos de regresión, fueron verificadas en el laboratorio.

De acuerdo a las propiedades físico-químicas, la formulación óptima resultante incluyó 7.97% nuez, 0.75% jamaica y 1.59% sal. En la figura 10 se muestran el grafico de deseabilidad para la optimización sobre los parámetros físico-químicos. En la primera columna se observa el comportamiento de la nuez, en la segunda el efecto de la jamaica y en la tercera el efecto de la sal. En la cuarta columna se muestra la función de deseabilidad donde depende si se busca maximizar (grafica lineal positiva), minimizar (grafica lineal negativa) y valores

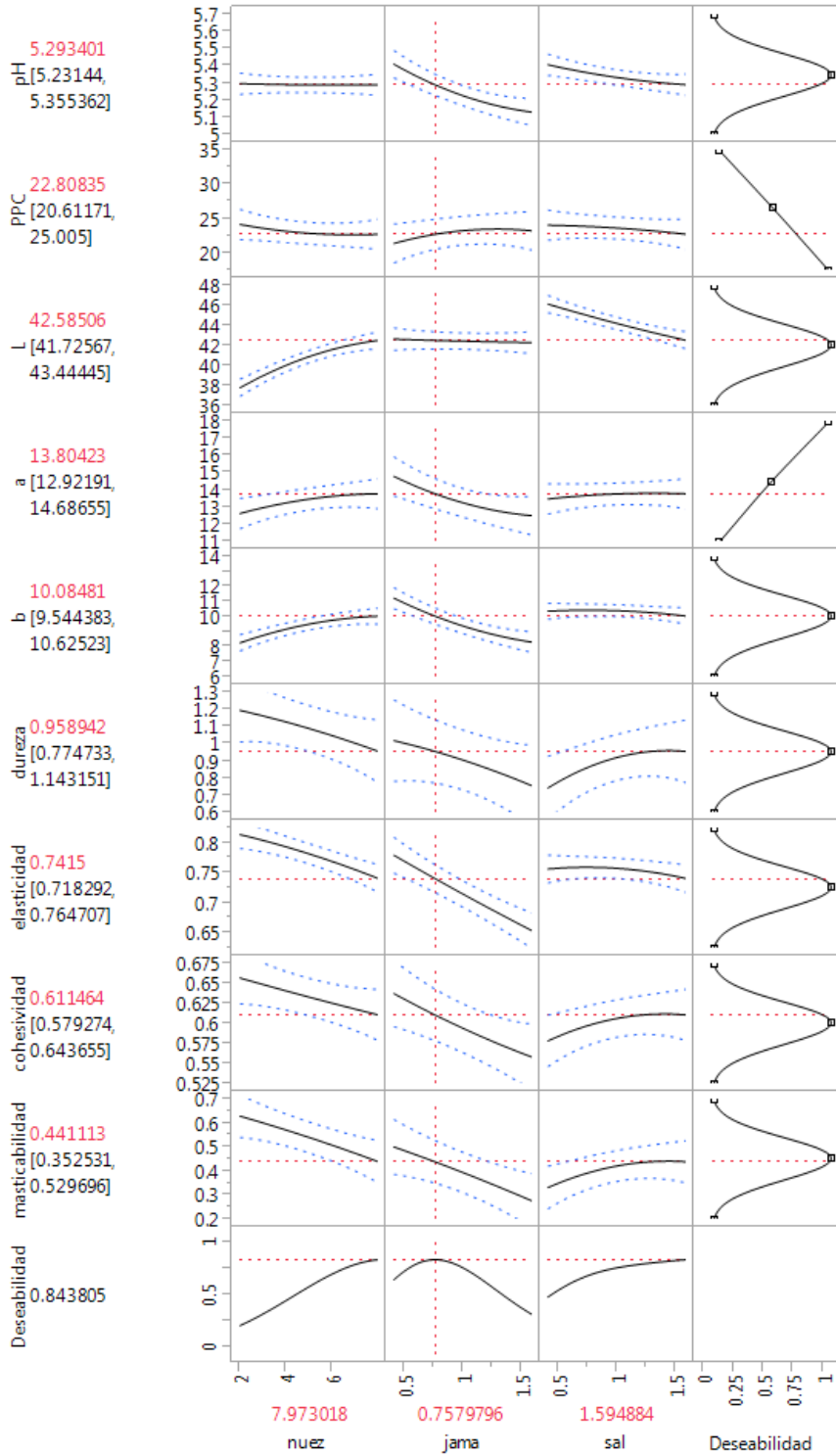


Figura 10. Gráficas de deseabilidad para la obtención de fórmula óptima de los análisis físico-químicos y sus perfiles predictores de cada una de las variables a evaluar en función de nuez, jamaica y sal.

valores intermedios (gráfica en forma de campana), se realiza una ponderación de 0 a 1, al lado izquierda de la columna se ubican los valores de 0 por así decirlo los no deseados, al lado de la derecha se ubican los valores de 1 lo que se está buscando o deseando. En el eje de la x se observan el porcentaje de la incorporación de nuez, jamaica y sal respectivamente y los valores en rojo son los porcentajes de las óptimas predichas. En el eje y se muestra la escala de los valores predichos por el modelo, esta dependerá de la variable a evaluar individualmente, los valores en rojo son los que el modelo predice para cada variable respuesta y los valores en la parte inferior de los mismos son los rangos de valor. La línea punteada roja es donde se encuentra el valor predicho por el modelo para la formulación óptima y la línea punteada los rangos donde puede oscilar este valor. Los valores estimados para cada una de las evaluaciones físico-químicas se muestran en la Figura 10.

Si se toma en cuenta la capacidad antioxidante, la formulación óptima resultante fue de 7.97% nuez, 1.59% jamaica y 1.59% sal. Los valores estimados por los modelos de regresión para cada evaluación de la capacidad antioxidante se muestran en la Figura 11. Desde el punto de vista sensorial, la formulación óptima incluyó 4.19% nuez, 0.4% jamaica y 1.59% sal. Los valores predichos por los modelos de regresión para las variables de respuesta del análisis sensorial se muestran en la Figura 12. Si se trata de minimizar la resistencia térmica de *Escherichia coli* O157:H7 durante el cocimiento moderado del producto, la formulación óptima fue de 2.02% nuez, 1.59% jamaica y 0.4% sal, para una RLog de 6.28 predicha por el modelo (Figura 13).

De acuerdo a las cuatro formulaciones óptimas obtenidas se pudo observar los comportamientos de cada ingrediente y que tan importante es su adición para cada atributo, ya sea físico-químico, químico, sensorial o para las RLog. Se observó que existe una tendencia fuerte en la adición de nuez para el mejoramiento de propiedades físico-químicas y de adición como antioxidante, por otro lado se encontraron valores intermedios de 4.19% para mejorar los atributos sensoriales y finalmente se observó que no es mucho el impacto que tiene en la reducciones logarítmicas de *E. coli*. Otra de las tendencias encontradas en los

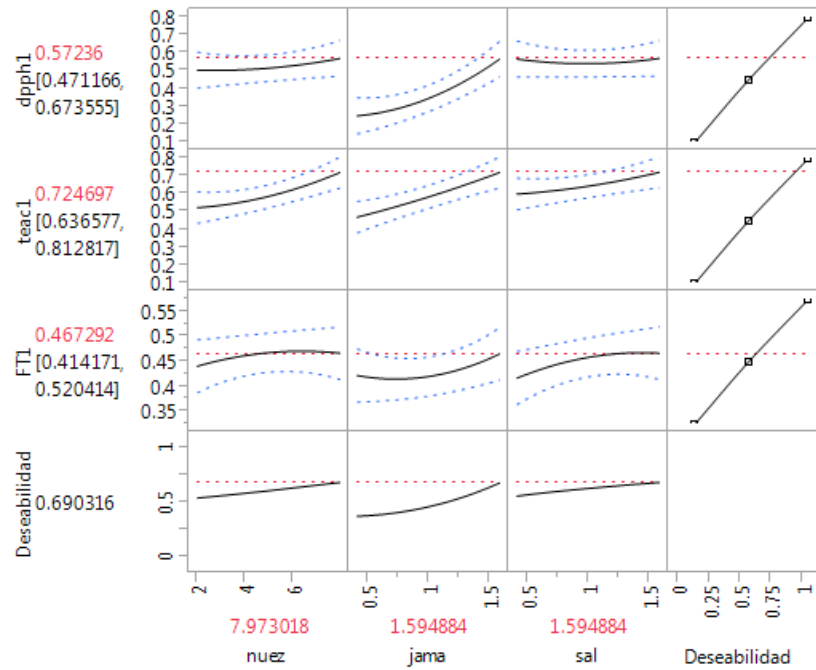


Figura 11. Gráficas de deseabilidad para la obtención de fórmula óptima de la capacidad antioxidante y sus perfiles predictores de cada una de las variables a evaluar en función de nuez, jamaica y sal.



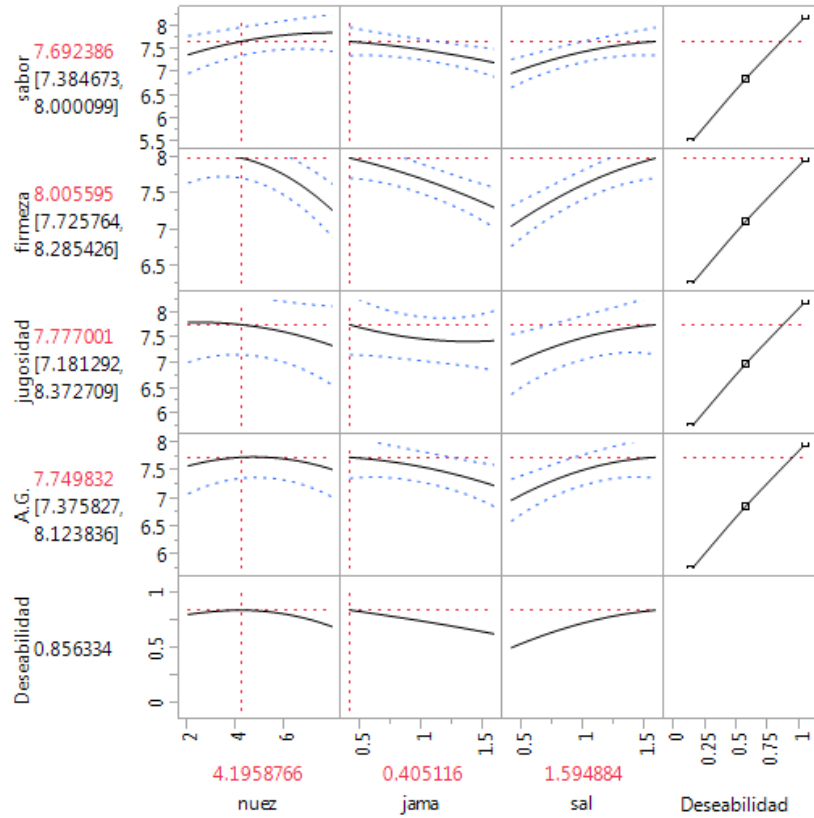


Figura 12. Gráficas de deseabilidad para la obtención de fórmula óptima de los parámetros sensoriales y sus perfiles predictores de cada una de las variables a evaluar en función de nuez, jamaica y sal.

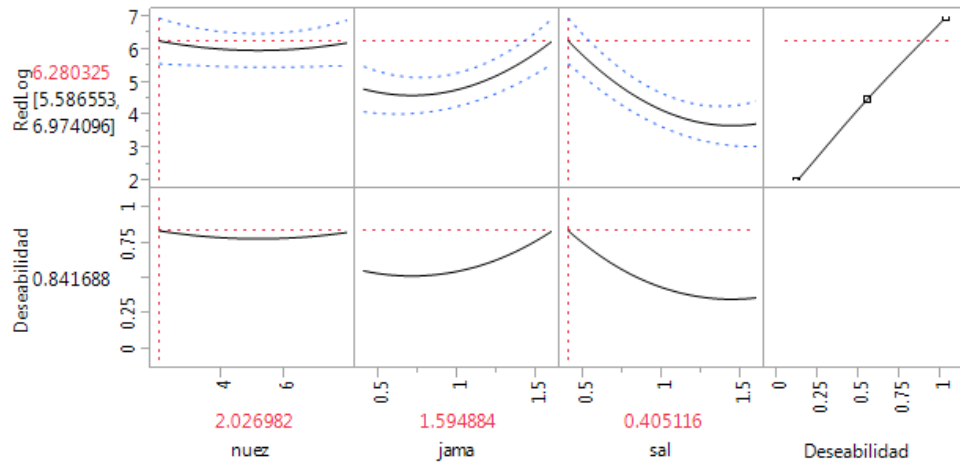


Figura 13. Gráficas de deseabilidad para la obtención de fórmula óptima y su perfil predictor de las reducciones logarítmicas de *E. coli* O157:H7 en función de la adición de nuez, jamaica y sal.

ingredientes es el de la jamaica, se encontró una fuerte relación en la actividad antioxidante y microbiana ya que señala que a los mismos porcentajes se tienen dichos efectos; sin embargo, para las características físico-químicas y sensoriales no tiene un alto nivel de agrado esto se puede deber a la naturaleza del ingrediente el cual afecta las características físico-químicas y por consecuencia a las sensoriales.

Finalmente se observaron tendencias de adición de sal del 1.59% para los parámetros físico-químicos, capacidad antioxidante y sensoriales donde podemos observar que es un ingrediente fundamental en la elaboración de productos cárnicos, principalmente porque mejoran los atributos físico-químicos y sensoriales en el producto, sin embargo anteriormente se había hablado sobre el uso de sal como antimicrobianos en los productos cárnicos. En la formulación de reducciones logarítmicas de *E. coli* se encontró que el contenido de sal se puede reducir hasta el 0.4% debido a que la jamaica es la que da mejor efecto antimicrobiano.

Una vez obtenidas las cuatro formulaciones óptimas se llevó a cabo la validación de cada uno de los modelos significativos; en el Cuadro 15 se muestran los resultados de la comparación entre los valores predichos por los modelos de regresión y los obtenidos en el laboratorio. Se encontró que la determinación de fenoles totales donde se evalúa la capacidad antioxidante el modelo no pudo ser validado debido a que se encontraron valores mayores a los predichos ( $P < 0.05$ ). Por otro lado se observa que no existe diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre valores predichos y valores experimentales para todas las demás variables respuestas, por lo que se concluye que los modelos generados son útiles para predecir las variables de respuesta en estudio.

Debido a que se encontraron modelos predictores para cada variable respuesta y estos se validaron, con los modelos que no presentaron significancia se utilizaron para obtener una única formulación óptima teórica. Se encontró que al 7.25% de nuez, 1.59% de jamaica y 0.40% de sal adicionados en hamburguesas de res es la formulación óptima que engloba los parámetros físicos, químicos, sensoriales RLog de *E. coli*. Esta formulación tendría valores

Cuadro 15. Valores predichos y experimentales de las condiciones óptimas basadas en las propiedades estudiadas

Variable de respuesta	Valor predicho	rango	Valor experimental <sup>1</sup>	Significancia
<i>Propiedades físico-químicas</i>				
L*	42.58	41.73 - 43.43	41.80 ± 1.14	N.S.
a*	13.76	12.88 - 14.63	13.26 ± 0.43	N.S.
b*	10.03	9.49 - 10.57	10.29 ± 0.40	N.S.
pH	5.29	5.23 - 5.35	5.30 ± 0.01	N.S.
PPC (%)	22.86	20.68 - 25.04	23.06 ± 2.69	N.S.
Cohesividad	0.61	0.58 - 0.64	0.61 ± 0.03	N.S.
Elasticidad	0.74	0.72 - 0.76	0.75 ± 0.02	N.S.
Masticabilidad (kg*cm)	0.44	0.35 - 0.53	0.47 ± 0.11	N.S.
Firmeza (kg)	0.95	0.77 - 1.14	0.99 ± 0.18	N.S.
<i>Propiedades sensoriales<sup>2</sup></i>				
Sabor	7.69	7.38 - 8.00	7.90 ± 0.50	N.S.
Firmeza	8.01	7.73 - 8.29	8.06 ± 0.77	N.S.
Jugosidad	7.77	7.18 - 8.37	8.12 ± 1.41	N.S.
Aceptación general	7.75	7.38 - 8.12	7.81 ± 0.82	N.S.
<i>Propiedades antioxidantes</i>				
DPPH	0.57	0.47 - 0.67	0.57 ± 0.01	N.S.
ABTS	0.72	0.63 - 0.81	0.64 ± 0.04	N.S.
Fenoles Totales	0.47	0.41 - 0.52	0.92 ± 0.05	Sig.
<i>Reducciones logarítmicas de Escherichia coli O157:H7</i>				
Reducciones Log (UFC/g)	6.28	5.59 - 6.97	5.90 ± 0.46	N.S.

<sup>1</sup>Promedio de 5 determinaciones; <sup>2</sup>Escala hedónica: 1=disgusta extremadamente a 10=gusta extremadamente, N.S.= No significativo (P>0.05), Sig.= Significativo (P<0.05)

de color de L = 43.12, a = 12.51, b = 8.05, pH =5.08, PPC = 27.7%, cohesividad = 0.58, elasticidad = 0.73, masticabilidad = 0.40 y firmeza = 1.49. Con una aceptación sensorial de sabor de 6.22, firmeza 6.83, jugosidad de 6.49 y una aceptación general de 6.55. Con una capacidad antioxidante determinada por el método DDPH de 0.51 mgET/gPF y por el método ABTS de 0.54 mgET/gPF y finalmente con una reducción logarítmica del 5.99 de *E coli*.

Por otro lado con los modelos se puede predecir las variables respuesta en ausencia de nuez, jamaica y sal los cuales poseerían unos valores de color de L = 42.43, a = 13.24, b = 9.29, pH =5.24, PPC = 25.51%, cohesividad = 0.61, elasticidad = 0.77, masticabilidad = 0.50 y firmeza = 1.06. Con una aceptación sensorial de sabor de 7.15, firmeza 7.09, jugosidad de 7.49 y una aceptación general de 7.23. Con una capacidad antioxidante determinada por el método DDPH de 0.27 mgET/gPF y por el método ABTS de 0.36 mgET/gPF y finalmente con una reducción logarítmica del 2.71 de *E coli*.

El mayor beneficio encontrado es efecto del aumento de las resistencias térmica que aumento hasta 3.28 unidades, lo cual es un efecto muy benéfico para mejorar la inocuidad de este producto. La capacidad antioxidante aumento 0.24 y 0.18 mgET/gPF por el método DDPH y ABTS respectivamente, sin embargo se recomienda realizar una determinación de capacidad antioxidante en extractos hidrofílicos, porque se esperaba tener un mayor incremento. Los parámetros sensoriales disminuyeron alrededor de 1 unidad, por lo cual es importante seguir investigando el desarrollo de nuevos productos cárnicos y tratar de tener mejor aceptación dentro de los consumidores. Las características fisicoquímicas si fueron afectadas de diferentes maneras ya sea aumentando o disminuyendo pero se puede decir que las propiedades son aceptables dentro de un buena calidad de un producto.

Es importante resaltar que el incorporar la jamaica como fuente de antioxidantes podría tener beneficios a la salud, por lo cual se recomienda una investigación donde se evalué los posibles beneficios. La incorporación de nuez, es para incrementar el perfil de ácidos grasos, el cual en este trabajo no se evaluó pero también se recomienda realizar un análisis de perfil de ácidos grasos y su

oxidación. Finalmente la sal es un aditivo ampliamente usado en la industria por su aporte de sabor y mejoramiento de características físico-químicas sin embargo se pudo reducir considerablemente sin afectar tan negativamente estas propiedades. Se encontró la metodología de superficie de respuesta como una herramienta eficaz en la evaluación simultanea de las variables respuesta para la optimización de las características de calidad y resistencia térmica de *E. coli*.

## VII. CONCLUSIONES

La incorporación de nuez y sal en hamburguesas de res mejoraron las características sensoriales y disminuyeron la PPC. Sin embargo, la adición de nuez y jamaica ocasionaron un detrimento en los parámetros físico-químicos. También, se encontró que la adición de nuez y jamaica aumentaron el contenido de antioxidantes en la matriz cárnica. Por otra parte, se encontró que la adición de jamaica incrementó las RLog de *E. coli* O157:H7; por lo tanto, puede ser utilizada como un antimicrobiano natural en productos cárnicos.

Con los modelos de regresión obtenidos se obtuvieron cuatro formulaciones óptimas, una para cada variable evaluada. En el estudio se encontró que la incorporación de 7.97% de nuez, 0.75% de jamaica y 1.59% de sal en hamburguesas de res optimizaron los parámetros de calidad teniendo una mejora las propiedades físico-químicas. Se encontró, que agregar 7.97% de nuez, 1.59% de jamaica y 1.59% de sal mejoró la capacidad antioxidante de las hamburguesas. Por otra parte, 4.19% de nuez, 0.4% de jamaica y 1.59% de sal mejoraron los aspectos sensoriales a un nivel de aceptación de agrado. Finalmente a niveles de 2.02% nuez, 1.59% jamaica y 0.4% sal se obtuvieron mayores RLog de *E. coli* O157:H7 durante un proceso de cocción moderado.

Los modelos obtenidos pueden ser utilizados para estimar la calidad de las hamburguesas de res adicionadas con nuez (0-10%), jamaica (0 -2%) y sal (0-2%). Con estos modelos se obtuvo una única formulación teórica para la optimización de los ingredientes de 7.25% de nuez, 1.59% de jamaica y 0.40% de sal. Estudios de optimización se deben considerar para el procesamiento de alimentos cárnicos funcionales para obtener mejores rendimientos en las formulaciones de los productos.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Akalın, M. K., Tekin, K., Akyüz, M. and Karagöz, S. (2015). Sage oil extraction and optimization by response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 76, 829-835.
- Ali, B. H., Wabel, N. A. and Blunden, G. (2005). Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Hibiscus sabdariffa* L.: a review. *Phytotherapy research*, 19(5), 369-375.
- Alp, E. and Aksu, M. İ. (2010). Effects of water extract of *Urtica dioica* L. and modified atmosphere packaging on the shelf life of ground beef. *Meat science*, 86(2), 468-473.
- Anónimo. 2010. La producción de carnes en México. *Claridades Agropecuarias*, 207, 19-33.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S. and Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
- Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74(1), 219-229.
- Ayo, J., Carballo, J., Solas, M. T. and Jiménez-Colmenero, F. (2008). Physicochemical and sensory properties of healthier frankfurters as affected by walnut and fat content. *Food Chemistry*, 107(4), 1547-1552.
- Barbosa-Pereira, L., Aurrekoetxea, G. P., Angulo, I., Paseiro-Losada, P. and Cruz, J. M. (2014). Development of new active packaging films coated with natural phenolic compounds to improve the oxidative stability of beef. *Meat science*, 97(2), 249-254.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S. and Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977.



- Biesalski, H.-K. (2005). Meat as a component of a healthy diet—are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat science*, 70(3), 509-524.
- Bilek, A. E. and Turhan, S. (2009). Enhancement of the nutritional status of beef patties by adding flaxseed flour. *Meat science*, 82(4), 472-477.
- Biswas, A., Chatli, M. and Sahoo, J. (2012). Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. *Food chemistry*, 133(2), 467-472.
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P. A., Del Val-Díaz, R., Andrade-González, I., Segura-Carretero, A. (2015). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Industrial Crops and Products*, 69, 385-394.
- Bourne, M. (2002). *Food texture and viscosity: concept and measurement: Academic press.*
- Bruns, R. E., Scarminio, I. S. and de Barros Neto, B. (2006). Statistical design-chemometrics (Vol. 25): *Elsevier.*
- Builders, P. F., Ezeobi, C. R., Tarfa, F. D. and Builders, M. I. (2010). Assessment of the intrinsic and stability properties of the freeze-dried and formulated extract of *Hibiscus sabdariffa* Linn.(Malvaceae). *Afr. J. Pharm. Pharmacol*, 4(6), 304-313.
- Cam, M., Hışıl, Y. and Durmaz, G. (2009). Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food chemistry*, 112(3), 721-726.
- Colmenero, F. J., Ayo, M. and Carballo, J. (2005). Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. *Meat Science*, 69(4), 781-788.
- Chan, D., Lau, R., Aune, D., Vieira, R., Greenwood, D. C., Kampman, E. and Norat, T. (2011). Red and processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. *PloS one*, 6(6), e20456.

- Chao, C.-Y. and Yin, M.-C. (2009). Antibacterial effects of roselle calyx extracts and protocatechuic acid in ground beef and apple juice. *Foodborne pathogens and disease*, 6(2), 201-206.
- Choi, Y.-S., Choi, J.-H., Han, D.-J., Kim, H.-Y., Lee, M.-A., Jeong, J.-Y., . . . Kim, C.-J. (2010). Effects of replacing pork back fat with vegetable oils and rice bran fiber on the quality of reduced-fat frankfurters. *Meat Science*, 84(3), 557-563.
- de Boer, J., Schösler, H. and Aiking, H. (2014). “Meatless days” or “less but better”? Exploring strategies to adapt Western meat consumption to health and sustainability challenges. *Appetite*, 76, 120-128.
- de Ciriano, M. G.-I., García-Herreros, C., Larequi, E., Valencia, I., Ansorena, D. and Astiasarán, I. (2009). Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in  $\omega$ -3 PUFA. *Meat science*, 83(2), 271-277.
- de Competencia, G. C. d. P. and de Desarrollo, B. I. (2011). Condiciones de competencia en el sector de medicamentos de Centroamérica. *Estudio Regional de las Condiciones de Competencia en la Cadena de Distribución Mayorista y Minorista de Medicamentos en Centroamérica y Panamá. INFORME FINAL*.
- De Vuyst, L., Falony, G. and Leroy, F. (2008). Probiotics in fermented sausages. *Meat Science*, 80(1), 75-78.
- Decker, E. A. and Park, Y. (2010). Healthier meat products as functional foods. *Meat science*, 86(1), 49-55.
- Derossi, A., Severini, C., Del Mastro, A. and De Pilli, T. (2015). Study and optimization of osmotic dehydration of cherry tomatoes in complex solution by response surface methodology and desirability approach. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2, Part 1), 641-648.
- Duarte, R. M. and Duarte, A. C. (2011). Optimizing size-exclusion chromatographic conditions using a composite objective function and chemometric tools: Application to natural organic matter profiling. *Analytica chimica acta*, 688(1), 90-98.

- Fang, X., Xie, N., Chen, X., Yu, H. and Chen, J. (2012). Optimization of antioxidant hydrolysate production from flying squid muscle protein using response surface methodology. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4), 676-682.
- FAO, (2014). Consumo de Carne de Res. Produccion y Sanidad Alimentaria. Consultado diciembre 2015. En <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html>
- FAO, C. M. (2003). Régimen Alimentario, nutrición y prevención de enfermedades crónicas: informe de una consulta mixta FAO/OMS de expertos OMS, *Serie de informes técnicos*: OMS.
- Farouk, M., Hall, W. and Swan, J. E. (2000). Attributes of beef sausage batters, patties and restructured roasts from two boning systems. *Journal of Muscle Foods*, 11(3), 197-212.
- Franco, J., Feed, O., Bianchi, G., Garibotto, G., Ballesteros, F., Nan, F., . . . Bentancur, O. (2008). Parámetros de calidad de carne en cinco músculos de novillos Holando durante la maduración post-mortem I. Calidad instrumental. *Agrociencia*, 12(1), 61-68.
- Fraser, G. E., Sabate, J., Beeson, W. L. and Strahan, T. M. (1992). A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease: the Adventist Health Study. *Archives of Internal medicine*, 152(7), 1416-1424.
- Fukuda, T., Ito, H. and Yoshida, T. (2003). Antioxidative polyphenols from walnuts (*Juglans regia* L.). *Phytochemistry*, 63(7), 795-801.
- Garcia-Alonso, M., de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. (2004). Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food chemistry*, 84(1), 13-18.
- George, B., Kaur, C., Khurdiya, D. and Kapoor, H. (2004). Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 84(1), 45-51.
- Gibis, M. and Weiss, J. (2010). Inhibitory effect of marinades with hibiscus extract on formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of fried beef patties. *Meat Science*, 85(4), 735-742.

- González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Martínez-Téllez, M., Gardea, A. and Ayala-Zavala, J. F. (2007). Improving Antioxidant Capacity of Fresh-Cut Mangoes Treated with UV-C. *Journal of Food Science*, 72(3), S197-S202.
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y.-S., Haruenkit, R., Lojek, A., Číž, M., . . . Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, 74(3), 309-315.
- Gradinaru, G., Biliaderis, C., Kallithraka, S., Kefalas, P. and Garcia-Viguera, C. (2003). Thermal stability of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. *Food Chemistry*, 83(3), 423-436.
- Harkouss, R., Safa, H., Gatellier, P., Lebert, A. and Mirade, P.-S. (2014). Building phenomenological models that relate proteolysis in pork muscles to temperature, water and salt content. *Food chemistry*, 151, 7-14.
- Hernández Alarcón, E. (2005). Evaluación Sensorial. *Colombia. Universidad Nacional Abierta ya Distancia*, 128.
- Higginbotham, K., Burris, K. P., Zivanovic, S., Davidson, M. and Stewart, N. (2014). Aqueous extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces as an antimicrobial rinse on hot dogs against *Listeria monocytogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 40, 274-277.
- Homayoonfal, M., Khodaiyan, F. and Mousavi, M. (2015). Modelling and optimising of physicochemical features of walnut-oil beverage emulsions by implementation of response surface methodology: Effect of preparation conditions on emulsion stability. *Food Chemistry*, 174, 649-659.
- Ilyasoğlu, H., Yılmaz, F., Burnaz, N. A. and Baltacı, C. (2015). Preliminary assessment of a yoghurt-like product manufactured from hazelnut slurry: Study using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1, Part 2), 497-505.
- Iwamoto, M., Imaizumi, K., Sato, M., Hirooka, Y., Sakai, K., Takeshita, A. and Kono, M. (2002). Original Communications-Serum lipid profiles in

- Japanese women and men during consumption of walnuts. *European journal of clinical nutrition*, 56(7), 629-637.
- Jasso, I. M. and Becerra, P. A. V. (2003). La alimentación en México: un estudio a partir de la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares. *Notas: Revista de Información y Análisis*(21), 26-37.
- Jayathilakan, K., Sharma, G., Radhakrishna, K. and Bawa, A. (2007). Antioxidant potential of synthetic and natural antioxidants and its effect on warmed-over-flavour in different species of meat. *Food Chemistry*, 105(3), 908-916.
- Jiménez-Colmenero, F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science & Technology*, 18(11), 567-578.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J. and Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat science*, 59(1), 5-13.
- Jiménez-Colmenero, F., Sánchez-Muniz, F. J. and Olmedilla-Alonso, B. (2010). Design and development of meat-based functional foods with walnut: Technological, nutritional and health impact. *Food chemistry*, 123(4), 959-967.
- Jiménez Colmenero, F., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Cofrades, S. and Carballo, J. (2003). Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, 65(4), 1391-1397.
- Johnson, I. (2004). New approaches to the role of diet in the prevention of cancers of the alimentary tract. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 551(1), 9-28.
- Joo, S., Kim, G., Hwang, Y. and Ryu, Y. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828-836.
- Juneja, V. K., Marmer, B. S. and Eblen, B. S. (1999). Predictive model for the combined effect of temperature, pH, sodium chloride, and sodium pyrophosphate on the heat resistance of *Escherichia coli* o157: H71. *Journal of food safety*, 19(2), 147-160.

- Juneja, V. K. and Novak, J. S. (2003). Heat resistance of *Escherichia coli* O157:H7 in cook-in-bag ground beef as affected by pH and acidulant†. *International journal of food science & technology*, 38(3), 297-304.
- Jung, E. and Joo, N. (2013). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) and soybean oil effects on quality characteristics of pork patties studied by response surface methodology. *Meat science*, 94(3), 391-401.
- Karabacak, S. and Bozkurt, H. (2008). Effects of *Urtica dioica* and *Hibiscus sabdariffa* on the quality and safety of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Meat science*, 78(3), 288-296.
- Khan, M. I., Arshad, M. S., Anjum, F. M., Sameen, A. and Gill, W. T. (2011). Meat as a functional food with special reference to probiotic sausages. *Food Research International*, 44(10), 3125-3133.
- Kim, S.-J., Cho, A. R. and Han, J. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Control*, 29(1), 112-120.
- Kotrola, J. S. and Conner, D. E. (1997). Heat inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in turkey meat as affected by sodium chloride, sodium lactate, polyphosphate, and fat content. *Journal of Food Protection®*, 60(8), 898-902.
- Lansky, E. P. and Newman, R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 177-206.
- Lawrie, R. A., Barrado, A. M., Buesa, P. L. L., & Esteban, B. M. (1998). *Ciencia de la carne*: Acribia Zaragoza.
- Lowder, A. C., Goad, C. L., Lou, X., Morgan, J. B., Koh, C. L., Deakins, A. P. and DeWitt, C. A. M. (2013). Response surface modeling to predict fluid loss from beef strip loins and steaks injected with salt and phosphate with or without a dehydrated beef protein water binding adjunct. *Meat science*, 94(1), 9-18.
- Majeed, M., Hussain, A. I., Chatha, S. A. S., Khosa, M. K. K., Kamal, G. M., Kamal, M. A., . . . Liu, M. Optimization protocol for the extraction of antioxidant

- components from *Origanum vulgare* leaves using response surface methodology. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Matak, K. E., Tahergorabi, R. and Jaczynski, J. (2015). A review: Protein isolates recovered by isoelectric solubilization/precipitation processing from muscle food by-products as a component of nutraceutical foods. *Food Research International*, 77, Part 4, 697-703.
- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M., Bonham, M. P. and Fearon, A. M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat science*, 84(1), 1-13.
- McNeill, S. and Van Elswyk, M. E. (2012). Red meat in global nutrition. *Meat science*, 92(3), 166-173.
- Menegas, L. Z., Pimentel, T. C., Garcia, S. and Prudencio, S. H. (2013). Dry-fermented chicken sausage produced with inulin and corn oil: Physicochemical, microbiological, and textural characteristics and acceptability during storage. *Meat science*, 93(3), 501-506.
- Mielnik, J. and Slinde, E. (1983). Sausage color measured by integrating sphere reflectance spectrophotometry when whole blood or blood cured by nitrite is added to sausages. *Journal of Food Science*, 48(6), 1723-1725.
- Mishra Pandey, S. and Mishra, H. N. (2015). Optimization of the prebiotic & probiotic concentration and incubation temperature for the preparation of synbiotic soy yoghurt using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1, Part 2), 458-467.
- Mohamed, R., Fernandez, J., Pineda, M. and Aguilar, M. (2007). Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) seed oil is a rich source of  $\gamma$ -Tocopherol. *Journal of food science*, 72(3), S207-S211.
- Montgomery T. C. (2001). Diseño y Análisis de Experimentos. Limusa-Willey Segunda Edición. Estados Unidos de América. 686 p.
- Morais, C., Morais, N., Vicente-Neto, J., Ramos, E., Almeida, J., Roseiro, C., . . . Bressan, M. (2013). Mortadella sausage manufactured with Caiman yacare (*Caiman crocodilus yacare*) meat, pork backfat, and soybean oil. *Meat science*, 95(2), 403-411.

- MOSQUERA, O. M., Niño, J., CORREA, Y. M. and Bejarano, D. C. B. (2005). Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales. *Scientia et Technica*, 1(27).
- Muñoz-Cuevas, M., Metris, A. and Baranyi, J. (2012). Predictive modelling of *Salmonella*: From cell cycle measurements to e-models. *Food Research International*, 45(2), 852-862.
- Nakayama, M., Shigemune, N., Tsugukuni, T., Jun, H., Matsushita, T., Mekada, Y., . . . Miyamoto, T. (2012). Mechanism of the combined anti-bacterial effect of green tea extract and NaCl against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control*, 25(1), 225-232.
- Navarro-González, I., García-Valverde, V., García-Alonso, J. and Periago, M. J. (2011). Chemical profile, functional and antioxidant properties of tomato peel fiber. *Food Research International*, 44(5), 1528-1535.
- Offer, G. and Trinick, J. (1983). On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. *Meat science*, 8(4), 245-281.
- Olmedilla B, Granado F, Blanco I. "Carotenoides y salud humana". Serie informes. Fundación Española de la Nutrición (FEN). Madrid, 2008.
- Olmedilla-Alonso, B., Jiménez-Colmenero, F. and Sánchez-Muniz, F. J. (2013). Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Science*, 95(4), 919-930.
- Patel, S. (2014). Hibiscus sabdariffa: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(1), 23-27.
- Pedrero, F. and Pangborn, R. (1989). *Evaluación sensorial de los alimentos: métodos analíticos*: Editorial Alhambra Mexicana México.
- Pennacchia, C., Ercolini, D., Blaiotta, G., Pepe, O., Mauriello, G. and Villani, F. (2004). Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat science*, 67(2), 309-317.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz-Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I. and Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction,



- measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285.
- Pietrasik, Z. and Gaudette, N. (2014). The impact of salt replacers and flavor enhancer on the processing characteristics and consumer acceptance of restructured cooked hams. *Meat science*, 96(3), 1165-1170.
- Puolanne, E. and Peltonen, J. (2013). The effects of high salt and low pH on the water-holding of meat. *Meat science*, 93(2), 167-170.
- Ravishankar, S., Jaroni, D., Zhu, L., Olsen, C., McHugh, T. and Friedman, M. (2012). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on Ham and Bologna Using Pectin-Based Apple, Carrot, and Hibiscus Edible Films Containing Carvacrol and Cinnamaldehyde. *Journal of food science*, 77(7), M377-M382.
- Ravishankar, S. and Juneja, V. K. (2014). PRESERVATIVES | Traditional Preservatives – Sodium Chloride. In C. A. B. L. Tortorello (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)* (pp. 131-136). Oxford: Academic Press.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9), 1231-1237.
- Resconi, V. C., Keenan, D. F., Gough, S., Doran, L., Allen, P., Kerry, J. P. and Hamill, R. M. (2015). Response surface methodology analysis of rice starch and fructo-oligosaccharides as substitutes for phosphate and dextrose in whole muscle cooked hams. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 946-958.
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G. A. and Martín-Belloso, O. (2009). Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut 'Kent'mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 51(3), 384-390.
- Rodríguez-Carpena, J., Morcuende, D. and Estévez, M. (2012). Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties:

- Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. *Meat science*, 90(1), 106-115.
- Rodríguez-Medina, I. C., Beltrán-Debón, R., Molina, V. M., Alonso-Villaverde, C., Joven, J., Menéndez, J. A., . . . Fernández-Gutiérrez, A. (2009). Direct characterization of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* using HPLC with diode array detection coupled to ESI and ion trap MS. *Journal of separation science*, 32(20), 3441-3448.
- Sai-Ut, S., Benjakul, S., Kraithong, S. and Rawdkuen, S. (2015). Optimization of antioxidants and tyrosinase inhibitory activity in mango peels using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 742-749.
- SAGARPA, F. 2013. Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en Mexico 2012.
- SAGARPA. (2010). Proyecciones para el Sector Agropecuario. Consultado en agosto 2015. En : <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/EBespa%C3%B1ol300909.pdf>
- SAIEH, C. and LAGOMARSINO, E. (2009). Hipertensión arterial y consumo de sal en pediatría. *Revista chilena de pediatría*, 80(1), 11-20.
- Saletti, A., Lindgren, E. Y., Johansson, L. and Cederholm, T. (2000). Nutritional status according to mini nutritional assessment in an institutionalized elderly population in Sweden. *Gerontology*, 46(3), 139-145.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D. and Mir, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat science*, 98(1), 21-33.
- Shao, C., Avens, J., Schmidt, G. and Maga, J. (1999). Functional, sensory, and microbiological properties of restructured beef and emu steaks. *Journal of Food Science*, 64(6), 1052-1054.
- Sharif, K. M., Rahman, M. M., Azmir, J., Mohamed, A., Jahurul, M. H. A., Sahena, F. and Zaidul, I. S. M. (2014). Experimental design of supercritical fluid extraction – A review. *Journal of Food Engineering*, 124, 105-116.

- Sindi, H. A., Marshall, L. J. and Morgan, M. R. (2014). Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*. *Food chemistry*, 164, 23-29.
- Singleton, V. and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sofos, J., Geornaras, I., Belk, K. and Smith, G. (2008). *Nonintact whole muscle food safety: the problem and research needs*. Paper presented at the Proceedings of the 61st Reciprocal Meat Conference, American Meat Science Association, June.
- Steck, S. E., Butler, L. M., Keku, T., Antwi, S., Galanko, J., Sandler, R. S. and Hu, J. J. (2014). Nucleotide excision repair gene polymorphisms, meat intake and colon cancer risk. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 762, 24-31.
- Swatland, H. (2008). How pH causes paleness or darkness in chicken breast meat. *Meat Science*, 80(2), 396-400.
- Tekin, H., Saricoban, C. and Yilmaz, M. T. (2010). Fat, wheat bran and salt effects on cooking properties of meat patties studied by response surface methodology. *International journal of food science & technology*, 45(10), 1980-1992.
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins—Implications on structure and quality of meat products. *Meat science*, 70(3), 493-508.
- Utrilla, M., Ruiz, A. G. and Soriano, A. (2014). Effect of partial reduction of pork meat on the physicochemical and sensory quality of dry ripened sausages: Development of a healthy venison salchichon. *Meat science*, 98(4), 785-791.
- Vajić, U.-J., Grujić-Milanović, J., Živković, J., Šavikin, K., Gođevac, D., Miloradović, Z., . . . Mihailović-Stanojević, N. (2015). Optimization of extraction of stinging nettle leaf phenolic compounds using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*, 74, 912-917.

- Valenzuela-Melendres, M., Camou, J., Torrentera-Olivera, N., Álvarez-Almora, E., González-Mendoza, D., Avendaño-Reyes, L. and González-Ríos, H. (2014). Response surface methodology for predicting quality characteristics of beef patties added with flaxseed and tomato paste. *Meat science*, 97(1), 54-61.
- Villarreal-Lozoya, J. E., Lombardini, L. and Cisneros-Zevallos, L. (2007). Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. *Food Chemistry*, 102(4), 1241-1249.
- Vural, H., Javidipour, I. and Ozbas, O. O. (2004). Effects of interesterified vegetable oils and sugarbeet fiber on the quality of frankfurters. *Meat Science*, 67(1), 65-72.
- Wani, S. M., Jan, N., Wani, T. A., Ahmad, M., Masoodi, F. A. and Gani, A. Optimization of antioxidant activity and total polyphenols of dried apricot fruit extracts (*Prunus armeniaca* L.) using response surface methodology. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Whyte, R. (2006). Does it look cooked? A review of factors that influence cooked meat color. *Journal of Food Science*, 71(4), R31-R40.
- Yang, H., Khan, M. A., Han, M., Yu, X., Bai, X., Xu, X. and Zhou, G. (2015). Optimization of textural properties of reduced-fat and reduced-salt emulsion-type sausages treated with high pressure using a response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*.
- Yang, J., Liu, R. H. and Halim, L. (2009). Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 42(1), 1-8.
- Yin, M.-c. and Chao, C.-y. (2008). Anti-Campylobacter, anti-aerobic, and anti-oxidative effects of roselle calyx extract and protocatechuic acid in ground beef. *International journal of food microbiology*, 127(1), 73-77.