

2023

Extracción verde ultrasónica de un antioxidante de subproducto de granada (*Punica granatum* L.) que preserva las propiedades de calidad en hamburguesas de pollo.

Silvia Betzabe  
Ordaz Rodríguez



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería

Extracción verde ultrasónica de un antioxidante de subproducto de granada (*Punica granatum* L.) que preserva las propiedades de calidad en hamburguesas de pollo.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de  
Maestro en Ingeniería en Calidad y Productividad

Presenta:

Q.F.B. Silvia Betzabe Ordaz Rodríguez

Dirigido por:

Dra. Magdalena Mendoza Sánchez

Querétaro, Qro, a Abril de 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales  
de Información



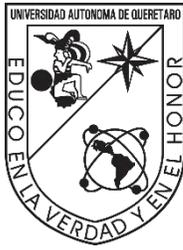
Extracción verde ultrasónica de un antioxidante de subproducto de granada ( *Punica granatum* L.) que preserva las propiedades de calidad en hamburguesas de pollo.

**por**

Silvia Betzabe Ordaz Rodríguez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](#).

**Clave RI:** IGMAC-246031



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Ingeniería



Maestría en Ingeniería de Calidad y Productividad

Extracción verde ultrasónica de un antioxidante de subproducto de granada (*Punica granatum* L.) que preserva las propiedades de calidad en hamburguesas de pollo.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el título de  
Maestro en Ingeniería en Calidad y Productividad

Presenta

Q.F.B. Silvia Betzabe Ordaz Rodríguez

Dirige

Dra. Magdalena Mendoza Sánchez

Dra. Aurora Femat Díaz.  
Secretario

Dra. Lucía Abadía García  
Vocal

M.I. Javier García Pérez.  
Suplente

M.I. Indira Guadalupe Rodríguez Cervantes  
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

27 de Abril del 2023

## ***Dedicatorias***

*A Dios, por siempre acompañarme en todo camino y sus infinitas bendiciones en mi vida.*

*A mis padres, mis abuelos y tíos, todos ellos fuente de inspiración para ser cada día mejor persona y profesional.*

*Papá, te amo y agradezco tus palabras de aliento en cada etapa, tu fortaleza y sabiduría que da luz a mi vida, a mi mamá por siempre creer en mí, ser mi apoyo y confidente.*

## *Agradecimientos*

Agradezco a la Dra. Male, no sólo por sus enseñanzas, también por su apoyo, confianza y acompañamiento. Mi admiración como investigadora, docente y persona.

A la Dra. Lucí, por haber confiado en mí y en este proyecto sin haberme conocido. Su ayuda y colaboración fue fundamental para la realización de este trabajo.

A mi comité, por sus comentarios y observaciones para lograr la mejor versión de este proyecto.

A los compañeros que tuve fortuna de conocer durante la realización de la maestría, que con sus historias y comentarios hicieron que cada día fuera más llevadera la realización de este objetivo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para lograr este grado académico.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL .....	v
ÍNDICE DE CUADROS .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
ABREVIATURAS Y SIGLAS .....	xii
RESUMEN .....	xv
ABSTRACT .....	xvi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. ANTECEDENTES .....	2
2.1. Consumo de carne de pollo en México .....	2
2.2. Evaluación de la calidad de carne de pollo (AQT, EQT y RQT) .....	2
2.3. Parámetros fisicoquímicos de calidad en carne de pollo. ....	4
2.3.1. pH .....	4
2.3.2. Capacidad de retención de agua (CRA) .....	5
2.3.3. Color .....	6
2.4. Calidad sensorial .....	8
2.4.1. Sabor .....	8
2.4.2. Olor .....	9
2.4.3. Jugosidad .....	10

2.5.	Contenido nutricional de la carne de pollo .....	10
2.6.	Aspectos que modifican la calidad de la carne de pollo: oxidación de lípidos. ....	11
2.7.	Uso de conservadores químicos en la carne de pollo. ....	12
2.8.	Conservación de calidad en carne usando cáscara de granada.....	13
2.9.	Extracción asistida por ultrasonido.....	13
2.10.	Optimización de procesos.....	15
2.10.1.	Diseño de Box-Behken.....	16
2.11.	Confiabilidad en los métodos de medición (Análisis de repetibilidad).....	18
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
IV.	JUSTIFICACIÓN .....	19
V.	HIPÓTESIS .....	21
VI.	OBJETIVOS .....	21
6.1.	Objetivo general. ....	21
6.2.	Objetivos específicos. ....	21
VII.	MATERIALES Y METODOLOGÍA .....	22
7.1.	Preparación del polvo de cáscara de granada.....	23
7.2.	Diseño experimental del tipo Box- Behnken para la extracción de compuestos antioxidantes en cáscara de granada.....	24
7.2.	Extracción por ultrasonido de compuestos fenólicos en cáscara de granada. ....	25

7.3.	Determinación de contenido fenólico total (CFT).....	26
7.4.	Actividad antioxidante por DPPH y ABTS.....	26
7.5.	Estudio tipo I del sistema de medición (Análisis de repetibilidad). ....	27
7.6.	Análisis de correlación de Pearson para el método de extracción de compuestos fenólicos.....	27
7.7.	Preparación de hamburguesas y diseño experimental. ....	27
7.8.	pH y rendimiento de cocción.....	28
7.9.	Medidas colorimétricas .....	28
7.10.	Fuerza de corte .....	29
7.11.	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	29
7.12.	Extracción de proteínas .....	29
7.13.	Cuantificación de proteínas .....	29
7.14.	Medición de la oxidación de proteínas.....	30
7.15.	Análisis estadístico .....	30
VIII.	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	30
8.1.	Optimización de la extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de granada por EAU. 30	
8.2.	Efecto de las variables de proceso sobre la actividad antioxidante.....	36
8.3.	Análisis de repetibilidad.....	40

8.4.	Correlación de Pearson. ....	42
8.5.	Efecto del ECG sobre el pH y el rendimiento de cocción en las hamburguesas de pollo (RC) .....	43
8.6.	Mediciones colorimétricas como resultado de la adición de ECG.....	46
8.7.	Efecto del ECG sobre el trabajo de fuerza de corte.....	49
8.8.	Oxidación de lípidos (TBARS) .....	51
8.9.	Oxidación de proteínas .....	54
8.10.	Análisis multivariable.....	56
IX.	CONCLUSIONES .....	58
X.	BILIOGRAFÍA .....	58
XI.	ANEXOS .....	72
	ANEXO I.....	72
	ANEXO II .....	75

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características para la aceptación o rechazo en carne de pollo.....	3
Cuadro 2. Factores <i>post mortem</i> que afectan el pH de la carne. ....	5
Cuadro 3. Valores normales de color reportados para carne de pollo .....	7
Cuadro 4. Contenido nutrimental de la carne de pollo por cada 100 g de carne.....	10
Cuadro 5. Matriz experimental del diseño Box-Behnken.....	24
Cuadro 6. Diseño Box-Behnken y resultados del tiempo, amplitud y temperatura en la EAU de compuestos fenólicos en cáscara de granada.....	31
Cuadro 7. Análisis de varianza (ANOVA) del proceso de extracción de cáscara de granada obtenido por EAU.....	33
Cuadro 8. Correlación en parejas de Pearson.....	42
Cuadro 10. Valores de carbonilo (nmol de carbonilo/mg de proteína) de hamburguesas crudas afectados por la adición de ECG y AA durante el almacenamiento.....	54
Cuadro 9. Efecto de los tratamientos y el tiempo sobre las propiedades de color de las hamburguesas. ....	72
Cuadro 11. Capacidad antioxidante de hamburguesas crudas (ABTS, DPPH) con y sin extracto de cáscara de granada. ....	75

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Formas redox de mioglobina (Mb) en carnes de pollo. ....	7
<b>Figura 2.</b> Aporte nutrimental de la carne de pollo por cada 100 g. ....	11
<b>Figura 3.</b> Fenómeno de cavitación ocurrido durante la EAU.....	14
<b>Figura 4.</b> Diagrama de proceso de la metodología. ....	23
<b>Figura 5.</b> Equipo de Extracción Asistida por Ultrasonido de compuestos fenólicos en cáscara de granda. ....	26
<b>Figura 6.</b> Graficas de optimización y efecto de interacción de las variables en la EAU en cáscara de granada sobre el contenido total de fenoles (CFT).....	35
<b>Figura 7.</b> Graficas de optimización y efecto de interacción de las variables en la EAU en cáscara de granada sobre la actividad antioxidante medida por DPPH. ....	37
<b>Figura 8.</b> Graficas de optimización y efecto de interacción de las variables en la EAU en cáscara de granada sobre la actividad antioxidante medida por ABTS. ....	39
<b>Figura 9.</b> Estudio del sistema de medición tipo I para CFT.....	40
<b>Figura 10.</b> Estudio del sistema de medición tipo I para DPPH. ....	41
.....	41
<b>Figura 11.</b> Estudio del sistema de medición tipo I para ABTS. ....	41

<b>Figura 12.</b> Efecto de la interacción de la adición del ECG y el tiempo de almacenamiento (a) en congelación -18 °C, (b) en refrigeración 4 °C, sobre el valor de pH. ....	44
<b>Figura 13.</b> Efecto de la interacción de la adición de ECG y el almacenamiento (a) en congelación -18 °C, (b) en refrigeración 4 °C sobre el valor del rendimiento de cocción (%). .....	45
<b>Figura 14.</b> Cuadrados de color determinados por las coordenadas $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ de hamburguesas de pollo almacenadas a (a) -18 °C y (b) 4 °C durante 16 días. ....	47
<b>Figura 15.</b> Efecto de interacción de la adición de EPP y el almacenamiento (a) en congelación -18 °C, (b) en refrigeración 4 °C sobre la fuerza de corte (gf-s). ....	50
.....	52
<b>Figura 16.</b> Efecto de la interacción de la adición de ECG y el almacenamiento (a) en congelación -18 °C, (b) en refrigeración 4 °C sobre TBARS (mg MDA/ Kg carne).....	52
<b>Figura 17.</b> Gráficos de análisis de componentes principales (PCA) de parámetros fisicoquímicos de diferentes muestras tratadas y no tratadas en cada tiempo de almacenamiento. ( a ) Gráfico de carga variables de PCA y b) Gráfico de puntuación individual de PCA.....	57

## ABREVIATURAS Y SIGLAS

### ABREVIATURAS

---

DeoxiMb	desoximioglobina
OxiMb	oximioglobina
COMb	carboximioglobina
MetMb	metamioglobina
Mb	Mioglobina
PUFAs	ácidos grasos poliinsaturados
T	Temperatura
PS	relación partícula/solvente (PS)
A	Amplitud
MeOH	Metanol
TG	transglutaminasa
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
ABTS	[2,2'azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)]
TEX	Tiempo de exposición a la sonicación
AUE	Amplitud del Ultrasonido
TEU	Temperatura de extracción
T <sub>1</sub>	15 minutos, 40 °C, amplitud- 50 %
T <sub>2</sub>	11.46 minutos, 40 °C, amplitud- 50 %
T <sub>3</sub>	10 minutos, 40 °C, amplitud- 50 %

Y Rendimiento de extracción

---

## **SIGLAS**

---

RQT	Rasgos de calidad de confianza (Reliance Quality Traits)
EQT	Rasgos de calidad alimentaria (Eating Quality Traits)
AQT	Rasgos de calidad de apariencia (Appearance Quality Traits)
ATP	Adenosín trifosfato
CRA	Capacidad de Retención de Agua
APT	Análisis del perfil de textura
CE	Comisión Directiva de Europa, por sus siglas en español
PM	Pechuga de madera
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
tBHQ	tert-butilhidroquinona
TBARS	sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico
IP	Índice de peroxidación
DE	Diseño de Experimentos
EAU	Extracción Asistida por Ultrasonido
FDA	Administración de Medicamentos y Alimentos (Food and Drug Administration)
MSR	Metodología de Superficie de Respuesta
DBB	Diseño Box-Behnken

EAUP	Extracción Asistida por Ultrasonido en modo Pulsado
DCC	Diseño central compuesto
APCH	Aislado de proteína de chícharo
PA	Proteína de arroz
HL	Harina de lenteja
GP	Galato de propilo
ANOVA	Análisis de Varianza
CFT	Contenido fenólico total
GAE	Equivalentes de ácido gálico
TEAC	Capacidad antioxidante equivalente de Trolox
AA	Ácido ascórbico, ácido ascórbico
ECG	Extracto de Cáscara de Granada
EPCG	Extracto de Polvo de Cáscara de Granada

---

## RESUMEN

La cáscara de granada, como subproducto agroalimentario, es una fuente potencial de compuestos bioactivos con propiedades conservantes. La extracción asistida por ultrasonido (EAU) es un método de extracción sustentable; además, la Food Drug Administration ha recomendado el uso de solventes no tóxicos. Este trabajo tuvo como objetivo encontrar las mejores condiciones de la EAU de la cáscara de granada utilizando agua potable como solvente, maximizando su potencial antioxidante para su aplicación como conservador de las propiedades de calidad en hamburguesas de pollo. Se aplicó un diseño de Box-Behnken utilizando como variables independientes el tiempo, la temperatura y la amplitud de ultrasonido. Los mejores tratamientos obtenidos por la MSR fueron T1: 15 minutos, temperatura de 40 °C, amplitud- 50 %; T2: 11.46 minutos, temperatura de 40 °C, 50 %; y T3: 10 minutos, temperatura de 40 °C, 50 %. Se probó T1 a dos concentraciones diferentes (0.1 % y 1.0 %), en condiciones de almacenamiento en congelación y refrigeración en la capacidad antioxidante, pH, color, fuerza de corte, TBARS y proteínas en hamburguesas de pollo. Los análisis se hicieron los días 0, 4, 8, 12 y 16 días.

Ambas concentraciones y en ambas condiciones de almacenamiento, el ECG mostró ser un excelente antioxidante natural, sin embargo, la mayor concentración del extracto (1.0 %) y la congelación mostraron ser las mejores condiciones para conservar las propiedades de calidad en las hamburguesas. En conclusión, los extractos de cáscara de granada obtenidos por una técnica sostenible como el ultrasonido mostraron ser efectivos en inhibir la oxidación de lípidos y proteínas, estabilizando el color de la carne y conservando otras propiedades de calidad en hamburguesas de pollo.

**Palabras clave:** *Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU), Extracto de cáscara de granada (ECG), Metodología de Superficie de Respuesta, Antioxidante natural, Producto cárnicos.*

## ABSTRACT

Pomegranate peel, as a by-product, is a great source of phenolic compounds with preservative properties. Ultrasonic-assisted extraction (UAE) is a sustainable extraction method; In addition, the Food Drug Administration has recommended the use of non-toxic and safe solvents. This work aimed to find the best conditions to the UAE of pomegranate peel using water as a solvent, for its application as a preservative of quality properties in chicken burgers. A Box-Behnken design was applied using three independent variables, which was: time, temperature, and ultrasound amplitude. The best treatments obtained by the MSR were T1: 15 minutes, temperature at 40 °C, amplitude-50%; T2: 11.46 minutes, temperature at 40 °C, 50%; and T3: 10 minutes, temperature at 40 °C, 50%. T1 was tested at two different concentrations (0.1 % and 1.0 %) and under frozen and refrigerated storage conditions on antioxidant capacity, pH, color, shear force, TBARS and protein oxidation in chicken burgers. The analyzes were made on days 0, 4, 8, 12, and 16 days.

In both concentrations and in both storage conditions, the pomegranate peel extract proved to be an excellent natural antioxidant, however, the highest concentration of the extract (1.0%) and freezing proved to be the best conditions to preserve the quality properties in the hamburgers. In conclusion, pomegranate peel extracts obtained by a sustainable technique such as ultrasound showed to be effective in inhibiting lipid and protein oxidation, stabilizing meat color, and preserving other quality properties in chicken hamburgers.

**Keywords:** *Ultrasound Assisted Extraction (UAE), Pomegranate peel extract, Response Surface Methodology (RSM), Natural antioxidant, Meat product.*

## **I. INTRODUCCIÓN**

La carne es parte importante de la dieta por su composición química que brinda al organismo nutrientes necesarios para su correcto funcionamiento. Más importante aún, en México durante años la carne de ave de corral ha sido la proteína más adquirida, teniendo el 49 % de preferencia en los consumidores, dejando el por ciento restantes para la proteína bovina y porcina (Consejo Mexicano de la Carne A. C., 2021).

El concepto de calidad en carne de pollo está relacionado con un producto de alto valor nutritivo, barato, de buen olor y apariencia, que sea lo más natural posible. La importancia de esta proteína es la dieta diaria radica en su contenido nutrimental, sin embargo, resulta ser demasiado susceptible a la oxidación de lípidos y proteínas. Es por esto que se busca evitar alteraciones sensoriales y nutricionales, resultado de una pérdida de calidad durante el almacenamiento (Das et al., 2020).

Por otro lado, la sociedad actual enfrenta grandes problemas económicos y ambientales debido a las enormes cantidades de subproductos que se generan en la agroindustria, un ejemplo de esto es la cáscara de granada; ya que por cada tonelada de fruta fresca para jugo se generan 669 kg de cáscara, no obstante, se sabe que este contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos biológicamente activos con alto valor para el reciclaje (K. Kumar, 2020; Sharayei et al., 2020).

Además, los investigadores y la industria cárnica han centrado cada vez más su atención en los compuestos presentes en los extractos de plantas, por su potencial para prevenir el deterioro de los productos cárnicos durante el procesamiento y almacenamiento. Recientemente, se ha prestado atención al efecto potencial que podría desempeñar la cáscara de granada como conservador natural de las variables de calidad en carne.

El uso de metodologías de extracción emergentes que cumplen con los principios de química verde, como la EAU, presenta varias ventajas técnicas como son: una alta eficiencia de extracción, menor tiempo de trabajo, bajo consumo de energía y de solventes y un fácil manejo de operación.

Por todo esto, este trabajo tiene como objetivos encontrar las mejores condiciones de temperatura, tiempo y amplitud en el proceso de EAU, utilizando agua como disolvente para llegar al punto óptimo en el rendimiento de compuestos fenólicos y actividad antioxidante

del polvo de cáscara de granada. Y segundo, encontrar las mejores condiciones en que dicho extracto puede actuar como un conservador natural de las propiedades de calidad en carne de pollo.

## **II. ANTECEDENTES**

### **2.1. Consumo de carne de pollo en México.**

El consumo de cárnicos en México siempre ha estado dirigido a la carne de pollo, preferencia que incrementó con la pandemia, presentando una baja en la compra de proteína de bovino y porcino debido a sus altos precios en comparación con los productos avícolas. Casi la mitad de la población mexicana consumo pollo, el 49 % del consumo nacional es proteína de ave, el segundo lugar le corresponde al cerdo con 27 % y al final está la res con 21 % (Consejo Mexicano de la Carne A. C., 2021).

### **2.2. Evaluación de la calidad de carne de pollo (AQT, EQT y RQT).**

En la actualidad, aún no se tiene una definición específica de la calidad de carne de aves de corral. La calidad de la carne de ave es difícil de definir, porque es un concepto determinado por múltiples factores, y principalmente por las preferencias de los consumidores (Ismail & Joo, 2017). Desde el punto de vista del consumidor, los rasgos de calidad de la carne se pueden clasificar en tres aspectos:

- Rasgos de calidad de confianza (RQT, Reliance Quality Traits, por sus siglas en inglés) integrados por factores de seguridad, nutrición, bienestar animal, ética, precio, presentación del producto, origen y marca de los productos cárnicos (Joo et al., 2013; Troy & Kerry, 2010).
- Rasgos de calidad alimentaria (EQT, Eating Quality Traits, por sus siglas en inglés): que son ternura, sabor, jugosidad y succulencia de la carne cocida (Bello Acebrón & Calvo Dopico, 2000; Joo et al., 2013).

- Rasgos de calidad de apariencia (AQT, Appearance Quality Traits, por sus siglas en inglés), los cuales están definidos por el color de la carne, pérdida de agua por goteo y la textura de la carne (Becker, 2000; Joo et al., 2013).

Para mantener estos rasgos de calidad dentro de valores aceptables, hay un conjunto de normas que indican algunos parámetros a seguir durante el procesamiento de la carne de pollo.

En el Cuadro 1, se muestran las características de aceptación o rechazo de los rasgos de calidad, conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009. De acuerdo con esta información, la carne de pollo deberá presentar un color claro o ligeramente amarillento, su textura debe ser firme y su olor característico fresco, para ser aceptado por el consumidor. En cambio, las características de exclusión de la carne de pollo corresponden con una apariencia verdosa o amoratada, y una textura blanda y pegajosa, con un olor putrefacto o rancio, éste último, se presentan debido a la oxidación de lípidos y proteínas en la carne.

**Cuadro 1. Características para la aceptación o rechazo en carne de pollo.**

Parámetro	Criterio	
	Aceptación	Rechazo
Color	Blanco o ligeramente amarillo (Característico)	Verdosa, amoratada o con diferentes coloraciones
Textura	Firme	Blanda y pegajosa bajo las alas o la piel
Olor	Característico	Putrefacto o rancio

Fuente: Tomada de la NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.

Adicionalmente, en la Norma Mexicana NMX-FF-080-SCFI-2006 “Productos Avícolas-Carne de pollo de engorda en canal y en piezas-Clasificación”, se mencionan las dos principales formas de almacenamiento de la carne de pollo, que permitirán mantener las características de calidad antes mencionadas, a través de la conservación por frío. De esta manera, el pollo fresco es aquél que ha sido mantenido y procesado a una temperatura de entre 0 °C y 4 °C, y el pollo congelado, el que ha sido sometido a congelación y conservado a una temperatura de -18 °C o por debajo de esta.

Por otro parte, existen parámetros fisicoquímicos que han sido utilizados para evaluar la calidad de la carne, entre ellos se encuentran pH, color y textura.

### **2.3. Parámetros fisicoquímicos de calidad en carne de pollo.**

#### **2.3.1. pH**

El pH de la carne o músculo es una medida de la acidez dada por potencial de hidrógeno. El pH de la carne de pollos de engorde, se da en función de la cantidad de glucógeno en el músculo antes del sacrificio, y la tasa de conversión de glucógeno en ácido láctico después de éste (Mir et al., 2017).

El adenosín trifosfato (ATP) sirve para mantener el músculo en un estado relajado. Tras la muerte del animal, cesa el aporte sanguíneo al músculo por lo que debe utilizar un metabolismo anaeróbico para transformar sus reservas de energía (glucógeno) en ATP, para mantener su temperatura y firmeza muscular. El ATP, se obtiene a través de la conversión de glucógeno en ácido láctico. Este último es el que va a provocar el descenso del pH muscular (Warris, 2003; Zimerman, 2008).

Para la carne de pollo cruda, los valores normales de pH (a los 15 min post mórtem) están alrededor de 6.2-6.5 (Berri et al., 2005; Kijowski & Niewiarowicz, 1978). Mientras que, los valores normales de pH finales están alrededor de 5.7- 6.1 (Fletcher, 1999; Van Laack et al., 2000).

Se ha demostrado que el pH tiene una relación directa con los atributos de calidad de la carne, como el color, la capacidad de retención de agua, el olor, la terneza, la jugosidad y su vida útil (Allen et al., 1998; Mir et al., 2017).

Si el pH es bajo (<5.7) y cercano al punto isoeléctrico de la proteína miofibrilar, la carne podría presentar una disminución de la retención de agua y una decoloración de la carne (Fletcher et al., 2000; Ismail & Joo, 2017). Por el contrario, valores de pH por encima de 6.1, se asocian a una carne oscura, firme y seca (Barbut, 1997; Fletcher et al., 2000).

Para poder explicar los factores que afectan el pH de la carne se tienen que mencionar tres momentos por los que pasa el animal. Estos son: *ante mortem*, *pre mortem* y *post mortem*. (Zimerman, 2008). En el Cuadro 2, se mencionan los factores *post mortem* involucrados en la variación del pH.

**Cuadro 2. Factores *post mortem* que afectan el pH de la carne.**

<b>Condición</b>	<b>Efecto</b>
Frío	El grado de enfriamiento permea en la caída del pH por la producción de ácido láctico, lo que a su vez afecta la velocidad de insaturación del <i>rigor mortis</i> (Zimmerman, 2008).
Tiempo de oreo	Los productos avícolas son alimentos altamente perecederos. Dependiendo del grado de procesamiento posterior al sacrificio, su deterioro varía entre 4 y 10 días en refrigeración (Marenzi, 1986).

Fuente: Elaboración propia.

Otro parámetro que afecta el pH es la temperatura, ya que está directamente relacionada con el consumo de ATP muscular, el cual se lleva a cabo en dos etapas.

### **2.3.2. Capacidad de retención de agua (CRA)**

La Capacidad de Retención de Agua (CRA) es la habilidad de la carne, para retener total o parcialmente el agua, aun cuando se apliquen presiones externas al músculo, o bien durante el procesamiento, es decir: corte, triturado, calentamiento, envasado, transporte, almacenamiento y cocción (Hamm & Honikel, 1994; R. D. Warner, 2017).

La CRA es un criterio crucial de evaluación de la calidad en el procesamiento de carne. Además, no solo está relacionada directamente con la rentabilidad en la industria de procesamiento de carne, sino que también determina las cualidades sensoriales de la carne, así como de sus productos (Szymańko et al., 2021). El contenido de agua en la carne mejora la ternura, jugosidad, textura, firmeza y apariencia de esta, aumentando de manera general su calidad y valor económico (Mir et al., 2017).

La CRA está dada en función de factores como el pH, fuerza iónica, presión osmótica y el desarrollo del *rigor mortis* que actúan alterando los componentes celulares y extracelulares (Mir et al., 2017; Offer & Knight, 1988). La carne de pechuga de pollo con un pH alto tiene una mayor capacidad de retención de agua, que la carne con pH más bajo (Mir et al., 2017). El agua liberada al ejercer cierta presión o durante el procesamiento, se puede describir de diversas formas: como goteo, purga o exudado; y está inversamente relacionado con la CRA.

El agua desprendida de un producto cárnico procesado, a menudo se describe como rendimiento de cocción, que está directamente relacionado con la CRA (Szmańko et al., 2021; R. Warner, 2014).

Un estudio realizado por Barbut (1993) mostró que las pechugas más claras de lo normal tenían un pH inicial de 5.8, una recuperación del marinado del 6 %, pérdida por goteo del 5.88 % y pérdida por cocción del 34.4 %. Mientras que, los filetes más oscuros de lo normal tenían un pH inicial de 6.02, absorción del 7.67 % en el marinado, la pérdida por goteo fue de 3.34 % y 32.9 % de pérdida por cocción, lo que muestra un impacto significativo del pH en la pérdida por goteo. La carne de ave con un pH bajo se ha asociado con una baja capacidad de retención de agua, lo que resulta en una mayor pérdida por cocción, pérdida por goteo, vida útil y disminución de la ternura (Mir et al., 2017).

### **2.3.3. Color**

El color puede definirse como un resultante de una serie compleja de respuestas fisiológicas, físicas, químicas y psicológicas a la radiación electromagnética en el rango del espectro visible que abarca longitudes de onda entre 400 y 700 nm (Pérez-Alvarez, 1996).

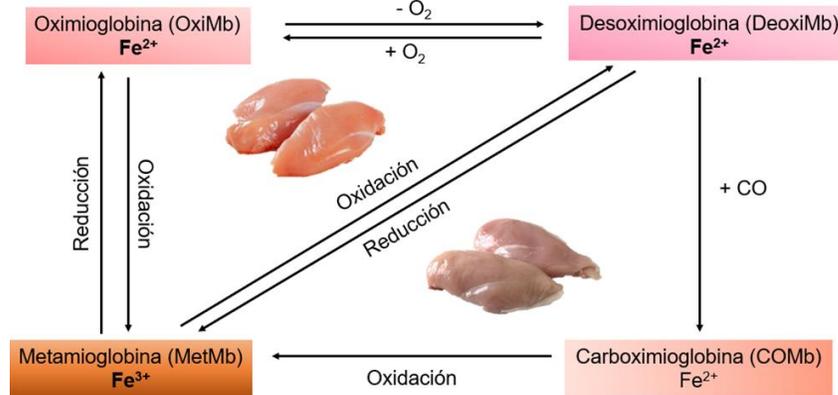
Para determinar la especificación del color se utilizan muchos espacios de color p. ej., Munsell, Hunter o CIELAB (Nickerson, 1940).

El espacio de color CIELAB presenta las coordenadas  $L^*a^*b^*$ , uno de los sistemas de color más utilizados. La razón de su creciente popularidad se debe a que correlaciona los valores numéricos de color consistentemente con la percepción visual humana (Cool et al., 2022).

$L^*$  indica la Luminosidad.  $a^*$  = rojo / verde (+a indica rojo, -a indica verde),  $b^*$  = amarillo / azul (+b indica amarillo, -b indica azul) (Ibáñez García, 2021; Xiao-Ping & Xin, 2006).

El color de la carne de ave depende de algunos pigmentos cárnicos, como son la: hemoglobina, el citocromo C y sus derivados, así como la presencia de ligandos que forman complejos con pigmentos hemo (Fletcher, 2002). Pero en particular, de la concentración y estado químico de la mioglobina (Mb).

En la Figura 1, se puede apreciar como el color de la carne fresca se define por la cantidad relativa de cuatro estados redox de Mb, a saber, desoximioglobina (DeoxiMb), oximioglobina (OxiMb), carboximioglobina (COMb) y metamioglobina (MetMb) (Cornforth and Hunt, 2008). La formación de MetMb (marrón) resulta de la oxidación de las tres formas ferrosas ( $\text{Fe}^{2+}$ ) a un estado férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y está asociada con la decoloración de la carne de aves (Carvalho et al., 2017; Suman & Joseph, 2013).



**Figura 1.** Formas redox de mioglobina (Mb) en carnes de pollo. Modificado de Carvalho et al. (2017).

En el Cuadro 3, se mencionan dos investigaciones en las que se obtuvieron valores de color diferentes para la clasificación del aspecto en pechugas de pollo. Estos autores también informaron que la carne de pechuga de pollo más pálida ( $L^* > 56$ ) se asocia con un pH final más bajo y una menor capacidad de retención de agua (CRA), mientras que la carne de pechuga de pollo más oscura ( $L^* < 50$ ) se asocia con un pH más alto y un rendimiento de cocción (Pettracci et al., 2004).

**Cuadro 3. Valores normales de color reportados para carne de pollo**

Parámetro	Aspecto			Referencia
	Oscura	Normal	Pálida	
$L^*$	< 46	48-53	>53	(Fletcher, 1999)
$a^*$	3.3	1.7	1.6	y (Qiao et al.,
$b^*$	0.9	1.6	2.4	2001)
$L^*$	48.29	53.51	57.53	(Pettracci et al.,
$a^*$	2.96	2.05	1.63	2004)

b*	1.07	1.52	2.08
----	------	------	------

Parámetros de color  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (rojez) y  $b^*$  (amarillez).  
Fuente: Elaboración propia.

La concentración y estado químico de la Mioglobina (Mb), se puede ver afectado por numerosos factores, como la edad del ave, el género, los antecedentes genéticos, la dieta, la grasa intramuscular, el contenido de humedad de la carne, las condiciones previas al sacrificio y las variables de procesamiento (Totosaus et al., 2007).

Otro factor que afecta el color de la carne es el pH. Como consecuencia de un pH bajo de la carne, la desnaturalización de las proteínas conduce a una mayor susceptibilidad de Mb a la autooxidación y al posterior cambio de color durante el almacenamiento en refrigeración, posterior a la congelación/descongelación (Leygonie et al., 2011, 2012; Pearson & Dutson, 2013). Cuando las reacciones de oxidación se aceleran por el almacenamiento en congelación o durante el procesamiento de la carne, la cantidad de radicales libres presentes aumenta, lo que lleva a una mayor tasa de oxidación de Mb y una disminución en la estabilidad del color (S. Ali et al., 2015; Wang et al., 2009).

## **2.4. Calidad sensorial**

### **2.4.1. Sabor**

El sabor es otro atributo de calidad importante que los clientes utilizan para determinar la aceptabilidad de la carne de ave (Mir et al., 2017).

Sin duda, los consumidores aprecian los sabores característicos de los productos cárnicos avícolas, y que en gran medida son responsables del atractivo de estos productos. Más importante aún, la percepción del sabor es menos variable que otros atributos sensoriales de estos productos, por ejemplo, la ternura y jugosidad (Pearson & Dutson, 2013).

El sabor de la carne se desarrolla en gran medida a través del proceso de cocción. La carne cruda generalmente se caracteriza por ser salada, metálica y de sabor 'sangriento' con un aroma dulce (Wasserman, 1972). Durante la cocción, numerosos precursores no volátiles reaccionan para formar el sabor y el aroma característicos asociados con la carne. Estos compuestos de sabor surgen a través de mecanismos de reacción entre el azúcar y los aminoácidos (Reacción de Maillard), la oxidación de lípidos y proteínas, así como la

degradación de la tiamina. Estos cambios químicos no son exclusivos de las aves de corral, pero las grasas de las aves de corral, sí son únicas y se combinan con el olor para explicar el sabor característico de las aves (Northcutt, 2009; Toldrá & Flores, 2007).

El pH de los alimentos es importante en el desarrollo de sabores, por ejemplo, en la reacción de Maillard (Calkins & Hodgen, 2007). El pH entre 4.5 y 6.5 favorece la formación de compuestos nitrogenados que aportan sabor a los alimentos. El envejecimiento *post mortem* provoca la generación de muchos compuestos químicos de sabor, incluidos azúcares, ácidos orgánicos, péptidos, aminoácidos libres y metabolitos del nucleótido de adenina que determinan el sabor final de la carne (De Liu et al., 2012; Mir et al., 2017). Estos componentes sirven directamente como componentes de sabor o como un conjunto de reactivos intermediarios que forman muchos de los sabores característicos de la carne después de la cocción (Spanier et al., 1997).

La edad del pollo o gallina es otro factor que afecta el sabor de la carne. El máximo desarrollo del sabor ocurre durante la maduración sexual de los pollos de engorde debido a cambios en la fracción lipídica y composición de ácidos grasos libres y complejos (Mir et al., 2017).

#### **2.4.2. Olor**

La sensación de olor es producida por sustancias volátiles que estimulan los receptores del epitelio nasal. El olor juega un papel importante en la definición del sabor característico de los alimentos y es un atributo sensorial crucial que puede determinar si los consumidores aceptan o no un producto alimenticio (Hayes, 2008).

Se ha reportado que los compuestos volátiles de bajo peso molecular son los responsables de generar dicho olor. Se han identificado más de 1000 compuestos volátiles en el aroma de la carne cocida (Hayes, 2008; Mottram, 1998). Se ha demostrado que tanto la congelación como la precocción contribuyen al desarrollo de sabores desagradables en productos cárnicos (Pearson & Dutson, 2013).

La oxidación de lípidos y proteínas que se produce en la carne fresca, congelada o cocida se asocia generalmente con el desarrollo de sabores y olores rancios y una reducción en la aceptabilidad de la carne. Sin embargo, al descomponerse producen una mezcla compleja de compuestos volátiles de bajo peso molecular con características distintivas de olor y sabor, incluidos alcanos, alquenos, aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres y ácidos (Mottram, 1998).

El desarrollo de la rancidez oxidativa ha sido reconocido durante mucho tiempo como un problema que ocurre durante el almacenamiento de la carne. La propensión de las carnes y los productos cárnicos a sufrir oxidación depende de varios factores, incluida la composición de ácidos grasos y ausencia de elementos de conservación.

### 2.4.3. Jugosidad

Las sensaciones que llegamos a percibir en la boca al momento de comer carne están relacionadas con la jugosidad, atributo que contribuye a la aceptabilidad de los productos cárnicos por parte del consumidor, y lo vuelve parte importante de los rasgos de calidad alimentaria (EQT, por sus siglas en inglés). La importancia de la sensación en la boca y el concepto de jugosidad al comer es difícil de describir y cuantificar, pero tiene un profundo efecto sobre los demás atributos sensoriales de la carne. La sequedad se asocia con una disminución en otros atributos, especialmente con la falta de sabor y aumento de la dureza (Marrasquin Briones, 2016; Pearson & Dutson, 2013).

### 2.5. Contenido nutricional de la carne de pollo

El consumo de carne juega un papel muy importante desde el punto de vista nutricional, debido a que contiene proteínas que otorgan aminoácidos esenciales, así como minerales y vitaminas que pueden ser fácilmente absorbidas por el cuerpo humano. La carne contiene vitaminas y minerales como el hierro (Fe), el cual no se encuentra fácilmente disponible en otras dietas, por ejemplo las vegetarianas (FAO, 2019; Ruiz Muñoz, 2020).

Como se puede observar en el Cuadro 4, los principales componentes de la carne cruda de ave son agua, proteínas y lípidos en proporciones de 75.1 % y 22.3 %, 2.1 % y 457 KJ, respectivamente (Wood, 2017).

**Cuadro 4. Contenido nutrimental de la carne de pollo por cada 100 g de carne.**

<b>Macronutriente</b>	<b>Distribución (por cada 100 g)</b>
Agua (g)	75.1
Proteína (g)	22.3
Grasas (g)	2.1
Energía (KJ)	457

Fuente: Modificado de Wood (2017)

En la Figura 2, se puede observar las cantidades de vitaminas y minerales que aportan 100 g de carne de pollo.



**Figura 2.** Aporte nutricional de la carne de pollo por cada 100 g.  
Fuente: Elaboración propia

La cantidad de grasa en particular es el componente más variable debido a factores como el peso, la raza y la composición del alimento. Para un alimento, ser etiquetado como bajo en grasa, el contenido de esta debe ser inferior a 3 g/100 g según las normas de la CE (Comisión Directiva de Europa, por sus siglas en español) (CE, 2006), por lo que, sobre esta base, la carne magra de pollo podría etiquetarse como baja en grasa. La carne de pechuga contiene menos de 3 g de grasa/100 g y el valor promedio correspondiente para las carnes rojas (sin piel) es de 5 a 7 g/100 g.

## 2.6. Aspectos que modifican la calidad de la carne de pollo: oxidación de lípidos.

La demanda de productos avícolas ha llevado a modificar los parámetros de selección en la industria de pollos de engorde, basado en características como rápida tasa de crecimiento y alto rendimiento muscular, factores relacionados a un mayor defecto de la textura e

incidencia de miopatías metabólicas musculares (Lien et al., 2012; Petracci et al., 2015, 2019).

Adicionalmente, el daño oxidativo de los lípidos y proteínas en la carne de pollo, suele estar asociado a un marcado deterioro de sus propiedades sensoriales, de vida útil y nutritivas (Akuru et al., 2020). En consecuencia, este daño disminuye la aceptación por parte de los consumidores de los productos cárnicos afectados (Falowo et al., 2014), lo que supone una pérdida económica. Es importante tener presente, que la carne de pollo comercial contiene ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), como forma normal de grasa (Adamski et al., 2017), lo cual es el resultado de las dietas que se le administran al pollo en su etapa de engorde. Sin embargo, complementar las dietas de los pollos de engorde con altos niveles de PUFAs, hace que la carne sea cada vez más susceptible a la rancidez, debido a la oxidación de los lípidos (Estévez, 2015). La oxidación de los PUFAs da lugar a la producción de sustancias químicas nocivas, que se descomponen a su vez en aldehídos de cadena corta, cetonas y otros compuestos oxigenados, que ejercen un efecto no deseado sobre la síntesis y el metabolismo de lípidos, pigmentos, proteínas y carbohidratos (Lobo et al., 2010). Además, estos radicales libres son responsables de procesos mutagénicos, cancerígenos y envejecimiento en sistemas biológicos (Giustarini et al., 2009; Ighodaro & Akinloye, 2018).

### **2.7. Uso de conservadores químicos en la carne de pollo.**

Para evitar la producción de radicales libres y por tanto la oxidación de la grasa en carne de pollo, se añaden conservadores químicos, como el butilhidroxianisol (BHA), el butilhidroxitolueno (BHT) y la tert-butilhidroquinona (tBHQ), los cuáles prolongan la vida útil de la carne y conservan sus propiedades de aceptación. Sin embargo, aunque estos antioxidantes químicos se han utilizado durante décadas, se ha reportado que podrían estar relacionados con efectos adversos a la salud del consumidor (Shahidi, 2000; Sohaib et al., 2017).

De igual manera, en los últimos años ha aumentado el interés por el uso de compuestos antioxidantes de origen vegetal, con capacidad de prolongar la vida útil de los alimentos perecederos. Investigadores han reportado que el efecto de estos antioxidantes naturales se debe a los compuestos polifenólicos (Oswell et al., 2018).

En particular, las cáscaras de fruta han demostrado contener nuevos y prometedores compuestos, con actividad antimicrobiana y antioxidante, que pueden prevenir las enfermedades de origen alimentario y el deterioro de los alimentos (Singh et al., 2019).

### **2.8. Conservación de calidad en carne usando cáscara de granada.**

Los extractos de cáscara de granada ya han sido previamente usados y se ha reportado su capacidad en la conservación de las propiedades de calidad de la carne (Kanatt et al., 2010; Naveena et al., 2008), evaluando variables como actividad antioxidante (DPPH), actividad antimicrobiana, oxidación lipídica (TBRS), pH y color. Los resultados demuestran que el extracto de cáscara de granada actúa evitando la oxidación de la carne de pollo, en refrigeración (0-4 °C) hasta por 20 días. Para la carne de res en refrigeración, la implementación de 0.1 % y 0.5 % de extracto acuoso de cáscara de granada ayudó a retardar la etapa de oxidación y degradación de peróxidos con base en los resultados obtenidos para TBRS, índice de peroxidación (IP) y la determinación de carbonilos y sulfidrilos, en albóndigas hasta por 8 días (Turgut et al., 2016).

La actividad antioxidante del extracto acuoso de cáscara de granada a concentraciones de 0.1 % y 0.5 % como conservador a temperaturas de congelación (-18 °C), ha sido solamente evaluada en albóndigas de res, evitando la oxidación de lípidos de acuerdo con los resultados obtenidos de la medición de TBRS e IP, determinación de carbonilos y sulfidrilos, pH y color. En comparación con el BHT, un conservador sintético ampliamente utilizado en la industria alimenticia, la cáscara de granada resultó ser más efectiva al evitar la oxidación de lípidos, hasta por tres meses (Turgut et al., 2017).

### **2.9. Extracción asistida por ultrasonido**

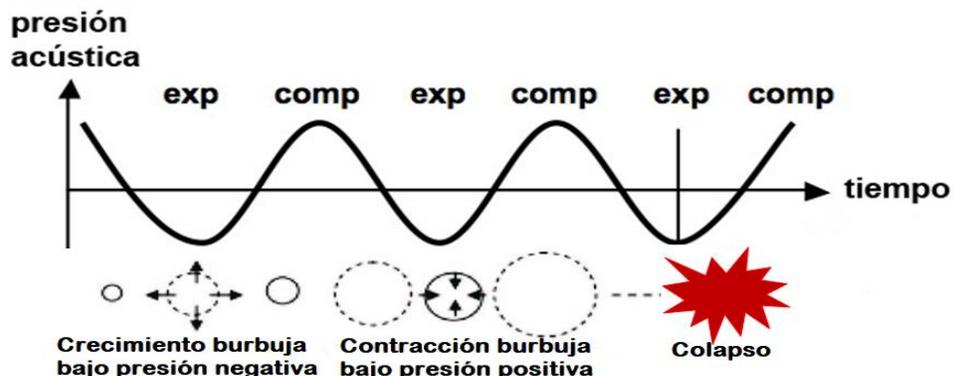
El ultrasonido son vibraciones mecánicas de frecuencia superior a la de las que puede percibir el oído (más de 20 kHz) (Bhargava et al., 2021).

Los efectos físicos y bioquímicos del ultrasonido están asociados con la frecuencia por ejemplo, los efectos físicos dominan a frecuencias más bajas de 20 a 100 kHz, mientras que los efectos químicos dominan a frecuencias de 200 a 500 kHz y, a frecuencias más altas (>1 MHz), la transmisión acústica de los efectos son más dominantes (Tiwari, 2015).

El ultrasonido se puede aplicar para complementar las operaciones unitarias o en el procesamiento del producto alimenticio ya sea por exposición directa o utilizando un instrumento como un sonotrodo (probeta de ultrasonido) o un baño de agua ultrasónico (Bhargava et al., 2021).

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) es un procedimiento de extracción verde, con alta eficiencia de extracción y bajo consumo de energía y solventes (Bhargava et al., 2021; Kaderides et al., 2015a; Singla & Sit, 2021). Lo que lo cataloga como un método de extracción sostenible.

La eficiencia de la EAU se cree está relacionada con el fenómeno de propagación de ondas (Figura 3). Los fenómenos de cavitación ocurren cuando las ondas sonoras que se propagan en el medio de disolución inducen una sucesión de compresiones y dilataciones para hacer menos denso el material de extracción; dichos cambios de presión alternos provocan la formación de burbujas y su eventual colapso en el medio fluido; la implosión de burbujas puede resultar en daño por impacto mecánico en las superficies, efecto que puede ser utilizado en la extracción sólido-líquido (Tiwari, 2015; Vilku et al., 2008).



**Figura 3.** Fenómeno de cavitación ocurrido durante la EAU.

Fuente: Elaboración propia.

La EAU es una de las técnicas de extracción más útiles y eficientes en comparación con la extracción convencional (Sharayei et al., 2019). Las ventajas de la EAU son la reducción del tiempo de extracción, una operación sencilla de realizar, un menor consumo de solvente y temperatura, ahorro de energía, mayor producción y eliminación de pasos del proceso (Bhargava et al., 2021; Chemat et al., 2017; Ordaz-Rodríguez et al., 2022). Numerosos

artículos en la literatura han documentado la ventaja de la aplicación de EAU en relación con la extracción convencional en componentes naturales, que requieren más horas o incluso días utilizando procesos tradicionales (Gallo et al., 2018; Singla & Sit, 2021).

Debido a que la EAU se puede ver afectada por varios parámetros, como la frecuencia, el poder de sonicación, el tiempo (Chemat et al., 2017), número de extracciones, temperatura, relación sólido-solvente, tamaño de partícula y tipo de solvente, se vuelve necesario optimizar el proceso para mejorar el rendimiento de extracción (A. Kumar & Srinivasa Rao, 2020; Ordaz-Rodríguez et al., 2022; Sharayei et al., 2019).

Kaderides et al. (2015b) investigaron el efecto de varios solventes (metanol, acetato de etilo, cloroformo y agua), la temperatura (T), la relación partícula/solvente (PS), la amplitud (A) y el intervalo de pulso sobre la extracción de compuestos fenólicos de cáscara de granada. Las mejores condiciones que encontraron fueron: agua como solvente; temperatura de extracción, 34.7 °C; relación sólido/solvente, 32.2/1; amplitud de 39.8 % y relación de intervalo de pulso, 1.2/1. El rendimiento máximo de extracción fue de 13.85 g equivalentes de ácido gálico (GAE) /100 g de cáscaras secas a un tiempo de extracción de 10 min.

Varias sustancias han sido reportadas como solventes seguros para la extracción de compuestos fenólicos y antioxidantes de la cáscara de granada (Kaderides et al., 2015a; Kazemi et al., 2016; A. Kumar & Srinivasa Rao, 2020; Ordaz-Rodríguez et al., 2022; Sharayei et al., 2019; Živković et al., 2018), sin embargo, hay que recordar que la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés) recomienda el uso de disolventes no tóxicos y amigables con el medio ambiente (Živković et al., 2018). El agua es un solvente más polar que el metanol, el etanol y la acetona, y es un solvente seguro que puede ser aplicado directamente a los alimentos (Goula et al., 2017; Kaderides et al., 2015b; Uma et al., 2010).

## **2.10. Optimización de procesos.**

Encontrar una condición con la mejor salida para un sistema es el propósito principal de la "optimización" (Baş & Boyacı, 2007).

La metodología de superficie de respuesta (MSR, Response Surface Methodology, por sus siglas en inglés) es una técnica matemática y estadística, que permite investigar y observar

la respuesta de múltiples variables de proceso y sus efectos interactivos, para ciertos factores de interés. Las superficies de respuesta permiten explorar varias combinaciones de niveles de los factores o variables independientes, para hallar “valores óptimos” o las mejores condiciones de ciertas características de calidad del producto o proceso (Gutiérrez & Salazar, 2012; Kaushik et al., 2006; Khare et al., 2015).

### **2.10.1. Diseño de Box-Behnken.**

El diseño de superficie de respuesta Box-Behnken (DBB) es un diseño de metodología de superficie de respuesta giratoria (MSR) esférico que consiste en un punto central y los puntos medios de del cubo circunscritos en la esfera. Consiste en tres diseños factoriales  $2^2$  entrelazados con puntos que se encuentran en la superficie de una esfera que rodea el centro del diseño (Kuehl, 2001; Maran et al., 2013).

Este tipo de diseño es muy eficiente en cuanto al número de corridas, debido a que no incluye tratamientos a los vértices de la matriz experimental, los cuales a veces resultan ser exagerados y difíciles de llevar a la práctica, la estimación de los coeficientes de primer y segundo orden más eficiente (Gutiérrez & Salazar, 2012; Kuehl, 2001).

Los diseños de tipo Box-Behnken resultantes suelen ser más eficientes en términos del número de corridas requerido, ya que al no incluir los extremos se reduce el número de tratamientos y esto da como resultado un menor consumo de reactivos. Este diseño solo tiene tres niveles y se puede contraer o expandir fácilmente en el dominio experimental (Chen et al., 2009; Espada-Bellido et al., 2017).

El DBB se ha empleado ampliamente para encontrar las condiciones óptimas de extracción de múltiples compuestos bioactivos en diferentes matrices biológicas como los son plantas y/ o sus componentes. A continuación, se enlistas algunos ejemplos de los tipos de aplicaciones que han tenido y como es que estos diseños resultan particularmente útiles para este tipo de procesos, ya que, como se mencionó anteriormente, son efectivos en cuanto al número de corridas experimentales, teniendo como resultado un menor tiempo de experimentación y de recursos tanto materiales como tecnológicos.

En 2015, Moorthy et al. emplearon un diseño de Box-Behnken de cuatro factores y tres niveles para investigar el efecto de las variables independientes: relación PS

(partícula/solvente) (1:10–1:20 g/mL), pH (1– 2), tiempo de extracción (15–35 min) y la temperatura de extracción (50–70 °C) sobre el rendimiento máximo de extracción de pectina en cáscara de granada. Se obtuvieron un total de 29 experimentos con cinco repeticiones en el punto central. Y las condiciones óptimas de extracción resultaron ser 1:17.52 g/mL de relación sólido-líquido, 1.27 de pH, 28.31 min de tiempo de extracción y 61.90 °C de temperatura de extracción respectivamente.

Después en 2017, Espada-Bellido et al. emplearon un diseño Box-Behnken de seis factores y tres niveles para estudiar las condiciones óptimas de la EAU para obtener la mayor extracción de antocianinas y compuestos fenólicos totales en pulpa de mora negra. Las variables independientes fueron: porcentaje de solvente ( $X_1$ ), temperatura de extracción ( $X_2$ ), amplitud de ultrasonido ( $X_3$ ), ciclo de trabajo ( $X_4$ ), pH ( $X_5$ ) y relación PS ( $X_6$ ). Como variables de respuesta se consideraron los resultados de las antocianinas totales y la cantidad de compuestos fenólicos totales. El diseño experimental consistió en 54 ensayos realizados por duplicado con seis repeticiones del punto central.

Se obtuvieron dos diseños óptimos para cada una de las variables de respuesta. Para antocianinas fueron las siguientes: disolvente de extracción 76 % de Metanol (MeOH) en agua a pH 3, temperatura de extracción de 48 °C, amplitud de ultrasonido del 70 %, ciclo de 0.7 s y relación 1.5:12 g/mL sólido-líquido. Las condiciones óptimas de EAU para compuestos fenólicos totales fueron: solvente de extracción con 61 % MeOH en agua a pH 7, temperatura de extracción de 64 °C, amplitud de ultrasonido de 70 %, ciclo de 0.7 s y relación 1.5:11 g/mL sólido-líquido (Espada-Bellido et al., 2017).

Finalmente, Kumar & Srinivasa Rao (2020) optimizaron la extracción asistida por ultrasonido en modo pulsado (EAUP, Pulsed-mode Ultrasound Assisted Extraction, por sus siglas en inglés) de compuestos bioactivos con alta actividad antioxidante en cáscara de granada. Se utilizó un diseño Box-Behnken de cuatro factores con 5 puntos centrales, obteniendo un total de 29 experimentos. Las variables independientes fueron ciclo de trabajo ( $X_1$ ), amplitud ( $X_2$ ), tiempo de sonicación ( $X_3$ ) y concentración de metanol ( $X_4$ ) cada factor con tres niveles. Los valores de las variables de respuesta se obtuvieron a una concentración de metanol del 70 %, 12.8 min de ultrasonidos en un ciclo de trabajo de 0.58 s y una amplitud de ultrasonido del 80 %.

### **2.11. Confiabilidad en los métodos de medición (Análisis de repetibilidad).**

La confiabilidad y la validez son dos aspectos clave de toda investigación.

Los investigadores afirman que el rigor de la investigación cualitativa recae en la confiabilidad y la validez de los conceptos, componentes necesarios de la calidad. La atención meticulosa a la confiabilidad y validez de los estudios de investigación es particularmente vital en el trabajo cualitativo, donde la subjetividad del investigador puede nublar tan fácilmente la interpretación de los datos y donde los resultados de la investigación a menudo son cuestionados o vistos con escepticismo por la comunidad científica (Cypress, 2017).

En todas las investigaciones, ante la inherente cantidad de posibles errores, es necesario buscar reducir los errores relacionados con el procesos de medición para lograr asegurar una mayor confianza en los resultados y conclusiones de la investigación (Manterola et al., 2018). Para asegurar la confiabilidad de estos resultados, los métodos analíticos deben someterse a un proceso de validación, ya que ello garantiza la calidad de los resultados (Moreno Lobato, 2018; Suarez, Raibel & Evelia, Arévalo & Ledy, Linares & Francisco, Ustáriz & Gladys, 2009).

La confiabilidad es un término cualitativo que muestra el nivel de calidad de un método analítico en términos de aplicabilidad, exactitud, precisión, sensibilidad y detectabilidad (Burgos Larios et al., 2021). Por ende, un método es confiable, preciso o reproducible, cuando las mediciones realizadas con él generan los mismos resultados en diferentes momentos, escenarios y poblaciones si se aplica en las mismas condiciones (Manterola et al., 2018).

Dentro de los estudios para la confiabilidad de los métodos, se encuentra el estudio de repetibilidad, el cual se refiere a la variación de los métodos de medición. El estudio tipo I, evalúa los efectos combinados de sesgo y repetibilidad, basándose en múltiples mediciones de una misma muestra. Según lo reportado, los valores de variación deben ser menores al 20 % , y los índices de capacidad Cg y Cgk, deben ser mayor o igual a 1.33, para que la medición sea capaz (Otero Fernández et al., 2014; Rodríguez Cervantes, 2022).

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Recientemente, se ha prestado atención al efecto que tiene la aplicación de extractos metanólicos, etanólicos o su combinación con agua de cáscara de granada sobre las variables de calidad en carne de pollo y su empleo como conservador. En este sentido, han sido desarrollados diversos estudios que han evaluado diferentes concentraciones de estos extractos variando el método de extracción, que en la mayoría de los casos ha sido siguiendo métodos convencionales, los cuales requieren un alto consumo de energía y reactivos; y que, para lograr altas concentraciones de compuestos fenólicos estos métodos usan mezclas de solventes no aptos para el consumo humano. La extracción de cáscara de granada a través de la EAU ya ha sido previamente evaluada, sin embargo, no se han encontrado las condiciones óptimas de amplitud, tiempo y temperatura en las cuáles se obtiene la mayor cantidad de compuestos fenólicos, usando agua como disolvente. Más importante aún, en ningún estudio antes mencionado, la aplicación de dicho extracto para conservar las propiedades de calidad en carne ha sido evaluada.

Debido a que la actual normatividad solo considera la apariencia del pollo en canal para evaluar su aceptación o rechazo, la calidad de estos productos avícolas no es evaluada de forma integral, ya que no considera todas las propiedades fisicoquímicas de la carne, las cuáles son las variables más importantes que el consumidor debería tomar en cuenta para su elección. Por lo tanto, este estudio abre una oportunidad para mejorar dichas características de calidad a partir del uso de un conservador natural, obtenido a través de técnicas de química sostenible.

### **IV. JUSTIFICACIÓN**

Hoy en día, el consumo de carne es la principal fuente de proteína en la dieta diaria. La carne que posee proteínas, aminoácidos, minerales, grasas, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos, es parte fundamental de la dieta (FAO, 2019; Santos Ordoñez, 2018). En México durante años la proteína más consumida ha sido la proveniente de aves, debido a su fácil preparación y costo accesible.

Por otro lado, la creciente preocupación y toma de conciencia de los consumidores por los productos cárnicos avícolas naturales y saludables, llevó a explorar alternativas de uso de los

aditivos químicos como son BHA, BHT o galato de propilo (GP), que se han relacionado con trastornos de la salud (Echegaray et al., 2018; Estévez & Luna, 2017)..

La investigación sobre la granada como fuente de alimento medicinal y nutricional ha aumentado en los últimos años, los estudios han demostrado que la fruta, las flores, las hojas, la raíz y la cáscara de este producto, contienen varios fitoquímicos bioactivos con potentes efectos fisiológicos (Andrade et al., 2019; Les et al., 2015; Pande & Akoh, 2016; Sun et al., 2016). Su cáscara, representa alrededor del 40-50 % del peso total de la fruta, y aunque es normalmente desechada, es uno de los subproductos más valiosos de la industria del procesamiento de fruta, lo que la ha vuelto más atractiva debido a sus considerables beneficios económicos (A. Ali et al., 2019; Ordaz-Rodríguez et al., 2022; Smaoui et al., 2019).

Asimismo, el desperdicio de subproductos agroindustriales genera importantes impactos ambientales y pérdidas monetarias demasiado grandes. Anualmente, se desperdicia un tercio de los alimentos producidos en todo el mundo (1,300 millones de toneladas), en términos monetarios esto corresponde a 936 mil millones de dólares (FAO, 2021; Ordaz et al., 2022). Actualmente, un paradigma sustentable busca agregar valor extra a estos subproductos dándoles una nueva aplicación en las cadenas productivas, favoreciendo así la economía circular. El proceso asistido por ultrasonido es una excelente herramienta para obtener compuestos verdes que cubran la reciente preocupación de la industria y los consumidores por alimentos más saludables. En este caso, la aplicación del extracto de piel de granada se presenta como una alternativa a los conservantes sintéticos por su gran capacidad antioxidante. Por otro lado, con el fin de obtener la satisfacción del cliente que consume el producto, es necesario realizar una mejora continua al mismo, por lo que, la optimización de procesos es lo que se pretende (Baş & Boyacı, 2007). En la industria alimentaria se busca lograr todos estos objetivos, sin aumentar los costes ni el tiempo, de aquí, la importancia de aplicar diseños experimentales o análisis estadísticos adecuados, a nivel científico e industrial en el desarrollo de procesos.

Por todo esto, este proyecto tiene como objetivo optimizar el proceso de extracción de compuestos fenólicos presentes en la cáscara de granada en la extracción asistida por ultrasonido (EAU) con el uso de agua como disolvente, el cual es totalmente seguro y

amigable con el medio ambiente, a fin de evaluar su posible uso como antioxidante y conservador natural de las propiedades de calidad en carne de pollo, como pH, color, oxidación lipídica, entre otros.

## **V. HIPÓTESIS**

El uso de la extracción asistida por ultrasonido manteniendo variables como amplitud, tiempo y temperatura en un nivel bajo, permite obtener un extracto acuoso de cáscara de granada con alto contenido fenólico, que en concentraciones mayores a 0.5 %, es capaz de evitar la oxidación y conservar los parámetros de calidad, como son pH, color y textura en hamburguesas de carne de pollo, en condiciones de refrigeración [0,4 °C] y congelación (-18 °C), hasta por dos semanas, de acuerdo a las normativas..

## **VI. OBJETIVOS**

### **6.1. Objetivo general.**

Aplicar un Diseño Box–Behnken que permita determinar los niveles de las variables tiempo, amplitud y temperatura para la obtención por ultrasonido de un extracto acuoso de cáscara de granada, con alto contenido fenólico, capaz de conservar las características de calidad en hamburguesas de carne de pollo.

### **6.2. Objetivos específicos.**

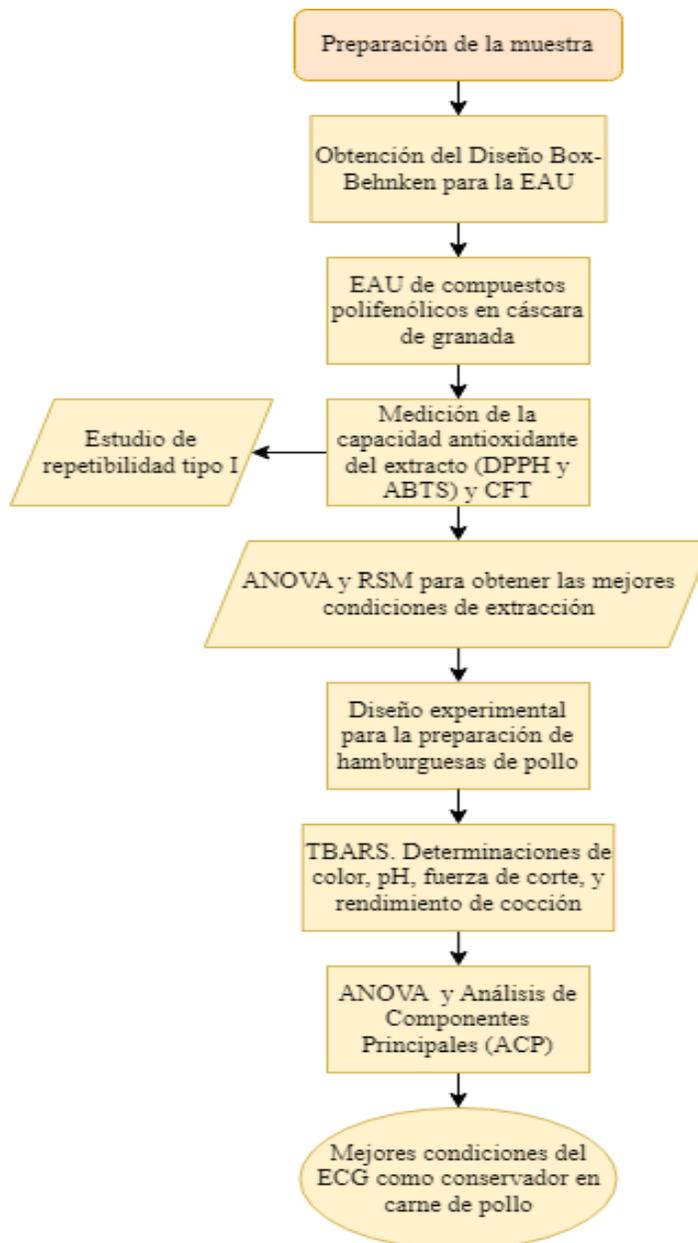
- Obtener un conservador natural, a través de un Diseño Box- Behnken aplicado a la extracción asistida por ultrasonido.
- Medir la capacidad antioxidante del propio extracto y la capacidad conservadora en hamburguesas de pollo.
  - Definir la ecuación del modelo de optimización en la extracción y establecer los niveles óptimos de amplitud, temperatura y tiempo requeridos para obtener un extracto acuoso con alto contenido fenólico y capacidad antioxidante.

- Proponer niveles de concentración del extracto de cáscara de granada, temperatura y tiempo de conservación de la calidad de carne de pollo, a través de la medición de variables como pH, color, oxidación lipídica, textura y pérdida por cocción.

## **VII. MATERIALES Y METODOLOGÍA**

La metodología de esta investigación, como se muestra en la Figura 8, comenzó con la obtención y preparación de los extractos de cáscara de granada, posteriormente se realizó un diseño del tipo Box-Behnken para obtener las condiciones a probar en la extracción asistida por ultrasonido. Una vez realizados los experimentos, el análisis por superficie de respuesta nos permitió encontrar las mejores condiciones de extracción. El mejor tratamiento se probó a dos concentraciones (0.1 % y 1.0 %) y dos condiciones de almacenamiento, refrigeración y congelación, en las propiedades de calidad en hamburguesas de pollo como pH, color, fuerza de corte y oxidación de lípidos y proteínas.

El software que se utilizó para realizar la parte estadística de este proyecto fue Minitab 19.



**Figura 4.** Diagrama de proceso de la metodología.

Fuente: Elaboración propia.

### 7.1. Preparación del polvo de cáscara de granada.

Se compró la fruta de granada (*Punica granatum* cv. Mollar de Elche) (Julio, 2021) en un mercado local y se seleccionó aquella que no presentó cortes externos visibles o deterioro.

Las frutas se lavaron y pelaron quitando los arilos y materiales adheridos. La cáscara se cortó en trozos de 1 cm<sup>2</sup> y se secó a 60 °C durante 22 h en un horno convencional. Durante el secado, se registró el cambio de peso utilizando una balanza digital (A&D Weighing, model Orion HR-200) a un intervalo de una hora (Naveena et al., 2008). El contenido de humedad de la cáscara se determinó secando la cáscara hasta alcanzar el equilibrio, es decir, hasta que no hubo más cambios de peso. Las cáscaras secas se molieron en un triturador de laboratorio (Type A10, Janke and Kunkel, IKA Labortechnik, Germany) para obtener un polvo que posteriormente se pasó por un tamiz malla 40 con abertura de 420 µm (Kanatt et al., 2010). El polvo de cáscara de granada resultante se almacenó en la oscuridad y se mantuvo a 4 °C hasta la extracción.

## 7.2. Diseño experimental del tipo Box- Behnken para la extracción de compuestos antioxidantes en cáscara de granada.

Se corrió un diseño de Box-Behnken de tres factores con 3 puntos centrales (Cuadro 5) para optimizar las condiciones de la EAU y obtener el mayor contenido fenólico total y actividad antioxidante en la extracción de compuestos fenólicos en cáscara de granada. Las variables independientes fueron: Tiempo de exposición a la sonicación (TEX)  $X_1$ : 5, 10 y 15 min, Amplitud del Ultrasonido (AUE)  $X_2$ : 20, 40 y 50 % y Temperatura de extracción (TEU)  $X_3$ : 20, 30 y 40 °C. Según las mejores condiciones obtenidas por (Kaderides et al., 2015b). Cada factor conto con tres niveles.

**Cuadro 5. Matriz experimental del diseño Box-Behnken.**

Variables independientes	Niveles factoriales		
	-1	0	1
Tiempo (min)	5	10	15
Amplitud (%)	30	40	50
Temperatura (°C)	20	30	40

Fuente: Elaboración propia.

Los datos experimentales se ajustaron a una ecuación polinomial de segundo orden para expresar la relación entre las variables independientes y las respuestas. Siguiendo la forma generalizada de la ecuación polinomial de segundo orden (Ecuación 1).

$$Y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j + \sum_{j=1}^k \beta_j X_j^2 + \sum_i \sum_{j=1}^k \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

Para determinar la falta de ajuste y otros parámetros, incluidos los efectos de las variables lineales, cuadráticas y de interacción, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA). La MSR y los análisis de datos se realizaron con MINITAB (versión 19.1, Minitab Inc.).

## **7.2. Extracción por ultrasonido de compuestos fenólicos en cáscara de granada.**

La extracción se hizo usando un homogeneizador de ultrasonidos (Cole Palmer, Instruments Company, EE. UU., 750 W de potencia nominal a 20 kHz) con una sonda de titanio. La amplitud de ultrasonido se mantuvo de manera continua durante todo el tiempo de exposición. Como se puede apreciar en la Figura 7, el recipiente con la matriz se cubrió con papel aluminio para evitar la exposición a la luz. Para ajustar la temperatura, el recipiente de la muestra se mantuvo en un baño de agua controlado por termostato, utilizando un termopar (HI 9063, Hanna Instruments Ltd. Texas, EE. UU). Los extractos resultantes se filtraron (0.20-0.25  $\mu\text{m}$ , papel filtro Whatman N° 4) y se almacenaron en ausencia de luz a  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ . Los experimentos se realizaron por triplicado de acuerdo con el Cuadro 5, obteniendo un total de 45 tratamientos experimentales, y se informó el promedio de los bloques experimentales (Cuadro 6). El rendimiento de extracción, (Y), se definió como la relación

porcentual entre el peso total de equivalentes de ácido gálico (GAE) extraído por el peso de muestra de cáscaras secas.



**Figura 5.** Equipo de Extracción Asistida por Ultrasonido de compuestos fenólicos en cáscara de granda.

Fuente: Elaboración propia.

### **7.3. Determinación de contenido fenólico total (CFT).**

El contenido fenólico total (CFT) se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu informado por (Chun et al., 2005), con algunas modificaciones. Primero, se realizó una disolución de 3  $\mu\text{L}$  de extracto de cáscara de granada en 87  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Luego, 20  $\mu\text{L}$  de la disolución anterior se mezclaron con 100  $\mu\text{L}$  de reactivo de Folin-Ciocalteu en una concentración 1:4 y 75  $\mu\text{L}$  de solución de carbonato de sodio al 20 %. La mezcla se dejó durante 30 min a temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C), posteriormente se midió la absorbancia a 750 nm con un espectrofotómetro UV-visible (Varioskan Flash Spectral Scanning Multimode Reader, Thermo Scientific, EE. UU.). Los compuestos fenólicos totales se determinaron por triplicado para cada muestra. Los resultados se expresaron como GAE/ por g de muestra seca.

### **7.4. Actividad antioxidante por DPPH y ABTS.**

La actividad captadora de radicales (DPPH) del extracto de cáscara de granada se determinó de acuerdo con el método descrito por Brand-Williams et al. (1995) con modificaciones menores.

La actividad antioxidante ABTS fue determinada por el método reportado por Re et al. (1999). La curva estándar de ambos métodos fue lineal entre 25 y 225  $\mu\text{g/mL}$ . La capacidad de captación de radicales DPPH y ABTS del extracto se calculó utilizando la curva estándar, y los resultados se expresaron en mg de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) por gramo de muestra seca.

#### **7.5. Estudio tipo I del sistema de medición (Análisis de repetibilidad).**

Se realizó un estudio tipo I del sistema de medición, evaluando únicamente los efectos del sesgo y la repetibilidad sobre las mediciones del analista con valores de referencia de las mediciones analíticas correspondientes, obtenidos de artículos en los cuales se aplicaron condiciones de extracción de los compuestos fenólicos parecidos a los de nuestro experimento.

Con el fin de obtener suficientes datos para poder llevar a cabo este análisis estadístico se tomaron en cuenta los resultados de los puntos centrales del diseño Box- Behnken (TEX:10 min, AUE: 40 % y TEU: 30 °C). Debido a que cada corrida experimental se realizó por triplicado se obtuvieron un total de 36 mediciones.

El estudio de repetibilidad se hizo usando el software MINITAB (versión 19.1, Minitab Inc.)

#### **7.6. Análisis de correlación de Pearson para el método de extracción de compuestos fenólicos.**

Se analizó el grado de correlación entre CFT, DPPH y ABTS, es decir, que tanto tienden a cambiar estas variables al mismo tiempo.

El análisis de correlación de Pearson se hizo usando el software MINITAB (versión 19.1, Minitab Inc.).

#### **7.7. Preparación de hamburguesas y diseño experimental.**

Las pechugas y muslos de pollo (*Ross 308*) se obtuvieron de los expendios de carne, según la Unión Nacional de Avicultores la estirpe más utilizada para abastecer el mercado de carne de pollo en México es *Ross 308* con un 45 % de ocupación en el mercado, estos trozos de pollo se procesaron en una moladora de carne (Rhino MOCA-12).

Las hamburguesas se dividieron en cuatro grupos. El extracto de cáscara de granada (ECG) se añadió a las muestras en dos concentraciones diferentes 0.1 % (94.46 mg GAE/g de peso seco) y 1.0 % (218.97 mg GAE/g de peso seco). El tercer grupo incluyó ácido ascórbico (AA) (0.05%) como control positivo, y el último sin ningún antioxidante (control).

Cada tratamiento se mezcló inmediatamente bien con la carne molida y se moldeó a mano, prestando atención a obtener hamburguesas casi uniformes ( $15 \pm 2$  g), se colocaron en bandejas de plástico y se sellaron con una capa de una película biofilm. Las muestras se analizaron a los 0, 4, 8, 12 y 16 días. Se llevaron a cabo tres ensayos independientes de producción de hamburguesas y se almacenaron tanto en refrigeración ( $4 \pm 1$  °C) como en congelación ( $-18 \pm 1$  °C).

### **7.8. pH y rendimiento de cocción**

El pH se determinó para cada grupo utilizando un medidor de pH (Hanna HI981036, Hanna Instruments, Padua, Italia) diseñado para el pH de la carne.

El rendimiento de cocción se determinó dividiendo el peso del producto cocido por el peso crudo sin cocer y multiplicándolo por 100, según Naveena et al. (2008).

### **7.9. Medidas colorimétricas**

Se utilizó un colorímetro Minolta (Konica Minolta CR-410, Osaka, Japón) equipado con el iluminante D65, a una apertura de visualización de 8 mm y un observador de 10° para determinar los valores de color como  $L^*$  (luminosidad),  $+a^*$  (rojez) y  $+b^*$  (amarillez), según coordenadas de color CIE (Commission Internationale de l'Eclairage). El croma ( $C^*$ ) y el tono de color (ángulo de matiz,  $h^\circ$ ) se calcularon a partir de las coordenadas de color  $a^*$  y  $b^*$  usando las siguientes ecuaciones (ecuación 2 y 3):

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (2)$$

$$h^{\circ} = \arctan(b^*/a^*) \quad (3)$$

Las medidas se obtuvieron de 5 puntos diferentes para cada muestra, y los resultados se informaron como medias de los valores.

#### **7.10. Fuerza de corte**

El trabajo de fuerza de corte (N·s) se estimó con una cuchilla Warner-Bratzler conectada a un Stable Micro System (Modelo TA. XT 2i/25 Surrey, Reino Unido), un método informado por Sharma & Yadav. (2020), y calculado como una fuerza máxima aplicada sobre el primer pico de compresión. Esta prueba se realizó en cuatro porciones de cada hamburguesa (1 cm<sup>2</sup> de alto y 2.5 cm<sup>2</sup> de diámetro) con una velocidad de cruceta de 2 mm/s.

#### **7.11. Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Se midieron las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico para determinar los niveles de malondialdehído (MDA) según el método descrito por Mancini et al. (2017) con modificaciones menores. Los resultados se expresaron como mg de MDA por kilogramo de carne fresca. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### **7.12. Extracción de proteínas**

La extracción de proteínas se realizó utilizando la metodología descrita por Paterson et al. (1993) con algunas modificaciones. La carne se molió en un mortero con nitrógeno líquido, luego se agregó 1 mL de Tampón RIPA (Tris-HCl pH 7.5 10 mM; EDTA 1 mM; NaCl 100 mM; Tween 80-1 %), la mezcla se centrifugó durante 15 min a 12 000 x g. El sobrenadante (proteína) obtenido se guardó y se mantuvo congelado para futuras determinaciones.

#### **7.13. Cuantificación de proteínas**

Las proteínas extraídas se cuantificaron con un kit de ensayo de proteínas de ácido bicinonínico (BCA1, Sigma-Aldrich). Se mezclaron 25 µL de la muestra con 200 µL del reactivo de trabajo BCA. Los niveles de absorbancia se leyeron a 562 nm utilizando un

espectrofotómetro UV-Visible (Multiskan GO, Thermo Scientific, EE. UU.). Todas las muestras se analizaron por triplicado.

#### **7.14. Medición de la oxidación de proteínas**

La oxidación de proteínas se midió estimando el contenido de carbonilo de proteína del músculo utilizando el kit de ensayo Carbonilo Proteína (MAK094, Sigma-Aldrich). Se utilizó un método colorimétrico de dinitrofenilhidrazina (DNPH) con un coeficiente de absorción de  $22 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

El contenido de carbonilo de proteína se calculó utilizando la siguiente ecuación (ecuación 4) y se informó como nmol de carbonilo/mg de proteína:

$$\text{nmol} \frac{\text{carbonil}}{\text{mg}} \text{ proteina} = \left( A_{375} / C \right) * D \quad (4)$$

Donde A es la absorbancia a 375 nm, C es la cantidad de proteína del pocillo estándar y D es el factor de dilución.

#### **7.15. Análisis estadístico**

Se aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) a los datos experimentales para determinar los efectos significativos ( $p < 0.05$ ) de los niveles del factor (días en refrigeración después de la adición del extracto de cáscara de granada). Las diferencias significativas entre los niveles de los factores se determinaron por la comparación de medias (prueba de Tukey). Se utilizó el software estadístico MINITAB (versión 19.1, Minitab Inc.) para realizar los análisis estadísticos.

### **VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES**

#### **8.1. Optimización de la extracción de compuestos fenólicos de la cáscara de granada por EAU.**

Se utilizó la metodología de superficie de respuesta (MSR) para evaluar el efecto de la amplitud de ultrasonido (AUE), el tiempo de exposición (TEX) y la temperatura de extracción (TEU) sobre las características cuantitativas y de calidad en la extracción de compuestos fenólicos en cáscara de granada, que incluyeron CFT, DPPH y ABTS.

El rendimiento de extracción varió de 21.87 a 36.67 % (Cuadro 7). Los resultados obtenidos fueron superiores a los presentados por (Sharayei et al., 2019), quienes obtuvieron rendimientos de extracción que oscilaron entre 8.4 y 15.3 %. Las condiciones óptimas de extracción reportadas por estos autores fueron una amplitud el 60 % y un tiempo máximo de 6.2 min con una predicción máxima de 13.1 % de rendimiento. Cabe resaltar que en sus experimentos también usaron agua como disolvente.

El rendimiento de compuestos fenólicos generalmente aumenta con el aumento de la potencia; sin embargo, hay un punto máximo, más allá del cual se deja de observar un aumento significativo. Una mayor potencia de ultrasonido produce radicales libres hidroxilos que degradan la capacidad antioxidante de los polifenoles, especialmente en presencia de un alto contenido de agua. Una evaluación comparativa de la literatura mostró que lo EAU contribuye a un mayor rendimiento en la extracción de polifenoles, conservando y aumentando de mejor manera la actividad biológica de los extractos de en comparación con la maceración convencional y la extracción por Soxhlet (Dzah et al., 2020). Para esta investigación también se evaluó un método de extracción convencional (datos no mostrados), demostrando lo dicho por los autores.

Los CFT variaron de 68.34 a 114.58 mg GAE/g de peso seco de cáscara de granada. El promedio de los tres bloques en cada experimento se resume en el Cuadro 6.

**Cuadro 6. Diseño Box-Behnken y resultados del tiempo, amplitud y temperatura en la EAU de compuestos fenólicos en cáscara de granada.**

Corrida	Condiciones de extracción			Resultados analíticos <sup>a</sup>			
	Tiempo [X <sub>1</sub> ] (min)	Amplitud [X <sub>2</sub> ] (%)	Temperatura [X <sub>3</sub> ] (°C)	Rendimiento (%)	CFT (mg GAE/g)	DPPH (mg TEAC/g)	ABTS (mg TEAC/g)
1	10	50	40	36.47	113.97	62.11	70.51
2	10	40	30	32.73	102.28	53.81	66.40
3	10	30	40	27.16	84.89	51.22	61.06
4	10	30	20	21.87	68.34	52.24	55.37
5	10	40	30	32.19	100.58	54.34	67.64
6	15	40	20	25.41	79.40	36.68	55.44

7	5	40	40	23.07	72.08	50.01	65.10
8	15	40	40	32.49	101.54	56.90	69.90
9	15	50	30	36.67	114.58	54.03	64.45
10	5	30	30	27.54	86.05	43.83	46.29
11	5	40	20	23.36	72.99	46.13	51.27
12	10	50	20	28.99	90.61	53.13	61.68
13	5	50	30	25.29	79.03	53.72	69.83
14	10	40	30	32.11	100.34	53.74	67.65
15	15	30	30	23.34	72.94	48.25	50.89

<sup>a</sup> Los resultados se expresan como la media (n = 3)

CFT: Contenido Fenólico Total; DPPH: actividad captadora de DPPH; ABTS: ensayo de captación de radicales ABTS.

GAE: Equivalente de Ácido Gálico; TEAC: Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox.

Los resultados indicaron que el contenido fenólico total se vio modificado de forma importante, por la amplitud de forma significativa. Sin embargo, el tiempo, la temperatura, los efectos cuadráticos y la interacción tiempo-amplitud y tiempo-temperatura también afectaron los CFT (Cuadro 7).

Una ecuación polinomial de segundo orden (Ecuación 5) se ajustó bien a los datos experimentales con un  $R^2$  de 94.83. Una falta de ajuste insignificante sugiere la confiabilidad del modelo.

$$CFT = 9.3 - 3.39 UET + 0.12 UA + 4.410 ET - 0.4173 UET^2 - 0.0248 UA^2 - 0.0913 ET^2 + 0.2433 UET * UA + 0.1153 UET * ET \quad (5)$$

En esta investigación, los CFT más altos se obtuvieron en el nivel de amplitud más alto y extendiendo el tiempo de extracción a 15 min (Figura 6). Goula et al. (2017) atribuyeron este efecto a dos etapas en la extracción; la primera etapa, caracterizada por una velocidad rápida, involucra la penetración del solvente en la estructura celular del material vegetal, seguida por la disolución de los componentes solubles en el solvente. La segunda etapa involucra la difusión externa de los componentes solubles a través de la estructura porosa de los sólidos

restantes y su transferencia desde ellos. La onda ultrasónica rompe las paredes celulares, creando una mayor área de contacto entre el solvente y el material, apareciendo más compuestos fenólicos en la superficie (Kaderides et al., 2015b).

**Cuadro 7. Análisis de varianza (ANOVA) del proceso de extracción de cáscara de granada obtenido por EAU.**

	Respuesta		
	CFT	DPPH	ABTS
<b>Efectos principales</b>			
Modelo	71.36***	33.78***	23.83***
TEX	84.45***	0.39	4.48*
AUE	184.46***	63.21***	96.58***
TEU	93.31***	86.11***	54.29***
<b>Efectos cuadráticos</b>			
TEX <sup>2</sup>	80.25***	78.35***	38.84***
AUE <sup>2</sup>	4.55*	6.51**	13.54***
TEU <sup>2</sup>	61.49***	2.04	3.59
<b>Efectos de interacción</b>			
TEX* AUE	118.23***	2.85	6.89**
TEX* TEU	26.53***	44.83***	1.02
AUE* TEU	2.32	16.80***	0.68
<b>Análisis de varianza del modelo</b>			
R <sup>2</sup>	94.83	89.68	84.95
R <sup>2</sup> adj	93.50	87.02	81.08
Falta de ajuste	0.600	0.945	0.217

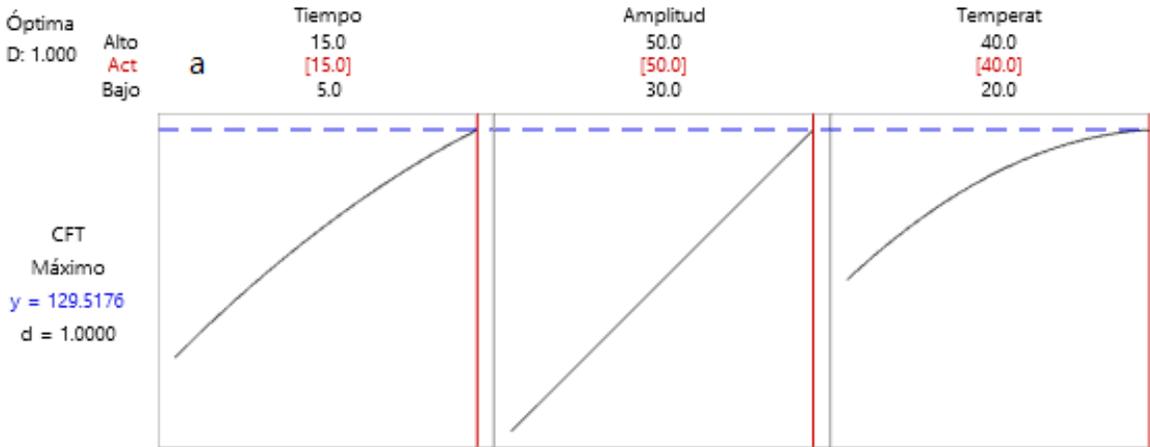
TEX= tiempo de exposición; AUE= Amplitud del ultrasonido; TEU= Temperatura de extracción.

\*Significante a ( $p < 0.05$ )

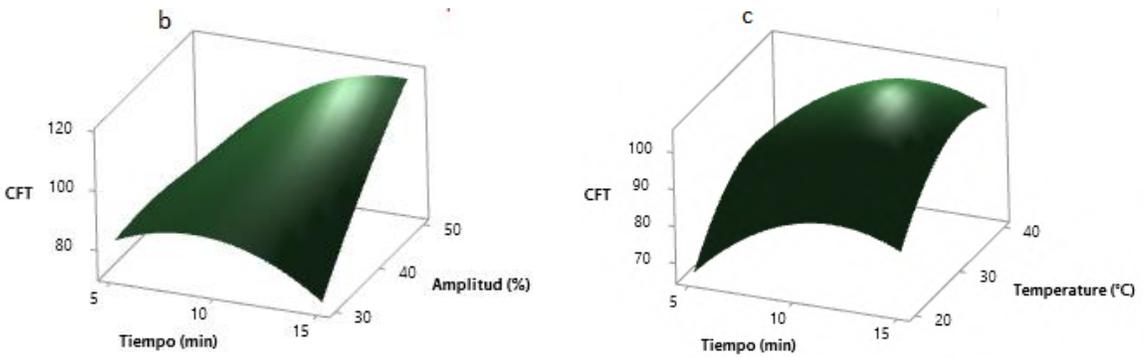
\*\* Significante a ( $p < 0.01$ )

\*\*\*Significante a ( $p < 0.001$ )

El aumento del contenido de compuestos fenólicos puede explicarse por los efectos de cavitación causados por la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad. A medida que las ondas de ultrasonido de gran amplitud viajan a través de un medio, provocan la compresión y el cizallamiento de las moléculas en el disolvente, lo que provoca cambios en la densidad y elasticidad de las células en el material. En consecuencia, las ondas de corte y compresión inicialmente sinusoidales se distorsionan en ondas de choque a una distancia finita del transductor ultrasónico (Chemat et al., 2017; Goula et al., 2017). La abrupta disminución de la presión en el borde de la onda ultrasónica en forma de diente de sierra genera pequeñas burbujas en el ciclo de presión negativa. Estas burbujas colapsan en el ciclo de presión positiva y producen condiciones de flujo turbulento asociadas a altas presiones y temperaturas (Anaya-Esparza et al., 2017; Zinoviadou et al., 2015; Zupanc et al., 2019).



a) Parámetros de EAU optimizados



b) Superficie de respuesta de tiempo y amplitud en la EAU de compuestos fenólicos de cáscara de granada      c) Superficie de respuesta de tiempo y temperatura en la EAU de compuestos fenólicos de cáscara de granada.

**Figura 6.** Gráficas de optimización y efecto de interacción de las variables en la EAU en cáscara de granada sobre el contenido total de fenoles (CFT). Fuente: Elaboración propia.

Además de la amplitud, el contenido de compuestos fenólicos mejoró simultáneamente, extendiendo la temperatura y el tiempo de extracción (Figura 6a). Este hallazgo confirmó el efecto favorecedor significativo del tiempo en la extracción de compuestos fenólicos (Figura 6 bc). La difusión de la masa bioactiva desde la matriz de la muestra hacia el solvente puede facilitarse prolongando el tiempo extracción, aumentando así los CFT.

Se estudiaron los efectos de la temperatura sobre la extracción de compuestos fenólicos y los resultados muestran que la mejor condición de temperatura fue 38.98 °C (Figura 6c). Esto puede explicarse debido al hecho que un aumento de temperatura aumenta los coeficientes de solubilidad y difusión de los compuestos a extraer y disminuye la viscosidad del solvente, facilitando así su paso a través de la masa del sustrato sólido. Otra razón puede ser la disminución de la tensión superficial, como resultado del aumento de temperatura, lo que afecta la formación y el colapso de las burbujas. Dichas burbujas pueden colapsar más fácilmente a temperaturas más elevadas (Bhangu et al., 2017; Chemat et al., 2017; Kaderides et al., 2015b).

La temperatura influye notablemente en el aumento de la porosidad del material, una mayor solvatación y transferencia de masa. Los resultados mostraron que el rendimiento de las extracciones aumentó cuando la temperatura de extracción aumentó, a temperaturas más altas, el nivel de degradación de la matriz vegetal y las estructuras celulares es mayor, lo que hace que las células sean más permeables (Jovanović et al., 2017; Ordaz-Rodríguez et al., 2022; Prakash Maran, J., Manikandan et al., 2017; Živković et al., 2018).

Sin embargo, según Dzah et al. (2020), las temperaturas de extracción superiores a 50 °C disminuyen el rendimiento total de polifenoles, probablemente debido a su degradación. Moorthy et al. (2015) demostraron que, independientemente de los beneficios, numerosos

compuestos fenólicos se hidrolizan y oxidan fácilmente a temperaturas más altas, principalmente cuando se extraen durante períodos prolongados.

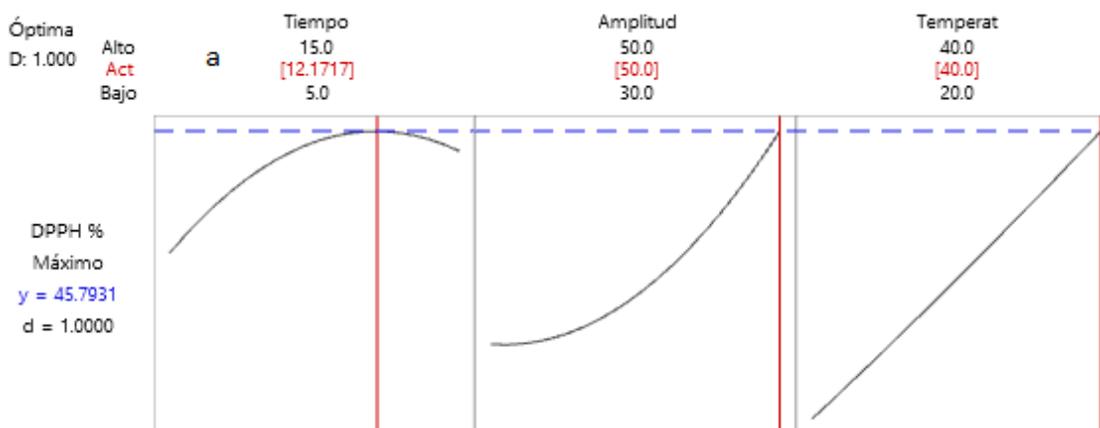
## **8.2. Efecto de las variables de proceso sobre la actividad antioxidante.**

La actividad antioxidante del extracto de cáscara de granada se evaluó en términos de actividad captadora de radicales DPPH, así como ABTS.

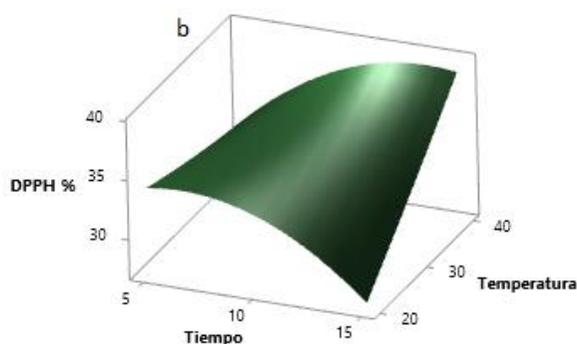
La actividad DPPH se vio modificada significativamente ( $p \leq 0.05$ ) por la temperatura de extracción y la amplitud del ultrasonido (Figura 7c). El efecto principal de la temperatura tuvo el efecto favorable más significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre DPPH (Figura 7b). Se puede observar también, que el tiempo de exposición no afectó ( $p > 0.05$ ) la actividad antioxidante (Cuadro 8).

Sharayei et al. (2019) reportaron que los valores de DPPH aumentaron al elevar la amplitud hasta en un 60 %, mientras que tuvo la tendencia de disminuir gradualmente al aumentar el tiempo de 5 a 15 min. En este estudio, las condiciones de EAU que tuvieron la mejora más significativa en la actividad captadora de radicales del extracto de cáscara de granada fueron: tiempo de exposición al ultrasonido de 11 min, amplitud del 50 % y temperatura de extracción de 40 °C.

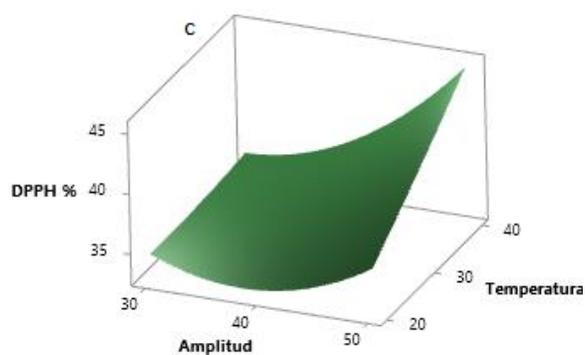
Como se muestra en la Figura 7a, la actividad captadora de radicales del extracto de cáscara de granada aumentó de manera importante con el aumento de la temperatura y amplitud a los 11 minutos de exposición. La actividad antioxidante de DPPH varió de 36.68 a 62.11 mg TEAC/g de peso seco de cáscara de granada (Cuadro 7). El modelo de regresión cuadrática tiene un coeficiente de determinación satisfactorio  $R^2 = 89.68$  (Cuadro 8).



a) Parámetros de EAU optimizados;



b) Gráficas de superficie de respuesta, tiempo y temperatura de la actividad captadora de radicales



c) Gráficas de superficie de respuesta, amplitud y temperatura de la actividad captadora de radicales

**Figura 7.** Graficas de optimización y efecto de interacción de las variables en la EAU en cáscara de granada sobre la actividad antioxidante medida por DPPH. Fuente: Elaboración propia.

Los coeficientes de regresión del modelo (Ecuación 6) mostraron un efecto lineal favorable de la amplitud del ultrasonido y la temperatura, ya que a temperaturas y amplitudes más altas se redujo la viscosidad del medio (disolvente) y se promovía el efecto de cavitación (Bhangu et al., 2017; Dzah et al., 2020; Ordaz-Rodríguez et al., 2022; Sharayei et al., 2019; Živković et al., 2018).

Los términos cuadráticos de tiempo y amplitud afectaron significativamente la actividad antioxidante de DPPH ( $p < 0.05$ ). Un tiempo de exposición prolongado es exposición mayor

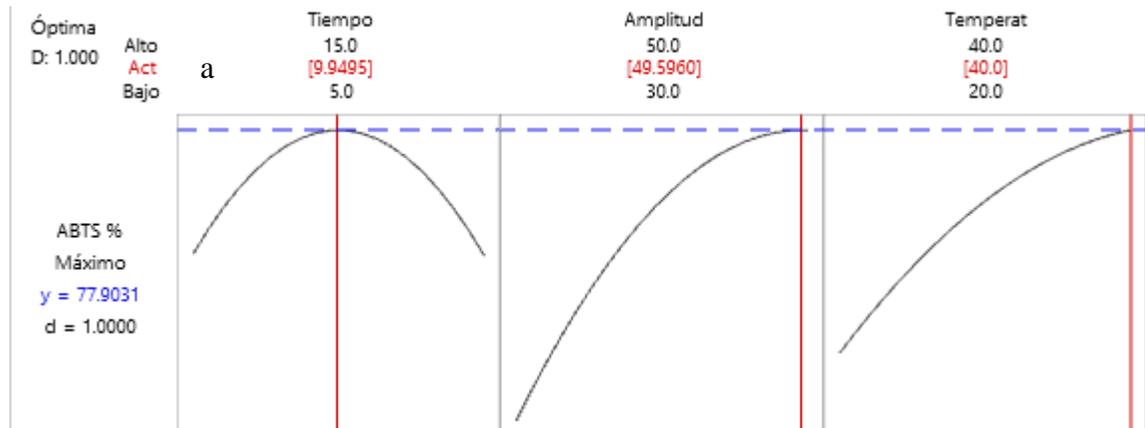
de los compuestos al fenómeno de sonicación, lo que resulta en la formación de radicales hidroxilo, que conduce a una descomposición química que puede afectar negativamente la actividad de captadora de radicales (A. Kumar & Srinivasa Rao, 2020; Z. Zhu et al., 2018).

De acuerdo con los valores de significancia de los coeficientes, el efecto de las variables del proceso en el ensayo DPPH se puede representar mediante la Ecuación 6.

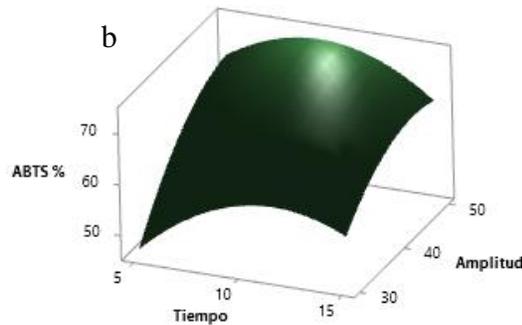
$$DPPH = 69.3 - 1.498 UA - 0.874 ET - 0.2250 UET^2 + 0.01621 UA^2 + 0.0818 UET * UA + 0.02503 UA * ET \quad (6)$$

Los resultados del Cuadro 7 muestran una variación en ABTS de 46.29 a 70.511 mg TEAC/g. Los términos lineales de tiempo, amplitud y temperatura de exposición fueron significativos ( $p < 0.05$ ). Se encontró que los términos cuadráticos de las variables tiempo y amplitud y su interacción tienen un efecto creciente (Cuadro 8) en ABTS (Figura 8b). La ecuación de regresión basada en los valores significativos de los coeficientes se muestra en la Ecuación (7).

$$ABTS = -81.0 + 6.64 UET + 3.837 UA + 1.114 ET - 0.2467 UET^2 - 0.03641 UA^2 - 0.0499 UET * UA \quad (7)$$



a. Parámetros de EAU optimizados



**b.** Superficie de respuesta ABTS de la cáscara de granada

**Figura 8.** Graficas de optimización y efecto de interacción de las variables en la EAU en cáscara de granada sobre la actividad antioxidante medida por ABTS. Fuente: Elaboración propia.

El aumento de ABTS con el aumento de los niveles en las variables independientes (Figura 8a) puede atribuirse a un mayor efecto de cavitación, que mejoró el poder antioxidante de los compuestos (A. Kumar & Srinivasa Rao, 2020; C. P. Zhu et al., 2015).

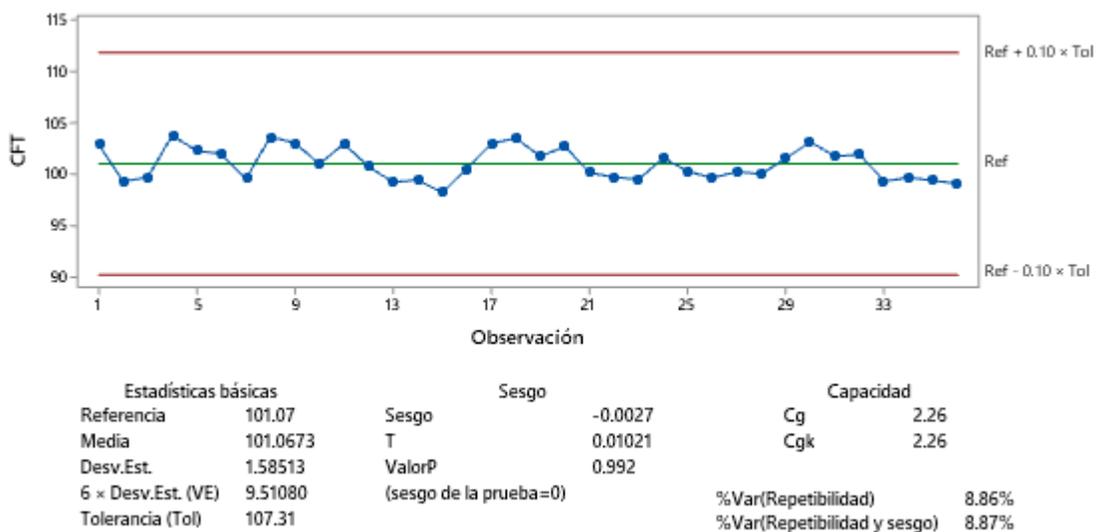
A diferencia de la técnica de DPPH, el método de ABTS<sup>•+</sup> es soluble tanto en medios acuosos como orgánicos y permite la determinación de antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos, mientras que DPPH solo puede disolverse en un medio orgánico (Kuskoski et al., 2005).

Las diferencias en la capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y ABTS puede explicarse por las diferentes polaridades de los compuestos bioactivos extraídos y el poder analítico entre las dos técnicas utilizadas. Además, la cáscara de granada presenta compuestos con un amplio rango de polaridades que se hacen presentes en los extractos recuperados. Entre estos se encuentran los compuestos polares (punicalagina y derivados) hasta compuestos moderadamente polares (ácido elágico y derivados) (García et al., 2021).

Motikar et al. (2021) y Sharayei et al. (2019) informaron que los extractos de cáscara de granada tienen una gran cantidad de fenólicos, flavonoides y proantocianidinas, posiblemente las causas de su fuerte capacidad antioxidante. El tiempo más prolongado aumenta la exposición de la cáscara de granada con el disolvente y, por tanto, conduce a una mayor

difusión de los compuestos objetivo. Este efecto generalmente se ve reforzado por un aumento simultáneo de la amplitud (Sharayei et al., 2019).

### 8.3. Análisis de repetibilidad.



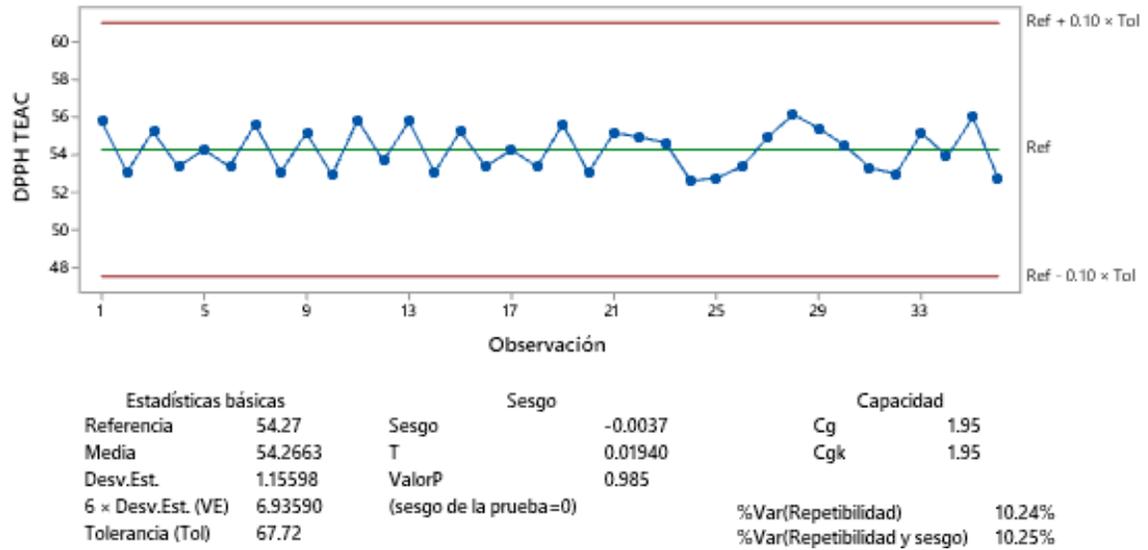
**Figura 9.** Estudio del sistema de medición tipo I para CFT.

Los resultados del análisis de medición muestran que el sistema es capaz de determinar que las mediciones realizadas de CFT se encuentran dentro del intervalo de referencia comparado con otros estudios. Para este análisis en particular se tomaron en cuenta los resultados obtenidos por Sharayei et al. (2019) como especificación inferior, es decir, 101.07 mg GAE/g de cáscara de granada, para la especificación superior se usaron los resultados de Živković et al. (2018) que resulto en 118.01mg GAE/g de cáscara de granada.

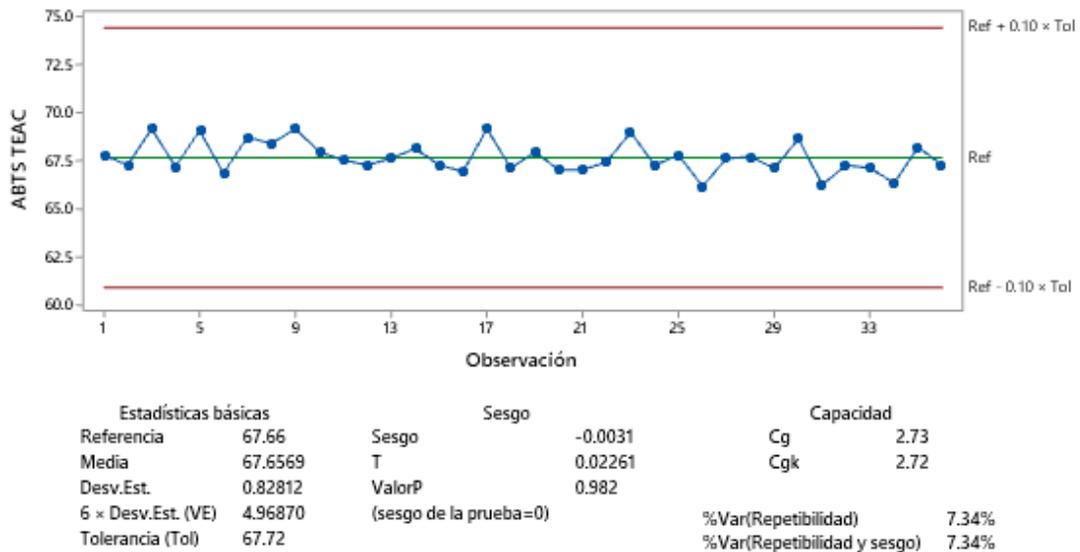
Al ser mayor de 1.33 el valor de Cg, se puede inferir que la dispersión de las mediciones es adecuadamente estrecha en relación con su rango de tolerancia.

El valor de Cgk nos permite determinar si la medición promedio de nuestro sistema difiere significativamente del valor de referencia. En nuestro estudio al ser mayor de 1.33, podemos concluir que nuestro sistema de medición es consistente con el valor de referencia. Lo cual se refleja en la media del sistema que es de 101.07 y la de referencia de 101.07.

La desviación estándar también es adecuada para validar nuestro sistema ya que es baja (1.59). El porcentaje de variación también nos permite concluir la confiabilidad de nuestro sistema al ser de 8.87 %, menor al 15 % permitido.



**Figura 10.** Estudio del sistema de medición tipo I para DPPH.



**Figura 11.** Estudio del sistema de medición tipo I para ABTS.

Los sistemas de medición para DPPH y ABTS son útiles para determinar los resultados de la capacidad captadora de radicales para estas dos técnicas dentro del intervalo de referencia, tomando éste a partir de los resultados publicados por Sharayei et al. (2019) para el intervalo inferior, siendo este de 15.8 mg TEAC/g y 83.52 mg TEAC/g (Tabaraki et al., 2012) para el intervalo superior.

Debido que los valores de  $C_g$  para las dos técnicas son mayores de 1.33, se puede inferir que la dispersión en las mediciones está en estrecha relación con el rango de tolerancia proporcionado.

Los dos sistemas se comportan de manera consistente a lo largo del estudio con el valor de referencia, esto al ser mayor de 1.33 el valor obtenido de  $C_{gk}$  para las dos técnicas. Las medias de los sistemas y del sistema de referencia se comportan de manera similar y la desviación estándar de los dos sistemas es relativamente baja.

De acuerdo con lo anterior, y tomando en cuenta el porcentaje de variación menor al 15%, se puede decir que los dos sistemas de medición son confiables.

#### 8.4. Correlación de Pearson.

El análisis multivariado de correlación de Pearson entre todas las respuestas fue realizado para evaluar la relación entre las respuestas durante el UAE de cáscara de granada puede verse en la Cuadro 8.

**Cuadro 8. Correlación en parejas de Pearson**

	CFT	DPPH	ABTS
CFT	1.000		
DPPH	0.598***	1.000	
ABTS	0.627***	0.746***	1.000

\* Significativo a ( $p < 0.05$ )

\*\* Significativo a ( $p < 0.01$ )

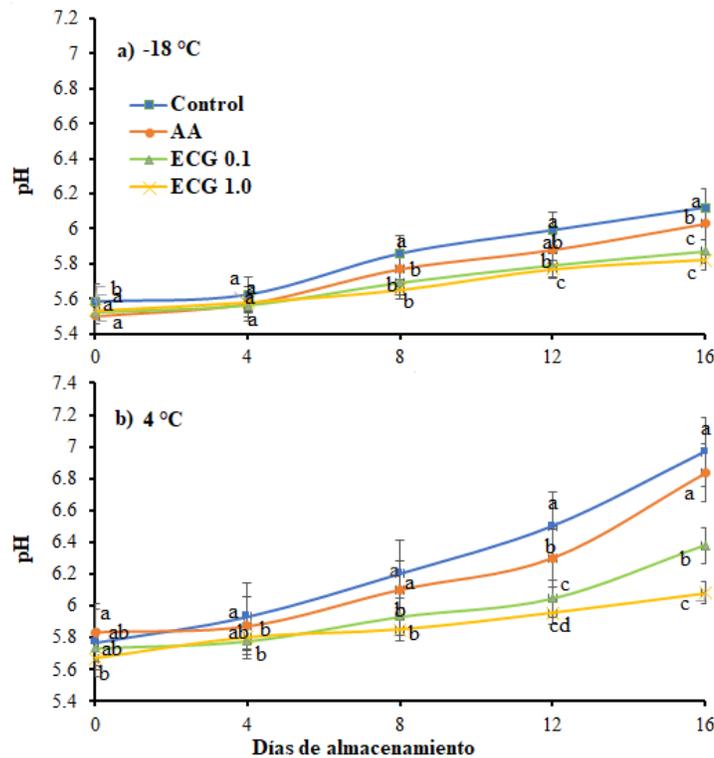
\*\*\* Significativo a ( $p < 0.001$ )

Todas las correlaciones son positivas, es decir, cuando aumenta una variable la otra también lo hace y también fueron significativas.

ABTS tiene la correlación más positiva con DPPH, con coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ) de 0.746 respectivamente (Cuadro 8). Los CFT tuvieron relación directa con todas las determinaciones de capacidad antioxidante, esto permite deducir que los fenoles son, muy probablemente, los principales causantes de esa actividad antioxidante. Lo que coincide con lo reportado por varios autores (Kulkarni & Aradhya, 2005; More & Arya, 2021).

### 8.5. Efecto del ECG sobre el pH y el rendimiento de cocción en las hamburguesas de pollo (RC)

Los resultados de los cambios en el pH de las diferentes hamburguesas crudas, congeladas y refrigeradas, que se prepararon agregando diferentes concentraciones de ECG y los controles se ilustran en las Figuras (12a y 12b). La Figura 1a muestra el pH de los diferentes grupos en condiciones de congelación. Los valores de pH en el tiempo cero fueron de 5.50 a 5.60. En casi todos los días se muestra una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) en los tratamientos. Sin embargo, a partir del día 8, se ha producido un marcado aumento del pH en las muestras de control, mientras que las muestras tratadas con diferentes concentraciones de ECG muestran valores de pH más bajos.



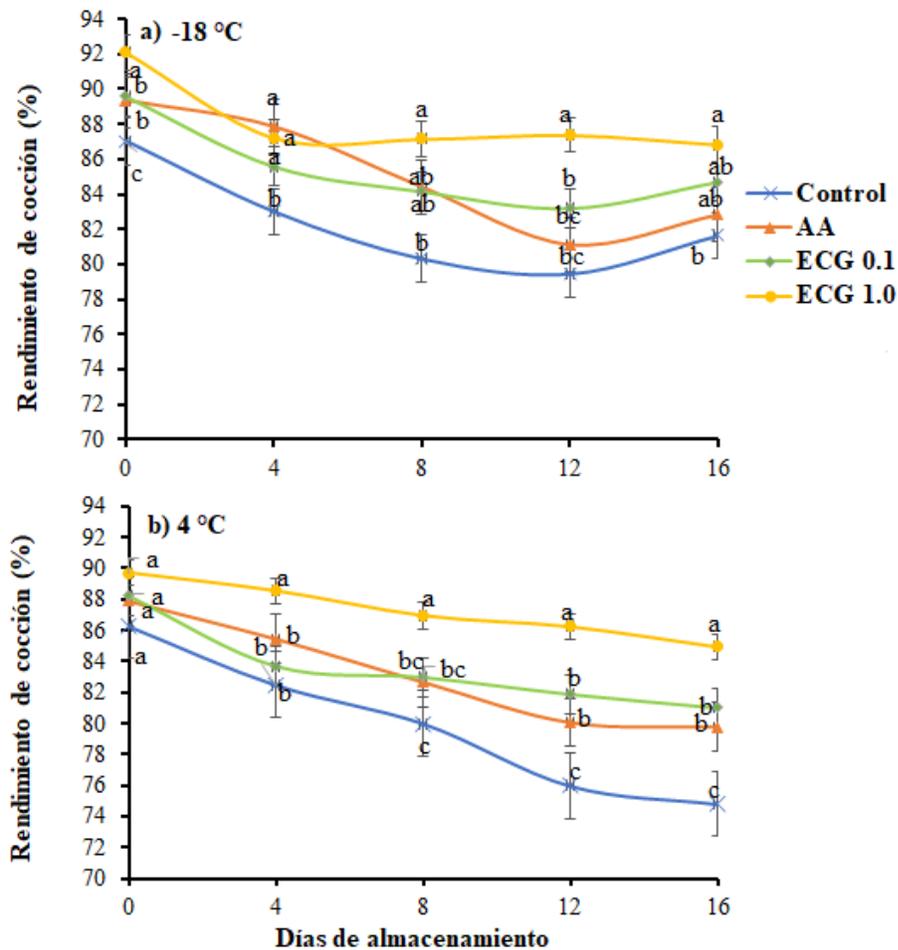
**Figura 12.** Efecto de la interacción de la adición del ECG y el tiempo de almacenamiento (a) en congelación -18 °C, (b) en refrigeración 4 °C, sobre el valor de pH.

a-d significa que los tratamientos con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). A–C significa que las condiciones de almacenamiento con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

Por otro lado, las muestras en refrigeración (Figura 12b) muestran diferencias desde el día 0. El pH aumentó más rápido en el almacenamiento a cuatro grados que las muestras congeladas. Después de 16 días de almacenamiento, el control negativo alcanzó un pH de 6.10 en congelación, pero subió a 6.90 en refrigeración. Mientras que las muestras con mayor concentración de ECG (1%) obtuvieron 5.70 y 5.90, respectivamente, valores inferiores a los grupos control, indicando una conservación significativa de los tratamientos con ECG ( $P < 0.05$ ) durante ambas condiciones de almacenamiento.

Este aumento del pH podría deberse a la descomposición de compuestos nitrogenados por enzimas endógenas o microbianas, como la proteasa y la lipasa, que provocan un aumento de las bases volátiles (p. ej., amoníaco y trimetilamina) durante el almacenamiento prolongado (Dua, S., Bhat, Z. & Kumar, 2016; Morsy et al., 2018; Yuan et al., 2016).

Los resultados del rendimiento de cocción (RC) de las hamburguesas preparadas que contenían ambas concentraciones de ECG y controles se presentan en la Figura 13. Los resultados revelaron un RC más alto en las muestras con ECG que en el control y la hamburguesa con AA agregado ( $P \leq 0.05$ ). La adición de diferentes concentraciones de ECG en las hamburguesas mejoró el RC, mientras que las muestras de control disminuyeron gradualmente durante el período de almacenamiento.



**Figura 13.** Efecto de la interacción de la adición de ECG y el almacenamiento (a) en congelación -18 °C, (b) en refrigeración 4 °C sobre el valor del rendimiento de cocción (%). a-d significa que los tratamientos con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). A-C significa que las condiciones de almacenamiento con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

A medida que aumentó el tiempo de almacenamiento, el RC de los diferentes grupos disminuyó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) durante todos los días y en ambas condiciones de almacenamiento. Esto podría deberse a la secreción de agua de las muestras de hamburguesas durante el almacenamiento. La muestra de control de las hamburguesas de pollo, así como la muestra que contenía ácido ascórbico (AA), tuvieron los valores de RC más bajos después de 16 días de almacenamiento en comparación con otras muestras (ECG 0.1 y ECG 1.0, que

contenían 0.1% y 1% de ECG, respectivamente). Sin embargo, las muestras de hamburguesas de pollo que contenían ECG mostraron los valores de RC más altos durante el almacenamiento; siendo la mayor concentración de ECG a la menor temperatura (-18 °C) de almacenamiento el mejor valor de RC. Esta disminución significativa ( $P \leq 0.05$ ) en el RC se observó en todas las muestras, posiblemente debido a la desnaturalización y agregación de proteínas y la ruptura de las células musculares, según lo informado por (Devatkal et al., 2010; Naveena et al., 2008; Qin et al., 2013). Otra posible causa del aumento de las pérdidas por cocción se puede explicar por el daño en las fibras dietéticas del material vegetal (Cofrades et al., 2000).

El procesamiento de las hamburguesas a altas temperaturas reduce la capacidad del ECG para absorber una gran cantidad de agua y aumentar de volumen durante la cocción, lo que provoca una ligera pérdida de humedad al calentarse a temperatura media (Abdel Fattah et al., 2016; Berry, 1997).

En el caso de la congelación, la formación de hielo provoca la degradación del tejido muscular y la redistribución del agua. Estas modificaciones disminuyen el RC que se manifiesta, tras la descongelación, formando exudado (Tan et al., 2018), lo que provoca una pérdida de peso considerable y una textura seca. Por lo tanto, las muestras congeladas (Figura 13a) presentaron una pérdida por cocción significativamente ( $P \leq 0.05$ ) mayor que las muestras refrigeradas (Figura 13b). Sin embargo, la interacción de factores entre el tratamiento aplicado y la temperatura resultó no significativa ( $P > 0.05$ ).

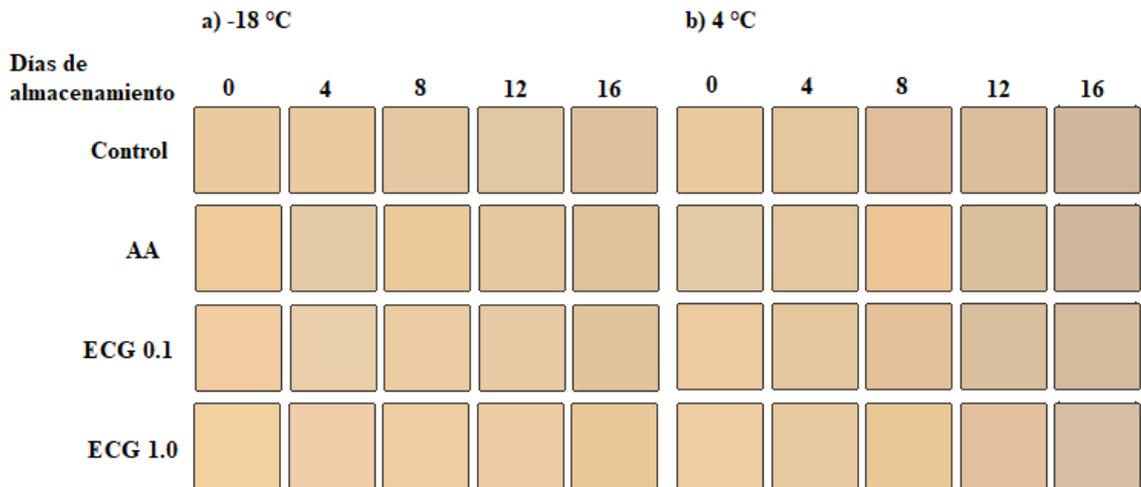
Se observó el efecto favorable de la adición de ECG en la mejora de las características de cocción de las muestras de hamburguesas de pollo, especialmente a medida que aumentaba la concentración de ECG. Estos resultados podrían correlacionarse con las propiedades funcionales del ECG como material de retención de agua, que fue el factor más importante para mejorar las características de cocción de los productos cárnicos.

#### **8.6. Mediciones colorimétricas como resultado de la adición de ECG**

Los valores medios de color (CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , C y  $h^\circ$ ) de los cuatro grupos de hamburguesas durante el almacenamiento se presentan en el Cuadro 9 y su expresión visual en la Figura 14.

El tratamiento antioxidante y el tiempo de almacenamiento fueron significativamente ( $P<0.05$ ) efectivos en todos los parámetros de color. Además, la interacción entre las variables de almacenamiento resultó significativa ( $P<0.05$ ) para  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y C, aunque no lo fue ( $P>0.05$ ) para  $h^\circ$ .

La adición de ECG cambió las hamburguesas de pollo, volviéndose ligeramente más oscuras, lo que resultó en valores de  $L^*$  más bajos (Figura 14). La reducción en la luminosidad de las hamburguesas que contienen fibras dietéticas antioxidantes de uva y sus controles durante el tiempo de almacenamiento fue reportada por Sáyago-Ayerdi et al. (2009) y Munekata et al. (2015).



**Figura 14.** Cuadros de color determinados por las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  de hamburguesas de pollo almacenadas a (a) -18 °C y (b) 4 °C durante 16 días.

Estos autores mencionan la decoloración de las empanadas de pollo cocidas con la adición de antioxidantes naturales como el extracto de piel de maní. Algunos otros factores podrían influir en los parámetros de color de la carne, como la finura del picado y las propiedades de reflexión de la superficie. Una disminución significativa de la luminosidad en estos tratamientos podría deberse al color oscuro que aporta el ECG. Las variaciones en los valores de  $L^*$  parecen depender de las concentraciones de fenoles, Naveena et al. (2008), Shahmirian et al. (2019) y Sharma & Yadav (2020) también informaron valores  $L^*$  decrecientes para productos cárnicos tratados con cáscara de granada.

Los tratamientos con ECG ( $P < 0.01$ ) redujeron los valores de  $L^*$  en comparación con el control y las hamburguesas que contenían AA (Cuadro 9). Además, el proceso de congelación también fue efectivo para mantener el color de la carne. El color de la carne congelada se volvió marrón rojizo oscuro debido a una combinación de poca reflexión de la luz, secado de la superficie y formación de metmioglobina (Turgut et al., 2017).

Otro factor importante que influye en la aceptación de las hamburguesas de carne por parte del consumidor es el parámetro  $a^*$  de la carne, que indica enrojecimiento. En el presente estudio, hubo una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) en los valores de  $a^*$  en todos los tratamientos; sin embargo, esta disminución fue mayor en el control negativo que en las muestras con AA o ECG, que mantuvieron los valores más altos de rojez.

La disminución de  $a^*$  puede deberse a la acumulación de metamioglobina en el producto. Como es sabido, la metamioglobina, formada por la oxidación de los pigmentos, provoca una disminución de  $a^*$  y  $b^*$  durante los 16 días. Para el último día de almacenamiento, las hamburguesas que contenían ECG mostraron la más mínima disminución en  $a^*$ , lo que demuestra la capacidad antioxidante eficiente del ECG.

El valor  $b^*$  se conoce como índice amarillo y varía entre -60 (azul) y 60 (amarillo). La carne fresca siempre debe reportar valores  $b^*$  positivos. Los valores de  $b^*$  han disminuido para todas las hamburguesas durante el período de almacenamiento (Tabla 2). Las hamburguesas del grupo control y ECG 1.0 % tuvieron los valores más bajos y altos de  $b^*$ , respectivamente, lo que significa un color amarillo más intenso en el grupo ECG 1.0 %.

Por otro lado, la disminución en la intensidad del color ( $C^*$ ) y el aumento en los valores de matiz ( $h^\circ$ ) indicaron la oxidación del pigmento durante el almacenamiento. Se concluyó que el cambio de color más bajo se observó en las muestras tratadas con 1.0 % de PPE en condiciones de congelación, desde el almacenamiento inicial hasta el final.

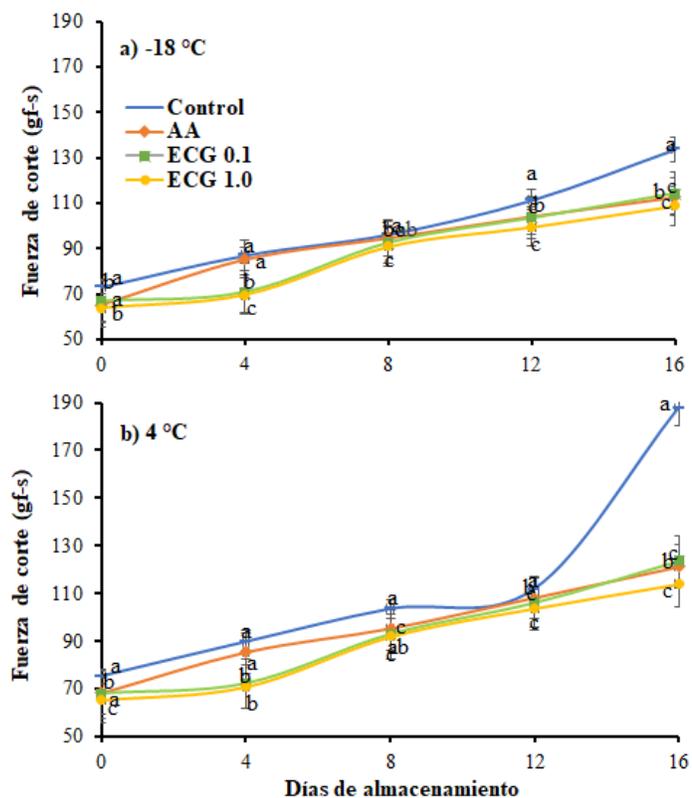
Se observó una tendencia decreciente significativa ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento debido a la oxidación de pigmentos y lípidos que resultó en un pardeamiento no enzimático. La oxidación de lípidos produce productos de reacción secundarios como pentanal, hexanal, 4-hidroxinonal y malondialdehído, así como otros compuestos oxigenados como

aldehídos, ácidos y cetonas, que pueden causar pérdida de color (Dua, S., Bhat, Z. & Kumar, 2016).

En cuanto a los parámetros de color de pollos en México sin ningún tratamiento, se han reportado valores de  $L^*$  (luminosidad) más altos,  $a^*$  (enrojecimiento) más bajos y  $b^*$  (amarillez) más altos, como lo reportaron Hernández-Coronado et al. (2019) y Hussnain et al. (2020) para la especie Ross-308, que es la especie más común en México. Sin embargo, valores como los obtenidos en este estudio han sido reportados por otros autores como Naveena et al. (2008), lo que demuestra lo dicho por Smaoui et al. (2019), quien dice que los extractos de cáscara exhiben funciones técnico-alimentarias como antioxidante, antimicrobiano, colorante y saborizante.

### **8.7. Efecto del ECG sobre el trabajo de fuerza de corte**

El análisis de la fuerza de corte reveló una reducción significativa ( $P<0.05$ ) en la dureza de las hamburguesas tratadas con ECG (ambas concentraciones), mientras que los controles mostraron los valores de dureza más altos. Sin embargo, se observó una tendencia de incremento significativa ( $P<0.05$ ) con el avance del período de almacenamiento (Figuras 15a y 15b).



**Figura 15.** Efecto de interacción de la adición de EPP y el almacenamiento (a) en congelación -18 °C, (b) en refrigeración 4 °C sobre la fuerza de corte (gf-s).

a-d significa que los tratamientos con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

A–C significa que las condiciones de almacenamiento con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

Las explicaciones probables detrás del aumento en los puntajes con el almacenamiento pueden deberse a la pérdida de humedad, la descomposición de la grasa, la proteólisis y la disminución de en la retención de agua, lo que resulta en el endurecimiento de la estructura de la hamburguesa de pollo debido a la evaporación del agua (Abdel Fattah et al., 2016; Dua, S., Bhat, Z. & Kumar, 2016).

El aumento requerido en la fuerza de corte se observa más claramente en el control negativo en el día 8 para ambas condiciones de almacenamiento; sin embargo, en el almacenamiento

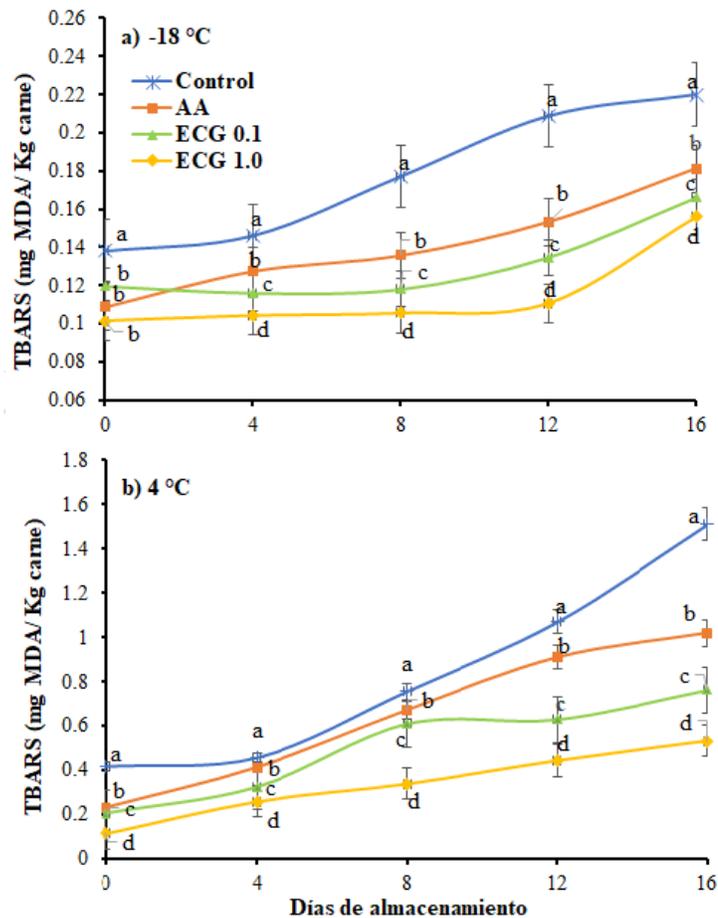
en refrigeración a  $4\pm 1$  °C (Figura 15b), hubo un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) en estos valores en comparación con el almacenamiento congelado a  $-18\pm 1$  °C (Figura 15a).

Los niveles más bajos de resistencia al corte logrados por los tratamientos con ECG podrían atribuirse a la posible actividad antimicrobiana y actividad antioxidante del extracto de cáscara de granada, lo que puede haber resultado en una menor degradación de las proteínas (Zhao et al., 2021)

Dhara et al. (2021), Sharma & Yadav (2020) y Yadav et al. (2016), también han reportado un aumento en los puntajes de dureza en albóndigas de pollo cocidas con polvo de cáscara de granada, hamburguesas de pollo tratadas con cáscara de granada y polvo de bagazo y salchicha de pollo con orujo de manzana seco, respectivamente. Dicho aumento está directamente relacionado con el aumento del esfuerzo cortante a lo largo del periodo de almacenamiento.

#### **8.8. Oxidación de lípidos (TBARS)**

El ensayo TBARS es uno de los métodos más utilizados para medir la rancidez oxidativa en los alimentos, especialmente en la carne. El efecto de los tratamientos con ECG y AA sobre los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en hamburguesas se muestra en las Figuras 16a y 16b. Los tratamientos con ECG y AA redujeron significativamente ( $P < 0.05$ ) los valores de TBARS en comparación con el control (sin antioxidantes añadidos) durante todo el almacenamiento. Los tratamientos con ECG (ECG 0.1 % y ECG 1.0 %) suprimieron significativamente ( $P < 0.05$ ) la oxidación de lípidos en hamburguesas en comparación con el tratamiento AA.



**Figura 16.** Efecto de la interacción de la adición de ECG y el almacenamiento (a) en congelación -18 °C, (b) en refrigeración 4 °C sobre TBARS (mg MDA/ Kg carne).

a-d significa que los tratamientos con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). A-C significa que las condiciones de almacenamiento con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

La concentración de ECG y el tiempo de almacenamiento afectaron significativamente ( $P < 0.01$ ) los valores TBARS de las hamburguesas. El valor más bajo de TBARS se observó en hamburguesas con ECG 1.0 %. El tiempo de almacenamiento prolongado resultó en un aumento del valor de TBARS. Las Figuras 16a y 16b ilustran el efecto de interacción del tratamiento antioxidante y el tiempo de almacenamiento en la concentración de malondialdehído (MDA) en muestras de hamburguesas durante 16 días de almacenamiento refrigerado y congelado. La adición de fuentes de antioxidantes redujo significativamente los

valores de TBARS incluso desde el primer día de almacenamiento. El mayor valor de TBARS se determinó en las muestras control con 1.50 mg MDA/kg en refrigeración. En cambio, en congelación, el valor obtenido a los 16 días fue de 0.22 mg MDA/kg de carne, demostrando el efecto significativo ( $P < 0.05$ ) de las condiciones de almacenamiento.

Los valores de TBARS pudieron haberse reducirse debido al efecto de los flavonoides y las sustancias fenólicas en la cáscara de la granada (Aly, 2019). La alta cantidad de fenoles en el ECG es responsable de su fuerte capacidad antioxidante, y varios estudios han informado la conexión entre el contenido fenólico y la actividad antioxidante.

Por ejemplo, Morsy et al. (2018) aplicaron nanopartículas de cáscara de granada (NP-CG) como antioxidante natural y antimicrobiano en albóndigas. Después de 15 días de almacenamiento a 4 °C, los indicadores de peroxidación lipídica (índice de peroxidación y TBARS) de las albóndigas que contenían 1.5 % de NP-CGs fueron inferiores a los registrados para las muestras con 0.01 % de BHT. Fourati et al. (2020) investigaron el impacto del extracto de etanol de cáscara de granada (EECG) en tres dosis (0.1 %, 0.5 % y 1 %) en la estabilidad microbiológica, oxidativa y los atributos sensoriales de la carne de res picada. Después de 21 días de almacenamiento refrigerado, los valores de TBARS fueron significativamente más bajos ( $P < 0,05$ ) en muestras de carne con 1% de EECG que en el control. Recientemente, Sharma & Yadav (2020), evaluaron empanadas de carne de pollo con cáscara de granada, y polvos de bagazo y sus extractos. Los autores informaron que las hamburguesas de pollo con cáscara de granada exhibieron una mejor protección contra la oxidación de lípidos y el deterioro microbiano durante el almacenamiento refrigerado que las muestras tratadas con BHT durante 16 días.

El efecto inhibitorio del ECG sobre la oxidación de lípidos se atribuye principalmente a sus compuestos fenólicos que muestran actividad antioxidante. Los compuestos fenólicos con actividad antioxidante inhiben la oxidación de lípidos al romper las cadenas de oxidación de radicales libres al donar hidrógeno de los grupos fenólicos, formando así un producto estable (Negi & Jayaprakasha, 2003; Turgut et al., 2017).

### 8.9. Oxidación de proteínas

La cuantificación espectrofotométrica de compuestos carbonílicos utilizando 2,4-dinitrofenilhidracina como indicador de los productos de oxidación de proteínas se utiliza ampliamente para medir el grado de reacciones oxidativas que afectan a los alimentos musculares. Los contenidos de proteína carbonilo y tiol (sulfhidrilo) se utilizaron para medir el grado de reacciones oxidativas.

El tratamiento antioxidante y el tiempo de almacenamiento tuvieron efectos significativos ( $P < 0.01$ ) sobre la concentración de carbonilos proteicos en las hamburguesas. Como se muestra en el Cuadro 10, el aumento de los niveles de carbonilo en todas las muestras durante 16 días demostró que se produjeron reacciones oxidativas durante el almacenamiento por refrigeración y congelación.

**Cuadro 10. Valores de carbonilo (nmol de carbonilo/mg de proteína) de hamburguesas crudas afectados por la adición de ECG y AA durante el almacenamiento.**

Tratamiento	Tiempo (días)			
	0		16	
	-18 °C	4 °C	-18 °C	4 °C
Control	1.45±0.15 <sup>aB</sup>	3.09±0.40 <sup>aAB</sup>	2.47±0.16 <sup>aAB</sup>	12.73±0.11 <sup>aA</sup>
AA	0.92±0.10 <sup>bB</sup>	2.82±0.12 <sup>bAB</sup>	2.06±0.07 <sup>aAB</sup>	8.00±0.08 <sup>bA</sup>
ECG 1.0	0.71±0.13 <sup>cB</sup>	2.21±0.09 <sup>cAB</sup>	1.94±0.17 <sup>bAB</sup>	3.56±0.04 <sup>cA</sup>

n=3, Media ± DE. a–c Los tratamientos dentro de las mismas condiciones de almacenamiento (columna) con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). A–D Las condiciones de almacenamiento dentro del mismo tratamiento (fila) con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

El aumento de carbonilos de proteínas muestra que las proteínas musculares fueron sometidas a estrés oxidativo, lo que conduce a la degradación oxidativa de algunas cadenas laterales de

aminoácidos como los residuos de lisina, prolina, arginina e histidina (Stadtman & Levine, 2003).

Hasta donde se sabe, los carbonilos de proteínas se forman principalmente por la interacción entre las proteínas y los aldehídos formados como resultado de la oxidación de lípidos (Turgut et al., 2016). La oxidación de proteínas provoca la formación de hidroperóxidos y carbonilos. Además, se produce una disminución en la concentración total de sulfhidrilo debido a la formación de enlaces disulfuro y ditirosina debido a la oxidación de los grupos sulfhidrilo y la reticulación intermolecular e intramolecular. Estas alteraciones dan como resultado la agregación de proteínas (Sabeena Farvin et al., 2012); reduciendo de su solubilidad, y por lo tanto su concentración (Turgut et al., 2017).

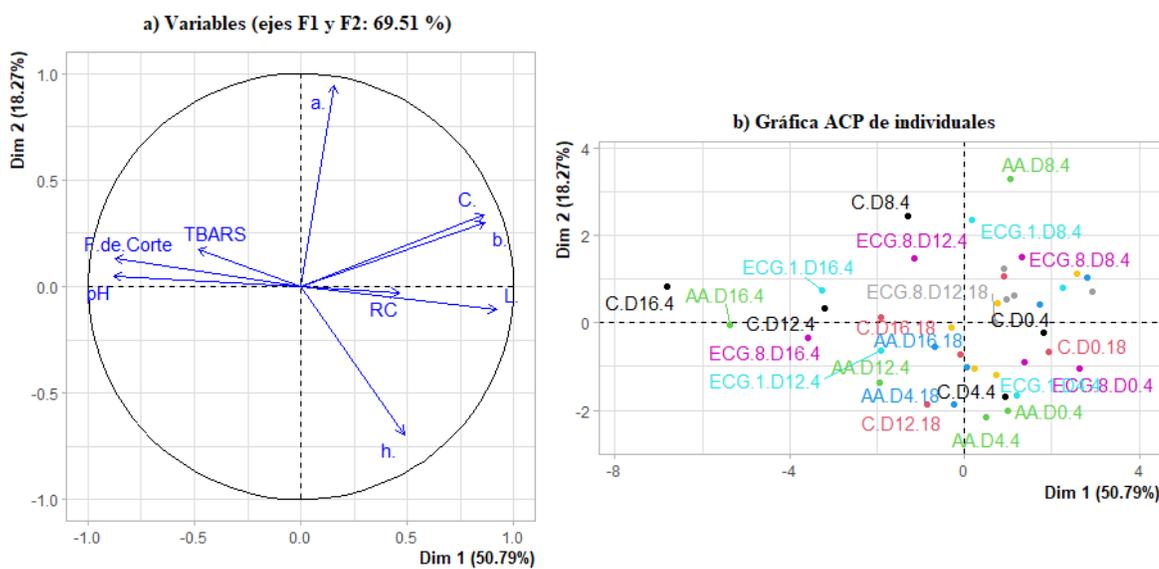
Al igual que en la oxidación de lípidos, los compuestos fenólicos del ECG también actúan como antioxidante al reducir la oxidación de proteínas (Bazargani-Gilani et al., 2015). Las reacciones oxidativas de lípidos y proteínas que ocurren en un sistema como la carne picada son muy complejas. Las dos reacciones tienen los mismos catalizadores y pueden desarrollarse de forma independiente o en paralelo, pero también pueden interactuar entre sí. Por tanto, no es fácil distinguirlos uno de otro en matrices complejas (Domínguez et al., 2019). En los sistemas cárnicos, algunos hidroperóxidos u otros compuestos oxidantes pueden inducir la oxidación de proteínas. Las moléculas de hierro libres de la mioglobina también pueden reaccionar con las proteínas y comportarse como un compuesto oxidante (Huang & Ahn, 2019). Entonces, la inhibición de la oxidación de proteínas puede ser apoyada por la inhibición de la oxidación de lípidos. Sin embargo, también se observó que hay algunas partes de la oxidación de proteínas que originaron la oxidación directa de para formar carbonilos. Sin embargo, el ECG rico en fenoles puede inhibir directamente este proceso oxidativo al quelar iones metálicos, por ejemplo, el hierro (II) liberado de la mioglobina (Domínguez et al., 2019; Huang & Ahn, 2019; Turgut et al., 2017).

Los tratamientos con ECG y el tiempo de almacenamiento influyeron significativamente en las concentraciones finales de carbonilo. Al final del período de almacenamiento, las muestras de control tenían cantidades significativamente más altas de carbonilos de proteínas que las muestras tratadas con antioxidantes. Estos resultados indicaron que las fuentes de antioxidantes fueron eficientes en la prevención de la formación de carbonilo.

Los resultados de esta investigación coinciden con los publicados por Aly, (2019), Shahmirian et al. (2019) y Turgut et al. (2016, 2017), quienes informaron que el antioxidante natural contiene un alto porcentaje de polifenoles, que son agentes potentes y antioxidantes para prolongar la vida útil de los productos alimenticios a través de a) retardar la formación compuestos tóxicos relacionados, b) mantener la calidad nutricional, y c) prevenir o minimizar la oxidación.

#### **8.10. Análisis multivariable**

ACP se llevó a cabo para obtener una visión general de la distribución de datos. Se realizó ACP para obtener información adicional sobre la influencia de las variables de respuesta analizadas, en relación con las condiciones de tratamiento. El ACP se ejecutó utilizando dos componentes principales (F1 y F2) que explican alrededor del 69.06 % de la variabilidad: F1 (50.79 %) y F2 (18.27 %). En el gráfico de carga variable de PCA (Figura 17a) se puede ver una fuerte relación entre el tiempo y las variables de respuesta como TBARS, tenacidad y pH. En general, las muestras Control, AA, PPE 0.1 % y PPE 0.8 % en los días más largos de exposición 12 y 16 días, se agruparon en el lado positivo del segundo componente (Figura 17b) y se pueden asociar con las variables TBARS, tenacidad y pH. Estos resultados concuerdan con los argumentos que sustentan el impacto del tiempo en las propiedades de calidad afectadas por la oxidación de lípidos y proteínas (Domínguez et al., 2019). En 2020, Fourati et al. También realizaron un análisis de componentes principales, en el que encontraron que la fuerte relación de la oxidación de lípidos (TBARS y PV) estaba fuertemente correlacionada con la oxidación de proteínas (carbonilos y MetMb), lo que respalda la interacción propuesta entre la oxidación de lípidos y proteínas.



**Figura 17.** Gráficos de análisis de componentes principales (PCA) de parámetros fisicoquímicos de diferentes muestras tratadas y no tratadas en cada tiempo de almacenamiento. ( a ) Gráfico de carga variables de PCA y b) Gráfico de puntuación individual de PCA.

Por otro lado, las muestras de AA, ECG 0.1% y ECG 0.8% en el día cuatro a 4 °C se ubicaron en el eje positivo de la primera PC y se asociaron con los parámetros de color como  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $C^*$  y  $b^*$ . Según lo informado por Kanatt et al. (2010), Naveena et al. (2008) y Morsy et al. (2018), sin importar la concentración o la fuente del antioxidante natural utilizado, la oxidación aumenta con el tiempo y los valores de pH tienden a aumentar. También se ha observado una gran diferencia en cuanto a las condiciones de almacenamiento, a 4 °C se pierden más rápidamente los parámetros de calidad en la carne que en la congelación. Turgut et al. (2017) demostraron que bajo congelación es posible mantener las condiciones de calidad en las albóndigas de res hasta por tres meses.

Esto demuestra el poder del extracto de cáscara de granada como aditivo, como mencionan Smaoui et al. (2019) quienes informaron que los extractos de cáscara exhiben funciones técnicas de alimentos como antioxidantes, antimicrobianos, colorantes y saborizantes. El cambio de color en la carne ya ha sido reportado previamente, tal es el caso de Wafa et al. (2017), quienes incorporaron extracto de cáscara de granada en la carne de pollo, esta

incorporación provocó un cambio de color de rosa a amarillo. A diferencia del jugo de cáscara de granada, donde las antocianinas son las encargadas de dar el color. El principal agente colorante de la piel de la granada es la granatonina, que está presente en forma de alcaloide N-metil granatonina (Naveed et al., 2022).

## **IX. CONCLUSIONES**

El proceso de extracción de compuestos fenólicos de cáscara de granada, asistido por ultrasonido, fue explorado a través de un diseño de superficie de respuesta Box-Behnken, encontrando que los mejores rendimientos de extracción y actividad antioxidante fueron aquellos tratamientos en los que se aplicaron los niveles más altos de las variables dependientes; amplitud, tiempo y temperatura, contrario a lo planteado en la hipótesis. Aunque, la literatura muestra que niveles más altos de temperatura o amplitud del ultrasonido, puede llevar a la degradación de los compuestos de interés, no obstante, se sugiere seguir investigando cual es el punto de inflexión de la capacidad antioxidante para el material biológico utilizado en esta investigación y los niveles más altos en que se encuentran. Por otro lado, ambas concentraciones (0.1% y 1.0%) de los extractos obtenidos por ultrasonido mostraron una actividad antioxidante y propiedades conservadoras significativamente mejores, incluso superiores al ácido ascórbico, en los 16 días de almacenamiento. El extracto conservador mejora las propiedades de calidad medidas en las hamburguesas de pollo, lo cual, se mejora conforme se disminuye la temperatura y se incrementa la concentración del extracto. Debido a que el método propuesto cumple con los términos de proceso verde y se hizo uso de un disolvente seguro como el agua, los extractos son aptos para ser aplicados en productos perecederos y son una alternativa a los conservadores sintéticos.

## **X. BILIOGRAFÍA**

- Abdel Fattah, A. A., Abdel-Rahman, N. R., Abd El-Razik, M. M., & El-Nashi, H. B. (2016). *Utilization of pomegranate peels for improving quality attributes of refrigerated beef burger*. 427–441.
- Adamski, M., Kuzniacka, J., & Milczewska, N. (2017). Preferences of consumers for choosing poultry meat. *Polish Journal of Natural Sciences*, 33(2), 261–271. [http://www.uwm.edu.pl/polish-journal/sites/default/files/issues/articles/adamski\\_et\\_al.\\_2017\\_0.pdf](http://www.uwm.edu.pl/polish-journal/sites/default/files/issues/articles/adamski_et_al._2017_0.pdf)

- Akuru, E. A., Oyeagu, C. E., Mpendulo, T. C., Rautenbach, F., & Oguntibeju, O. O. (2020). Effect of pomegranate (*Punica granatum* L) peel powder meal dietary supplementation on antioxidant status and quality of breast meat in broilers. *Heliyon*, 6(12), e05709. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05709>
- Ali, A., Chen, Y., Liu, H., Yu, L., Baloch, Z., Khalid, S., Zhu, J., & Chen, L. (2019). Starch-based antimicrobial films functionalized by pomegranate peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 1120–1126. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.068>
- Ali, S., Zhang, W., Rajput, N., Khan, M. A., Li, C. B., & Zhou, G. H. (2015). Effect of multiple freeze–thaw cycles on the quality of chicken breast meat. *Food Chemistry*, 173, 808–814. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.095>
- Allen, C. D., Fletcher, D. L., Northcutt, J. K., & Russell, S. M. (1998). The relationship of broiler breast color to meat quality and shelf-life. *Poultry Science*, 77, 361–366. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/ps/77.2.361>
- Aly, A. (2019). Utilization of Pomegranate Peels to Increase the Shelf Life of Chicken Burger during Cold Storage. *Egyptian Journal of Food Science*, 0(0), 0–0. <https://doi.org/10.21608/ejfs.2019.11319.1002>
- Anaya-Esparza, L. M., Velázquez-Estrada, R. M., Roig, A. X., García-Galindo, H. S., Sayago-Ayerdi, S. G., & Montalvo-González, E. (2017). Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 26–31.
- Andrade, M. A., Lima, V., Sanches Silva, A., Vilarinho, F., Castilho, M. C., Khwaldia, K., & Ramos, F. (2019). Pomegranate and grape by-products and their active compounds: Are they a valuable source for food applications? *Trends in Food Science & Technology*, 86, 68–84. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.010>
- Barbut, S. (1993). Colour measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE) occurrence in turkey meat. *Food Research International*, 26, 39–43. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0963-9969\(93\)90103-P](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0963-9969(93)90103-P)
- Barbut, S. (1997). Problem of pale soft exudative meat in broiler chickens. *British Poultry Science*, 38(4), 355–358. <https://doi.org/10.1080/00071669708418002>
- Baş, D., & Boyacı, İ. H. (2007). Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 836–845. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.024>
- Bazargani-Gilani, B., Aliakbarlu, J., & Tajik, H. (2015). Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 280–287. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.04.007>
- Becker, T. (2000). Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. *British Food Journal*, 102(3), 158–176. <https://doi.org/10.1108/00070700010371707>
- Bello Acebrón, L., & Calvo Dopico, D. (2000). The importance of intrinsic and extrinsic cues to expected and experienced quality: an empirical application for beef. Chaudhuri, A., & Holbrook, M. B. (2001). The Chain of Effects from Brand Trust and Brand Affect to Brand Performance: The Role of Brand Lo. *Food Quality and Preference*, 11(3), 229–238.
- Berri, C., Debut, M., Santé-Lhoutellier, V., Arnould, C., Boutten, B., Sellier, N., Baéza, E.,

- Jehl, N., Jégo, Y., Duclos, M. J., & Le Bihan-Duval, E. (2005). Variations in chicken breast meat quality: Implications of struggle and muscle glycogen content at death. *British Poultry Science*, *46*(5), 572–579. <https://doi.org/10.1080/00071660500303099>
- Berry, B. W. (1997). Sodium alginate plus modified tapioca starch improves properties of low-fat beef patties. *Journal of Food Science*, *62*(6), 1245–1249. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb12254.x>
- Bhangu, S. K., Gupta, S., & Ashokkumar, M. (2017). Ultrasonic enhancement of lipase-catalysed transesterification for biodiesel synthesis. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 305–309. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.005>
- Bhargava, N., Mor, R. S., Kumar, K., & Sharanagat, V. S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *70*(June 2020), 105293. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105293>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol*, *28*, 5–30.
- Burgos Larios, E. B., ANDREA, C. Z. M., & Villegas Portillo, D. E. (2021). *DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA FORMACIÓN EN TÉCNICAS DE ANÁLISIS AVANZADAS DE ALIMENTOS* [UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR]. [https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/25138/1/DESARROLLO DE UNA METODOLOGIA PARA LA FORMACIÓN EN TECNICAS AVANZADAS DE ALIMENTOS.pdf](https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/25138/1/DESARROLLO_DE_UNA_METODOLOGIA_PARA_LA_FORMACION_EN_TECNICAS_AVANZADAS_DE_ALIMENTOS.pdf)
- Calkins, C. R., & Hodgen, J. M. (2007). A fresh look at meat flavor. *Meat Science*, *77*(1), 63–80. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.04.016>
- Carvalho, R., Shimokomaki, M., & Estévez, M. (2017). Poultry meat color and oxidation. *Poultry Quality Evaluation: Quality Attributes and Consumer Values*, 133–157. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100763-1.00006-4>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A., Meullemiestre, A., & Abert-vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 550–560. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chen, L., Zeng, Q., Du, X., Sun, X., Zhang, X., Xu, Y., & Ding, L. (2009). Determination of melamine in animal feed based on liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis and dynamic microwave-assisted extraction coupled on-line with strong cation-exchange resin clean-up. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *395*(5), 1533–1542. <https://doi.org/http://doi.org/10.1007/s00216-009-3097-x>
- Chun, O. K., Kim, D. O., Smith, N., Schroeder, D., Han, J. T., & Chang, Y. L. (2005). Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *85*(10), 1715–1724. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2176>
- Cofrades, S., Guerra, M. A., Carballo, J., Fernández-Martín, F., & Jiménez Colmenero, F. (2000). Plasma protein and soy fiber content effect on bologna sausage properties as influenced by fat level. *Journal of Food Science*, *65*(2), 281–287. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15994.x>
- Consejo Mexicano de la Carne A. C. (2021). *Consejo Mexicano de la Carne A. C. COMECARNE*. <https://comecarne.org/compendio-estadistico-2021/>
- Cool, A. A. M., Zambrano, P. A. V., & Solórzano, M. V. T., Sánchez, J. H. S., & Nevárez,

- G. J. C. (2022). Efecto de pigmentos aislados de remolacha (*Beta vulgaris*) y zapallo (*Cucurbita maxima*) en la elaboración de un botón de cerdo. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(1), 2273–2289. [https://doi.org/https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v6i1.1650](https://doi.org/https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i1.1650)
- Cypress, B. S. (2017). Rigor or reliability and validity in qualitative research: Perspectives, strategies, reconceptualization, and recommendations. *Dimensions of Critical Care Nursing*, 36(4), 253–263. <https://doi.org/10.1097/DCC.0000000000000253>
- Das, A. K., Nanda, P. K., Madane, P., Biswas, S., Das, A., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2020). A comprehensive review on antioxidant dietary fibre enriched meat-based functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 99(September 2019), 323–336. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.010>
- De Liu, X., Jayasena, D. D., Jung, Y., Jung, S., Kang, B. S., Heo, K. N., & Jo, C. (2012). Differential proteome analysis of breast and thigh muscles between Korean native chickens and commercial broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(6), 895. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11374>
- Devatkal, S. K., Narsaiah, K., & Borah, A. (2010). Anti-oxidant effect of extracts of kinnow rind, pomegranate rind and seed powders in cooked goat meat patties. *Meat Science*, 85(1), 155–159. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.12.019>
- Dhara, D., Biswas, S., Biswas, O., Patra, G., & Kandasawamy, P. (2021). Effect of pomegranate peel powder on cooked spent layers chicken meatballs. *Indian Journal of Animal Health*, 60(2-Spl), 231–243. <https://doi.org/10.36062/ijah.2021.spl.01921>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, 8(10), 1–31. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>
- Dua, S., Bhat, Z. & Kumar, S. (2016). Pomegranate (*punica granatum*) rind extract as an efficient alternative to synthetic preservatives in fat-rich meat products. *Nutrition & Food Science*, 46(6), 844–856. <https://doi.org/https://doi.org/10.1108/nfs-05-2016-0061>
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., & Ma, H. (2020). The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, 35(February), 100547. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>
- Echegaray, N., Gómez, B., Barba, F. J., Franco, D., Estévez, M., Carballo, J., Marszałek, K., & Lorenzo, J. M. (2018). Chestnuts and by-products as source of natural antioxidants in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 110–121. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.10.005>
- Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., & Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. *Food Chemistry*, 219, 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122>
- Estévez, M. (2015). Oxidative damage to poultry: from farm to fork. *Poultry Science*, 94(6), 1368–1378. <https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps/pev094>
- Estévez, M., & Luna, C. (2017). Dietary protein oxidation: A silent threat to human health? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(17), 3781–3793. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1165182>

- Falowo, A. B., Fayemi, P. O., & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, *64*, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.022>
- FAO. (2019). *Carne y Productos Cárnicos*. Departamento de Agricultura y Protección Del Consumidor, Producción y Sanidad Animal. <https://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/home.html>
- FAO. (2021). *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/TP>
- Fletcher, D. L. (1999). Broiler breast meat color variation, pH, and texture. *Poultry Science*, *78*(9), 1323–1327. <https://doi.org/10.1093/ps/78.9.1323>
- Fletcher, D. L. (2002). Poultry meat quality. *World's Poultry Science Journal*, *58*(2), 131–145. <https://doi.org/10.1079/WPS20020013>
- Fletcher, D. L., Qiao, M., & Smith, D. P. (2000). The relationship of raw broiler breast meat color and pH to cooked meat color and pH. *Poultry Science*, *79*(5), 784–788. <https://doi.org/10.1093/ps/79.5.784>
- Fourati, M., Smaoui, S., Ben Hlima, H., Ennouri, K., Chakchouk Mtibaa, A., Sellem, I., Elhadeif, K., & Mellouli, L. (2020). Synchronised interrelationship between lipid/protein oxidation analysis and sensory attributes in refrigerated minced beef meat formulated with *Punica granatum* peel extract. *International Journal of Food Science and Technology*, *55*(3), 1080–1087. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14398>
- Gallo, M., Ferrara, L., & Naviglio, D. (2018). Application of ultrasound in food science and technology: A perspective. *Foods*, *7*(10), 1–18. <https://doi.org/10.3390/foods7100164>
- García, P., Fredes, C., Cea, I., Lozano-Sánchez, J., Leyva-Jiménez, F. J., Robert, P., Vergara, C., & Jimenez, P. (2021). Recovery of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel using pressurized liquid extraction. *Foods*, *10*(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods10020203>
- Giustarini, D., Dalle-Donne, I., Tsikas, D., & Rossi, R. (2009). Oxidative stress and human diseases: Origin, link, measurement, mechanisms, and biomarkers. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, *46*(56), 241–281. <https://doi.org/https://doi.org/10.3109/10408360903142326>
- Goula, A. M., Ververi, M., Adamopoulou, A., & Kaderides, K. (2017). Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 821–830. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.07.022>
- Gutiérrez, H., & Salazar, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos* (3rd ed.). McGraw-Hill.
- Hamm, R., & Honikel, K. O. (1994). Determination of the waterholding capacity of meat: history of the filter-paper press method and critical review. *Meat Past and Present: Research, Production, Consumption. Selected Topics in Retrospection on the Occasion of 40th Inter. Conf. Meat Sci. Tech.*
- Hayes, J. E. (2008). Sensory descriptors for cooked meat products. In *Handbook of processed meats and poultry analysis* (pp. 415–438). CRC Press.
- Hernández-Coronado, A. C., Silva-Vázquez, R., Rangel-Nava, Z. E., Hernández-Martínez, C. A., Kawas-Garza, J. R., Hume, M. E., & Méndez-Zamora, G. (2019). Mexican oregano essential oils given in drinking water on performance, carcass traits, and meat

- quality of broilers. *Poultry Science*, 98(7), 3050–3058. <https://doi.org/10.3382/ps/pez094>
- Huang, X., & Ahn, D. U. (2019). Lipid oxidation and its implications to meat quality and human health. *Food Science and Biotechnology*, 28(5), 1275–1285. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00631-7>
- Hussnain, F., Mahmud, A., Mehmood, S., & Jaspal, M. H. (2020). Meat quality and cooking characteristics in broilers influenced by winter transportation distance and crate density. *Journal of Poultry Science*, 57(2), 175–182. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0190014>
- Ibáñez García, A. (2021). *Desarrollo y caracterización de biocomposites con cáscara de almendra para el sector juguetero* [Universitat Politècnica de València]. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/172341>
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Ismail, I., & Joo, S. T. (2017). Poultry meat quality in relation to muscle growth and muscle fiber characteristics. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(6), 873–883. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.6.873>
- Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.044>
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., & Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 368–380. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>
- Kaderides, K., Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2015a). A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 31, 204–215. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.08.006>
- Kaderides, K., Goula, A. M., & Adamopoulos, K. G. (2015b). A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 31, 204–215. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.08.006>
- Kanatt, S. R., Chander, R., & Sharma, A. (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(2), 216–222. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02124.x>
- Kaushik, R., Saran, S., Isar, J., & Saxena, R. K. (2006). Statistical optimization of medium components and growth conditions by response surface methodology to enhance lipase production by *Aspergillus carneus*. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 40(3–4), 121–126. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2006.02.019>
- Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H., & Abdul Hamid, A. (2016). Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. *Food Chemistry*, 206, 156–166.

- <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.017>
- Khare, A. K., Biswas, A. K., Balasubramaniam, S., Chatli, M. K., & Sahoo, J. (2015). Optimization of meat level and processing conditions for development of chicken meat noodles using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6), 3719–3729. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13197-014-1431-6>
- Kijowski, J., & Niewiarowicz, A. (1978). Emulsifying properties of proteins and meat from broiler breast muscles as affected by their initial pH values. *International Journal of Food Science & Technology*, 13(5), 451–459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1978.tb00825.x>
- Kuehl, R. O. (2001). *Diseño de experimentos: Principios estadísticos de diseño y análisis de investigación* (2nd ed.). I.T.P. Latin America.
- Kulkarni, A. P., & Aradhya, S. M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93(2), 319–324. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.029>
- Kumar, A., & Srinivasa Rao, P. (2020). Optimization of pulsed-mode ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate peel using response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(6), 3493–3507. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00597-9>
- Kumar, K. (2020). Nutraceutical potential and utilization aspects of food industry by-products and wastes. In *Food Industry Wastes*. INC. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817121-9.00005-X>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726–732. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/s0101-20612005000400016>
- Les, F., Prieto, J. M., Arbonés-Mainar, J. M., Valero, M. S., & López, V. (2015). Bioactive properties of commercialised pomegranate (*Punica granatum*) juice: antioxidant, antiproliferative and enzyme inhibiting activities. *Food & Function*, 6(6), 2049–2057. <https://doi.org/https://doi.org/10.1039/c5fo00426h>
- Leygonie, C., Britz, T. J., & Hoffman, L. C. (2011). Oxidative stability of previously frozen ostrich *M. iliofibularis* packaged under different modified atmospheric conditions. *International Journal of Food Science & Technology*, 46, 1171–1178. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02603.x>
- Leygonie, C., Britz, T. J., & Hoffman, L. C. (2012). Impact of freezing and thawing on the quality of meat. *Meat Science*, 91, 93–98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.013>
- Lien, R. J., Bilgili, S. F., Hess, J. B., & Joiner, K. S. (2012). Induction of deep pectoral myopathy in broiler chickens via encouraged wing flapping. *Journal of Applied Poultry Research*, 21(3), 556–562. <https://doi.org/https://doi.org/10.3382/japr.2011-00441>
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118. <https://doi.org/https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- Manterola, C., Grande, L., Otzen, T., García, N., Salazar, P., & Quiroz, G. (2018). Confiabilidad, precisión o reproducibilidad de las mediciones. Métodos de valoración, utilidad y aplicaciones en la práctica clínica. *Revista Chilena de Infectología*, 35(6),

- 680–688. <https://doi.org/https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000600680>
- Maran, J. P., Manikandan, S., Priya, B., & Gurumoorthi, P. (2013). Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 92–104. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13197-013-0985-z>
- Marenzi, C. (1986). Proper meat storage prevents spoilage. *Poultry-Misset*, 6, 12–15.
- Marrasquin Briones, R. R. (2016). *Efecto de la adición de una mezcla de Bromelina y Papaína sobre ciertas características físico químicas de la carne vacuna* [UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL]. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/5407/1/T-UCSG-PRE-TEC-CIA-2.pdf>
- Mir, N. A., Rafiq, A., Kumar, F., Singh, V., & Shukla, V. (2017). Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 54(10), 2997–3009. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2789-z>
- Moorthy, I. G., Maran, J. P., Surya, S. M., Naganyashree, S., & Shivamathi, C. S. (2015). Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1323–1328. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.037>
- More, P. R., & Arya, S. S. (2021). Intensification of bio-actives extraction from pomegranate peel using pulsed ultrasound: Effect of factors, correlation, optimization and antioxidant bioactivities. *Ultrasonics Sonochemistry*, 72, 105423. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105423>
- Moreno Lobato, B. (2018). *Gestión de calidad y verificación de métodos analíticos en un laboratorio de investigación bajo normativa de Buenas Prácticas de Laboratorio*.
- Morsy, M. K., Mekawi, E., & Elsabagh, R. (2018). Impact of pomegranate peel nanoparticles on quality attributes of meatballs during refrigerated storage. *Lwt*, 89(November 2017), 489–495. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.022>
- Motikar, P. D., More, P. R., & Arya, S. S. (2021). A novel, green environment-friendly cloud point extraction of polyphenols from pomegranate peels: a comparative assessment with ultrasound and microwave-assisted extraction. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 56(6), 1014–1025. <https://doi.org/10.1080/01496395.2020.1746969>
- Mottram, D. S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62(4), 415–424. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00076-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00076-4)
- Munekata, P. E. S., Calomeni, A. V., Rodrigues, C. E. C., Fávaro-Trindade, C. S., Alencar, S. M., & Trindade, M. A. (2015). Peanut skin extract reduces lipid oxidation in cooked chicken patties. *Poultry Science*, 94(3), 442–446. <https://doi.org/10.3382/ps/pev005>
- Naveed, R., Bhatti, I. A., Adeel, S., Ashar, A., Sohail, I., Khan, M. U. H., Masood, N., Iqbal, M., & Nazir, A. (2022). Microwave assisted extraction and dyeing of cotton fabric with mixed natural dye from pomegranate rind (*Punica granatum* L.) and turmeric rhizome (*Curcuma longa* L.). *Journal of Natural Fibers*, 19(1), 248–255. <https://doi.org/10.1080/15440478.2020.1738309>
- Naveena, B. M., Sen, A. R., Vaithianathan, S., Babji, Y., & Kondaiyah, N. (2008). Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Science*, 80(4), 1304–1308.

- <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.005>
- Negi, P. S., & Jayaprakasha, G. K. (2003). Antioxidant and Antibacterial Activities of Punica granatum Peel Extracts. *Food Microbiology and Safety*, 68(4), 1473–1477.
- Nickerson, D. (1940). History of the Munsell color system and its scientific application. *J Opt Soc Am*, 30, 575–580. <https://doi.org/https://doi.org/10.1364/JOSA.30.000575>
- Northcutt, J. K. (2009). Factors Affecting Poultry Meat Quality. *The University of Georgia Cooperative Extension Service-College of Agricultural and Environmental Sciences-Departement of Poultry Science (Bulletin 1157)*.
- Offer, G., & Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding in meat. General principles and water uptake in meat processing. *In: Developments in Meat Science, Elsevier Applied Science Publishing Co*, 163–171.
- Ordaz-Rodríguez, S. B., Abadía-García, L., Huerta-Manzanilla, E. L., & Mendoza-Sánchez, M. (2022). Ultrasound-assisted extraction of pomegranate peel antioxidants: A green process to obtain a meat preservative. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(7), 1–13. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16712>
- Ordaz, S. B., Abadía-García, L., Femat-Díaz, A., & Mendoza-Sánchez, M. (2022). Aprendiendo a Revalorizar Los Subproductos Y Su Aplicación En Productos Cárnicos. *Epistemos*, 16(33). <https://doi.org/10.36790/epistemos.v16i33.227>
- Oswell, N. J., Thippareddi, H., & Pegg, R. B. (2018). Practical use of natural antioxidants in meat products in the U.S.: A review. *Meat Science*, 145, 469–479. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.020>
- Otero Fernández, M. G., Mazorra Lopetey, A. A., & Ulloa Enríquez, M. (2014). Evaluation of the measurement system analysis in the aluminum hydroxide gel production. *Revista Cubana de Farmacia*, 48(4), 533–541.
- Pande, G., & Akoh, C. C. (2016). Cultivars (Punica granatum L.). *In Nutritional Composition of Fruit Cultivars* (pp. 667–686). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00027-1>
- Pearson, A. M., & Dutson, T. R. (2013). *Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*.
- Pérez-Alvarez, J. A. (1996). *Contribución al estudio objetivo del color en productos cárnicos crudo-curados (PhD Thesis)*.
- Petracci, M., Betti, M., Bianchi, M., & Cavani, C. (2004). Color variation and characterization of broiler breast meat during processing in Italy. *Poultry Science*, 83(12), 2086–2092. <https://doi.org/10.1093/ps/83.12.2086>
- Petracci, M., Mudalal, S., Soglia, F., & Cavani, C. (2015). Meat quality in fast-growing broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 71(2), 363–374. <https://doi.org/https://doi.org/10.1017/s0043933915000367>
- Petracci, M., Soglia, F., Madruga, M., Carvalho, L., Ida, E., & Estévez, M. (2019). Wooden-Breast, White Striping, and Spaghetti Meat: Causes, Consequences and Consumer Perception of Emerging Broiler Meat Abnormalities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(2), 565–583. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12431>
- Prakash Maran, J., Manikandan, S., Vigna Nivetha, C., & Dinesh, R. (2017). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from Nephelium lappaceum L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1145–S1157.

- <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.007>
- Qiao, M., Fletcher, D. L., Smith, D. P., & Northcutt, J. K. (2001). The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poultry Science*, *80*(5), 676–680. <https://doi.org/10.1093/ps/80.5.676>
- Qin, Y. Y., Zhang, Z. H., Li, L., Xiong, W., Shi, J. Y., Zhao, T. R., & Fan, J. (2013). Antioxidant effect of pomegranate rind powder extract, pomegranate juice, and pomegranate seed powder extract as antioxidants in raw ground pork meat. *Food Science and Biotechnology*, *22*(4), 1063–1069. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0184-8>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *EMPA Activities*, *26*(9), 1231–1237.
- Rodríguez Cervantes, I. G. (2022). *Caracterización de variables de textura de imagen para evaluar su aplicación en la predicción de calidad de carne de res*. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Ruiz Muñoz, L. A. (2020). *Evaluación sensorial de hamburguesas al sustituir parcialmente carne y grasa de cerdo (Sus scrofa) por harina de tarwi (Lupinus mutabilis)* [UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO]. <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/8243>
- Sabeena Farvin, K. H., Grejsen, H. D., & Jacobsen, C. (2012). Potato peel extract as a natural antioxidant in chilled storage of minced horse mackerel (*Trachurus trachurus*): Effect on lipid and protein oxidation. *Food Chemistry*, *131*(3), 843–851. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.056>
- Santos Ordoñez, N. (2018). *Efecto de la incorporación de compuestos antioxidantes encapsulados en una emulsión doble (W1/O/W2), en las propiedades fisicoquímicas, funcionales y la estabilidad oxidativa de productos cárnicos emulsionados* [UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO]. [http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/2430/Efecto de la incorporación de compuestos antioxidantes encapsulados en una emulsión doble %28W1OW2%29%2C en las propiedades fisicoquímicas%2C funcionales y la estabilidad oxidativa.pdf?isAllowed=y&sequence=1](http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/2430/Efecto%20de%20la%20incorporación%20de%20compuestos%20antioxidantes%20encapsulados%20en%20una%20emulsión%20doble%20W1O/W2%29%2C%20en%20las%20propiedades%20fisicoquímicas%20funcionales%20y%20la%20estabilidad%20oxidativa.pdf?isAllowed=y&sequence=1)
- Sáyago-Ayerdi, S. G., Brenes, A., & Goñi, I. (2009). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. *Lwt*, *42*(5), 971–976. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.12.006>
- Shahamirian, M., Eskandari, M. H., Niakousari, M., Esteghlal, S., Hashemi Gahrue, H., & Mousavi Khaneghah, A. (2019). Incorporation of pomegranate rind powder extract and pomegranate juice into frozen burgers: oxidative stability, sensorial and microbiological characteristics. *Journal of Food Science and Technology*, *56*(3), 1174–1183. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03580-5>
- Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung/Food*, *44*(3), 158–163. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20000501\)44:33.0.co;2-I](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/1521-3803(20000501)44:33.0.co;2-I)
- Sharayei, P., Azarpazhooh, E., & Ramaswamy, H. S. (2020). Effect of microencapsulation on antioxidant and antifungal properties of aqueous extract of pomegranate peel. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(2), 723–733. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04105-w>

- Sharayei, P., Azarpazhooh, E., Zomorodi, S., & Ramaswamy, H. S. (2019). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *Lwt*, *101*, 342–350. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.031>
- Sharma, P., & Yadav, S. (2020). Effect of Incorporation of Pomegranate Peel and Bagasse Powder and Their Extracts on Quality Characteristics of Chicken Meat Patties. *Food Science of Animal Resources*, *40*(3), 388–400.
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2019). Antimicrobial potential of pomegranate peel: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, *54*(4), 959–965. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13964>
- Singla, M., & Sit, N. (2021). Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *73*, 105506. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105506>
- Smaoui, S., Hlima, H. B., Mtibaa, A. C., Fourati, M., Sellem, I., Elhadef, K., Ennouri, K., & Mellouli, L. (2019). Pomegranate peel as phenolic compounds source: Advanced analytical strategies and practical use in meat products. *Meat Science*, *158*(July), 107914. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107914>
- Sohaib, M., Anjum, F. M., Sahar, A., Arshad, M. S., Rahman, U. U., Imran, A., & Hussain, S. (2017). Antioxidant proteins and peptides to enhance the oxidative stability of meat and meat products: A comprehensive review. *International Journal of Food Properties*, *20*(11), 2581–259. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1246456>
- Spanier, A. M., Flores, M., McMillin, K. W., & Bidner, T. D. (1997). The effect of post-mortem aging on meat flavor quality in Brangus beef. Correlation of treatments, sensory, instrumental and chemical descriptors. *Food Chemistry*, *59*(4), 531–538. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00003-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00003-4)
- Stadtman, E. R., & Levine, R. L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, *25*(3–4), 207–218. <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0011-2>
- Suarez, Raibel & Evelia, Arévalo & Ledy, Linares & Francisco, Ustáriz & Gladys, H. (2009). Validación de un método analítico para la determinación de magnesio eritrocitario. *Avances En Química*, *4*, 53–62. [https://www.researchgate.net/publication/40424269\\_Validacion\\_de\\_un\\_metodo\\_analitico\\_para\\_la\\_determinacion\\_de\\_magnesio\\_eritrocitario](https://www.researchgate.net/publication/40424269_Validacion_de_un_metodo_analitico_para_la_determinacion_de_magnesio_eritrocitario)
- Suman, S. P., & Joseph, P. (2013). Myoglobin chemistry and meat color. *Annual Review of Food Science and Technology*, *4*, 79–99. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182623>
- Sun, W., Yan, C., Frost, B., Wang, X., Hou, C., Zeng, M., Gao, H., Kang, Y., & Liu, J. (2016). Pomegranate extract decreases oxidative stress and alleviates mitochondrial impairment by activating AMPK-Nrf2 in hypothalamic paraventricular nucleus of spontaneously hypertensive rats. *Scientific Reports*, *6*(1), 1–12. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/srep34246>
- Szmańko, T., Lesiów, T., & Górecka, J. (2021). The water-holding capacity of meat: A reference analytical method. *Food Chemistry*, *357*(March). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129727>
- Tabaraki, R., Heidarzadi, E., & Benvidi, A. (2012). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface

- methodology. *Separation and Purification Technology*, 98, 16–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.06.038>
- Tan, M., Lin, Z., Zu, Y., Zhu, B., & Cheng, S. (2018). Effect of multiple freeze-thaw cycles on the quality of instant sea cucumber: Emphatically on water status of by LF-NMR and MRI. *Food Research International*, 109(April), 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.029>
- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>
- Toldrá, F., & Flores, M. (2007). Processed pork meat flavors. In *Handbook of Food Product Manufacturing; Hui, YH, Chandan, R., Clark, S., Cross, N., Dobbs, J., Hurst, WJ, Nollet, LML, Shimoni, E., Sinha, N., Smith*, (pp. 281-302.). EB, Eds.,
- Totosaus, A., Pérez-Chabela, L., M., & Guerrero, I. (2007). Color of fresh and frozen poultry. In *Handbook of meat, poultry and seafood quality* (pp. 455–465).
- Troy, D. J., & Kerry, J. P. (2010). Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science*, 86(1), 214–226. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.009>
- Turgut, S. S., Işıkcı, F., & Soyer, A. (2017). Antioxidant activity of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during frozen storage. *Meat Science*, 129, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.02.019>
- Turgut, S. S., Soyer, A., & Işıkcı, F. (2016). Effect of pomegranate peel extract on lipid and protein oxidation in beef meatballs during refrigerated storage. *Meat Science*, 116, 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.02.011>
- Uma, D. B., Ho, C. W., & Wan Aida, W. M. (2010). Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolic Compounds from Henna ( *Lawsonia inermis* ) Leaves. *Sains Malaysiana*, 39(1), 119–128.
- Van Laack, R. L. J. M., Liu, C. H., Smith, M. O., & Loveday, H. D. (2000). Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poultry Science*, 79(7), 1057–1061. <https://doi.org/10.1093/ps/79.7.1057>
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2), 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.04.014>
- Wafa, B. A., Makni, M., Ammar, S., Khannous, L., Hassana, A. Ben, Bouaziz, M., Es-Safi, N. E., & Gdoura, R. (2017). Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum* L. extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.007>
- Wang, R. R., Pan, X. J., & Peng, Z. Q. (2009). Effects of heat exposure on muscle oxidation and protein functionalities of pectoralis majors in broilers. *Poultry Science*, 88, 1078–1084. <https://doi.org/https://doi.org/10.3382/ps.2008-00094>
- Warner, R. (2014). Measurements of water-holding capacity and color: Objective and subjective. In *Encyclopedia of Meat Sciences 2e* (pp. 164–171). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00210-5>.
- Warner, R. D. (2017). The eating quality of meat—IV Water-holding capacity and juiciness. In *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Lawrie's Meat Science* (pp. 419–459). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-08->

100694-8.00014-5.

- Warris, P. D. (2003). *Ciencia de la carne*. Editorial Acribia SA. Zaragoza, España.
- Wasserman, A. E. (1972). Thermally produced flavor components in the aroma of meat and poultry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20(4), 737–741. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf60182a015>
- Wood, J. D. (2017). Meat Composition and Nutritional Value. In *Lawrie's Meat Science: Eighth Edition* (Issue 2002). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.00020-0>
- Xiao-Ping, G., & Xin, J. H. (2006). Investigation of human's emotional responses on colors. *Color Res Appl*, 31, 411–417. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/col.20246>
- Yadav, S., Malik, A., Pathera, A., Islam, R. U., & Sharma, D. (2016). Development of dietary fibre enriched chicken sausages by incorporating corn bran, dried apple pomace and dried tomato pomace. *Nutrition and Food Science*, 46(1), 16–29. <https://doi.org/10.1108/NFS-05-2015-0049>
- Yuan, G., Lv, H., Tang, W., Zhang, X., & Sun, H. (2016). Effect of chitosan coating combined with pomegranate peel extract on the quality of Pacific white shrimp during iced storage. *Food Control*, 59, 818–823. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.011>
- Zhao, W., Yu, D., & Xia, W. (2021). Vacuum impregnation of chitosan coating combined with water-soluble polyphenol extracts on sensory, physical state, microbiota composition and quality of refrigerated grass carp slices. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 847–855. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.190>
- Zhu, C. P., Zhai, X. C., Li, L. Q., Wu, X. X., & Li, B. (2015). Response surface optimization of ultrasound-assisted polysaccharides extraction from pomegranate peel. *Food Chemistry*, 177, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.022>
- Zhu, Z., Chen, Z., Zhou, Q., Sun, D. W., Chen, H., Zhao, Y., Zhou, W., Li, X., & Pan, H. (2018). Freezing Efficiency and Quality Attributes as Affected by Voids in Plant Tissues During Ultrasound-Assisted Immersion Freezing. *Food and Bioprocess Technology*, 11(9), 1615–1626. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2103-8>
- Zimmerman, M. (2008). pH de la carne y factores que lo afectan. In *Aspectos estrategicos para obtener carne de ovino de calidad en el cono sur americano* (pp. 141–152). [https://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_ovina/produccion\\_ovina\\_carne/146-carne.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina_carne/146-carne.pdf)
- Zinoviadou, K. G., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Grimi, N., Boussetta, N., Mota, M. J., & Barba, F. J. (2015). Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Research International*, 77, 743–752. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.032>
- Živković, J., Šavikin, K., Janković, T., Čujić, N., & Menković, N. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 194(July 2017), 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.11.032>
- Zupanc, M., Pandur, Ž., Perdih, T. S., Stopar, D., Petkovšek, M., & Dular, M. (2019). Effects of cavitation on different microorganisms: The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further

research. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57, 147–165.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.009>

## XI. ANEXOS

### ANEXO I

**Cuadro 9. Efecto de los tratamientos y el tiempo sobre las propiedades de color de las hamburguesas.**

Tratamiento	Tiempo (Días)									
	0		4		8		12		16	
	-18 °C	4 °C	-18 °C	4 °C	-18 °C	4 °C	-18 °C	4 °C	-18 °C	4 °C
	<i>L*</i>									
Control	83.56	83.28	83.30	81.85	82.25	79.09	81.57	78.91	79.79	75.88
	±1.76 <sup>b</sup>	±1.12 <sup>c</sup>	±0.67 <sup>bAB</sup>	±0.37 <sup>cB</sup>	±1.45 <sup>bA</sup>	±1.46 <sup>bc</sup>	±0.91 <sup>dBC</sup>	±1.14	±1.26	±0.33
	A	BC			B	BC		bCD	cBC	cD
AA	83.74	83.03	83.07	82.05	81.75	82.02	82.64	78.97	80.23	76.25
	±1.23 <sup>b</sup>	±0.74 <sup>c</sup>	±0.51 <sup>bcAB</sup>	±0.86 <sup>abB</sup>	±1.02 <sup>cA</sup>	±1.08 <sup>ab</sup>	±1.08 <sup>cAB</sup>	±1.41	±1.00	±0.33
	A	BC			B	BC		bC	bBC	bD
ECG 0.1	84.35	83.60	84.12	82.05	83.43	80.15	83.27	79.16	80.83	77.28
	±0.77 <sup>a</sup>	±0.48 <sup>b</sup>	±0.95 <sup>bAB</sup>	±0.85 <sup>abB</sup>	±1.56 <sup>ab</sup>	±1.48 <sup>bB</sup>	±1.17 <sup>bAB</sup>	±1.27	±0.89	±0.65
	bA	A			AB	C		abB	bBC	abD
ECG 1.0	85.27	84.67	84.96	83.06	84.15	82.23	84.02	80.46	82.43	78.48
	±0.91 <sup>a</sup>	±1.49 <sup>a</sup>	±1.67 <sup>aA</sup>	±0.94 <sup>aA</sup>	±0.62 <sup>aA</sup>	±1.18 <sup>aA</sup>	±0.79 <sup>aA</sup>	±1.08	±1.03	±0.64
	A	A						aA	aA	aD
	<i>a*</i>									
Control	5.88	6.84	4.71	4.39	4.44	3.71	3.92	3.57	3.38	2.98
	±1.16 <sup>b</sup>	±0.56 <sup>b</sup>	±0.20 <sup>cBC</sup>	±0.54 <sup>bcB</sup>	±0.37 <sup>cC</sup>	±1.69 <sup>cC</sup>	±0.71 <sup>cCD</sup>	±0.45	±0.89	±1.17
	AB	A		CD	D	D		cCD	cD	cD

	6.01	7.63			4.44			4.61	3.42	3.54
AA	$\pm 0.57^a$	$\pm 0.31^c$	5.88	4.91	$\pm 0.47^{cC}$	4.82	4.42	$\pm 0.10$	$\pm 0.82$	$\pm 0.77$
	bAB	A	$\pm 0.31^{aB}$	$\pm 0.61^{bB}$	D	$\pm 0.54^{bB}$	$\pm 0.95^{bCD}$	aCD	cD	bD
	6.08	6.79			4.66			4.17	4.20	3.73
ECG 0.1	$\pm 1.17^a$	$\pm 0.42^d$	5.17	5.73	$\pm 0.99^{bC}$	5.28	4.26	$\pm 0.65$	$\pm 0.52$	$\pm 1.58$
	bAB	A	$\pm 0.61^{bBC}$	$\pm 0.38^{aA}$	D	$\pm 0.56^{aA}$	$\pm 1.10^{bCD}$	bCD	bD	bD
	6.28	6.96			5.29			4.55	4.94	4.27
ECG 1.0	$\pm 1.64^a$	$\pm 0.86^a$	5.71	4.45	5.29	4.42	4.98	$\pm 0.88$	$\pm 1.28$	$\pm 0.84$
	A	A	$\pm 0.54^{aA}$	$\pm 0.38^{bB}$	$\pm 1.47^{aA}$	$\pm 1.24^{ab}$	$\pm 1.38^{aC}$	aCD	aC	aD

**b\***

	27.27	26.67			23.00			21.98	22.88	17.07
Control	$\pm 1.82^b$	$\pm 0.58^c$	25.56	$\pm 1.02^{bA}$	$\pm 1.72^{cAB}$	$\pm 0.93^c$	$22.17 \pm 1.7$	$\pm 1.55$	$\pm 1.80$	$\pm 1.15$
	A	A	$\pm 1.47^{bAB}$	BC	C	BCD	$1^{cCD}$	bD	aCD	abE
	28.33	28.44			24.84			21.34	20.75	16.26
AA	$\pm 1.64^a$	$\pm 1.32^b$	27.85	$\pm 1.65^{cA}$	$\pm 1.23^{bAB}$	$\pm 1.38^b$	$23.32 \pm 1.4$	$\pm 1.69$	$\pm 1.12$	$\pm 1.57$
	A	A	$\pm 1.86^{aAB}$	BC	C	BCD	$3^{bCD}$	bD	cCD	bE
	26.84	26.78			24.10			20.44	21.51	18.37
ECG 0.1	$\pm 1.41^c$	$\pm 1.66^c$	25.23	$\pm 1.29^{bA}$	$\pm 1.64^{bAB}$	$\pm 1.07^b$	$22.70 \pm 0.7$	$\pm 1.92$	$\pm 1.73$	$\pm 1.75$
	A	A	$\pm 1.42^{bAB}$	BC	C	BCD	$3^{cCD}$	cD	bCD	aE
	28.12	29.10			26.91			22.58	22.88	15.68
ECG 1.0	$\pm 1.04^a$	$\pm 1.55^a$	27.93	$\pm 1.25^{aA}$	26.91	25.07	$25.17 \pm 1.1$	$\pm 1.50$	$\pm 1.68$	$\pm 1.91$
	A	A	$\pm 1.67^{aAB}$	BC	$\pm 1.13^{aA}$	B	$4^{aB}$	aD	aCD	cE

**C**

	27.63	27.10			23.43			22.46	23.36	16.45
Control	$\pm 1.03^b$	$\pm 0.71^b$	26.23	$\pm 1.07^{abA}$	$\pm 1.74^{dAB}$	$\pm 1.24^d$	22.44	$\pm 1.55$	$\pm 1.91$	$\pm 1.25$
	A	AB	$\pm 1.46^{bAB}$	BCD	CD	ABC	$\pm 1.82^{cBCD}$	bD	aCD	bcE

	28.93	22.66		22.87	25.16	29.45		21.66	20.97	16.85
AA	$\pm 1.70^a$	$\pm 1.32^c$	28.49	$\pm 1.71^{cA}$	$\pm 1.23^{bAB}$	$\pm 1.28_a$	23.74	$\pm 1.68$	$\pm 1.21$	$\pm 1.83$
	A	CD	$\pm 1.88^{aA}$	BCD	CD	A	$\pm 1.52^{bBCD}$	cD	cCD	bE
	27.52	27.39		24.74	24.63	26.43		20.87	21.94	19.12
ECG 0.1	$\pm 1.39^b$	$\pm 1.06^b$	25.77	$\pm 1.31^{bA}$	$\pm 1.63^{cAB}$	$\pm 1.40_b$	23.09	$\pm 1.93$	$\pm 1.79$	$\pm 0.97$
	A	AB	$\pm 1.41^{cAB}$	BCD	CD	ABC	$\pm 0.85^{bBCD}$	dD	bCD	aE
	28.81	29.93		26.74		25.45		23.02	23.42	16.30
ECG 1.0	$\pm 1.19^a$	$\pm 1.69^a$	28.52	$\pm 1.28^{aA}$		27.44	25.65	$\pm 1.61$	$\pm 1.85$	$\pm 1.97$
	A	A	$\pm 1.70^{aAB}$	BCD		$\pm 1.30^{aAB}$	$\pm 1.29^{aBCD}$	aD	aCD	bcE

$h^\circ$

	77.05	73.00		73.95	79.07	78.15		79.76	81.24	82.12
Control	$\pm 0.95^b$	$\pm 0.87^b$	78.38 $\pm 0.6$	$\pm 0.67^{dA}$	$\pm 0.64^{ab}$	$\pm 1.41^{bA}$	80.79	$\pm 1.12$	$\pm 0.91$	$\pm 1.14$
	cA	AB	$2^{abAB}$	B	AB	B	$\pm 0.71^{abAB}$	bAB	aAB	aB
	77.83	80.93		81.54	79.25	74.94		80.12	81.11	74.96
AA	$\pm 0.45^a$	$\pm 0.78^a$	78.27 $\pm 0.3$	$\pm 1.00^{aA}$	$\pm 0.92^{aA}$	$\pm 1.62^{cA}$	81.83	$\pm 0.54$	$\pm 0.75$	$\pm 1.55$
	A	AB	$2^{bAB}$	B	B	B	$\pm 0.78^{aAB}$	aAB	aAB	dB
	77.24	74.04		75.20	78.35	77.92		78.39	78.92	81.32
ECG 0.1	$\pm 0.49^b$	$\pm 0.90^b$	78.72 $\pm 1.6$	$\pm 0.50^{cA}$	$\pm 1.22^{cA}$	$\pm 1.29^{bA}$	79.62	$\pm 1.51$	$\pm 0.70$	$\pm 0.95$
	A	cAB	$2^{aAB}$	B	B	B	$\pm 1.22^{bAB}$	cAB	cAB	bB
	77.40	74.25		76.54	78.55	78.94		80.16	79.01	80.82
ECG 1.0	$\pm 1.39^a$	$\pm 1.51^b$	77.69 $\pm 0.9$	$\pm 1.82^{bA}$	$\pm 1.21^{bA}$	$\pm 0.67^{aA}$	79.99	$\pm 1.13$	$\pm 1.72$	$\pm 0.91$
	bA	AB	$5^{cAB}$	B	B	B	$\pm 1.25^{abAB}$	aAB	bAB	cB

n=6, Media  $\pm$  DE. a–c Los tratamientos dentro de las mismas condiciones de almacenamiento (columna) con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ). A–E Las condiciones de almacenamiento dentro del mismo tratamiento (fila) con diferentes superíndices son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

## ANEXO II

**Cuadro 11. Capacidad antioxidante de hamburguesas crudas (ABTS, DPPH) con y sin extracto de cáscara de granada.**

Formulación	Storage time									
	Día 0		Día 1		Día 2		Día 4		Día 7	
	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS
C	0.32 <sup>d</sup>	24.82 <sup>i</sup>	0.21 <sup>c</sup>	23.38 <sup>k</sup>	0.19 <sup>d</sup>	21.52 <sup>l</sup>	0.12 <sup>d</sup>	21.19 <sup>i</sup>	0.10 <sup>c</sup>	18.66 <sup>g</sup>
AA	11.02 <sup>bc</sup>	76.62 <sup>bc</sup>	9.08 <sup>b</sup>	76.41 <sup>bc</sup>	7.40 <sup>b</sup>	75.76 <sup>bc</sup>	6.55 <sup>bc</sup>	74.10 <sup>bc</sup>	5.20 <sup>bc</sup>	73.91 <sup>ab</sup>
T1-0.1 %	14.39 <sup>b</sup>	79.48 <sup>b</sup>	8.78 <sup>bc</sup>	79.23 <sup>ab</sup>	7.28 <sup>bc</sup>	79.19 <sup>b</sup>	6.80 <sup>b</sup>	78.25 <sup>b</sup>	5.95 <sup>b</sup>	76.48 <sup>ab</sup>
T1-0.8 %	26.03 <sup>a</sup>	90.11 <sup>a</sup>	23.85 <sup>a</sup>	86.69 <sup>a</sup>	17.02 <sup>a</sup>	86.00 <sup>a</sup>	15.40 <sup>a</sup>	85.61 <sup>a</sup>	14.71 <sup>a</sup>	81.15 <sup>a</sup>
T2-0.1 %	4.75 <sup>cd</sup>	66.31 <sup>e</sup>	4.59 <sup>bc</sup>	64.74 <sup>def</sup>	3.60 <sup>cd</sup>	62.83 <sup>fg</sup>	2.59 <sup>cd</sup>	57.61 <sup>de</sup>	1.49 <sup>bc</sup>	55.74 <sup>de</sup>
T2-0.8 %	5.66 <sup>cd</sup>	73.91 <sup>bcd</sup>	4.83 <sup>bc</sup>	73.03 <sup>bcd</sup>	3.38 <sup>cd</sup>	71.44 <sup>cd</sup>	2.87 <sup>cd</sup>	71.01 <sup>c</sup>	1.62 <sup>bc</sup>	70.20 <sup>b</sup>
T3-0.1 %	3.12 <sup>d</sup>	54.63 <sup>f</sup>	2.55 <sup>bc</sup>	52.76 <sup>ghi</sup>	2.21 <sup>d</sup>	52.03 <sup>hi</sup>	1.34 <sup>d</sup>	51.37 <sup>ef</sup>	0.83 <sup>c</sup>	48.35 <sup>ef</sup>
T3-0.8 %	4.65 <sup>cd</sup>	64.70 <sup>e</sup>	4.47 <sup>bc</sup>	61.72 <sup>efg</sup>	2.62 <sup>cd</sup>	57.52 <sup>gh</sup>	1.83 <sup>d</sup>	56.63 <sup>de</sup>	1.58 <sup>bc</sup>	55.19 <sup>de</sup>

Las diferentes letras del alfabeto en la misma columna indican valores promedio distintos con una significancia de ( $p < 0.05$ ). Los resultados se expresan como medias ( $n = 3$ ). DPPH y ABTS son expresados en % de inhibición. C: Control Negativo (sin aditivos, solo carne); AA: Control positivo (Ácido ascórbico, ácido ascórbico); T1: 15 min, 40 °C, amplitud- 50%; T2: 11.46 min, 40 °C, 50%; T3: 10 min, 40 °C, 50%.