



**UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA**

---

---

**DOCTORADO EN BIOCIENCIAS**

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y  
BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE  
BIOCOMPUESTOS EN RESIDUOS DE  
AGUACATE PARA SU APLICACIÓN EN  
JAMÓN HORNEADO ARTESANAL**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:  
DOCTOR EN BIOCIENCIAS**

**PRESENTA:  
NILL CAMPOS GONZÁLEZ**

**DIRECTORA:  
DRA. MARÍA ELENA SOSA MORALES  
CO DIRECTOR:  
DR. JULIÁN ANDRÉS GÓMEZ SALAZAR**

**JULIO 2025**



**Universidad  
de Guanajuato**

**CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA**

*"Universidad de Guanajuato: 80 años de ser la Universidad Pública del Estado".  
"2025, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato"  
"30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad"*

## **DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA**

### **"CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE BIOCOMPUESTOS EN RESIDUOS DE AGUACATE PARA SU APLICACIÓN EN JAMÓN HORNEADO ARTESANAL"**

**TESIS**

**QUE PRESENTA**

**NILL CAMPOS GONZÁLEZ**

**PARA OBTENER EL GRADO DE**

**DOCTOR EN BIOCENCIAS**

**DIRECTORA DE TESIS**

**DRA. MARIA ELENA SOSA MORALES**

**CO-DIRECTOR**

**DR. JULIÁN ANDRÉS GÓMEZ SALAZAR**

**Irapuato, Gto., Junio de 2025.**





Universidad  
de Guanajuato

CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA

*"Universidad de Guanajuato: 80 años de ser la Universidad Pública del Estado".  
"2025, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato"  
"30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad"*

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

DIRECCIÓN

Oficio: DICIVA/0389/2025.

Asunto: TEMA DE TRABAJO.

C.

DR. JUAN ANTONIO RAMÍREZ VÁZQUEZ,  
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA  
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,  
P R E S E N T E.

En relación al trabajo de titulación del C. NILL CAMPOS GONZÁLEZ, me permito comunicar a Usted que el tema señalado fue:

**"CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE  
BIOCOMPUESTOS EN RESIDUOS DE AGUACATE PARA SU  
APLICACIÓN EN JAMÓN HORNEADO ARTESANAL"**

Y que dicho trabajo ha sido totalmente elaborado y cuenta con mi aprobación.

Asimismo, me permito proponer a:

DR. ALBERTO SALDAÑA ROBLES  
DR. ABEL CERÓN GARCÍA  
DR. CÉSAR OZUNA LÓPEZ  
DRA. SONIA G. SÁYAGO AYERDI

Para que junto conmigo integren el Jurado.

A T E N T A M E N T E  
"LA VERDAD OS HARA LIBRES"  
Irapuato, Gto., 23 de Junio de 2025.

DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARÍA ELENA SOSA MORALES





Universidad  
de Guanajuato

CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA

*"Universidad de Guanajuato: 80 años de ser la Universidad Pública del Estado".  
"2025, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato"  
"30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad"*

DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

DIRECCIÓN

Oficio: DICIVA/0390/2025.

Asunto: REVISIÓN DE TESIS.

Irapuato, Gto., 25 de Junio de 2025.

C.

DR. JUAN ANTONIO RAMÍREZ VÁZQUEZ  
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA  
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,  
P R E S E N T E.

Habiendo revisado la Tesis del C. NILL CAMPOS GONZÁLEZ,

Titulada:

**"CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE  
BIOCOMPUESTOS EN RESIDUOS DE AGUACATE PARA SU  
APLICACIÓN EN JAMÓN HORNEADO ARTESANAL"**

Damos nuestra aprobación para la impresión de la misma.

DIRECTORA

DRA. MARÍA ELENA SOSA MORALES

SINODAL

DR. ALBERTO SALDAÑA ROBLES

SINODAL

DR. CÉSAR OZUNA LÓPEZ

SINODAL

DR. ABEL CERÓN GARCÍA

SINODAL

DRA. SONIA G. SÁYAGO AYERDI.





Universidad  
de Guanajuato

CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA

"Universidad de Guanajuato: 80 años de ser la Universidad Pública del Estado".  
"2025, a 200 años de la instalación del Primer Congreso Constituyente de Guanajuato"  
"30 años de autonomía universitaria, un legado de responsabilidad y libertad"

## DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA

C.

DR. JUAN ANTONIO RAMÍREZ VÁZQUEZ,  
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA  
CAMPUS IRAPUATO - SALAMANCA,  
P R E S E N T E.

En relación al trabajo de titulación del C. NILL CAMPOS GONZÁLEZ, nos permitimos comunicar a Usted que el trabajo de Tesis: "CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y BIOACCESIBILIDAD *IN VITRO* DE BIOCOMPUESTOS EN RESIDUOS DE AGUACATE PARA SU APLICACIÓN EN JAMÓN HORNEADO ARTESANAL", que fue desarrollado bajo la dirección de la Dra. María Elena Sosa Morales y la Co-Dirección del Dr. Julián Andrés Gómez Salazar, profesores de la División de Ciencias de la Vida, ha sido terminado. El escrito fue revisado por el Dr. Alberto Saldaña Robles, el Dr. Abel Cerón García, el Dr. César Ozuna López y la Dra. Sonia G. Sáyago Ayerdi y se autorizó la impresión y empastado del mismo.

Así mismo, nos permitimos proponer para la integración del Jurado a los Señores;

DR. ALBERTO SALDAÑA ROBLES  
DR. ABEL CERÓN GARCÍA  
DR. CÉSAR OZUNA LOPEZ  
DRA. SONIA G. SÁYAGO AYERDI  
DRA. MARÍA ELENA SOSA MORALES

PRESIDENTE  
SECRETARIO  
VOCAL  
VOCAL  
VOCAL

ATENTAMENTE  
"LA VERDAD OS HARA LIBRES"  
Irapuato, Gto., 27 de Junio de 2025.  
DIRECTORA

DRA. MARÍA ELENA SOSA MORALES

REVISOR

DR. ALBERTO SALDAÑA ROBLES

REVISOR

DR. CÉSAR OZUNA LÓPEZ

REVISOR

DR. ABEL CERON GARCÍA

REVISOR

DRA. SONIA G. SÁYAGO AYERDI



EL PRESENTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN SE REALIZÓ EN LAS INSTALACIONES DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA VIDA DE LA UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO (IRAPUATO, GTO) EN EL PERÍODO DE AGOSTO DE 2021 A JULIO DE 2025, CON EL FINANCIAMIENTO DE LA SECRETARÍA DE CIENCIA, HUMANIDADES, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN (SECIHTI), BAJO LA DIRECCIÓN DE LA DRA. MARÍA ELENA SOSA MORALES Y LA CODIRECCIÓN DEL DR. JULIÁN ANDRÉS GÓMEZ SALAZAR.

.

## RESUMEN

Después de obtenerse el aceite de aguacate a nivel industrial, el 72% de sus componentes (semilla y pulpa desgrasada residual: RA) son desechados. Estos residuos contienen compuestos fenólicos (CFs) que pueden emplearse en la reformulación de productos cárnicos, que originalmente no los contiene, aumentando su valor agregado. El objetivo de esta tesis doctoral fue evaluar el efecto de la adición de extractos de residuos de aguacate sobre el contenido de compuestos fenólicos en un jamón horneado artesanal de cerdo y su comportamiento en un modelo de digestión *in vitro*. Se realizó la caracterización del RA y se optimizó el proceso de extracción de CFs empleando la extracción asistida con microondas. Se elaboraron 5 jamones: jamón control (C), adicionado con 1, 3, 5 y 10% de extracto optimizado que fueron sometidos a digestibilidad *in vitro* teniendo en cuenta los CFs para calcular su bioaccesibilidad (%BA). Adicionalmente, se realizaron estudios de vida de anaquel (21 días) de parámetros como color, textura, capacidad de retención de agua (CRA), contenido de CFs, capacidad antioxidante y formación de productos de oxidación lipídica. Se identificó la presencia de ácido clorogénico, 5-O-cafeoilquínico, epicatequina-galato, epicatequina-glucopiranosil y quercetina en el residuo de aguacate. El modelo estadístico mostró que empleando etanol (100%), una potencia de salida de 477.7 W y tiempos de exposición de 3.05 min, se obtienen los valores más elevados de CFs (31.24 mg EAG/g PS). La bioaccesibilidad osciló entre 48.2 y 65.66%. El incremento del extracto aumentó los CFs en las fracciones bioaccesibles. Los estudios de vida de anaquel mostraron que el extracto contribuyó al desarrollo de tonalidades rojas ( $a^*$ ) y estabilizó el pH en los jamones con cantidades superiores al 3%, aunque existió una disminución de la CRA. La capacidad antioxidante aumentó con el tiempo, particularmente en jamones con mayor adición de extracto, sugiriendo una efectiva actividad antioxidante. Igualmente, se evidenció una reducción significativa de productos de oxidación lipídica (TBARS), especialmente en jamones con 10% de extracto. Estos hallazgos indican que los extractos de residuos de aguacate pueden mejorar la estabilidad oxidativa y contribuir al desarrollo de productos cárnicos con atributos sensoriales y tecnológicos mejorados.

**Palabras clave:** residuos de aguacate, compuestos fenólicos, optimización, bioaccesibilidad, oxidación lipídica.

## ABSTRACT

After industrial production of avocado oil, 72% of its components (seed and residual defatted pulp: AR) are discarded. These residues contain phenolic compounds (PCs) that can be used to reform meat products that did not initially contain them, increasing their added value. This doctoral thesis aimed to evaluate the effect of adding avocado residue extracts on the phenolic compound content of artisanal baked pork ham and its behavior in an *in vitro* digestion model. The AR was characterized, and the PCs extraction process was optimized using microwave-assisted extraction. Five hams were produced: a control ham (C) and hams added with 1%, 3%, 5%, and 10% of the optimized extract. These were subjected to *in vitro* digestibility assays, and the PCs were considered to calculate their bioaccessibility (%BA). Additionally, shelf-life studies (21 days) were conducted on parameters such as color, texture, water retention capacity (WRC), lipid oxidation product content, antioxidant capacity, and lipid oxidation product formation. Chlorogenic acid, 5-O-caffeoylquinic acid, epicatechin gallate, epicatechin glucopyranosyl, and quercetin were identified in the avocado residue. Statistical modeling showed that the highest PCs values (31.24 mg EAG/g DW) were obtained using ethanol (100%), a power output of 477.7 W, and exposure times of 3.05 min. Bioaccessibility ranged from 48.2 to 65.66%. Increasing the extract increased PCs in the bioaccessible fractions. Shelf-life studies showed that the extract contributed to the development of redness ( $a^*$ ) and stabilized pH in hams with quantities greater than 3%, although there was a decrease in WRC. Antioxidant capacity increased over time, particularly in hams with higher extract additions, suggesting effective antioxidant activity. Likewise, a significant reduction in lipid oxidation products (TBARs) was observed, especially in hams with 10% extract. These findings indicate that avocado residue extracts can improve oxidative stability and contribute to developing meat products with improved sensory and technological attributes.

**Keywords:** avocado residues, phenolic compounds, optimization, bioaccessibility, lipid oxidation.



## **AGRADECIMIENTOS**

A la Secretaría de Ciencia Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por la beca otorgada para los estudios del Doctorado en Biociencias.

A la División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, por el apoyo académico y de infraestructura para el desarrollo de la tesis doctoral.

A mi directora de tesis Dra. María Elena Sosa Morales por permitirme formar parte de su equipo de trabajo durante estos 4 años, por el apoyo brindado y por su aportación en mi desarrollo como profesional.

A mi codirector de tesis Dr. Julián Andrés Gómez Salazar por mostrarme cuan interesante puede ser la ciencia y tecnología de productos cárnicos.

A mis sinodales Dra. Sonia G. Sáyago Ayerdi, Dr. Abel Cerón García, Dr. César Ozuna López y Dr. Alberto Saldaña Robles. Gracias a todos por su apoyo académico, su asesoría y paciencia para la realización de este trabajo de investigación.

Al personal administrativo y de servicio de la División de Ciencias de la Vida.

A mis compañeros de generación y futuros doctores.

A mis compañeros del Laboratorio de Propiedades Físicas de los Alimentos. Losa que están, estuvieron y estarán.

A la Dra. Fabiola León Galván, Dra. Paulina Cárdenas Castro y Dra. Leticia Xochitl López Martínez. Gracias por el apoyo y consejos brindados.

A José Juan Carlos Márquez Ramírez, solo por estar mereces el título de doctor.

A mi madre, por todo el apoyo que me ha dado y hacerme la persona que soy hoy, sin ti no sería nada.

A mi abuela, desde el cielo se que me cuidas, lo hicimos

A todas las personas que han estado presentes en mi vida, también han contribuido a este logro. Muchas gracias.



## ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
	2.1. Desarrollo de productos cárnicos funcionales .....	3
	2.2. Compuestos bioactivos y formulación de productos cárnicos funcionales .....	5
	2.3. Aprovechamiento de residuos agroindustriales .....	7
	2.4. Extracción de compuestos bioactivos .....	9
	2.5. Encapsulación de compuestos bioactivos.....	12
	2.6. Procesamiento de productos cárnicos .....	14
	2.7. Estudios sobre la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos .....	15
<b>III.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>18</b>
<b>IV.</b>	<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>19</b>
<b>V.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
<b>VI.</b>	<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>21</b>
	6.1. Caracterización del residuo de aguacate .....	22
	6.1.1. Características del residuo de aguacate (RA).....	22
	6.1.2. Determinación del contenido de humedad en el RA .....	22
	6.1.3. Determinación de grasa en el RA.....	22
	6.1.4. Determinación de parámetros de color .....	23
	6.1.5. Extracción de compuestos fenólicos en el residuo de aguacate.....	24
	6.1.6. Determinación del contenido de compuestos fenólicos solubles totales (CFs) .....	24
	6.1.7. Determinación de flavonoides totales .....	24
	6.1.8. Determinación de polifenoles hidrolizables y taninos condensados .....	25
	6.1.9. Identificación por cromatografía de compuestos fenólicos en el residuo de aguacate.....	25
	6.1.10. Determinación de la capacidad antioxidante (CAO) .....	26
	6.2. Extracción asistida por microondas (EAM) de compuestos fenólicos .....	27
	6.2.1. Tratamientos aplicados para la EAM.....	27
	6.2.2. Diseño experimental.....	29
	6.3. Encapsulación del extracto optimizado del residuo de aguacate.....	29
	6.3.1. Proceso de encapsulación de los compuestos fenólicos del extracto optimizado de residuos de aguacate.....	29



6.3.2. Determinación de humedad y actividad de agua .....	30
6.3.4. Determinación de parámetros de color .....	30
6.3.5. Determinación del rendimiento de la encapsulación .....	31
6.3.6. Cálculo de la eficacia de la encapsulación.....	31
6.3.7. Estudios cinéticos de liberación de compuestos fenólicos.....	31
6.3.8. Diseño experimental.....	32
6.4. Elaboración del jamón horneado artesanal de cerdo adicionado con los encapsulados y extracto optimizado de residuo de aguacate .....	32
6.4.1. Elaboración de jamón horneado artesanal de cerdo .....	32
6.4.2. Análisis fisicoquímicos y tecno-funcionales realizados al jamón horneado artesanal de cerdo .....	33
6.4.3. Determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante .....	36
6.4.4. Evaluación sensorial.....	36
6.4.5. Diseño experimental.....	37
6.5. Estudios de digestión <i>in vitro</i> .....	37
6.5.1. Bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en la digestión <i>in vitro</i> .....	37
6.5.2. Diseño experimental.....	39
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
7.1. Características del residuo de aguacate (RA) .....	39
7.1.1. Humedad de los residuos de aguacate .....	39
7.1.2. Contenido de materia grasa en los residuos de aguacate .....	40
7.1.3. Análisis colorimétrico de los residuos de aguacate.....	41
7.1.4. Contenido de compuestos fenólicos solubles (CFs) y flavonoides en los residuos de aguacate.....	42
7.1.5. Identificación de compuestos fenólicos en los residuos de aguacate.....	46
7.2. Extracción asistida por microondas .....	50
7.2.1. Modelos matemáticos de predicción .....	52
7.2.2. Análisis gráfico de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante ...	56
7.3. Evaluación sensorial .....	61
7.4. Encapsulación de los CFs presentes en extractos del residuo de aguacate.....	64
7.4.1. Rendimiento de encapsulación.....	64
7.4.2. Contenido de humedad y actividad de agua de los encapsulados.....	65
7.4.3. Parámetros de color de los encapsulados .....	65



7.4.4. Eficacia del proceso de encapsulación .....	67
7.5. Estudios de bioaccesibilidad <i>in vitro</i> .....	70
7.5.1 Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos solubles totales en los residuos de aguacate (RA) .....	70
7.5.2 Bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos solubles en jamones adicionados con el extracto optimizado del residuo de aguacate (RA) .....	72
7.5.3 Bioaccesibilidad <i>in vitro</i> del jamón horneado artesanal adicionado con los encapsulados.....	74
7.6. Estudios del comportamiento de los jamones formulados en el tiempo .....	79
7.6.1 Comportamiento en el tiempo de los parámetros colorimétricos en los jamones formulados .....	79
7.6.2 Comportamiento en el tiempo de los valores de pH en los jamones formulados .....	82
7.6.4 Comportamiento de la textura en el tiempo en los jamones formulados.....	84
7.6.4 Comportamiento en el tiempo del contenido de CFs y actividad antioxidante en los jamones formulados .....	85
7.6.2 Comportamiento en el tiempo del contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en los jamones formulados .....	88
VIII. CONCLUSIONES .....	90
IX. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA.....	91
X. REFERENCIAS .....	93

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Efecto antioxidante de distintas matrices vegetales sobre productos cárnicos durante el procesamiento, almacenamiento o cocción. ....	5
<b>Cuadro 2.</b> Diseño experimental $3^{k-p}$ con las condiciones de extracción asistida por microondas. ....	28
<b>Cuadro 3.</b> Humedad (% b.h.) del residuo de aguacate .....	40
<b>Cuadro 4.</b> Parámetros de color de los residuos de aguacate.....	42
<b>Cuadro 5.</b> Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en los residuos de aguacate	43
<b>Cuadro 6.</b> Cuantificación de compuestos fenólicos en los residuos de aguacate.....	49
<b>Cuadro 7.</b> Efecto de las distintas condiciones de EAM sobre el contenido de CFs en los residuos de aguacate .....	51
<b>Cuadro 8.</b> Análisis de varianza del modelo de regresión para el contenido de compuestos fenólicos, actividad antioxidante medida por DPPH y FRAP en pulpa de aguacate residual .....	55
<b>Cuadro 9.</b> Valores máximos para la optimización de la EAM.....	61
<b>Cuadro 10.</b> Contenido de humedad y actividad de agua de los encapsulados obtenidos....	65
<b>Cuadro 11.</b> Digestibilidad in vitro y bioaccesibilidad de fenoles solubles totales en los residuos de aguacate RA-1 y RA-2 .....	71
<b>Cuadro 12.</b> Digestibilidad in vitro y bioaccesibilidad de fenoles solubles totales en jamones adicionados con extracto optimizado del residuo de aguacate y distintos porcentajes de encapsulados. ....	75
<b>Cuadro 13.</b> Digestibilidad de proteínas en jamones adicionados con extracto optimizado de residuo de aguacate y distintos porcentajes de encapsulados.....	77
<b>Cuadro 14.</b> Digestibilidad in vitro y bioaccesibilidad de fenoles solubles totales en jamón horneado artesanal adicionado con extracto optimizado de residuos de aguacate. ....	78
<b>Cuadro 15.</b> Análisis de color de los jamones elaborados con el extracto optimizado del residuo de aguacate en el tiempo.....	80



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mecanismo antioxidante del ácido gálico. El grupo OH de la posición <i>para</i> es el que actúa más eficientemente en la neutralización de radicales libres ( $R\bullet$ ). La estructura formada por la estabilización mediante puentes de hidrógeno y la fuerza que ejerce el grupo COOH en posición <i>para</i> y los OH en <i>orto</i> posibilita que la molécula pierda el protón $H^+$ y neutralice las especies oxidantes (Elaboración propia).	7
<b>Figura 2.</b> Equipo Decanter horizontal. La mezcla se introduce y por acción de la fuerza centrífuga y la diferencia de densidad facilita la separación del aceite de la fase acuosa que es recuperada para una segunda extracción de aceite.	8
<b>Figura 3.</b> Mecanismo de extracción por microondas. a: Calentamiento del agua interna en la célula bajo la acción de microondas; b: Incremento de la temperatura y presión interna de la célula; c: Ruptura de la célula y liberación de los compuestos de interés (Elaboración propia, creado en Biorender.com).	11
<b>Figura 5.</b> Esquema general del secado por aspersion. 1, Cámara de secado; 2, Colector; 3, Ciclón; 4, Colector de partículas finas. El líquido que contiene al compuesto activo de interés (encapsulado o no) penetra a la cámara por atomización formándose gotas las que al entrar en contacto con el aire caliente dentro de la cámara se deshidratan. El producto seco es colectado en la parte inferior. Algunas partículas pueden quedar en suspensión y pasan a través de un ciclón donde termina su deshidratación y a su vez son colectadas (Elaboración propia, creado en Biorender.com).	13
<b>Figura 6.</b> Modelo de simulación gastrointestinal in vitro (Elaboración propia, creado en Biorender.com).	16
<b>Figura 7.</b> Representación gráfica de las etapas experimentales propuestas en el estudio (Elaboración propia).	21
<b>Figura 8.</b> Equipo de Goldfish para extracción de materia grasa.	23
<b>Figura 11.</b> Porcentaje de grasa en los residuos de aguacate. Literales diferentes indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).	41
<b>Figura 12.</b> Cromatograma obtenido para RA-2.	46
<b>Figura 13.</b> Gráficos de superficie de respuesta del proceso de EAM. Efecto del nivel de potencia y el solvente sobre el contenido de compuestos fenólicos extraíbles (A); (B) influencia del tiempo de exposición a las microondas y el solvente empleado sobre los CFs.	56
<b>Figura 14.</b> Gráficos de superficie de respuesta del proceso de EAM. Efecto del tiempo de extracción sobre la capacidad antioxidante por DPPH (A). Efecto del tiempo extracción y potencia de microondas sobre DPPH (B). Efecto de la relación de disolvente y la potencia de microondas sobre FRAP (C). Efecto del tiempo de extracción y potencia de microondas sobre FRAP (D).	58
<b>Figura 13.</b> Perfil cuantitativo y descriptivo de los distintos jamones formulados variando el porcentaje de extracto optimizado incorporado.	62
<b>Figura 14.</b> Perfil cuantitativo y descriptivo de los distintos jamones formulados variando el porcentaje de extracto optimizado incorporado.	63

<b>Figura 15.</b> Parámetros de color evaluados en el material encapsulante: maltodextrina/grenetina (M/G), maltodextrina (M) y en los respectivos encapsulados: M/GE y ME. Literales diferentes en cada parámetro indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).....	66
<b>Figura 16.</b> Parámetros de color evaluados en el material encapsulante. maltodextrina/grenetina (M/G), maltodextrina (M) y en los respectivos encapsulados: M/GE y ME. Literales diferentes en cada parámetro indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).....	67
<b>Figura 17</b> Cinética de liberación de compuestos fenólicos de los encapsulados de pulpa residual de aguacate. Diferentes letras denotan diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ).....	69
<b>Figura 18.</b> Digestión in vitro del jamón control (C) y el jamón adicionado con 1.5% (T-1.5%) de extracto optimizado de la pulpa desgrasada residual. FG: compuestos fenólicos liberados en la fase gástrica; FI: compuestos fenólicos liberados en la fase intestinal; F FIS: compuestos fenólicos asociados a la fracción indigestible soluble; FII: compuestos fenólicos asociados a la fracción indigestible insoluble, n.d.: no detectable. Literales diferentes en cada barra indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).....	73
<b>Figura 19.</b> Valores de pH de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media $\pm$ desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext_1%, Ext_3%, Ext_5%, Ext_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).....	82
<b>Figura 20.</b> Valores de pH de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media $\pm$ desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext_1%, Ext_3%, Ext_5%, Ext_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).....	83
<b>Figura 21.</b> Valores de dureza expresado en Newton (N) de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media $\pm$ desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext_1%, Ext_3%, Ext_5%, Ext_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ). ....	85
<b>Figura 22.</b> Contenido de compuestos fenólicos solubles de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media $\pm$ desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext_1%, Ext_3%, Ext_5%, Ext_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate.mg EAG/g PS: mg equivalentes de ácido gálico/ g peso seco. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).....	86
<b>Figura 23.</b> Capacidad antioxidante medida por DPPH (A) y FRAP (B) de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media $\pm$ desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext_1%, Ext_3%, Ext_5%, Ext_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate.mg ET/g PS: mg equivalentes de Trolox/ g peso seco. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ). ....	87
<b>Figura 24.</b> Concentración de productos finales de oxidación lipídica de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media $\pm$ desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext_1%, Ext_3%, Ext_5%, Ext_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. $\mu$ M MDA/g PS: micromoles de malonaldehído/ g peso seco. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ). ....	88



## I. INTRODUCCIÓN

El consumo de productos cárnicos se ha asociado con una mayor incidencia de hipertensión y otras enfermedades cardiovasculares, así como un aumento en los índices de obesidad en la población (Gullón *et al.*, 2021). Por esta razón, la industria cárnica a nivel mundial se encuentra en una constante evolución para adaptarse a los cambios en la preferencia de los consumidores, los que se encuentran interesados en ingerir alimentos saludables y que se ajusten a los nuevos estilos de vida (Manassis *et al.*, 2020). Según estudios realizados, la población mexicana ha adquirido mayor interés en consumir alimentos de origen animal que posean valor agregado y algunas características funcionales que promuevan un buen estado de salud (Estévez-Moreno *et al.*, 2021). El principal objetivo de los productos cárnicos funcionales es reducir la prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles al disminuir el consumo de los productos cárnicos tradicionales (Fernández *et al.*, 2019). La reformulación de los productos cárnicos, teniendo en cuenta los efectos benéficos que pueden tener determinadas matrices vegetales se ha convertido en un área prioritaria para los distintos programas de alimentación, empresas y para el sector de la industria cárnica (Rubio *et al.*, 2020).

El uso de matrices vegetales y sus extractos constituyen una alternativa para desarrollar productos funcionales y saludables, dada las capacidades antioxidantes de compuestos presentes en estas matrices. Distintos investigadores se han enfocado en la formulación de diversos productos cárnicos como hamburguesas adicionadas con extractos de romero, cúrcuma y té verde o salchichas con fibra dietética proveniente de subproductos cítricos (Nissen *et al.*, 2004; Mancini *et al.*, 2015; Fernández *et al.*, 2019). Actualmente, uno de los principales retos que tiene la industria alimentaria es reducir al máximo la generación de residuos a lo largo de su proceso productivo, ya que constituyen pérdidas y trae implicaciones al medio ambiente. Además, en ocasiones son desechadas partes de los alimentos que contienen una amplia variedad de compuestos bioactivos que son benéficos a la salud (Salazar-López *et al.*, 2020). Sin embargo, su principal desventaja radica en que algunos de estos compuestos pueden disminuir su actividad biológica por acción de agentes externos como luz solar, oxígeno y temperatura (Wu *et al.*, 2018).

En el diseño y desarrollo de nuevos productos cárnicos funcionales, la conservación de las propiedades de los compuestos bioactivos añadidos es un requisito muy importante para lograr con ello un mantenimiento de las características funcionales en el tiempo (Shishir *et al.*, 2018). La encapsulación es una tecnología que facilita la incorporación de bioactivos (compuestos fenólicos, carotenoides y fitoesteroles) a los alimentos y a su vez los protege al cubrirlos con una capa polimérica resistente (Rezvankhah *et al.*, 2020). La técnica de secado por aspersión permite una reducción significativa del contenido de agua libre en matrices frescas, además la adición de materiales encapsulantes permite una protección extra a compuestos lábiles que pueden degradarse por acción de la luz y el oxígeno y de esta manera extender su vida útil (Shishir *et al.*, 2018).

La manera en cómo afecta la matriz cárnica a la composición y liberación de los compuestos bioactivos una vez que son ingeridos, es fundamental para dilucidar las diferentes maneras en la que se pueden metabolizar estos compuestos. Los métodos de estudio de digestión *in vitro* sobre la bioaccesibilidad son una alternativa para el estudio del comportamiento de los compuestos bioactivos sin emplear estudios en humanos y animales (Castaldo *et al.*, 2021). En la actualidad existen pocos estudios que demuestren como pueden afectar las matrices de origen cárnico a la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos que se encuentran presentes como parte de su formulación. La interacción de los polifenoles, carotenoides y otros compuestos con marcada actividad biológica con las proteínas de la carne, constituye un área de interés en la investigación y en el desarrollo de nuevos productos con características funcionales.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Desarrollo de productos cárnicos funcionales

La carne es un alimento fundamental en la dieta humana ya que proporciona una amplia variedad de nutrientes con alta biodisponibilidad y valor biológico, como aminoácidos esenciales, hierro hemo y zinc (Montowska y Fornal, 2017). Sin embargo, su consumo se asocia con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles como obesidad, cáncer y enfermedades cardiovasculares debido a su alto contenido de grasas saturadas, colesterol y sales (Fernández *et al.*, 2019). La carne y los productos derivados de esta afectan distintos mecanismos fisiológicos relacionados con el apetito, la saciedad y su comportamiento a largo plazo, pero tienen la desventaja de ser densos energéticamente (Fiszman y Varela, 2013). Al tratarse de una matriz alimentaria heterogénea y compleja puede sufrir cambios químicos importantes durante el procesamiento y comercialización. En su mayoría los cambios incluyen la formación de diversos compuestos químicos tales como nitrosaminas, hidrocarburos policíclicos aromáticos y productos derivados de la oxidación de proteínas y lípidos. Estos compuestos que se generan tienen un impacto directo en las características organolépticas del producto, así como en la salud de los consumidores (Swatland, 2010).

Debido a los problemas asociados al consumo de carne, unido a la demanda de los consumidores y la competencia entre los distintos productores, la investigación para desarrollar nuevos productos en el sector cárnico es continua (Liu *et al.*, 2020). El desarrollo de productos cárnicos con características funcionales es un claro ejemplo de cómo el sector cárnico busca satisfacer las necesidades y mejorar el estilo de vida de los consumidores (Gullón *et al.*, 2021). La definición de un producto cárnico funcional no es universal, existen varias maneras de conceptualizarlo, pero la Comisión Europea, en consenso, lo define como aquel alimento que muestra un efecto satisfactorio en una o más funciones corporales, mejorando la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo a padecer enfermedades (Roberfroid, 2000). Los productos cárnicos funcionales han ido surgiendo con la medida que se satisfagan las necesidades de los consumidores, estos incluyen reducción del contenido de

grasa, uso de oleogel, cepas probióticas, proteínas vegetales y extractos con capacidad antioxidante (Khajavi *et al.*, 2020).

El elevado consumo de productos cárnicos procesados genera riesgos para la salud y se plantea que existe una asociación positiva con el desarrollo de enfermedades metabólicas como hipertensión, cáncer y obesidad (Ursachi *et al.*, 2020). En este sentido, la población mexicana posee un alto consumo de alimentos de origen cárnico reportándose un incremento del 3.8% desde el año 2018 y un 3.7% en su producción industrial (Carne, 2024). Por otro lado, también se ha reportado un aumento en la demanda de carnes veganas, libres de antibióticos, con sabores picantes, así como reducidas en grasas, sodio y azúcar (Euromonitor, 2019). El lanzamiento de nuevos productos cárnicos con las características antes mencionadas paso de 100 productos en 2015 a 126 para 2019. Estas estadísticas indican que a futuro el sector debe tomar decisiones para alinear sus acciones de diseño y promoción de productos, que vayan de la mano con las actuales tendencias de un consumo inmediato y la generación de valor agregado en el desarrollo de productos cárnicos (Juarez, 2020).

A futuro, la demanda de los consumidores unida al poder de innovación que se viene realizando a nivel industrial, va a permitir que se encuentren disponibles en el mercado diversos productos cárnicos con características sensoriales, antioxidantes y tecno-funcionales mejoradas. La industria cárnica tiene ante sí el reto de asegurar producciones inocuas, seguras y que presenten un efecto benéfico en el estado fisiológico del organismo (Granato *et al.*, 2020). Acciones como extraer, identificar, cuantificar compuestos fenólicos, investigar acerca de su bioaccesibilidad, biodisponibilidad y metabolismo y dilucidar como el procesamiento puede afectarlos, son algunos ejemplos que marcan el camino a seguir (Wu y Chen, 2021). El futuro en la producción de productos cárnicos con características antioxidantes dependerá que se demuestre su eficacia como promotores de salud. La acción conjunta de los tecnólogos e investigadores es una herramienta que debe explotarse para responder a las demandas de los consumidores y establecer las estrategias para ofrecerle al consumidor productos con un mayor grado de seguridad (Granato *et al.*, 2020).

## 2.2. Compuestos bioactivos y formulación de productos cárnicos funcionales

La carne puede contener algunos compuestos potencialmente nocivos como grasas saturadas y colesterol (Cofrades *et al.*, 2017). Además, durante la cocción, almacenamiento, digestión y metabolismo se generan otros compuestos con características oxidantes (malondialdehidos, productos de glicación avanzada, oxiesteroles y carbonilos de proteínas), que al ponerse en contacto con la célula del organismo provocan daños oxidativos irreparables (Kanner *et al.*, 2017). Existe evidencia que el uso de matrices de origen vegetal y sus extractos pueden retardar la formación de estos perjudiciales compuestos (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Efecto antioxidante de distintas matrices vegetales sobre productos cárnicos durante el procesamiento, almacenamiento o cocción.

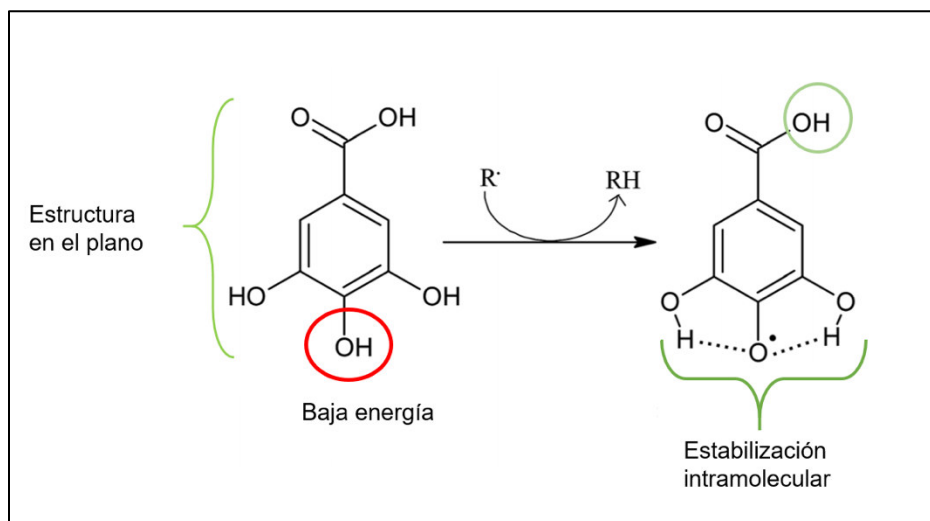
Matriz Vegetal	Producto cárnico	Método cocción y Almacenamiento	Efecto Antioxidante	Referencia
Romero (200mg/kg)	Hamburguesa de cerdo	Congelación (180 días)	↓Peróxidos, dienos conjugados y MDA	(Georgantelis <i>et al.</i> , 2007)
Cúrcuma (3.5g/100g)	Hamburguesa de conejo	Refrigeración (7 días)	↑MDA, capacidad antioxidante, FRAP, DPPH	(Mancini <i>et al.</i> , 2015)
Extracto té verde (1.5%)	Hamburguesa de cerdo	Horneado (70°C, 30min), 4 días	↓MDA en muestras frescas y cocidas	(Nissen <i>et al.</i> , 2004)
Extracto de café (50ppm)	Hamburguesa de cerdo	Refrigeración (10 días)	No existió diferencia en contenido MDA y hexanal	(Nissen <i>et al.</i> , 2004)
Guayaba deshidratada (0.5 y 1%)	Nuggets de oveja	Refrigeración (15 días) Horneado (90°C, 30 min)	↓MDA	(Verma <i>et al.</i> , 2013)
Fibra de cítricos (0.5, 1, 1.5, 2%)	Salchicha bologna (res)	Refrigeración (28 días)	↓MDA para dosis de 1.5 y 2%	(Fernández-Ginés <i>et al.</i> , 2003)



Los compuestos bioactivos son familias de especies químicas que poseen características antioxidantes que se derivan principalmente de alimentos y plantas medicinales, como frutas, verduras, cereales, hongos, bebidas, flores, especias y hierbas medicinales tradicionales (Li *et al.*, 2016). Los antioxidantes derivados de plantas son principalmente compuestos polifenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, lignanos y estilbenos), carotenoides (xantofilas y carotenos) y vitaminas (vitamina E y C) (Llauradó Maury *et al.*, 2020). Algunos autores plantean que los polifenoles y los carotenoides exhiben una amplia gama de efectos biológicos al organismo como antiinflamatorios, antibacterianos, antivirales, antienvejecimiento y anticancerígenos (Balmus *et al.*, 2016; Prasad, 2016; Elkelish *et al.*, 2020). La mayoría de estos compuestos previenen el daño oxidativo a moléculas que se encuentran en distintos sistemas biológicos a nivel celular (Figura 1), existe evidencia que pueden actuar previniendo procesos de peroxidación lipídica en la membrana celular y daños a macromoléculas como proteínas y ADN (Embuscado, 2015; Sicari *et al.*, 2018). Los antioxidantes previenen estos tipos de daños mediante la quelación de metales, donación de electrones o bien donando uno o varios átomos de hidrógeno para estabilizar estructuras químicas inestables y altamente reactivas (Tohma *et al.*, 2017; Pacheco-Ordaz *et al.*, 2018).

La principal manera o forma en que los compuestos fenólicos actúan a nivel biológico es inactivando radicales hidroxilos ( $\text{OH}\cdot$ ), superóxido ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) y peróxilo ( $\text{ROO}\cdot$ ) (Subramanian *et al.*, 2016). La Figura 1 muestra el mecanismo por el cual ejerce la acción antioxidante uno de los compuestos fenólicos más estudiados y abundantes en frutas y vegetales. Se plantea que el ácido gálico cuando se encuentra en medio acuoso pierde un protón ( $\text{H}^+$ ) debido a su estructura plana, la fuerza que ejerce el grupo  $-\text{COOH}$  en la posición *para* y los grupos  $-\text{OH}$  adyacentes en la posición *orto*, esto provoca que se debilite la energía de este enlace y sea atacado por especies oxidantes. Una vez formado el radical, la propia molécula experimenta un arreglo configuracional y se estabiliza por la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos que se encuentran las posiciones *orto*, en este caso el radical

que se forma se estabiliza por resonancia entre el anillo bencénico y el grupo -COOH (Badhani *et al.*, 2015).

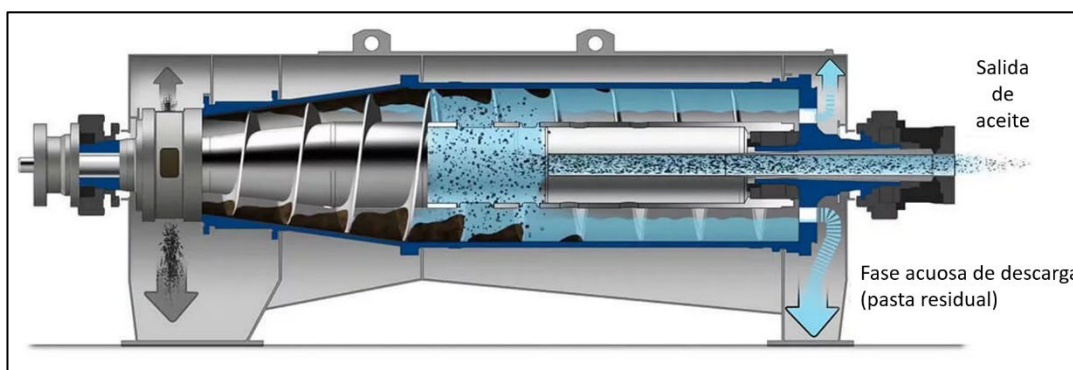


**Figura 1.** Mecanismo antioxidante del ácido gálico. El grupo -OH de la posición para es el que actúa más eficientemente en la neutralización de radicales libres ( $R^\bullet$ ). La estructura formada por la estabilización mediante puentes de hidrógeno y la fuerza que ejerce el grupo -COOH en posición *para* y los -OH en *orto* posibilita que la molécula pierda el protón  $H^+$  y neutralice las especies oxidantes (Elaboración propia).

### 2.3. Aprovechamiento de residuos agroindustriales

El aguacate (*Persea americana*) es una fruta originaria de México y Centro América, la cual es muy consumida a nivel mundial, produciéndose alrededor de 6 millones de toneladas. El 62% de esta producción se concentra en el área de las Américas, siendo México el primer productor con un 33% (Araújo *et al.*, 2018). Los aguacates se consumen principalmente frescos, pero también son procesados para la extracción de aceite y otros productos. Durante este procesamiento, varios de sus componentes (cáscara, semilla y pasta desgrasada) son desechados, convirtiéndolos en fuentes de contaminación ambiental. Sin embargo, estos componentes son ricos en proteínas, fibra y variados compuestos bioactivos (Dalle Mulle Santos *et al.*, 2016). Por ejemplo, la semilla y la cáscara del aguacate Hass representan alrededor del 15% y 14% del peso de la fruta, mientras que la semilla y la cáscara del aguacate 'Fuerte' representan alrededor del 21% y 8% (Melgar *et al.*, 2018). Estas cifras equivalen al menos a 1.6 millones de ton (FAO/OMS, 2019) desechadas anualmente, además de otros tipos de desechos industriales relacionados.

Los subproductos del aguacate son una rica fuente de carbohidratos (semilla 42-81%, cáscara 43-81%), lípidos (semilla 3-15 %; cáscara 2-9%), proteínas (semilla 0.14-9%; cáscara 0.17-8%), fibras (semilla 2-4.2%; cáscara 1.3-55%) y minerales (semilla 1.3-4.3%; cáscara 1.5-6.0%). Dentro de estos, la industria de obtención de aceites comestibles y de uso cosmético a partir del aguacate es una de las que genera una cantidad considerable de residuos. Para su obtención, la fruta atraviesa una serie de procesos donde se separa el hueso y la cáscara. La pulpa es sometida a un proceso de maceración con agua a 55°C durante 2 horas para garantizar la ruptura de los gránulos de grasa y estructuras celulares, favoreciendo la extracción de los lípidos. Posteriormente, por la acción de la fuerza centrífuga y valiéndose de la diferencia de densidades (fase acuosa/ oleosa) se recupera el aceite (Figura 2). La descarga la constituyen agua más componentes que no fueron extraídos incluyendo aceite residual, esta es nuevamente mezclada con agua, calentada y centrifugada para aumentar el rendimiento en la obtención de aceite de aguacate (Chemat *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Equipo Decanter horizontal. La mezcla se introduce y por acción de la fuerza centrífuga y la diferencia de densidad facilita la separación del aceite de la fase acuosa que es recuperada para una segunda extracción de aceite.

Araújo *et al.* (2018) reportaron un perfil variado de compuestos fenólicos en este tipo de residuos como ácidos fenólicos (hidroxicinámicos, hidroxibenzóicos), flavonoides, proantocianidinas, terpenoides, alcaloides y saponinas. Actualmente, estos tipos de compuestos son ampliamente investigados y comercializados debido a sus efectos nutricionales y farmacéuticos. Diversos autores reportan que los compuestos fenólicos presentes en el aguacate disminuyen el estrés oxidativo, reducen procesos inflamatorios, regulan el metabolismo de carbohidratos y lípidos e inducen la apoptosis de células cancerosas (Melgar *et al.*, 2018; Tremocoldi *et al.*, 2018; Athaydes *et al.*, 2019). Algunas



aplicaciones que se proponen para los compuestos extraídos del aguacate son como conservador de alimentos, agentes aglutinantes y mejoradores de la textura en productos cárnicos. No obstante, es necesario realizar mayor cantidad de estudios para lograr de forma exitosa un equilibrio entre características sensoriales, antioxidantes y tecno-funcionales en los nuevos productos desarrollado, los que definitivamente reducirían residuos generados por la industria (Salazar-López *et al.*, 2020).

## **2.4. Extracción de compuestos bioactivos**

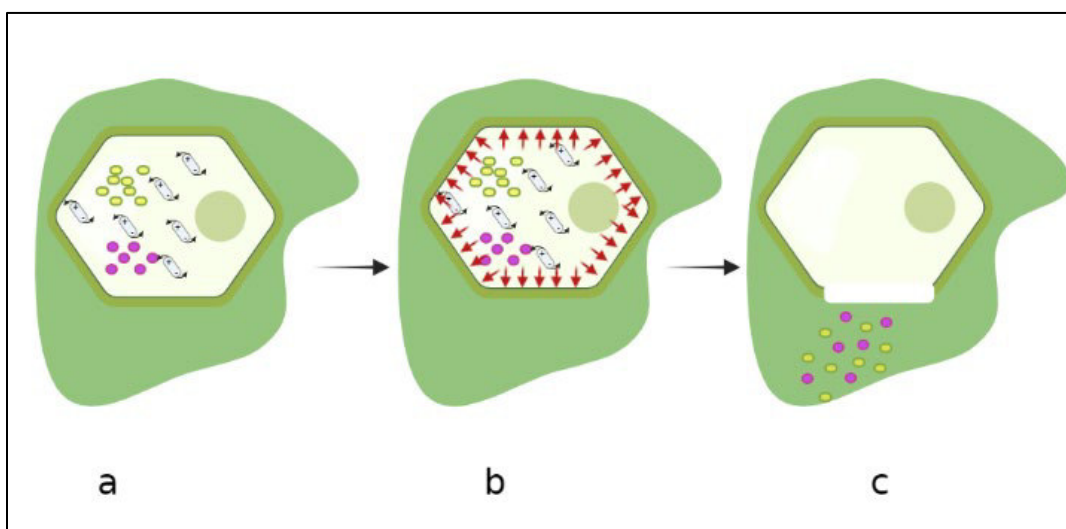
La extracción de componentes con actividad biológica de matrices vegetales depende de varios factores como la técnica, materias primas y solvente que va a ser utilizado. Las técnicas pueden ser clasificadas en convencionales (maceración, Soxhlet e hidrodestilación) y no convencionales. Las técnicas no convencionales presentan un bajo consumo energético y el uso de solventes amigables con el ambiente (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2015). Técnicas como pulsos eléctricos, extracción asistida por enzimas, fluidos supercríticos, extracción asistida por ultrasonido (EAU) y asistida por microondas (EAM) son algunas de las técnicas de extracción no convencionales que han captado el interés de la industria de alimentaria (Pimentel-Moral *et al.*, 2019; Rodsamran y Sothornvit, 2019). Chemat *et al.* (2017) afirman que el uso de microondas es tecnológicamente muy eficiente principalmente porque se obtienen tasas de extracción de compuestos fenólicos superiores en cortos períodos de tiempo.

Dhobi *et al.* (2009) reportaron que existía una mayor eficacia empleando EAM durante la extracción de flavonoles del cardo mariano (*Silybum marianum*) en comparación con la extracción con solventes orgánicos. Por otro lado, Rosa *et al.* (2021), en la recuperación de compuestos bioactivos de hojas de olivo, constataron que la EAM extrajo de manera más eficiente los biocompuestos al compararlo con la maceración y la EAU. Otro de los estudios demuestra que la aplicación de EAM a residuos vinícolas de uva garantizó la extracción más eficiente para aumentar los fenoles totales, capacidad antioxidante y flavonoides frente a los métodos convencionales (Moreira *et al.*, 2018). Dada esta evidencia, la EAM constituye una alternativa para la extracción de los compuestos con actividad biológica.

Las microondas son ondas electromagnéticas, su uso en aplicaciones científicas es permitido a frecuencias de 915 MHz (mayormente en el sector industrial) y 2450 MHz para el sector doméstico. El mecanismo de la EAM involucra el calentamiento con microondas, lo que provoca una mayor temperatura de extracción y como resultado una transferencia de masa más rápida (Angiolillo *et al.*, 2015). El calentamiento actúa directamente en el interior del solvente utilizado y en la muestra dado por el poder de penetración que tiene la microonda en ciertos materiales y sobre todo su interacción con los compuestos polares. El efecto de la EAM en la mezcla de disolvente y material vegetal depende de las propiedades dieléctricas y campo eléctrico, que puede estar en función de la temperatura, la frecuencia de microondas, la composición del disolvente y de la muestra (Kaderides *et al.*, 2019).

El mecanismo para el calentamiento por microondas se basa en la interacción entre los componentes del campo eléctrico y magnético. Este tipo de interacción provoca pérdidas dieléctricas y magnéticas que conducen al calentamiento. Los compuestos no metálicos son las pérdidas dieléctricas que involucra dos principios: conducción iónica y rotación bipolar (Barroso *et al.*, 2013). La conducción iónica se refiere a la migración electroforética inducida de los portadores de carga (iones, electrones) bajo la influencia del campo eléctrico producido por el microondas. La migración genera fricción entre los iones en movimiento y el medio provocando un calentamiento. Seguidamente la rotación del dipolo ocurre cuando las moléculas dipolares tratan de alinearse con el campo eléctrico producido por las microondas (Angiolillo *et al.*, 2015). La oscilación de estas especies químicas dipolares conduce a una colisión entre ellas y las moléculas del medio circundante, provocando la generación de calor. Cuando la muestra contiene iones y compuestos polares, el calentamiento está dominado en un principio por la rotación del dipolo y mientras se aumenta la temperatura por la conducción iónica. La contribución de cada uno de los mecanismos depende de la movilidad y concentración de iones en la muestra y de su tiempo de relajación (Vinatoru *et al.*, 2017).

Los métodos para la EAM se clasifican en extracción libre de solventes y extracción con solventes (características polares), en estos casos es necesario que la materia vegetal seca se rehidrate para que pueda existir calentamiento por los mecanismos antes mencionados. La principal ventaja es que se emplean tiempos cortos de extracción que implica disminución en el consumo de energía (Angiolillo *et al.*, 2015). El microondas calienta el material vegetal en todo su volumen mientras que en los métodos convencionales ocurre desde el exterior al interior. En este tipo de proceso el agua de las células vegetales se calienta (Figura 3) por la radiación, el cambio interno conduce a un incremento de la presión dentro de la célula, dañando paredes y liberando el contenido interno al medio líquido (Li *et al.*, 2013).



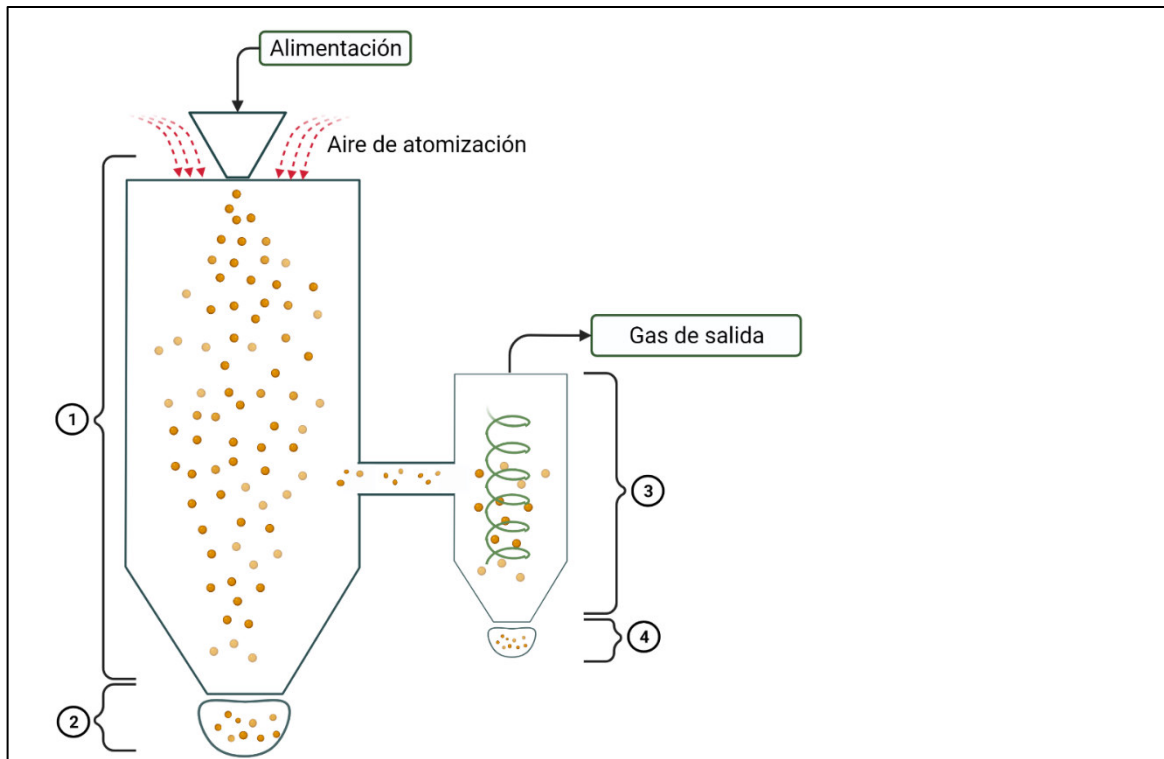
**Figura 3.** Mecanismo de extracción por microondas. a: Calentamiento del agua interna en la célula bajo la acción de microondas; b: Incremento de la temperatura y presión interna de la célula; c: Ruptura de la célula y liberación de los compuestos de interés (Elaboración propia, creado en Biorender.com).

Aun existiendo evidencia suficiente e incluso la ventaja que posee la EAM en la extracción de componentes con determinado valor biológico, el número de aplicaciones a escala industrial sigue siendo muy pequeño. Una razón podría ser que actualmente los equipos desarrollados no responden a las necesidades para la producción a nivel industrial de aislados o concentrados de estos compuestos. También sería de interés el uso de varios tipos de tecnologías de manera conjunta para poder obtener extractos con un alto grado de pureza, que se traduce en mejores propiedades funcionales.



## 2.5. Encapsulación de compuestos bioactivos

Durante el diseño y desarrollo de nuevos productos funcionales, la conservación de las propiedades de los compuestos bioactivos añadidos a los alimentos es una etapa importante para lograr un mantenimiento de las características funcionales en el tiempo (Shishir *et al.*, 2018). La encapsulación es una tecnología que facilita la incorporación de bioactivos (compuestos fenólicos, carotenoides y fitoesteroles) a los alimentos y a su vez los protege al cubrirlos con una capa polimérica y resistente. Esta tecnología mejora la vida útil y enmascara algunas características como sabor, olor y color (Rehman *et al.*, 2019). Las técnicas más utilizadas para la encapsulación son la liofilización, emulsión, coacervación y secado por aspersión, mientras que las principales matrices usadas como agentes encapsulantes son polisacáridos, proteínas y lípidos. La selección de la técnica más adecuada dependerá de la naturaleza química del compuesto a proteger, ya que las características reológicas dependerán de la interacción entre el material encapsulante y el bioactivo en cuestión (Rezvankhah *et al.*, 2020). La técnica de secado por aspersión permite una reducción significativa del contenido de agua libre, disminuyendo de esta forma la proliferación de microorganismo y deteniendo los procesos de hidrólisis que pueden llevarse a cabo en las matrices alimentarias frescas (Dantas *et al.*, 2018). Una adición de material encapsulante a la solución de alimentación va a permitir una protección extra a compuestos lábiles que pueden degradarse por acción de la luz y el oxígeno y de esta manera extender su vida útil (Shishir *et al.*, 2018). Esta técnica se basa en la atomización de un líquido o emulsión dentro de una cámara de secado por la que circula aire caliente que elimina de manera inmediata el agua, generando un polvo fino (Figura 4) (Rehman *et al.*, 2019). Las proteínas y carbohidratos complejos son principalmente los más empleados como agentes encapsulantes ya que se ha demostrado que prolongan la vida útil de antocianinas extraídas de frutos rojos y moras, carotenoides y algunos tipos de aceites (Jafari *et al.*, 2017; Luna-Guevara *et al.*, 2017).



**Figura 4.** Esquema general del secado por aspersión. 1, Cámara de secado; 2, Colector; 3, Ciclón; 4, Colector de partículas finas. El líquido que contiene al compuesto activo de interés (encapsulado o no) penetra a la cámara por atomización formándose gotas las que al entrar en contacto con el aire caliente dentro de la cámara se deshidratan. El producto seco es colectado en la parte inferior. Algunas partículas pueden quedar en suspensión y pasan a través de un ciclón donde termina su deshidratación y a su vez son colectadas (Elaboración propia, creado en Biorender.com).

Dentro de los parámetros que debe tenerse en cuenta durante el proceso de optimización del proceso de encapsulación y mejora de los rendimientos se encuentra la temperatura de entrada y salida, la velocidad del flujo, el tamaño de la gota cuando el líquido se atomiza y la temperatura dentro de la cámara de secado. Se plantea que además el material encapsulante es vital para la conservación de las características de los compuestos encapsulados (Anandharamakrishnan, 2015). Elez Garofulić *et al.* (2017) encontraron que con una proporción de dextrosa / maltodextrina (3:1) y temperatura de salida de 200°C se obtuvieron los mayores rendimientos para ácidos fenólicos y antocianinas en maíz azul. Algunos autores plantean la necesidad de aplicar metodologías de superficie de respuesta (MSR) para establecer las mejores condiciones tecnológicas que maximicen las respuestas esperadas (Sasikumar *et al.*, 2020; Pashazadeh *et al.*, 2021). Esta tecnología posee como mayor ventaja su bajo costo y buena reproducibilidad, obteniéndose polvos con poca cantidad

de agua y con alta retención de los compuestos bioactivos, además de ser la más empleada tanto en la industria farmacéutica como en la alimentaria (Rehman *et al.*, 2019).

## **2.6. Procesamiento de productos cárnicos**

La proteína de origen animal es primordial en una dieta equilibrada por su aporte de aminoácidos de gran valor biológico, vitaminas y minerales. En México, dada la gran diversidad gastronómica, en muchas de las preparaciones se incluyen algún tipo de estas proteínas animales. México presenta un consumo per cápita de 65 kg de carne, ocupando el sexto lugar mundial con una demanda de más de 8.5 millones de toneladas de carne de res, cerdo y pollo (Carne, 2018). Por otro lado, cabe mencionar su importante rol de productor de más de 6.7 millones de toneladas de carne anualmente. La carne de cerdo después de la de aves, es la que alcanza un mayor crecimiento, así como el aumento del 4.8% en el consumo de derivados cárnicos. Dentro de estos productos el jamón y las salchichas son los que tienen una mayor demanda en México (Juarez, 2020). Las producciones de ambos representan el 90% del total de embutidos elaborados en el país. Siguiendo esta misma línea, el 46% de la producción corresponde a derivados de aves (pollo y pavo), el 19% a carnes rojas (cerdo y res) y el restante 35% a mezclas. Se informa que en el período 2007-2014 la producción de embutidos incrementó en un 30%, siendo los productos de ave los que experimentaron un mayor crecimiento (Carne, 2018).

El jamón se define como el producto cárnico elaborado a partir de las patas traseras del cerdo, que son separadas de manera transversal del resto del costado y que no se encuentre más delante que la extremidad del hueso de la cadera (FAO/OMS, 2019). Durante la primera etapa del proceso de elaboración son descartados elementos como huesos, cartílagos, tendones y ligamentos. Algunos otros elementos como la grasa y tejido conectivo pueden ser retirados a criterio del productor. En la etapa de curado son añadidos a la carne diversos compuestos como sal, nitritos, carragenatos y azúcar con la finalidad de disminuir la actividad de agua, inactivar microorganismos patógenos (Honikel, 2008). Huang *et al.* (2020) mencionan que este proceso se puede realizar en seco o bien mediante la elaboración de una solución acuosa de los componentes (salmuera). La salmuera utiliza los mismos componentes que el curado en seco, pero en este caso se disuelven en agua y los cortes de carne son



sumergidos en su totalidad hasta que la misma haya penetrado por completo en la carne. También una manipulación física (masajeo), mejora las características físicas de la carne, haciéndola más flexible y suave, favoreciendo el conformado final de la pieza de jamón. Sebranek y Bacus (2007) plantearon que durante el paso final de la elaboración por acción del calor ocurre una coagulación en la pieza lo que hace que exista una mejor cohesión en las piezas.

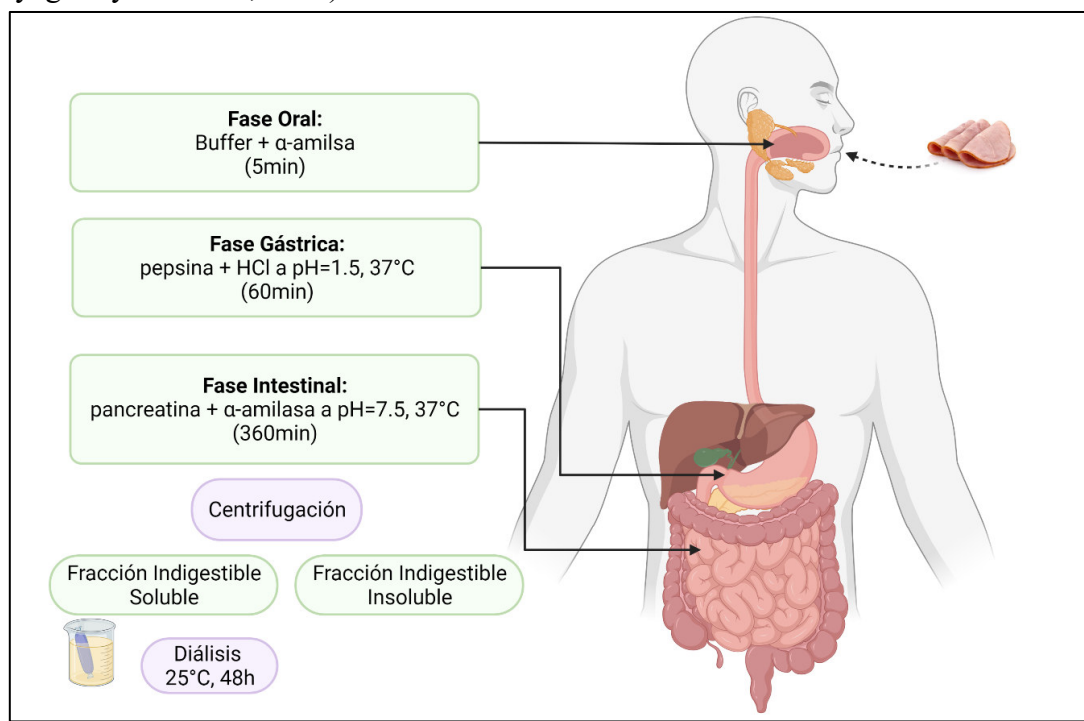
Las principales estrategias para la obtención de productos cárnicos funcionales se basan en aumentar los micronutrientes, limitar o eliminar los constituyentes indeseables y se puede realizar mediante la suplementación dietética durante la producción animal, tratamientos o manejo de materias primas cárnicas, así como la reformulación de los productos cárnicos (Kausar *et al.*, 2021). Sin embargo, el número de estudios enfocados sobre los posibles efectos benéficos para la salud de los productos cárnicos funcionales aún es algo limitado, la mayoría de las conclusiones se basan en el hecho de que los ingredientes funcionales *per-se* pueden ser beneficiosos para el ser humano (Das *et al.*, 2020). Por esta razón, se necesitan estudios que proporcionen pruebas sólidas de dichas alegaciones, así como puede afectar la materia cárnica la disponibilidad de estos compuestos bioactivos. Los estudios de bioaccesibilidad pueden constituir una herramienta muy práctica para explicar las distintas interacciones bioactivo – matriz alimentaria una vez que es ingerido el producto funcional (Wu y Chen, 2021).

## **2.7. Estudios sobre la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos**

Luego de la ingestión de un producto funcional, en este caso un producto cárnico, la cantidad de compuestos bioactivos disponibles para su absorción a nivel intestinal no solamente depende de su concentración inicial sino también de su bioaccesibilidad. La bioaccesibilidad se puede definir como la fracción del compuesto que es liberada de la matriz alimentaria en el tracto gastrointestinal y se encuentra disponible para su absorción intestinal (Mercado-Mercado *et al.*, 2018). Por otro lado, puede verse afectada por las condiciones de la digestión (pH, concentración y actividad enzimática), estabilidad química de los compuestos bioactivos y las interacciones que pueden tener con otros componentes del alimento como lípidos y proteínas (Rodríguez *et al.*, 2017). Los métodos de digestión *in vitro*

sobre la bioaccesibilidad son una alternativa para el estudio del comportamiento de los compuestos bioactivos sin emplear estudios en humanos y animales. La mayor ventaja es que son rápidos, poseen un costo más bajo y pueden predecir la bioaccesibilidad en estudios del procesamiento de alimentos (Castaldo *et al.*, 2021).

Los modelos *in vitro* consisten en una simulación de las fases iniciales de la digestión, seguida por una absorción intestinal empleando modelos de diálisis (Figura 5). Los compuestos fenólicos sufren de distintas transformaciones al someterse al proceso de digestión *in vitro*. Factores como el pH y la acción de enzimas puede provocar una degradación de las estructuras y por otro lado pueden quedar atrapados en la matriz dificultando su liberación (Melini *et al.*, 2020). Existe evidencia que sugiere que compuestos fenólicos como los flavonoides (antocianinas, flavonoles, flavan-3-oles) sufren muy pocos cambios durante las primeras etapas de la digestión, en su mayoría son catabolizados en el intestino grueso a ácidos fenólicos de menor peso molecular (Cárdenas-Castro *et al.*, 2020). Por otro lado, componentes como la fibra dietética y carbohidratos complejos son fermentados por la microbiota en el colón, produciendo ácidos grasos de cadena corta, que poseen efectos benéficos en el recambio celular, metabolismo y conducta alimentaria (Sáyago-Ayerdi *et al.*, 2021).



**Figura 5.** Modelo de simulación gastrointestinal *in vitro* (Elaboración propia, creado en Biorender.com).

La literatura reporta cómo puede afectar distintas matrices alimentarias en la bioaccesibilidad de los compuestos presentes en los extractos añadidos a las formulaciones. Pavez-Guajardo *et al.* (2020) evaluaron el comportamiento durante el proceso de digestión *in vitro* de un snack de manzana enriquecido con jugo de uva. En el estudio se demostró que existía un incremento en la capacidad antioxidante al incorporar este extracto, además durante las primeras fases de la digestión existió un aumento en el contenido de fenoles, pero una disminución cuantitativa de catequina, epicatequina y epigallocatequina. En otro estudio se evaluó el impacto de la digestión en la bioaccesibilidad de polifenoles y cinamaldehídos de un yogurt fortificado con canela (Helal y Tagliazucchi, 2018). La digestión resultó en una liberación controlada de los compuestos fenólicos asociados a la proteína de la leche, de tal modo que al final la cantidad de compuestos fenólicos recuperados fue mayor que en los extractos preparados de canela. También investigadores de la Universidad Técnica de Estambul determinaron como afecta la adición de polvo de cáscara de tomate el proceso de extrusión y el comportamiento de los compuestos durante la digestión simulada. De manera general, las muestras enriquecidas con las cáscaras de tomate presentaron un valor mayor de compuestos fenólicos totales y de capacidad antioxidante en comparación con las muestras no digeridas (Yagci *et al.*, 2022). En la actualidad existen pocos estudios que demuestren como pueden afectar las matrices de origen cárnico a la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos que se encuentran presentes como parte de su formulación. La interacción de los polifenoles, carotenoides y otros compuestos con marcada actividad biológica con las proteínas de la carne, constituye un área de interés en la investigación y en el desarrollo de nuevos productos con características funcionales.

### III. JUSTIFICACIÓN

El consumo de alimentos de origen animal se ha vinculado al padecimiento de determinados tipos de enfermedades cardiovasculares, cáncer y obesidad. En la actualidad, la ingesta de frutas y vegetales, así como sus extractos, se recomienda para disminuir las probabilidades de padecer estos tipos de enfermedades. El desarrollo de alimentos cárnicos incorporando diversas fuentes vegetales ofrece una alternativa más saludable y además genera valor agregado. Diversos fitoquímicos provenientes de subproductos vegetales como carotenoides, ácidos fenólicos y flavonoides se han empleado en el diseño de alimentos funcionales, pero tienen como desventaja su baja estabilidad. Existen procedimientos tecnológicos que protegen a los compuestos bioactivos de la acción de agentes externos, y el secado por aspersión es una tecnología que permite obtener buenos rendimientos a un bajo costo económico. Por otro lado, no solo basta la incorporación de los bioactivos a los alimentos para aseverar que los mismos poseen características funcionales. Este hecho ha generado toda un área nueva de conocimientos, creando metodologías que mimeticen los procesos fisiológicos, como es el caso de la digestión *in vitro*. Con la aplicación de este método se obtiene de manera fácil y rápida información de cómo son liberados del alimento y transformados los distintos componentes de los alimentos durante las diferentes etapas del proceso digestivo. Por estas razones, se propone evaluar el efecto de la adición de encapsulados de un extracto vegetal sobre las características funcionales de un producto cárnico.



#### **IV. HIPÓTESIS**

La incorporación de extractos vegetales provenientes de residuos de aguacate a un jamón horneado artesanal de cerdo resulta en un alimento con características antioxidantes y un perfil variado de compuestos fenólicos que incrementa su bioaccesibilidad en un modelo de digestión *in vitro*.

## V. OBJETIVOS

General:

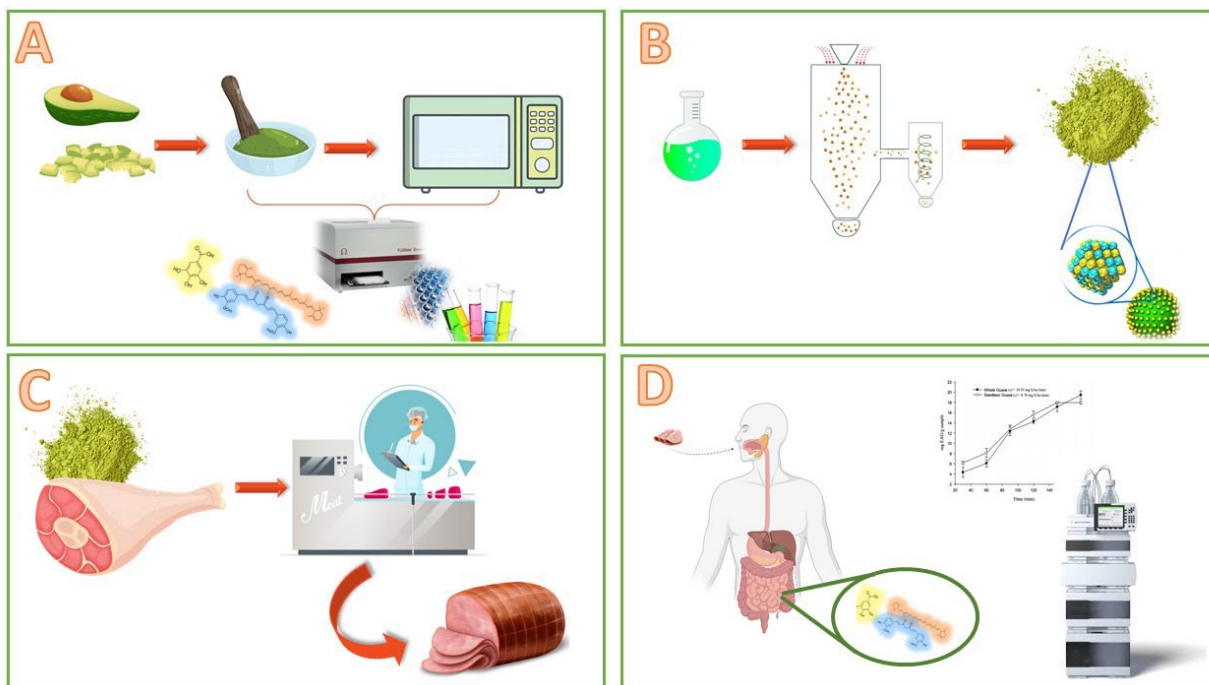
Evaluar el efecto de la adición de extractos vegetales optimizados de residuos de aguacate sobre las características antioxidantes de un jamón horneado artesanal de cerdo.

Específicos:

- Aplicar técnicas de extracción asistida por microondas para identificar los parámetros que optimicen la recuperación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en el residuo de aguacate.
- Determinar el efecto de la encapsulación sobre la concentración y capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del extracto optimizado.
- Analizar la evolución de las propiedades fisicoquímicas, antioxidantes y tecno funcionales del jamón artesanal de cerdo a lo largo del tiempo, tras la incorporación del extracto optimizado de residuos de aguacate.
- Evaluar la bioaccesibilidad *in vitro* de compuestos fenólicos en los jamones formulados, determinando su liberación durante la digestión simulada.

## VI. METODOLOGÍA

El desarrollo experimental de la investigación se dividió en cuatro etapas (Figura 6). En primer lugar, se realizó la extracción y caracterización del residuo vegetal, así como la optimización de los parámetros de la EAM que garanticen una mayor liberación de compuestos bioactivos (Figura 6A). Posteriormente, se optimizó la formulación del encapsulado respecto a la concentración de bioactivos y capacidad antioxidante (Figura 6B). En la tercera etapa se evaluó el efecto de la adición de encapsulados sobre las características funcionales y sensoriales del jamón horneado de cerdo (Figura 6C) y una última etapa en la que se evaluó la bioaccesibilidad *in vitro* de los compuestos bioactivos, su cinética de liberación e identificación de los compuestos mayoritarios presentes en el jamón horneado artesanal desarrollado (Figura 6D).



**Figura 6.** Representación gráfica de las etapas experimentales propuestas en el estudio (Elaboración propia).

## **6.1. Caracterización del residuo de aguacate**

### **6.1.1. Características del residuo de aguacate (RA)**

Para el desarrollo de este estudio se empleó residuos agroindustriales del proceso de elaboración del aceite de aguacate Hass (*Persea americana*). Los residuos fueron proporcionados por la empresa Aceitera Mevi ubicada en la localidad de Huescalapa, Jalisco. Se recibieron un total de 2 muestras de residuos de aguacate (7 kg) pertenecientes a la pulpa desgrasada (RA-1) y del repaso de la primera extracción de la pulpa residual (RA-2). A continuación, cada muestra fue separada en bolsas de plástico (250 g) y congeladas para su conservación. Posteriormente, las muestras se deshidrataron en una liofilizadora marca Operon (modelo FDB-5502, Korea) y se preservaron en congelación para futuros análisis.

### **6.1.2. Determinación del contenido de humedad en el RA**

Para la determinación de la humedad, se siguió el método oficial 950.46 (AOAC, año). Se pesaron 5 g de la pulpa por triplicado y se secaron en horno marca Shel lab (modelo CE3F, Cornelius, OR, EUA) durante 24 h con una temperatura constante de 105 °C. Luego de que la pulpa estuviese seca se pesó nuevamente y se calcularon los contenidos de humedad por diferencia de peso y el resultado fue expresado como porcentaje en base húmeda.

### **6.1.3. Determinación de grasa en el RA**

La determinación de extracto etéreo se realizó siguiendo lo establecido por la NMX-F-545-2002 (2002). La materia grasa se extrajo con éter de petróleo. El mismo se calentó y al interactuar con la muestra, produjo un arrastre de la materia grasa que se encuentra contenida en la matriz vegetal. Se utilizó un extractor de Goldfish (Figura 7) con una relación muestra / éter de petróleo de 1:20 (p/v). Los resultados se expresaron como porcentajes en base húmeda.



**Figura 7.** Equipo de Goldfisch para extracción de materia grasa

#### 6.1.4. Determinación de parámetros de color

El color de los residuos de aguacate se determinó usando un colorímetro (modelo ColorFlex, Hunterlab, Reston, VIR, EUA). Los valores se midieron usando la escala CIELab, con brillo D65, ángulo de observación de 10° y diámetro de apertura de 8 mm. El equipo proporcionó los siguientes parámetros colorimétricos: luminosidad ( $L^*$ ), contenido de rojo/verde ( $a^*$ ) y contenido de amarillo/azul ( $b^*$ ). Se realizaron un total de tres mediciones. Antes de cada procedimiento, el equipo se calibró utilizando un estándar de placa de cerámica blanca y negra. Los valores obtenidos fueron usados para calcular la intensidad cromática ( $C^*$ ) y tono cromático ( $h^*$ ), usando las siguientes ecuaciones (Dal-Bó y Freire, 2022):

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$$

$$h^* = \tan^{-1} \left[ \frac{b^*}{a^*} \right]$$



### **6.1.5. Extracción de compuestos fenólicos en el residuo de aguacate**

Se pesó 1 g del residuo de aguacate liofilizado y se le adicionaron 10 mL de una solución metanol-agua 80:20 (v/v). Posteriormente, las muestras fueron sonicadas por 30 min en un sonicador (Branson, modelo 2510R-DTH, EUA) con potencia nominal de 200 W y fueron centrifugadas a 18407xg por 15 min a una temperatura de 4°C (Hermle, modelo Z 326 K, Alemania). Los sobrenadantes se recuperaron y los residuos se lavaron dos veces con solución metanólica para posteriormente ser recuperados como se describió con anterioridad. Los sobrenadantes se filtraron en papel Whatman No.1 y los volúmenes se aforaron a 30 mL. Los extractos y el pellet residual fueron conservados a -35 °C para futuras determinaciones (Campos-Gonzalez, 2019).

### **6.1.6. Determinación del contenido de compuestos fenólicos solubles totales (CFs)**

Los CFs se determinaron siguiendo la metodología reportada por Singleton y Rossi (1965). El fundamento del método se basó en la reacción de reducción del reactivo Folin-Ciocalteu en presencia de un agente reductor (antioxidantes presentes en la muestra a analizar). Se tomaron 0.25 mL del extracto obtenido y se añadió 0.25 mL del reactivo Folin-Ciocalteu, previamente diluido 1:4 v/v con agua destilada y 2 mL de carbonato de sodio al 1%. La mezcla se dejó en reposo en la oscuridad por 1 h y la absorbancia fue medida a 765 nm utilizando un espectrofotómetro (Perkin Elmer, modelo: Lambda XLS, Waltham, MA, EUA). El contenido de CFs se calculó empleando una curva de calibración de ácido gálico y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de muestra en peso seco (PS).

### **6.1.7. Determinación de flavonoides totales**

Los flavonoides totales fueron medidos siguiendo la metodología de Khanam *et al.* (2012) con algunas modificaciones. Se pesaron 500 mg de la pulpa residual de aguacate liofilizada y se le adicionaron 5 mL de solución metanol (80%) en tubo de ensaye con taparrosca. Posteriormente, se llevaron a ebullición por 1 h con agitación constante, transcurrido este tiempo se atemperaron con agua fría y se trasvasaron a microtubos para su

centrifugación 18407 x g por 15 min a 4°C (Hermle, modelo Z 326 K, Alemania). El sobrenadante (250 µL) se hizo reaccionar con 50 µL de AlCl<sub>3</sub> 10% (p/v), 50 µL de CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>K (1M), 800 µL metanol (80%) y 1400 µL de agua destilada. La absorbancia de las muestras se midió a 415 nm y los resultados se expresaron como equivalentes de quercetina / g de peso seco (EQ/g PS).

#### **6.1.8. Determinación de polifenoles hidrolizables y taninos condensados**

Los residuos obtenidos en el apartado 6.1.5. fueron suspendidos en 10 mL de solución metanólica- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% (v/v). las muestras fueron incubadas (70°C, 22 h), posteriormente se centrifugaron y los sobrenadantes recuperados. Se realizaron 2 lavados con 10 mL de agua destilada (Hartzfeld *et al.*, 2002). La cuantificación se realizó de la misma manera que en apartado 6.1.6. Para la cuantificación de taninos condensados se siguió la metodología planteada por Reed *et al.* (1982), los residuos obtenidos del paso anterior se disolvieron en 10 mL de una solución de butanol/HCl/FeCl<sub>3</sub> y se incubaron a 100°C por 3h (Reed *et al.*, 1982). Posteriormente las muestras fueron centrifugadas y el sobrenadante fue recuperado. Se realizaron un total de 3 lavados y la absorbancia de los sobrenadantes fue medida a 555 nm. Adicionalmente se realizó una curva patrón y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de Algarroba/g peso seco (mg EA/g PS).

#### **6.1.9. Identificación por cromatografía de compuestos fenólicos en el residuo de aguacate**

La metodología seguida para la identificación de los compuestos fenólicos fue la planteada por Blancas-Benitez *et al.* (2018). La determinación de los compuestos se realizó mediante HPLC con un detector de arreglo de diodos (DAD) y técnicas de cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS). Se empleó un sistema HPLC Agilent serie 1260 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) equipado con un DAD para la HPLC-DAD. Tras la filtración, las muestras se inyectaron y separaron utilizando una columna Poroshell 120 EC-C18 (4,6 × 150 mm, tamaño de partícula 2,7 µm; Agilent Technologies). El volumen de inyección fue de 10 µL. La fase móvil contenía ácido trifluoroacético al 0.1 % (v/v) como disolvente A y acetonitrilo como disolvente B, y se aplicó de la siguiente manera: 0 min, 5 % B; 10 min, 23 % B; 15 min, 50 % B; 20 min, 50 % B; 23 min, 100 % B; 25 min, 100 % B;

27 min, 5 % B; 30 min, 5 % B. El caudal fue de 0.4 ml/min. La detección se realizó a 280-320 nm. Para el análisis MS, se utilizó un equipo LC/MS Agilent Quadrupole 6120 equipado con una interfaz de ionización por electrospray en modo de ionización negativa. Se utilizó nitrógeno a un caudal de 1.3 L/min como gas de secado. La presión del nebulizador fue de 40 psi, la temperatura de secado del gas fue de 350 °C y el voltaje capilar fue de 3500 V. Para el análisis de datos se utilizó el software OpenLab CDS ChemStation Edition (Agilent Technologies). Los compuestos se detectaron inicialmente mediante un único barrido de MS en el rango de 100 a 1100 m/z, seguido de una búsqueda dirigida basada en los picos que mostraban señales principales en los cromatogramas de HPLC-DAD. La identificación de los compuestos se basó en el tiempo de retención (TR) de la separación por HPLC-DAD y la señal de MS tras la comparación con el TR del estándar o los datos de la literatura. Los resultados cuantitativos se expresaron como áreas de pico (unidades arbitrarias). La cuantificación de compuestos tentativos se realizó utilizando curvas de calibración externas preparadas para cuantificar los compuestos fenólicos. El análisis cromatográfico se realizó por triplicado.

#### **6.1.10. Determinación de la capacidad antioxidante (CAO)**

##### **6.1.10.1. Prueba de inhibición del radical DPPH**

El método se realizó siguiendo la metodología planteada por Brand-Williams *et al.* (1995), con algunas modificaciones sugeridas por Ozuna *et al.* (2020). Se disolvieron 2.95 mg del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidazilo) en 50 mL de metanol absoluto, y se ajustó la absorbancia (515 nm) a  $0.70 \pm 0.02$ . Se tomaron 2 mL del extracto y se mezclaron con 3.2 mL de la solución del radical DPPH. La mezcla se incubó en la oscuridad por 15 min y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm. La capacidad de los antioxidantes de reducir al radical, posterior al período de incubación se expresó como mg equivalentes de Trolox (ET)/g de peso seco (PS).

##### **6.1.10.2. Poder Antioxidante Reductor del Hierro (FRAP)**

La determinación se realizó según lo establecido por Benzie y Strain (1996), el principio se basa en la capacidad que tienen los antioxidantes de reducir al  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ ,

presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ). Se prepararon tres soluciones: amortiguadora de acetato de sodio (0.03 M, pH 3.6); TPTZ 10 mM (en HCl 40 mM) y cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) 20 mM. El reactivo FRAP se elaboró mezclando 25 mL de la solución amortiguadora de acetato de sodio, 2.5 mL de TPTZ y 2.5 mL de  $\text{FeCl}_3$ . Para determinar la CAO se hizo reaccionar 65  $\mu\text{L}$  del extracto, 1950  $\mu\text{L}$  del reactivo de FRAP y 195  $\mu\text{L}$  de agua destilada. La absorbancia se midió a 595 nm. La concentración de  $\text{Fe}^{2+}$  se calculó mediante regresión lineal empleando una curva de calibración con el estándar Trolox a una concentración de 0.05 mg/mL a 0.80 mg/mL. La concentración se expresó en mg ET/g PS.

#### **6.1.11. Diseño experimental**

Los análisis de determinación de humedad, grasa, color, contenido de compuestos fenólicos solubles totales (CFs) y capacidad antioxidante (CAO) medida por DPPH y FRAP de cada uno de los residuos de aguacate se ejecutó mediante un diseño completamente al azar con tres repeticiones, cada análisis se realizó por triplicado. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía en el programa estadístico NCSS v.12 y posteriormente, se aplicó una comparación múltiple de medias mediante una prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

### **6.2. Extracción asistida por microondas (EAM) de compuestos fenólicos**

#### **6.2.1. Tratamientos aplicados para la EAM**

El residuo de aguacate (RA) fue sometido en fresco a un proceso de extracción asistido por microondas con el objetivo de determinar los parámetros óptimos y garantizar que en proceso se obtenga la mayor cantidad posible de compuestos fenólicos y se evaluó el efecto del tratamiento sobre su liberación. Para la ejecución del experimento se empleó un horno de microondas (modelo MS-0745VS, LG, Corea del Sur), con una potencia máxima de cocción de 700 W y frecuencia de 2450 MHz. Previo al experimento se realizaron los cálculos necesarios para conocer la potencia real de equipo siguiendo la metodología propuesta por la Comisión Eléctrica Internacional (IEC) 60705 (IEC, 1999). De manera general, se tomó 1000 g de agua purificada, a la que se le midió su temperatura.

Posteriormente, se introdujo en la cavidad por 5 min y se sometió a distintos niveles de potencia cubriendo el 20, 60 y 100% de la potencia nominal del horno. Para todos los casos la temperatura fue medida al finalizar el calentamiento. La potencia real de salida se calculó utilizando la expresión matemática:

$$P = \frac{m \cdot C_p \cdot \Delta T}{t}$$

donde P: es la potencia de salida de la microondas expresada en Watts (W); m: la masa del agua purificada (g); Cp: calor específico del agua (4184 J/°C Kg); ΔT: variación de la temperatura (°C) y t: tiempo de calentamiento (s). El ensayo se realizó por triplicado.

El residuo de aguacate fue separado en porciones de 250 g y se le aplicaron los tratamientos asistidos por microondas como se muestra en el Cuadro 2. La proporción entre solvente y material vegetal fue de 1:1 (p/p). Los parámetros operacionales se tomaron con base a experiencias existentes en el laboratorio y el cuadro fue generado empleando el programa NCSS v.12 (Patlán-González *et al.*, 2018).

**Cuadro 2.** Diseño experimental 3<sup>k-p</sup> con las condiciones de extracción asistida por microondas.

Tratamiento	X <sub>S</sub> <sup>1</sup>	X <sub>P</sub> <sup>2</sup>	X <sub>t</sub> <sup>3</sup>
	Tipo de solvente (%)	Potencia de salida (W)	Tiempo (min)
1	Etanol	100	1.3
2	Etanol	480	4
3	Etanol	300	2.3
4	Etanol/Agua (70:30)	100	4
5	Etanol/Agua (70:30)	480	2.3
6	Etanol/Agua (70:30)	300	1.3
7	Agua	100	2.3
8	Agua	480	1.3
9	Agua	300	4



Se realizaron las determinaciones del contenido de CFs y CAO a cada uno de los tratamientos siguiendo las metodologías planteadas en los apartados 6.1.6 y 6.1.10. La cantidad de CFs y los valores de CAO por DPPH y FRAP fueron considerados como variables de respuesta y se tuvieron en cuenta para seleccionar el mejor tratamiento.

### 6.2.2. Diseño experimental

El diseño se ejecutó en tres niveles, por triplicado, con un total de 27 corridas experimentales. Los datos se analizaron en el programa estadístico NCSS v.12 y fueron ajustados al modelo de regresión:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=1}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

en el que, Y es la variable de respuesta,  $\beta_0$  es la constante del modelo,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  y  $\beta_{ij}$  son los coeficientes de regresión de la intercepción lineal,  $X_i^2$  cuadrática y  $X_i X_j$  los efectos de las interacciones y  $\varepsilon$  corresponde al error residual. A continuación, se realizó una optimización para determinar las condiciones óptimas que garantizan la mejor extracción de CFs y la mayor capacidad antioxidante medida por DPPH y FRAP. Adicionalmente, se realizaron tres corridas experimentales para la validación del modelo matemático obtenido. Se aplicó una prueba de t-student para establecer diferencias entre los valores predichos y los experimentales para cada variable de respuesta.

## 6.3. Encapsulación del extracto optimizado del residuo de aguacate

### 6.3.1. Proceso de encapsulación de los compuestos fenólicos del extracto optimizado de residuos de aguacate

Una vez obtenido el extracto con la mayor cantidad de compuestos bioactivos liberados por la acción de la EAM, se procedió a realizar los encapsulados. Se empleó un secador por aspersión (modelo Mini Spray Dryer B-290, Büchi, Suiza). Se utilizó como material encapsulante maltodextrina y grenetina en solución al 1% y con una relación de

maltodextrina/grenetina de 100:0; 75:25; 50:50. Las mezclas se prepararon mezclando el extracto vegetal obtenido con la solución encapsulante en relación 3:1 y se homogenizaron empleando un Ultra Turrax marca IKA (modelo T25 DS1, Alemania) a 11 000 rpm por 5 min (Pashazadeh *et al.*, 2021). Las condiciones de trabajo empleadas fueron: temperatura interna de la cámara de 120 °C, flujo de alimentación de 2 mL/min y flujo de atomización de 35 m<sup>3</sup>/h (Ruiz-Hernández, 2019). Los encapsulados se recolectaron y se conservaron en sobres herméticos protegidos de la luz y almacenados en condiciones de congelación para la realización de futuros análisis.

### **6.3.2. Determinación de humedad y actividad de agua**

Para la determinación de humedad del encapsulado se siguió el método oficial 950.46 (AOAC). Se pesó 1 g del encapsulado y se secó en un horno marca Shel Lab (modelo CE3F, Cornelius, OR, EUA) durante 24 h con una temperatura constante de 105 °C. Una vez retirada la muestra del horno se realizó una nueva pesada y se calculó el contenido de humedad por diferencia de peso, el resultado fue expresado en porcentaje. La actividad de agua se determinó empleando un higrómetro eléctrico (modelo Aqua Lab, Decagon Devices, Pulman, WA, EUA). Previamente se realizaron calibraciones con agua destilada (Ruiz-Hernández, 2019).

### **6.3.4. Determinación de parámetros de color**

El color de los encapsulados en polvo fue determinado con la metodología descrita en la sección 6.1.4. Adicionalmente se realizaron los cálculos para obtener los valores de  $\Delta E$  y de esta forma conocer como varía el parámetro de color entre los encapsulados que contienen solo el material encapsulante y aquellos que poseen el material vegetal siguiendo la expresión:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

### 6.3.5. Determinación del rendimiento de la encapsulación

El rendimiento se evaluó por la diferencia entre la masa total de producto recuperado y la masa de la solución introducida en el sistema. Los resultados se expresaron en una relación porcentual (base seca) (Fazaeli *et al.*, 2012).

### 6.3.6. Cálculo de la eficacia de la encapsulación

La eficacia de la encapsulación ( $E_e$ ) se define como la relación porcentual entre los compuestos fenólicos encapsulados y el contenido de compuestos fenólicos totales. Se determinó tomando la diferencia entre los compuestos fenólicos solubles totales (CFT) y los compuestos fenólicos medidos en el tiempo cero cuando se restituye el polvo en el solvente ( $CF_{t0}$ ) (Cilek *et al.*, 2012). La eficacia de encapsulación fue calculada utilizando la ecuación:

$$E_e = \frac{CFT - CF_{t0}}{CFT} \times 100$$

### 6.3.7. Estudios cinéticos de liberación de compuestos fenólicos

Los encapsulados se sometieron a una cinética de liberación utilizando la metodología propuesta por Martínez-Olivo *et al.* (2023). Los encapsulados fueron transferidos a bolsas de diálisis (Sigma-Aldrich, membrana de celulosa con permeabilidad de 13 kDa) con solución de buffer de fosfato (pH 6.9) a 37°C. Se tomaron alícuotas de 10 mL al minuto cero, 5, 10, 15, 20, 30, 60 y 180. El volumen tomado fue remplazado con solución buffer de fosfato. Las alícuotas se conservaron en congelación para determinar posteriormente el contenido de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu (sección 6.1.6). Además, fueron determinados los valores de concentración de fenólicos en el equilibrio (Ling *et al.*, 2015) usando la ecuación:

$$X = X_{eq} + (X_0 - X_{eq})e^{-kt}$$

donde  $X$  es la concentración de compuestos fenólicos en un tiempo  $t$ ,  $X_{eq}$  es la concentración de compuestos fenólicos en el equilibrio,  $X_0$  la concentración inicial,  $k$  es la constante en el equilibrio ( $\text{min}^{-1}$ ), y  $t$  es el tiempo (min).

### **6.3.8. Diseño experimental**

El análisis experimental en esta etapa se realizó mediante un análisis unifactorial para definir como la concentración del material encapsulante afecta el índice de solubilidad, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, rendimiento y eficacia de la encapsulación. En el caso de la existencia de diferencias se aplicó una prueba de comparaciones múltiples de medias por el método de Tukey Kramer ( $p < 0.05$ ).

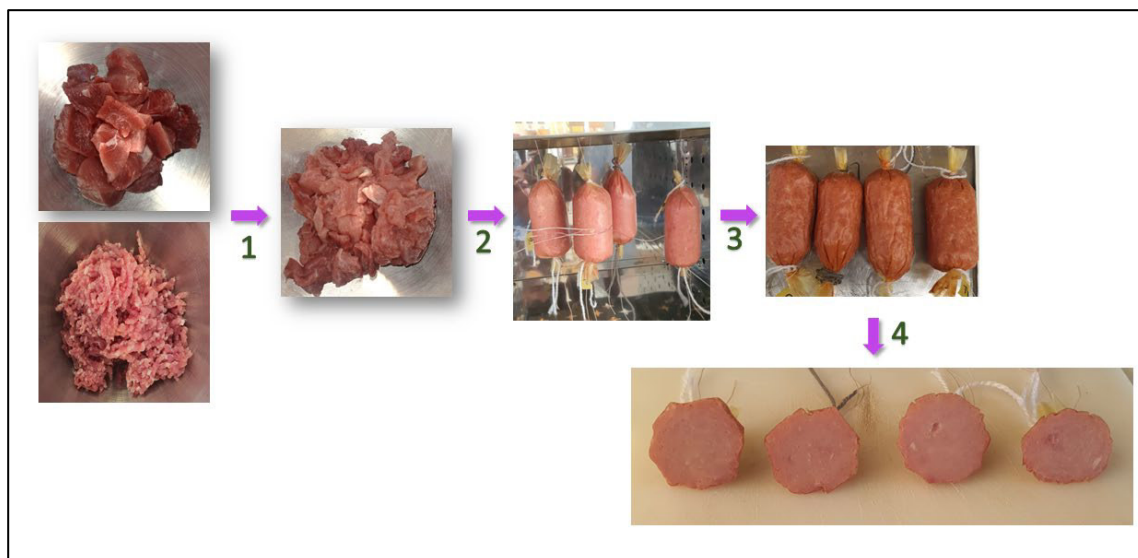
## **6.4. Elaboración del jamón horneado artesanal de cerdo adicionado con los encapsulados y extracto optimizado de residuo de aguacate**

### **6.4.1. Elaboración de jamón horneado artesanal de cerdo**

El proceso de elaboración del jamón horneado artesanal fue abordado desde tres enfoques diferentes. Primeramente, se evaluó el efecto de la incorporación del extracto optimizado del residuo de aguacate en concentraciones de 0.5, 1, 1.5 % (p/p). En un segundo lugar se evaluó el efecto de la incorporación del encapsulado en los jamones artesanales en concentraciones de 0.5, 1 y 1.5% (p/p). Por último, se evaluó el efecto de incorporar elevadas concentraciones del extracto optimizado del residuo de aguacate (1, 3, 5 y 10%) en los jamones.

Para todos los casos, la elaboración del jamón horneado artesanal de cerdo se realizó en la planta piloto del Departamento de Alimentos en la División de Ciencias de la Vida (DICIVA) de la Universidad de Guanajuato. Se realizaron los ajustes en la formulación para la preparación de 1 kg de carne (Figura 8). Se tomaron porciones de pierna deshuesada y se dividieron en 3 partes, 2/3 de carne se molieron empleando un molino con cedazo de 1/8 pulgada para garantizar una molienda fina. El resto de la carne se cortó en finas rebanadas. Posteriormente, se integraron las porciones, se adicionó la unidad de Bekarem (aditivos de salmuera), 380 g de agua purificada, se cubrió con una película elástica y se dejó macerar por 48 h. Adicionalmente se elaboraron los jamones con baja concentración del extracto optimizado, los jamones con los encapsulados y los jamones con altas concentraciones del extracto optimizado. En todos los casos, el extracto optimizado o su forma encapsulada

sustituyó al agua empleada en la formulación de la salmuera, manteniendo proporciones equivalentes en base a peso (p/p).



**Figura 8.** Breve esquema del proceso de elaboración del jamón de cerdo. (1) Mezcla de componentes; (2) embutido de la mezcla; (3) Cocción; (4) Rebanado.

Luego de la maceración, las emulsiones elaboradas, se colocaron en tripas de colágeno de 50 mm (Salvigar, Monterrey, Nuevo León, México) y se hornearon en un horno por convección (modelo CE3F, Shel Lab, Cornelius, OR, EUA) a una temperatura de 80°C. La cocción se detuvo al alcanzar una temperatura de 65 °C en el centro térmico del producto. Posteriormente, se realizó un choque térmico con agua y hielo (2- 3 min) para garantizar la gelatinización de las proteínas. Una vez concluida esta etapa se comprobó la firmeza al tacto y se realizó el rebanado del jamón (Oliveira *et al.*, 2018). Finalmente, al jamón se le realizaron análisis fisicoquímicos, así como de CFs y CAO durante su almacenamiento (0, 7, 14 y 21 días).

#### **6.4.2. Análisis fisicoquímicos y tecno-funcionales realizados al jamón horneado artesanal de cerdo**

##### **6.4.2.1. Determinación de humedad**

La determinación de humedad se realizó de la misma manera que se procedió en el apartado de determinación de humedad de los encapsulados (véase sección 6.3.2), solo que en este caso se tomaron 5 g de muestra.



#### **6.4.2.2. Determinación de parámetros de color**

Los análisis de los parámetros de color de los jamones formulados fueron medidos acorde a lo planteado en la sección 6.3.4, solo que en esta ocasión el tratamiento de la muestra varió. Los jamones fueron cortados verticalmente con un espesor aproximado de 1 cm y fueron medidos directamente en el colorímetro (modelo ColorFlex, Hunterlab, Reston, VIR, EUA).

#### **6.4.2.3. Determinación de pH**

El pH del jamón se midió siguiendo el método potenciométrico establecido por Yagoubi *et al.* (2018) utilizando el potenciómetro Hanna (modelo HI2550, Woonsocket, RI, EUA). Se tomó 1 g de muestra y se realizó un extracto empleando agua destilada 1:10 (p/v) según lo descrito por García-García *et al.* (2019). Posteriormente, el pH fue medido directamente sobre el extracto obtenido.

#### **6.4.2.4. Determinación del contenido de proteínas**

Para la determinación de proteína total se siguió el método de Kjeldahl para nitrógeno total (King-Brink y Sebranek, 1993). La muestra se sometió a una digestión con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Posterior a esta reacción, se forma un precipitado ácido de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  el que se hace reaccionar con NaOH 0.1 N. El exceso se neutralizó con HCl 0.1 N y el contenido de proteínas se obtuvo al multiplicar el volumen de HCl utilizado en la titulación acido-base por un factor de conversión con valor de 6.38. El resultado se expresó en porcentaje (% base seca) de Nitrógeno/ g de muestra.

#### **6.4.2.5. Determinación de la capacidad de retención de agua**

La capacidad de retención de agua de los jamones formulados se realizó siguiendo la metodología planteada por Szmańko *et al.* (2021). Se tomó 300 mg de cada uno de los jamones formulados y se colocaron entre dos papeles de filtro previamente desecados. A continuación, las muestras se colocaron entre dos placas acrílicas y se aplicó una presión de

5 kg durante 30 min. Una vez transcurrido este lapso, se separó la muestra del papel (en todo momento se tuvo en cuenta eliminar cualquier residuo cárnico de los mismos) y se procedió a pesar el papel. Posteriormente, los papeles de filtro se llevaron al horno, manteniéndose por 24 h a 60°C y posteriormente fueron pesados. La capacidad de retención de agua se calculó usando la expresión matemática:

$$CRA = \frac{(m_1 \times H) - (m_2 - m_3)}{(m_1 \times H)} \cdot 100$$

donde  $m_1$  es la masa de la muestra (g),  $m_2$  es la masa del papel de filtro húmedo,  $m_3$  es la masa del papel de filtro seco y  $H$  es el contenido de humedad de los jamones.

Los resultados se expresaron como gramos de agua retenida por cada 100 de agua (g H<sub>2</sub>O retenida/ 100 g de H<sub>2</sub>O).

#### **6.4.2.6. Determinación de la textura**

La dureza de los jamones se evaluó con un analizador de textura TAX-T2, Stable Micro System, Reino Unido. El jamón fue cortado transversalmente con un grosor aproximado de 2 cm. La fuerza de penetración se midió con una sonda cilíndrica plana de 2 mm (SMS/2N), una velocidad de cruceta de 1 mm/s y una deformación del 70 % (penetración). El pico máximo de la fuerza se registró como la dureza de la muestra. Cada medición se realizó por triplicado, y la prueba de penetración se midió en seis puntos diferentes para cada jamón formulado (Gómez-Salazar *et al.*, 2018).

#### **6.4.2.7. Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Los malonaldehídos (MDA) son indicadores del grado de oxidación lipídica en productos cárnicos, su formación puede ser inducida de manera no enzimática por especies reactivas de oxígeno (EROs) o por la acción de enzimas (lipoxigenasas) (Farmer y Mueller, 2013). En estos casos, la cuantificación de los productos de hidroperóxidos de lípidos primarios es muy difícil dado a alta inestabilidad y reactividad. Por este motivo, la cuantificación de la peroxidación lipídica se estima de manera general midiendo la

concentración de productos de oxidación secundarios derivados de estos hidroperóxidos iniciales, que, en su mayoría son aldehídos como el MDA (Davey *et al.*, 2005).

La determinación de MDA se llevó a cabo siguiendo el protocolo descrito por Pfalzgraf *et al.* (1995). Se trituraron 10 g de jamón y se homogenizaron con 20 mL de ácido tricloroacético (TCA) 10 % (m/v). A la mezcla se le adicionó 100 µL de BHT al 7 % (m/v) y el sobrenadante fue decantado en tubos Eppendorf con capacidad para 1.5 mL. Los tubos se centrifugaron a 5000 x g por 10 min a 4 °C, se tomó una alícuota de 2 mL, la cual fue transferida a un tubo de ensayo. Posteriormente, a la muestra se le añadieron 2 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0.02 M y los tubos fueron calentados a 95 °C durante 30 min. La absorbancia fue medida a una longitud de onda de 532 nm y como blanco fue empleado la mezcla de TCA-BHT-TBA. La concentración de MDA se expresó como µM MDA/ g de muestra en peso seco. El procedimiento se realizó por triplicado.

#### **6.4.3. Determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante**

La determinación de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante medida por FRAP y DPPH se ejecutaron de la misma manera que con el extracto vegetal (véase secciones 6.1.5, 6.1.6 y 6.1.10). Los extractos se almacenaron por no más de tres días y se les realizaron las determinaciones de CFs y CAO por triplicado (Campos-Gonzalez, 2019).

#### **6.4.4. Evaluación sensorial**

Se realizaron un total de dos paneles sensoriales. En el primero se midió la aceptación general del jamón horneado y el adicionado con el extracto optimizado a niveles de 0.5, 1 y 1.5% (p/p). En el segundo fueron evaluados los jamones horneados adicionados con 1, 3, 5 y 10% (p/p) del extracto optimizado y una muestra de jamón horneado control. El primer panel fue conformado por 30 estudiantes y profesores de la Universidad de Guanajuato, de ellos 19 fueron mujeres y 11 hombres, entre 21 y 45 años. El segundo panel contó con la participación de 50 jueces también estudiantes y profesores de la Universidad de Guanajuato, con edades comprendidas entre 21 y 50 años. Los protocolos para la ejecución de las pruebas sensoriales fueron aprobados por el Comité de Ética Universitaria de la Universidad de Guanajuato bajo el proyecto CEPIUG-P62-2023. Los análisis sensoriales

fueron realizados en el Laboratorio de Evaluación Sensorial, en cabinas individuales bajo luz blanca y las muestras se codificaron con números aleatorios de 3 dígitos. Se sirvió agua purificada a temperatura ambiente al inicio de la sesión y entre muestras para limpiar el paladar y eliminar sabores residuales. Se evaluaron muestras de jamón horneado artesanal para cada parámetro a través de una escala hedónica de 9 puntos, desde 1 “me disgusta muchísimo”, pasando por 5 “ni me gusta ni me disgusta” hasta 9 “me gusta muchísimo”. Posterior a la evaluación, se recopilaron los datos y se realizó estadística descriptiva para la presentación de los datos empleando el programa NCSS (versión 12) (Kardum *et al.*, 2017).

#### **6.4.5. Diseño experimental**

El análisis en esta etapa se ejecutó mediante un análisis de varianza de una vía, con la aplicación de una comparación múltiple de medias por Tukey para determinar si existen diferencias ( $p < 0.05$ ) entre las distintas formulaciones del jamón horneado artesanal.

### **6.5. Estudios de digestión *in vitro***

#### **6.5.1. Bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en la digestión *in vitro***

La biodigestibilidad de las muestras (residuo de aguacate y jamones) se realizó a través de un modelo estático de digestión *in vitro* siguiendo el protocolo INFOGEST (Brodkorb *et al.*, 2019). Inicialmente, se pesaron 1 g de cada muestra. En el caso de los jamones, estos se rebanaron y cortaron en porciones cuadradas de aproximadamente 1 cm de longitud. Luego, se añadieron 4 mL de fluido de simulación oral y se realizó la homogeneización a 4500 *rpm* utilizando un Ultraturraz (IKA, modelo T-25, Alemania). Inmediatamente, se añadieron 300  $\mu$ L de un consorcio de fluido salival. Los donadores del fluido salival fueron 3 hombres adultos sanos y se consideró como criterio de donación un ayuno de 12 horas, no haber realizado higiene bucal en 6 horas y, además, no haber fumado ni ingerido bebidas alcohólicas en 24 horas. El total de fluido salival donado fue de 5 mL por donador. Posteriormente, las muestras se incubaron en agitación continua a 37 °C durante 2 min (Heidolph, modelo Reax 2, Alemania). Este paso se consideró como la simulación de la fase oral durante la digestión *in vitro*. En segundo lugar, se realizó el proceso de simulación de la digestión gástrica, donde se añadió un total de 8 mL de solución tampón intestinal a las

muestras y el pH se ajustó a  $3 \pm 0.2$ . Inmediatamente, se añadieron 134  $\mu\text{L}$  de solución de pepsina porcina (30 mg/mL; P-7012; Sigma Aldrich, Saint Louis, MO, EE. UU.) y 96  $\mu\text{L}$  de lipasa gástrica (100 mg/mL; L-3126; Sigma Aldrich, Saint Louis, MO, EUA). Las muestras se incubaron a 37 °C con agitación constante durante dos horas. En la tercera etapa, las muestras se sometieron a un proceso de simulación intestinal (IF). Se añadió un total de 8 mL de tampón intestinal y el pH se ajustó a  $7.0 \pm 0.2$ . Se incorporó sal biliar (200 mg/mL; B-8631; Sigma Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) y la mezcla se agitó a 37 °C durante 30 min. Posteriormente, se añadió 1 mL de pancreatina (134 mg/mL; P-1750; Sigma Aldrich, Saint Louis, MO, EUA), seguido de una incubación de 1.5 h. El proceso se detuvo inmediatamente colocando la muestra en un baño de hielo y centrifugándola (Hermle, modelo Z326K, Alemania) a 18400 x g durante 15 min (4 °C).

Los sobrenadantes fueron separados y se realizó la cuantificación de compuestos fenólicos solubles totales y la capacidad antioxidante (CAO) medida mediante las metodologías DPPH y FRAP. Adicionalmente, los sobrenadantes se colocaron en bolsas de diálisis (12-14 kDa, D9652, Sigma Aldrich) y fueron dializados por 3 h con el objetivo de simular la absorción pasiva que ocurre en el intestino delgado. El contenido recuperado del proceso de diálisis corresponde a los compuestos fenólicos que no pueden atravesar la luz intestinal y fueron considerados como la fracción indigestible soluble (FIS). Por otro lado, el sedimento obtenido de la centrifugación contiene compuestos indigeribles e inaccesibles para la absorción en el intestino delgado los que fueron clasificados como la fracción indigestible insoluble (FII). La FII se sometió a un proceso de extracción y se determinaron el contenido de compuestos fenólicos solubles totales y la capacidad antioxidante medida por DPPH y FRAP (Blancas-Benítez *et al.*, 2019).

Una vez obtenidos los resultados del contenido de fenoles solubles totales y de la capacidad antioxidante de las fracciones, se realizaron los cálculos para estimar el porcentaje de bioaccesibilidad (%BA) mediante la ecuación:

$$\%BA = \frac{(CFs_{INT} - CFs_{FIS})}{(CFs_{INT} + CFs_{FII})} \times 100$$

Donde:



CF<sub>SINT</sub>: compuestos fenólicos solubles totales asociados a la fracción intestinal;  
CF<sub>SFIS</sub>: compuestos fenólicos solubles totales asociados a la fracción indigestible soluble y  
CF<sub>SFII</sub>: compuestos fenólicos solubles totales asociados a la fracción indigestible insoluble.

### **6.5.2. Diseño experimental**

Los datos se procesaron empleando un análisis de varianza (ANOVA) donde los factores seleccionados son las distintas etapas de digestión, así como las muestras que se analizaron y como variable respuesta el contenido de CFs y CAO. Además, se aplicó una prueba de Tukey-Kramer para establecer diferencias entre medias con valor de  $p \leq 0.05$ , empleado el programa estadístico NCSS v.12.

## **VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **7.1. Características del residuo de aguacate (RA)**

#### **7.1.1. Humedad de los residuos de aguacate**

La determinación de humedad en las matrices alimentarias es de gran importancia y la modificación de este parámetro tiene aplicaciones en el control del deterioro de las materias primas y facilita la expresión de los resultados experimentales. Además, tener un conocimiento del agua contenida en los alimentos permite realizar correctos cálculos unitarios en el proceso de elaboración de nuevos productos alimenticios, así como es fundamental en el proceso de control de calidad en la industria. El Cuadro 3 muestra los valores del contenido de humedad del residuo de aguacate RA-1 y RA-2 expresados en porcentaje.

**Cuadro 3.** Humedad (% b.h.) del residuo de aguacate

Muestra	Humedad (% b.h.)
RA-1	88.58±0.11 <sup>b</sup>
RA-2	95.97±0.10 <sup>a</sup>

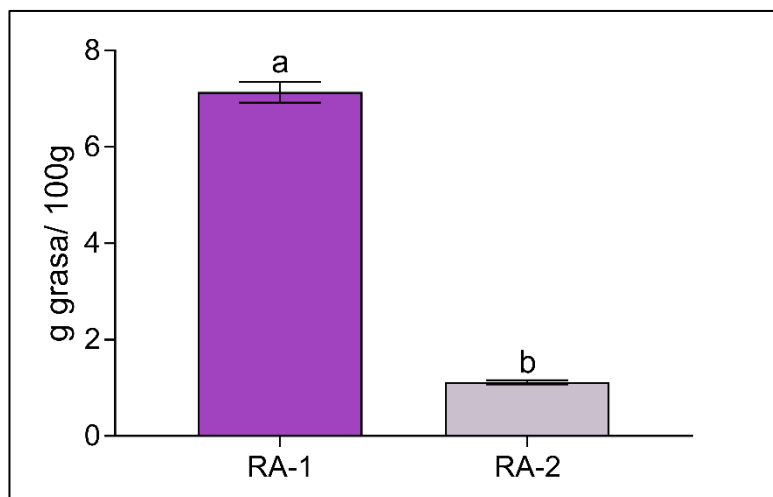
RA-1: pulpa desgrasada de aguacate; RA-2: repaso de la primera extracción de la pulpa residual de aguacate. Literales diferentes indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

El residuo de aguacate RA-2 tiene valores de humedad superiores a RA-1 debido a que durante el proceso de extracción del aceite existe una maceración con agua (55°C) para garantizar la ruptura de las estructuras celulares. Por otro lado, la acción de la fuerza centrífuga para la separación de los componentes grasos genera un aumento en los valores de humedad (Chemat *et al.*, 2011). Esto a su vez explica la razón de que RA-2 contenga un mayor contenido de agua que RA-1 ya que se sometió a dos calentamientos en los que se le adicionó agua para la obtención del aceite y esta solo constituye un paso intermedio en el proceso de obtención del aceite.

#### **7.1.2. Contenido de materia grasa en los residuos de aguacate**

La Figura 9 muestra la cantidad de grasa expresada en porcentaje que se encuentran en ambas muestras analizadas, para RA-1 y RA-2 se obtuvieron valores de  $7.14 \pm 0.21$  y  $1.12 \pm 0.05$  %, respectivamente. Los menores valores pertenecen a RA-2, en el apartado anterior se expusieron algunos detalles tecnológicos del proceso de obtención del aceite, en el que se explicaba que la pasta de aguacate se somete a una doble extracción. Debido a estas características tecnológicas se infiere que el contenido de grasa en la pasta residual de repaso sea menor ya que fueron removidos en este proceso la mayoría del aceite presente en la mezcla. Los datos aquí mostrados tienen valor desde el punto de vista productivo ya que son indicadores de la eficiencia del proceso de extracción. Lopez-Vega *et al.* (2021) establecieron que el aguacate Hass posee un porcentaje de grasa de  $17.6 \pm 0.6$  %, tomando como referencia este dato, durante la primera extracción se extrae el  $59.43 \pm 0.43$  % de la materia grasa. Por otro lado, al finalizar la segunda extracción se obtiene un rendimiento total de aceite de 93.63

$\pm 0.34 \%$ , demostrando durante el proceso se pueden obtener valores altos de rendimiento de aceite, lo que se traduce en mayores ganancias económicas para la empresa.



**Figura 9.** Porcentaje de grasa en los residuos de aguacate. Literales diferentes indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

### 7.1.3. Análisis colorimétrico de los residuos de aguacate

Los resultados de la medición de los parámetros de color en las muestras de residuo de aguacate (RA-1 y RA-2) se muestran en el Cuadro 4. Se observaron diferencias entre las dos muestras para cada uno de los valores medidos, este comportamiento puede estar explicado por el propio procesamiento al que fueron sometidas las muestras para extraer el aceite. Ashton *et al.* (2006) mencionan que, durante el proceso de obtención de aceite de aguacate, existe una migración de pigmentos (clorofila, zeaxantina, luteína y carotenos) hacia el mismo dada las características lipofílicas de estos compuestos. Los resultados de esta investigación demuestran lo planteado por los autores, por ejemplo, el valor de  $a^*$  que indica el rango de tonalidades de verde ( $-a$ ) a rojo ( $+a$ ), es mayor en la muestra de RA-2, indicando que durante el proceso de extracción del aceite se pierden compuestos que le dan el color verde característico a la pulpa del aguacate. Los pigmentos como la clorofila a y b, responsables de la coloración verde de las plantas, han sido identificadas en la pulpa y cáscara de aguacate. Por su naturaleza, son prácticamente insolubles en agua, por lo que durante la obtención de aceites se encontraran contenidos en el mismo y no en la fase acuosa (Requejo-Jackman *et al.*, 2005).

**Cuadro 4.** Parámetros de color de los residuos de aguacate

Muestra	L*	a*	b*	C*	h*
RA-1	37.88±0.74 <sup>a</sup>	5.89±0.02 <sup>b</sup>	35.42±0.69 <sup>a</sup>	35.91±0.67 <sup>a</sup>	80.58±0.27 <sup>a</sup>
RA-2	36.29±1.01 <sup>b</sup>	9.81±0.01 <sup>a</sup>	32.98±0.17 <sup>b</sup>	34.41±0.19 <sup>b</sup>	73.47±0.26 <sup>b</sup>

Columnas con literales diferentes indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Los valores de  $b^*$  indican azul (-b) a amarillo (+a), en este caso los valores para RA-2 es menor que el encontrado para RA-1, indicando que la muestra es menos amarilla luego de pasar por el proceso de la segunda extracción. Algunos pigmentos como la zeaxantina y luteína son los responsables de darle tonalidades amarillas a algunas frutas y vegetales. Como se había descrito con anterioridad, ambos compuestos se encuentran presentes en la pulpa de aguacate, por lo que es de esperar que durante las extracciones en la pasta residual disminuya su contenido por sus características hidrófobas. Por otro lado, los valores de  $L^*$  disminuyen de RA-1 a RA-2, indicando la pérdida de luminosidad por la posible presencia de compuestos de tonos marrones, que pudiesen originarse por las reacciones de Maillard responsable del pardeamiento en los alimentos (Maftoonazad *et al.*, 2020).

La cromaticidad ( $C^*$ ) es una medida que indica la intensidad del color de las muestras. Para las dos muestras se establecieron diferencias, RA-2 tiene una menor intensidad en el color. Los cambios de este parámetro están relacionados a las variaciones que experimentó la muestra en las tonalidades verdes ( $a^*$ ) y amarillo ( $b^*$ ) en la muestra al compararla con RA-1. El ángulo colorimétrico ( $h^*$ ) indica el color final de la muestra acorde a los parámetros que indican tonalidad roja ( $0^\circ$ ), amarillo ( $90^\circ$ ), verde ( $180^\circ$ ) y azul ( $270^\circ$ ). Los valores que se obtuvieron en el experimento indican ángulos con coloraciones cercanas al amarillo,  $80.58 \pm 0.27$  y  $73.47 \pm 0.26$  para RA-1 y RA-2, respectivamente.

#### **7.1.4. Contenido de compuestos fenólicos solubles (CFs) y flavonoides en los residuos de aguacate**

El Cuadro 5 muestra la cantidad de compuestos fenólicos que se encuentran en las muestras. Los resultados muestran que RA-2 posee un contenido mayor respecto a RA-1. La mayor abundancia de compuestos en RA-2 se puede explicar por el hecho que, durante la

segunda extracción en la pasta de aguacate, los compuestos fenólicos quedan retenidos en la fase no oleosa. Alara *et al.* (2021) plantean que los compuestos fenólicos poseen un carácter anfipático y que muestran una mejor afinidad hacia compuestos de características polares. Además, se menciona que la mayoría se unen mediante puentes de hidrógeno o bien por atracciones electrostáticas a carbohidratos y proteínas. Por otro lado, su afinidad molecular con triglicéridos y ácidos grasos libres es poca en comparación con los compuestos mencionados anteriormente.

**Cuadro 5.** Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en los residuos de aguacate

Muestra	Fenólicos (mg EAG/ g PS)	Flavonoides (mg EQ/g PS)
RA-1	15.22± 0.11 <sup>a</sup>	24.03± 0.96 <sup>a</sup>
RA-2	16.66±0.75 <sup>b</sup>	34.65± 0.56 <sup>b</sup>

El contenido de CFs se encuentra expresado en mg equivalentes de ácido gálico en peso seco (mg EAG/g PS). El contenido de flavonoides se encuentra expresado en mg equivalentes de quercetina por gramos en peso seco (mg EQ/ g PS). Columnas con diferentes letras minúsculas denotan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Dal-Bó y Freire (2022) reportaron contenidos de fenoles (8 a 10.23 mg EAG/ g PS) en pulpa liofilizada de aguacate cv. ‘Breda’. Los valores más elevados se obtuvieron cuando la pulpa fue tratada térmicamente a 50°C, demostrando que el procesamiento contribuye a la ruptura de las estructuras celulares, acelerando la liberación de los compuestos fenólicos. Por otra parte, al incrementarse la temperatura comienzan a ocurrir las reacciones de Maillard, mismas que también contribuyen al incremento de los compuestos fenólicos cuantificables. En otro estudio realizado a distintas variedades de aguacate (Quintal, Hass, Fortuna) se determinó el contenido de compuestos fenólicos en distintas partes del fruto estableciendo el orden cáscara > semilla> pulpa. El mayor valor encontrado en la pulpa correspondió a la variedad Hass (2.04±0.04 mg EAG/ g) y en la cáscara se reportaron valores de hasta 38.82±0.03 mg EAG/ g en la variedad Quintal (Amado *et al.*, 2019).

Los resultados que se encontraron difieren de lo reportado en la literatura, pero se debe tener en cuenta que las muestras analizadas pertenecen a residuos de la industria aceitera. Los valores que se obtuvieron son mayores a los reportados y puede explicarse por el hecho que durante el proceso de molienda y separación del aguacate para extraer aceite, algunos restos de cáscara pasan al decantador, por lo que contribuye a un aumento de los fenólicos cuantificables. Además, los distintos tipos de compuestos fenólicos presentan

distintos arreglos intramoleculares de los grupos hidroxilos y diferente conformación espacial, que son los principales responsables de los distintos valores obtenidos en los ensayos para su cuantificación (Zeb, 2020). El método que fue empleado para la extracción de estos compuestos solo tuvo presente los fenoles extraíbles o solubles, pero en la matriz aún se encuentran presentes otros compuestos fenólicos ligados a proteínas y carbohidratos que pueden ser hidrolizados y cuantificados. Por otro lado, en las matrices de origen vegetal podemos encontrar compuestos fenólicos en forma de taninos condensados los que no son extraíbles con técnicas convencionales. La aplicación de distintas técnicas de extracción se hace necesaria para lograr cuantificar la mayoría de los compuestos fenólicos presentes y de esta manera tener un mayor panorama acerca del verdadero efecto benéfico potencial de los residuos (Pérez-Jiménez *et al.*, 2008).

Los flavonoides son un amplio grupo de compuestos pertenecientes a la familia de compuestos fenólicos que se caracterizan por su actividad anticancerígena, antioxidante, antiinflamatoria entre otras (Alara *et al.*, 2021). La estructura de este grupo tiene como diferencia de ácidos fenólicos la presencia de un esqueleto formado por dos anillos fenilos (A y B) que se encuentran ligados por un anillo de pirano heterocíclico (C). Los anillos pueden tener sustituciones de grupos hidroxilos o metoxilos y en dependencia de las posiciones se pueden clasificar en flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavononas, flavan-3-oles y antocianinas (Safe *et al.*, 2021). La quercetina (flavonol) es uno de los compuestos más estudiados y ampliamente distribuido en las matrices vegetales, en consecuencia, se usa como referencia en el reporte del contenido de flavonoides totales en alimentos (Lai *et al.*, 2021).

En el Cuadro 5 se muestra el contenido de flavonoides totales de las muestras analizadas. Los valores obtenidos fueron de  $24.03 \pm 0.97$  y  $34.65 \pm 0.56$  mg EQ/ g PS para RA-1 y RA-2, respectivamente. Estos resultados sugieren que durante la extracción del aceite de aguacate los flavonoides quedan suspendidos en la fase acuosa, como sucedió con los compuestos fenólicos. El procesamiento y la acción mecánica sobre la pasta de aguacate también son factores que pueden influir en el aumento de la concentración de estos cuando la misma se somete a una segunda extracción (Dal-Bó y Freire, 2022). Los reportes en literatura del contenido de flavonoides en residuos de pasta de aguacate son escasos, debido

a que es descartado por la industria. Sin embargo, existen investigaciones que determinan el contenido de flavonoides en distintas partes del fruto como semilla y la cáscara (Di Stefano *et al.*, 2017; Figueroa *et al.*, 2018; Cárdenas-Castro *et al.*, 2021). Los resultados no pueden ser comparados, pero si indican que los residuos tienen un excelente potencial para ser empleado en la formulación de productos funcionales, tomando como base que compuestos con características antioxidantes son desechados y poco aprovechados por la industria.

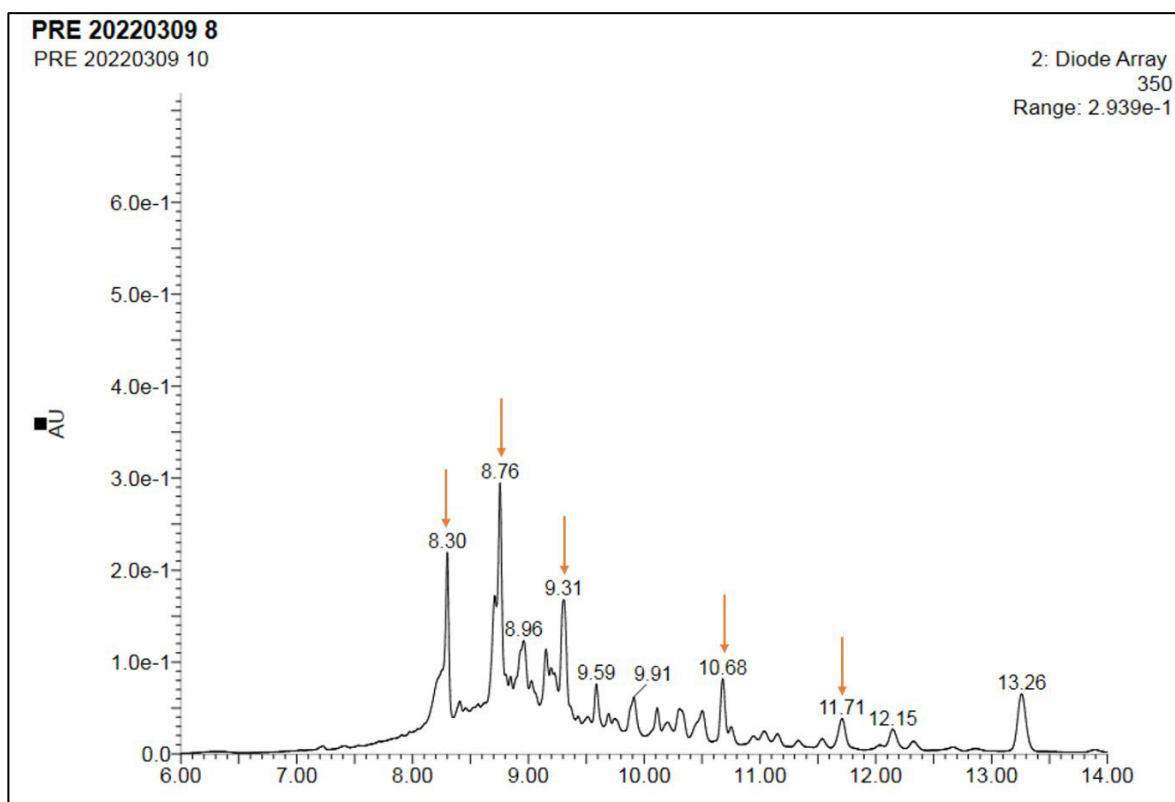
Los polifenoles hidrolizables de las muestras de pulpa residual fueron analizados, así como una muestra control constituida por el fruto completo liofilizado. Se obtuvieron valores de  $9.56 \pm 0.07$  mg EAG/g PS para la muestra control,  $10.62 \pm 0.37$  y  $5.10 \pm 0.09$  para RA-1 y RA-2, respectivamente. Los resultados obtenidos sugieren que a medida que el aguacate se procesa existe una disminución del contenido de este tipo de compuestos, reduciéndose a la mitad su contenido en la pulpa desgrasada residual. Los polifenoles hidrolizables son compuestos de un peso molecular medio a (300 a 3000 Da) formado de unidades de ácido gálico unido por enlaces éster a carbohidratos (Carboni Martins *et al.*, 2022). Existen reportes acerca de que el procesamiento industrial como el calentamiento y centrifugación puede hidrolizar los enlaces tipo éster dando como resultado la disminución en la cuantificación de este tipo de compuestos (García-Alonso *et al.*, 2024).

Por otro lado, fueron analizados el contenido de taninos condensados, donde se encontró que el mayor contenido corresponde a RA-2 ( $46.89 \pm 0.92$ ) seguido de muestra control ( $35.67 \pm 0.07$ ) y por último RA-1 ( $35.67 \pm 0.07$ ). Los taninos condensados (proantocianidinas) corresponden a aquellos compuestos fenólicos que se encuentran estrechamente vinculados a las estructuras de la pared celular, principalmente proteínas (Panzella & Napolitano, 2022). De modo general en las técnicas de cuantificación este tipo de compuestos no logran ser extraídos, pero constituyen un indicador del potencial que tienen estos compuestos de ser sustrato fermentativo para la microbiota intestinal. Los resultados aquí mostrados demuestran que el residuo que se obtiene presenta compuestos bioactivos de interés incluso luego de su procesamiento industrial.



### 7.1.5. Identificación de compuestos fenólicos en los residuos de aguacate

El residuo de aguacate constituido por la pasta residual de la molienda de la pulpa desgrasada residual (RA-2) se analizó por cromatografía acoplada a masas (MS-MS) con el objetivo de caracterizar la fracción polar que contiene los compuestos fenólicos. Se identificaron tentativamente un total de 5 compuestos (Figura 10). Los compuestos se identificaron con base a los tiempos de retención (Tr), el espectro UV e interpretando la información obtenida de los espectros de masa (MS, MS-MS). Además, se tomó en cuenta los patrones de fragmentación de los espectros de masa registrados en bases de datos y la información previamente reportada en literatura. Estos compuestos son metabolitos pertenecientes a familias de fenólicos como ácidos hidroxicinámicos, flavan-3-oles y flavonol.



**Figura 10.** Cromatograma obtenido para RA-2.

El ácido clorogénico perteneciente a los ácidos hidroxicinámicos fue identificado a los 8.3 min con masa carga ( $m/z$ ) 353.10, el resultado coincide con lo reportado por López-Cobo *et al.* (2016) y Figueroa *et al.* (2018) quienes reportaron la presencia de este compuesto

en la cáscara y la pulpa de aguacate, respectivamente. Posterior del ácido clorogénico se observa un pico que presumiblemente puede tratarse de su isómero ácido 5-O-cafeoilquínico al comparar los fragmentos de  $m/z$  (191 y 179) con los reportados en la literatura (Figueroa *et al.*, 2018). En el caso de derivados de ácido clorogénico (3-O; 4-O; 5-O cafeoilquínico) solo se han identificado en la cáscara de aguacate (Cárdenas-Castro *et al.*, 2021), lo que indica que la pulpa de aguacate residual con la que se trabaja en esta investigación puede incluir cierto contenido de cáscara dentro de su composición. También se identificó a (-) epicatequina galato ( $m/z$  289.072, 125.025 y Tr de 9.31 min) y su isómero, epicatequina glucopiranosil ( $m/z$  289.072 y Tr de 9.59 min). Distintos reportes existentes en la literatura han detectado que ambos compuestos se encuentran mayoritariamente en la cáscara y la semilla, no existiendo datos hasta el momento que aseveren su presencia en la pulpa (Figueroa *et al.*, 2018; Cárdenas-Castro *et al.*, 2021). En el minuto 10.68 eluye un compuesto, el cual en el cromatograma de masas presenta un pico muy definido, pero al realizar la comparación de su masa carga con lo reportado en la literatura y bases de datos (PubChem), no se encontraron coincidencias. En este caso, se podría tratar de algún compuesto que no se encuentra presente en aguacate y se propondría realizar análisis más exhaustivos con el objetivo de poder identificarlo. El flavonol quercetina fue identificado a un Tr 11.71 y  $m/z$  301.06, este compuesto se encuentra presente en la mayoría de los alimentos de origen vegetal y se ha encontrado la presencia en la semilla y cáscara (Emilia *et al.*, 2020).

Los compuestos encontrados en este estudio nos brindan información acerca del variado perfil de compuestos fenólicos presente en los residuos. Al realizar la comparación de los resultados con otros autores se puede afirmar que la mayoría de estos provienen de la cáscara o de la semilla del aguacate y no de la pulpa. Dadas estas condiciones, el residuo estudiado está constituido por una mezcla heterogénea tanto de pulpa, cáscara y semilla de aguacate. Los reportes tecnológicos proporcionados por la empresa mencionan que el fruto es sometido a un proceso de separación de los componentes (cáscara, pulpa y semilla). Durante el proceso, un porcentaje mayoritariamente de cáscara (tamaño  $1.15 \pm 0.07$  cm) no es separado de pulpa y pasa junto con la misma al proceso de extracción de aceite, por lo que el residuo está constituido por pulpa desgrasada y las partículas de cáscara.

A través del análisis cromatográfico se identificaron 10 compuestos en las muestras de aguacate control y de los residuos de aguacate (RA-1 y RA-2). El Cuadro 6 muestra los principales compuestos identificados en las muestras analizadas. Los ácidos hidroxibenzoicos estuvieron en un rango del 3.71 al 11.88% del total de compuestos identificados para la muestra control y RA-2. RA-2 mostró un mayor contenido de ácido gálico, mientras que RA-1 presentó un contenido superior de ácido protocatéquico. Estudios previos han reportado la cuantificación de estos compuestos en residuos de aguacate, particularmente en la cáscara y la semilla. Gonzales (2024) identificó ácido gálico en concentraciones de  $0.35 \pm 0.05$  mg/100g en residuos de cáscara y semilla de aguacate. De manera similar, Zuñiga-Martínez *et al.* (2021) reportaron aproximadamente 2.1 mg/100g de este compuesto en residuos industriales de la misma fruta. Los hallazgos de este estudio indican un mayor contenido de ácido gálico en R-2, posiblemente explicado por el tratamiento térmico, que puede inducir lisis celular o hidrólisis de algunos compuestos de naturaleza fenólica como los galotaninos, resultando en la liberación de moléculas de ácido gálico. Por otro lado, se identificó un glucósido de ácido protocatéquico en RA-1, lo cual concuerda con Grisales-Mejía *et al.* (2024) quienes identificaron el isómero ácido protocatéquico-4-glucósido en la parte comestible y en subproductos de aguacate. Los ácidos hidroxicinámicos fueron los más abundantes, representando el 55.55% en la muestra control, el 25.05% en RA-1 y el 35.39% en RA-2. Villa-Rodriguez *et al.* (2020) identificaron el ácido clorogénico como el componente mayoritario (0.9 mg/100 g) en la pulpa degradada de aguacate y Pahua-Ramos *et al.* (2012) reportaron un contenido de ácido protocatéquico de 128 mg/100 g en la semilla de aguacate. Los datos encontrados en la literatura demuestran que el ácido cafeico se encuentra como compuesto mayoritario en la cáscara. Por otro lado, algunos isómeros del ácido cafeoilquínico se han reportado previamente en extractos de cáscara de aguacate y otro de los compuestos comúnmente encontrado es el ácido clorogénico, que ha sido reportado varias veces en la literatura (Cárdenas-Castro *et al.*, 2023).

**Cuadro 6.** Cuantificación de compuestos fenólicos en los residuos de aguacate

Identidad tentativa del compuesto	TR (min)	Muestra (mg/100g PS)		
		Control	RA-1	RA-2
Ácidos hidroxibenzoicos y derivados				
Ácido gálico	7.13	3.71±0.19 <sup>b</sup>	n.d	11.88±1.67 <sup>a</sup>
Ácido protocatecuico glicosilado	17.74	n.d	3.65±0.31 <sup>a</sup>	n.d
<b>Total (mg/100g PS)</b>		<b>3.71±0.19 (%)</b>	<b>3.65±0.31 (%)</b>	<b>11.88±1.67 (%)</b>
Ácidos hidroxicinámicos y derivados				
Ácido cafeoilquínico	10.75	31.91±3.11 <sup>a</sup>	11.74±0.75 <sup>b</sup>	10.61±0.77 <sup>b</sup>
Ácido cumaroilquínico	11.1	2.68±0.35 <sup>a</sup>	1.61±0.36 <sup>b</sup>	1.49±0.70 <sup>b</sup>
Glucósido del ácido cafeico	11.61	2.33±0.33 <sup>a</sup>	n.d	n.d
Ácido clorogénico	13.04	15.58±3.99 <sup>a</sup>	9.28±1.77 <sup>b</sup>	15.91±1.65 <sup>a</sup>
Ácido cafeico	14.3	3.04±0.18 <sup>b</sup>	2.14±0.08 <sup>c</sup>	7.37±0.97 <sup>a</sup>
<b>Total (mg/100g PS)</b>		<b>55.55±2.23 (%)</b>	<b>25.05±1.44 (%)</b>	<b>35.39±3.79 (%)</b>
Flavonoides				
Glucósido de quercetina	15.92	n.d	1.66±0.17 <sup>a</sup>	n.d
Taxifolina	17.87	n.d	n.d	1.64±0.5 <sup>a</sup>
Quercetina	19.82	n.d	n.d	1.03±0.42 <sup>a</sup>
<b>Total (mg/100g PS)</b>			<b>1.66±0.17 (%)</b>	<b>2.67±0.98 (%)</b>

Los valores representan la media ± error estándar (n = 3). Las letras minúsculas diferentes entre cada fila indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las muestras. La cuantificación se reportó en mg/100 g de peso seco. n.d. = no detectado. Cuantificado por comparación con el estándar analítico.

Los compuestos flavonoides fueron detectados en cantidades menores en ambos residuos y no fueron detectados en la muestra control. El glucósido de quercetina está presente en RA-1, pero ausente en RA-2, mientras que en RA-2 se identificaron los compuestos taxifolina y quercetina. Estudios previos sugieren que los flavonoides se encuentran principalmente en la cáscara de los aguacates debido a su papel esencial en la integridad de la estructura de la planta, la fotoprotección contra los rayos UV y la regulación de la señalización celular (Roy *et al.*, 2022). Sin embargo, compuestos como taxifolina y quercetina se han identificado en diversas partes del fruto. Por ejemplo, Figueroa *et al.* (2018) reportaron la presencia de quercetina, siete isómeros de quercetina, naringenina y (epi)galocatequina en frutos de aguacate. Además, Zuñiga-Martínez *et al.* (2021) identificaron quercetina y quercetina 3-β-D-glucósido en residuos de aguacate sometidos a un proceso de hidrólisis ácida. Las diferencias entre los flavonoides detectados en este estudio y los reportados en la literatura podrían deberse a variaciones en las técnicas de identificación. Por ejemplo, Figueroa *et al.* (2018) emplearon cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas de cuadrupolo con ionización por electro-

spray y tiempo de vuelo (HPLC-ESI-QTOF-MS), un método de mayor resolución que permite detectar picos superpuestos y distinguir isómeros. En cambio, nuestro estudio empleó una técnica diferente, que permitió la identificación de compuestos no reportados previamente, particularmente en este tipo de residuo agroindustrial.

## **7.2. Extracción asistida por microondas**

El Cuadro 7 muestra el impacto que tuvo las condiciones del proceso de EAM sobre el contenido de compuestos fenólicos liberados y la capacidad antioxidante medida por DPPH y FRAP al aplicarse los tratamientos con microondas en el residuo de aguacate. Los tratamientos 1 y 5 fueron los que garantizaron una mayor liberación de compuestos con valores de  $31.70 \pm 0.45$  y  $31.17 \pm 0.54$  mg EAG/ gPS, respectivamente. Al analizar la influencia de los factores se aprecia que el empleo de etanol y la mezcla de hidroalcohólica (30:70) favorece la liberación. En el caso del tratamiento 1 se obtiene un mayor valor cuando se expone la muestra a tiempos de exposición y potencias bajas, resultando en una disminución cuando se aumentan los mismos en las muestras disueltas en este solvente. El comportamiento general indica que el empleo de etanol favorece la extracción de compuestos fenólicos en comparación de cuando se usa solamente agua. Existe evidencia que indica que una alta concentración de etanol acelera la transferencia de sustancias, incrementa la solubilidad y en consecuencia mejora la tasa de extracción de compuestos fenólicos (Dahmoune *et al.*, 2015).

**Cuadro 7.** Efecto de las distintas condiciones de EAM sobre el contenido de CFs en los residuos de aguacate

Tratamiento	X <sub>s</sub> <sup>1</sup>	X <sub>p</sub> <sup>2</sup>	X <sub>t</sub> <sup>3</sup>	CFs	DPPH	FRAP
Control	-	-	-	16.13±0.62 <sup>f</sup>	8.64±0.02 <sup>i</sup>	1.74±0.09 <sup>i</sup>
1	Etanol	408.23	1.3	31.70±0.45 <sup>a</sup>	23.88±0.03 <sup>c</sup>	18.25±0.05 <sup>g</sup>
2	Etanol	903.69	4	26.40±0.03 <sup>c</sup>	25.97±0.04 <sup>b</sup>	22.19±0.18 <sup>a</sup>
3	Etanol	704.81	2.3	29.96±0.03 <sup>b</sup>	25.95±0.03 <sup>a</sup>	18.59±0.11 <sup>c</sup>
4	Etanol/Agua (70:30)	408.23	4	23.25±0.05 <sup>d</sup>	8.99±0.02 <sup>h</sup>	15.22±0.09 <sup>d</sup>
5	Etanol/Agua (70:30)	903.69	2.3	31.17±0.54 <sup>a</sup>	7.49±0.05 <sup>j</sup>	18.89±0.08 <sup>b</sup>
6	Etanol/Agua (70:30)	704.81	1.3	23.71±1.29 <sup>d</sup>	9.26±0.02 <sup>g</sup>	14.25±0.12 <sup>c</sup>
7	Agua	408.23	2.3	11.18±0.03 <sup>g</sup>	10.02±0.12 <sup>d</sup>	1.81±0.09 <sup>i</sup>
8	Agua	903.69	1.3	14.00±0.02 <sup>e</sup>	9.71±0.03 <sup>f</sup>	4.89±0.05 <sup>h</sup>
9	Agua	704.81	4	15.63±0.01 <sup>f</sup>	9.83±0.02 <sup>e</sup>	9.05±0.09 <sup>f</sup>

X<sub>s</sub>: solvente empleado (%); X<sub>p</sub>: nivel de potencia (W); X<sub>t</sub>: tiempo de exposición a las microondas (min); CFs: compuestos fenólicos solubles (mg EAG/ g PS); DPPH y FRAP: capacidad antioxidante medida por dos métodos expresada como mg equivalentes de Trolox por gramo en peso seco (mg ET/ g PS). Diferentes literales en columnas representan diferencias (p ≤0.05)

Adicionalmente, la mejor solubilidad de los compuestos fenólicos en soluciones etanólicas puede explicarse debido a que el etanol presenta un rol primordial en la ruptura de los enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas existentes entre los compuestos fenólicos y las proteínas o carbohidratos como la celulosa (Kaderides *et al.*, 2019). Por otro lado, la estructura y composición química del soluto (compuestos fenólicos) también juegan un papel importante en la solubilidad de estos en los distintos disolventes. Factores como el nivel de conjugación, la presencia de múltiples enlaces de grupos hidroxilo va a determinar qué tan eficiente sea el solvente empleado para maximizar el rendimiento de los fenólicos sin causar modificaciones en su estructura química (Cassol *et al.*, 2019). Es importante tener en cuenta que durante el proceso de EAM se lleva a cabo una excitación y cambio de momento dipolar de las partículas del solvente lo que provoca que se genere calor. El aumento de la temperatura dentro del sistema favorece la ruptura de las distintas estructuras celulares y se incrementa la difusividad de compuestos al medio extracelular (Alara *et al.*, 2021).

En contraste, los tratamientos 7, 8 y 9 mostraron una extracción menor de los CFs en comparación con el control, independientemente del tiempo de exposición a las

microondas y la potencia aplicada. Este comportamiento indica que durante estos tratamientos ocurren procesos que contribuyen a una degradación u oxidación de los CFs. Kroehnke *et al.* (2018) determinaron que la aplicación de tratamientos con microondas en medios acuosos genera la oxidación de compuestos fenólicos y flavonoides. La rotación del dipolo por la acción de las microondas puede causar daños a nivel molecular favoreciendo la oxidación de los compuestos fenólicos (Plazzotta *et al.*, 2020).

Los valores de la capacidad antioxidante mostraron que ambos ensayos (DPPH y FRAP) varían significativamente con el solvente empleado. La totalidad de los tratamientos muestran valores superiores al control, traduciéndose en una mayor capacidad antioxidante. Los resultados demuestran la correlación existente con las medidas realizadas para los CFs. Los mayores valores de capacidad antioxidante por DPPH y FRAP corresponden al tratamiento con mayor rendimiento de extracción de CFs. Este comportamiento demuestra que la aplicación del proceso de EAM sobre el residuo de pulpa de aguacate provoca el aumento de las propiedades antioxidantes en los extractos generados. Sin embargo, existe una diferencia entre ambos ensayos y puede explicarse por los diferentes mecanismos implicados para neutralizar la formación de moléculas oxidantes. Los ensayos por DPPH midieron principalmente la capacidad de los compuestos fenólicos para donar un átomo de hidrógeno ( $H^+$ ) al radical libre DPPH $\bullet$ ; por otro lado, la metodología por FRAP se basa en la capacidad de los CFs para reducir el complejo ion férrico-TPTZ mediante transferencia de electrones. Ambos mecanismos sirven para dilucidar qué tan eficientes son los compuestos químicos presentes en los extractos como agentes antioxidantes (Fernández-Marín *et al.*, 2021).

### 7.2.1. Modelos matemáticos de predicción

Los valores de los CFs de las 9 combinaciones experimentales se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden y los elementos no significativos fueron eliminados. Los coeficientes de correlación de las interacciones significativas del modelo matemático se expresan en la ecuación:

$$CFs = -25.7944 + 0.5419X_S + 0.1469X_P + 0.1925X_T - 0.0007 X_S^2 - 0.0002 X_P^2 - 0.0003 X_T^2 - 0.0025 X_S X_P$$



El análisis de ANOVA del experimento se muestra en el Cuadro 7, así como los distintos factores e interacciones significativas ( $p < 0.05$ ) para describir el comportamiento de la variable independiente (CFs). La correlación que existe entre los factores la variable de respuesta resultó en valores de  $R^2=0.99699$ , lo que sugiere que el modelo es adecuado para predecir el comportamiento de los CFs. El valor de  $R^2$  ajustado se encuentra muy cercano a la unidad, indicando de esta forma que la bondad de ajuste o que el modelo matemático predice de una manera casi perfecta la extracción de los CFs. Por otro lado, los porcentajes de contribución de cada uno de los factores sobre el CFs fueron calculados, en este caso se tiene en cuenta cuanto influye cada factor sobre la variable de respuesta. La componente lineal del solvente empleado fue el factor que tuvo una mayor influencia sobre la extracción de CFs seguido de la componente cuadrática del tiempo de exposición, lo que demuestra que ambos factores tienen un rol importante en una mejor extracción de los compuestos fenólicos en RA-2.

Como para el caso de los compuestos fenólicos, los datos experimentales se utilizaron para ajustar el modelo de regresión de respuesta para la capacidad antioxidante expresada por DPPH y FRAP. El Cuadro 9 muestra los resultados de ANOVA para el modelo de regresión considerando ambos métodos para la expresión de la capacidad antioxidante. Se identificaron como factores significativos la acción conjunta del disolvente empleado con la potencia de microondas, los efectos cuadráticos de los factores y la interacción de  $X_S^1x$  ( $X_P^2$ )<sup>2</sup>. Los porcentajes de contribución para DPPH mostraron que la componente lineal y cuadrática del solvente empleado contribuyen positivamente a un aumento de la capacidad antioxidante medida por este parámetro. En contraste, la potencia de salida y el tiempo de exposición tienen contribuciones muy pequeñas respecto al aumento de los valores de dicho parámetro. En el caso de la capacidad antioxidante medida por FRAP, los componentes lineales de solvente empleado, potencia de salida y tiempo de exposición son los factores que en mayor medida contribuyen al aumento de los valores de la capacidad antioxidante medida por FRAP.

Los valores de  $R^2$  y  $R^2$  ajustado se alinean para ambas variables dependientes. Con respecto al DPPH, el  $R^2$  ajustado sugiere que el 99.99% de la variación en los parámetros del DPPH se puede atribuir al diseño utilizado. De manera similar, para el FRAP, el 99.98% de

la variación corresponde al mismo modelo. En resumen, los resultados de ANOVA sugieren que el modelo podría utilizarse como una herramienta para predecir el desempeño de la capacidad antioxidante por DPPH y FRAP. El modelo polinómico predictivo de segundo orden para la capacidad antioxidante por DPPH y FRAP de extractos de ARP mediante extracción asistida por microondas, representado en términos de niveles de factores codificados, se expresa en las ecuaciones siguientes:

$$DPPH = 16.1884 - 0.5012X_S^1 - 0.0271X_P^2 - 3.2649X_t^3 + 0.0057(X_S^1)^2 \\ - 0.0001(X_P^2)^2 + 0.6928(X_t^3)^2 - 0.0006X_S^1(X_P^2)^2$$

$$FRAP = 11.1557 + 0.2169X_S^1 + 0.0252X_P^2 + 6.1598X_t^3 - 0.0015(X_S^1)^2 \\ - 0.0001(X_P^2)^2 - 0.6829 + 0.0004X_S^1(X_P^2)^2$$

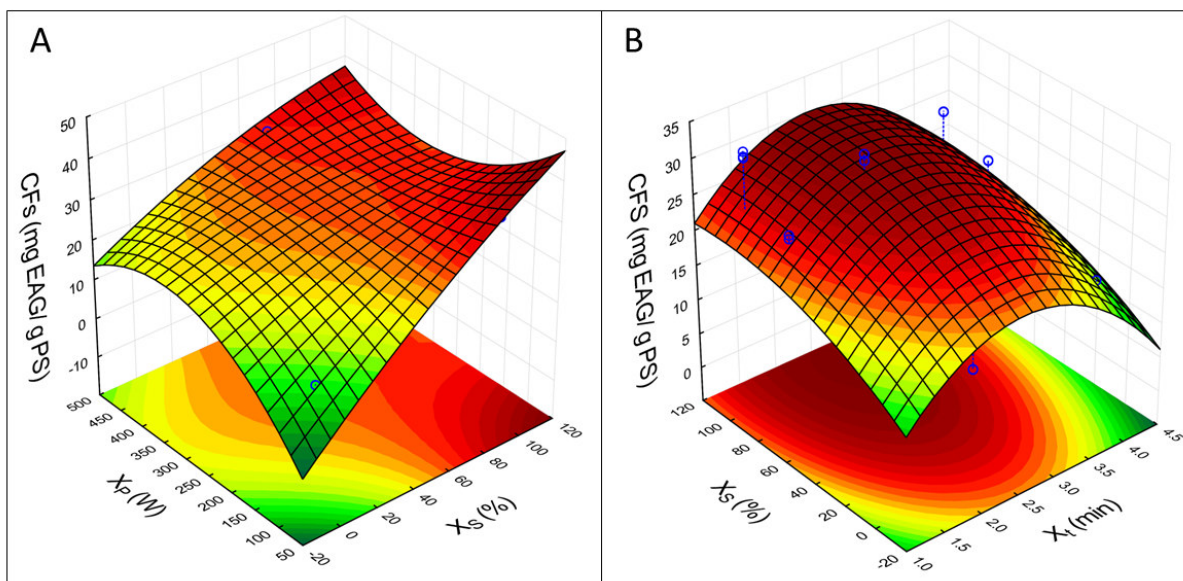
**Cuadro 8.** Análisis de varianza del modelo de regresión para el contenido de compuestos fenólicos, actividad antioxidante medida por DPPH y FRAP en pulpa de aguacate residual

Factor	SS	df	MS	F	p	%contribución
<b>CFS</b>						
$X_S^1$ : Solvente empleado (L)	1134.727	1	1134.727	4721.791	0.000000	77.8
$(X_S^1)^2$ : Solvente empleado (Q)	11.409	1	11.409	47.473	0.000002	0.78
$X_P^2$ : Potencia de salida (L)	28.980	1	28.980	120.592	0.000000	1.98
$(X_P^2)^2$ : Potencia de salida (Q)	5.309	1	5.309	22.091	0.000178	0.36
$X_t^3$ : tiempo de exposición (L)	9.095	1	9.095	37.846	0.000008	0.62
$(X_t^3)^2$ : tiempo de exposición (Q)	120.753	1	120.753	502.474	0.000000	8.28
$X_S^1 \times X_P^2$	54.746	1	54.746	227.809	0.000000	3.75
$X_S^1 \times (X_P^2)^2$	91.8351	1	91.835	382.142	0.000000	6.43
Error	4.326	18	0.240			
$R^2$	0.99699					
$R^2$ ajustado	0.99566					
<b>DPPH</b>						
$X_S^1$ : Solvente empleado (L)	1063.316	1	1063.316	1276854	0.000000	55.67
$(X_S^1)^2$ : Solvente empleado (Q)	829.339	1	829.339	995889	0.000000	43.43
$X_P^2$ : Potencia de salida (L)	0.009	1	0.009	11	0.004378	0.0004
$(X_P^2)^2$ : Potencia de salida (Q)	0.987	1	0.987	1185	0.000000	0.051
$X_t^3$ : tiempo de exposición (L)	2.720	1	2.720	3266	0.000000	0.14
$(X_t^3)^2$ : tiempo de exposición (Q)	4.071	1	4.071	4888	0.000000	0.21
$X_S^1 \times X_P^2$	1.693	1	1.693	2033	0.000000	0.08
$X_S^1 \times (X_P^2)^2$	7.570	1	7.570	9090	0.000000	0.41
Error	0.015	18	0.01			
$R^2$	0.9999					
$R^2$ ajustado	0.9999					
<b>FRAP</b>						
$X_S^1$ : Solvente empleado (L)	543.830	1	543.8298	92067.75	0.000000	58.46
$(X_S^1)^2$ : Solvente empleado (Q)	55.788	1	55.7876	9444.57	0.000000	5.99
$X_P^2$ : Potencia de salida (L)	202.400	1	202.3997	34265.29	0.000000	21.75
$(X_P^2)^2$ : Potencia de salida (Q)	15.277	1	15.2769	2586.31	0.000000	1.64
$X_t^3$ : tiempo de exposición (L)	105.863	1	105.8635	17922.17	0.000000	11.38
$(X_t^3)^2$ : tiempo de exposición (Q)	3.955	1	3.9545	669.49	0.000000	0.42
$X_S^1 \times X_P^2$	0.011	1	0.0112	1.90	0.184814	0.001
$X_S^1 \times (X_P^2)^2$	3.030	1	3.0297	512.92	0.000000	0.35
Error	0.106	18	0.0059			
$R^2$	0.99991					
$R^2$ ajustado	0.99987					

$X_S$ : solvente empleado (%);  $X_P$ : nivel de potencia (W);  $X_t$ : tiempo de exposición a las microondas (min); L: interacciones lineales; Q: interacciones cuadráticas.

### 7.2.2. Análisis gráfico de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante

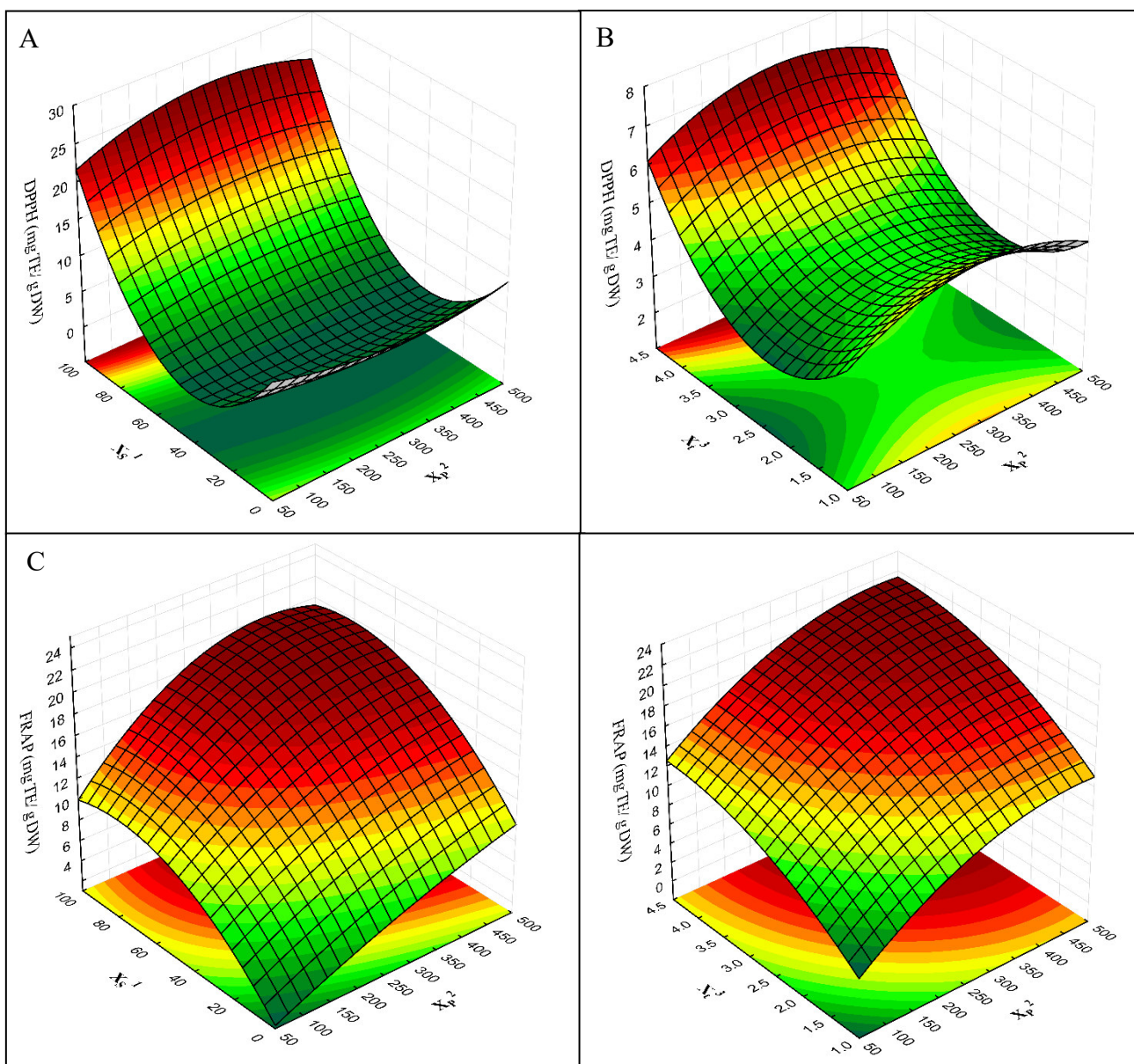
La interacción de la potencia de salida de microondas con el solvente empleado en los experimentos se muestra en la Figura 11 A en forma de gráfico de superficie de respuesta. En el gráfico se aprecia que existen dos condiciones que garantizan una máxima extracción de CFs, cuando se someten los residuos a condiciones de baja potencia y concentraciones de etanol al 100% y a altas potencias e iguales concentraciones de etanol. En la figura 11 se aprecia que los valores de CFs se incrementan al aumentar las concentraciones de etanol. El comportamiento indica que el proceso de extracción se rige por la composición del solvente empleado y que la potencia no pareciera influir en la extracción de los compuestos en la misma medida que lo hace el solvente. Existen reportes que indican que el solvente condiciona la cantidad de compuestos extraídos de distintas matrices alimentarias (Kaderides *et al.*, 2019). Por ejemplo, el agua se considera un absorbente de microondas medio, mientras que el etanol es considerado un fuerte absorbente de las microondas. Esta característica posibilita que las microondas se absorban con mayor facilidad y sean convertidas en calor, promoviendo la rápida ruptura del material vegetal y una mayor difusión de los compuestos de interés (Galan *et al.*, 2017).



**Figura 11.** Gráficos de superficie de respuesta del proceso de EAM. Efecto del nivel de potencia y el solvente sobre el contenido de compuestos fenólicos extraíbles (A); (B) influencia del tiempo de exposición a las microondas y el solvente empleado sobre los CFs.

La Figura 11 B describe el comportamiento de  $X_t$ ,  $X_s$  y cómo afectan al contenido de CFTs, hay un valor máximo y dos mínimos en toda la superficie de respuesta. La extracción de los compuestos va aumentando hasta un valor comprendido entre los 2.5 - 3.1 min y transcurrido este tiempo comienza a disminuir. Este comportamiento puede deberse a que, al someter el material vegetal a cortos tiempos de tratamiento, el mismo no garantiza que se liberen en su totalidad los compuestos de interés. Por el contrario, si el material se somete a tratamientos por encima de los 3.1 min se observa una reducción en los CFs posiblemente asociado a reacciones de degradación y/ oxidación. Quintero Quiroz *et al.* (2019) plantean que el material vegetal al estar en contacto con las microondas por un tiempo superior a los 5 min comienza a desarrollarse reacciones de oxidación de los compuestos fenólicos. Por otro lado, también se plantea que pueden existir otros factores que condicionan la transferencia de los compuestos de interés al disolvente como el tamaño de partícula del material vegetal, solvente empleado y la relación soluto/disolvente (Rodsamran y Sothornvit, 2019). En el caso de nuestra investigación, el material lo constituye un residuo agroindustrial (ya procesado) por lo que se puede esperar que los tiempos de extracción se reduzcan en comparación con muestras que solo fueron acondicionadas para el proceso de EAM.

El análisis de los gráficos de contorno muestra que al elevarse el contenido de etanol aumenta la capacidad antioxidante en los extractos para los ensayos DPPH y FRAP (Figura 12 A y C). Además, se observó que prolongar el tiempo de extracción genera valores superiores de capacidad antioxidante en ambas metodologías (Figura 12 B y C). Específicamente, las Figuras 12 A y B ilustran las tendencias en la capacidad antioxidante medida por DPPH. Se alcanzaron valores superiores a 20 mg ET/g PS con concentraciones de etanol superiores al 80%. En cuanto al tiempo de extracción, también se obtuvo valores elevados con el aumento de este, aunque en menor medida respecto al impacto del solvente empleado. Curiosamente, la potencia de microondas aplicada no parece afectar notablemente el aumento de la capacidad antioxidante, ya que no hay un aumento perceptible en la superficie de respuesta cuando se elevan sus valores. En consecuencia, los resultados sugieren una mejora significativa en la capacidad antioxidante con concentraciones altas de etanol, un impacto relativamente menor teniendo en cuenta al tiempo de exposición y una menor influencia de la potencia de microondas.



**Figura 12.** Gráficos de superficie de respuesta del proceso de EAM. Efecto del tiempo de extracción sobre la capacidad antioxidante por DPPH (A). Efecto del tiempo extracción y potencia de microondas sobre DPPH (B). Efecto de la relación de disolvente y la potencia de microondas sobre FRAP (C). Efecto del tiempo de extracción y potencia de microondas sobre FRAP (D).

Almusallam *et al.* (2021) encontraron resultados similares cuando investigaron el efecto de la extracción asistida por ultrasonido de compuestos bioactivos de espiguillas de palmera datilera, reportaron que la capacidad antioxidante por DPPH incrementaba medida que la concentración de etanol aumentaba por encima del 50%. En otro estudio se empleó la extracción asistida por microondas para recuperar polifenoles de desechos industriales de *Thymus serpyllum*, los autores informaron que los términos lineales y cuadráticos de la concentración de etanol y el tiempo de extracción exhibieron una influencia muy significativa

en los valores de DPPH. La mayor capacidad antioxidante (6.107 mg ET/g) se observó utilizando 75% de etanol durante un período de 12 minutos (Mrkonjić *et al.*, 2022). Si bien las comparaciones directas de los resultados no son factibles debido a las distintas condiciones y equipamiento empleado, la tendencia describe que los mayores valores se obtienen con una mayor concentración de etanol y tiempos de exposición prolongados. Este tipo de tendencia se puede explicar por el hecho de que el aumento en la concentración de etanol promueve la disolución de los compuestos fenólicos durante el proceso de extracción por microondas (Fadimu *et al.*, 2020). Las mezclas de agua y etanol juegan un papel importante en la extracción de compuestos fenólicos. El agua actúa como un agente que causa solvatación, mientras que el etanol rompe los enlaces entre los compuestos fenólicos y las estructuras celulares. Así, un aumento en la concentración de etanol genera la extracción de más compuestos fenólicos con una alta capacidad antioxidante, por el contrario, una reducción de la concentración de etanol trae como resultado la extracción de moléculas que interfieren en la cuantificación produciendo bajos valores de capacidad antioxidante (Akhtar *et al.*, 2019).

Los valores obtenidos para FRAP presentan un comportamiento distinto al compararlos con la capacidad antioxidante medida por el método DPPH. La Figura 12C ilustra que el efecto combinado de la relación de solvente con la potencia del microondas duplica los valores de capacidad antioxidante (22 mg ET/g PS), contrastando con valores independientes que solo alcanzan hasta 10 mg ET/g PS. Además, la Figura 12D demuestra que la interacción entre el tiempo de extracción y la potencia del microondas mejora la capacidad antioxidante de los extractos en comparación con los efectos independientes de estos factores. El tiempo de exposición, la potencia de microondas y el tipo de disolventes contribuyen positivamente a aumentar la capacidad antioxidante en la pulpa residual tratada con microondas. Como se explicó anteriormente en relación con los compuestos fenólicos y los valores de capacidad antioxidante (DPPH), el aumento de la concentración de etanol también ayuda a extraer ciertos componentes, mejorando así la capacidad antioxidante medida por FRAP. De manera similar, los tiempos de extracción más prolongados contribuyen a romper las paredes celulares y liberar compuestos bioactivos en el solvente de extracción y contribuyen a elevar la capacidad antioxidante de los extractos. Otro aspecto importante es el hecho de que las metodologías empleadas para evaluar la capacidad



antioxidante del extracto de RA podrían analizar diferentes grupos de compuestos antioxidantes, que podrían coincidir parcialmente. Por un lado, el método FRAP evalúa el contenido de especies donadoras de electrones con un cierto potencial redox, mientras que el método DPPH evalúa la capacidad captadora de radicales libres de una muestra (Solaberrieta *et al.*, 2022).

Dada la estrecha conexión entre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos, es evidente un patrón similar con respecto a la concentración de etanol. El fenómeno podría explicarse por el aumento del momento dipolar del disolvente debido a una mayor absorción de microondas. Además, el tipo de disolvente muestra una atracción más fuerte hacia los compuestos fenólicos moderadamente lipófilos, lo que resulta en una mejora de la penetración del disolvente en las células vegetales, mejorando así el calentamiento y facilitando la transferencia de masa de la fase sólida a la líquida (Martíć *et al.*, 2022).

Los gráficos de superficie de respuesta demuestran que la aplicación de microondas favorece el proceso de extracción de los compuestos bioactivos. Cuando se empleó etanol para la extracción el rendimiento de los compuestos fue mayor. Posteriormente, se realizó la optimización de la variable de respuesta buscando las condiciones operacionales que garanticen un valor máximo de extracción de los compuestos de interés, así como la capacidad antioxidante. El modelo predictivo reflejó que el máximo valor se obtiene al someter a RA-2 a una potencia de 477.67 W por 3.05 min y haciendo uso de etanol como solvente. Los valores óptimos estimados para el proceso de EAM y su intervalo de confianza se enumeran en el Cuadro 9.

**Cuadro 9.** Valores máximos para la optimización de la EAM.

Parámetro	CFs	DPPH	FRAP
Respuesta optima	31.25 <sup>a</sup>	24.74 <sup>b</sup>	21.27 <sup>c</sup>
+95% intervalo de confianza	32.80	25.98	22.33
-95% intervalo de confianza	29.68	23.50	20.20
Valor experimental	31.24±0.43 <sup>a</sup>	24.51±0.28 <sup>b</sup>	21.58±0.47 <sup>c</sup>

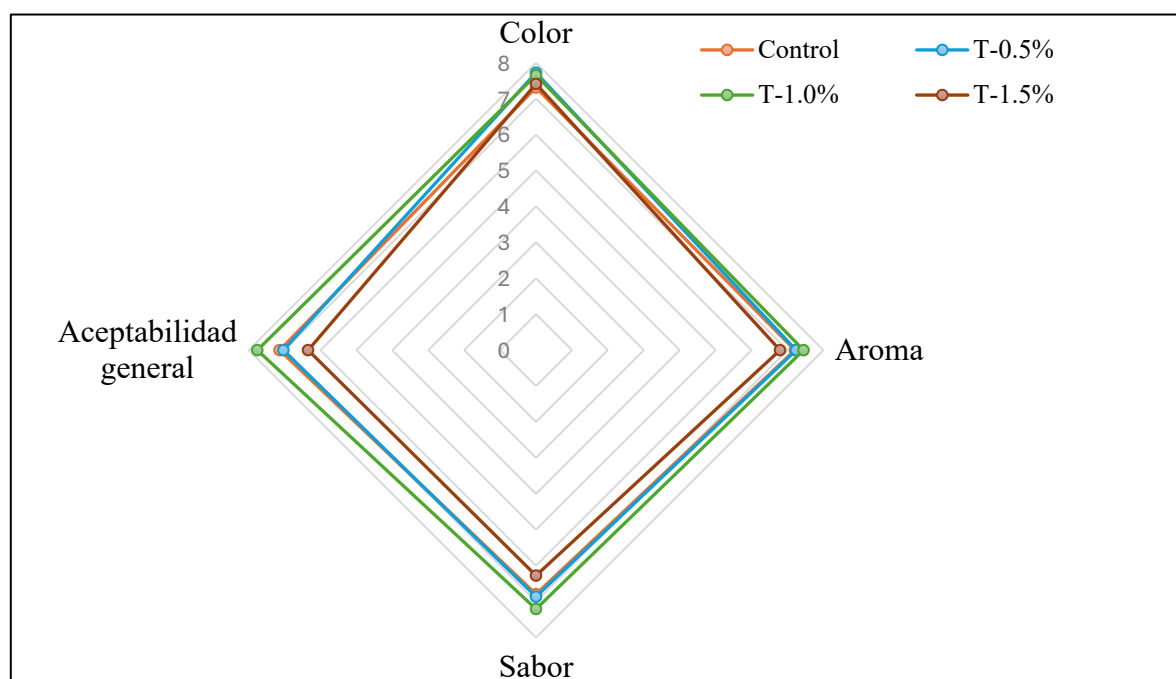
CFs: compuestos fenólicos solubles (mg EAG/ g PS). DPPH: capacidad antioxidante medida por DPPH (mg ET/ g PS); FRAP: capacidad antioxidante medida por FRAP (mg ET/ g PS). Literales diferentes indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Las condiciones óptimas para extracción de los CFs y capacidad antioxidante fueron validadas a través de ensayos experimentales para corroborar que existen semejanzas entre los valores predichos por el modelo y el comportamiento real de las variables de respuesta. Los resultados experimentales (Cuadro 9) demuestran que el modelo es confiable y predice el comportamiento de las variables de respuesta. La información reportada para  $R^2$  en el Cuadro 9 indica que la variabilidad de la variable de respuesta puede ser explicada por el modelo. Además, los valores de  $R^2$  ajustado indican que existe una buena concordancia entre los valores experimentales para la extracción y los predichos por el método estadístico.

### 7.3. Evaluación sensorial

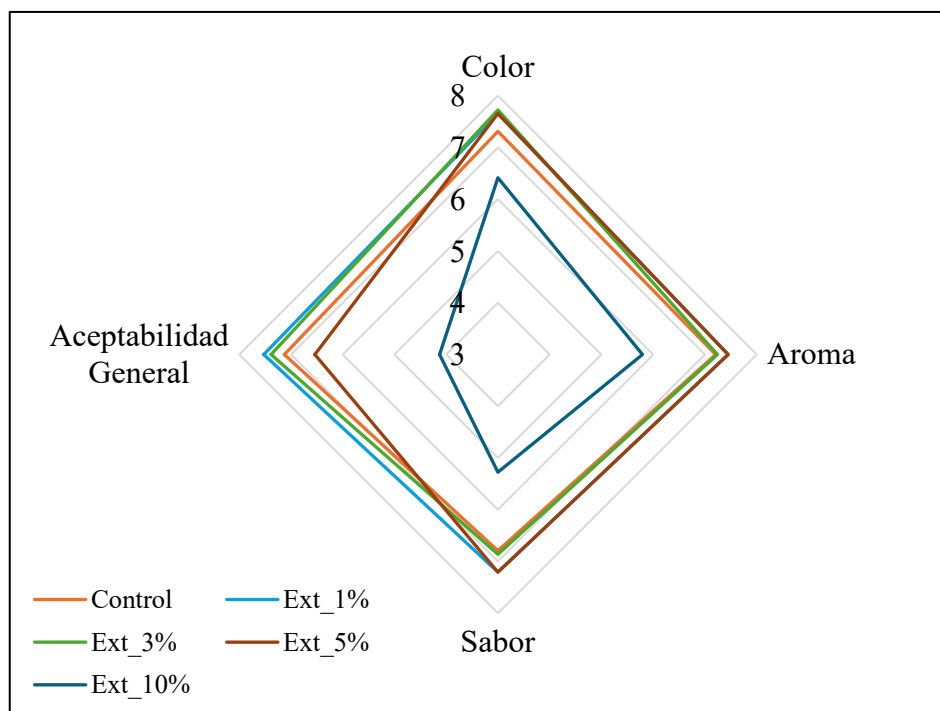
La Figura 13 presenta el perfil cuantitativo descriptivo de las puntuaciones obtenidas de los panelistas en cuanto a los parámetros de color, aroma, sabor y aceptabilidad general. El atributo color no fue influenciado por la concentración de los extractos ( $p > 0.05$ ). En cuanto al aroma, la inclusión del 1% del extracto promueve una percepción favorable, mientras que concentraciones más altas resultan en un agrado moderado del producto por parte de los consumidores. La concentración del extracto provocó diferencias en el sabor, que siguió la tendencia  $T-1.5 < T-0.5 < \text{Control} < T-1.0$ . La formulación T-1.0 logró la mayor aceptabilidad general, con un promedio de 8 puntos, lo que indica una fuerte preferencia ("me gusta mucho") según la escala empleada. Por el contrario, T-1.5 fue la formulación menos aceptada, recibiendo puntuaciones de alrededor de 6, lo que indica que los consumidores sólo prefirieron ligeramente este jamón. Los hallazgos sugieren que la inclusión del 1.0% del

extracto resultó en el mayor nivel de aceptación entre los consumidores para el jamón formulado.



**Figura 13.** Perfil cuantitativo y descriptivo de los distintos jamones formulados variando el porcentaje de extracto optimizado incorporado.

Los resultados de evaluación sensorial de los jamones adicionados con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado del residuo de aguacate se muestran en la Figura 14. A medida que se incrementó el porcentaje de extracto optimizado adicionado, los jueces percibieron este cambio sobre todo en el aroma y sabor. Los puntajes más bajos otorgados por los jueces evaluadores correspondieron al jamón adicionado con el 10% de extracto de residuo de aguacate. Es importante mencionar que solo fueron perceptibles estos cambios en el aroma y el sabor solo para Ext\_10%, mientras que los jueces le dieron clasificaciones similares al resto de los jamones, indicando que no existe diferencia entre ellos para los parámetros de aroma y sabor. Otro de los aspectos importantes evaluados fue el color, los jueces calificaron mejor a los jamones con 1, 3 y 5% de extracto optimizado de aguacate añadido. Por otro lado, tuvieron una percepción menor del color el jamón control y el menor fue el jamón adicionado con 10% del extracto que presentó una puntuación global de 6.14 correspondiente a me gusta ligeramente.



**Figura 14.** Perfil cuantitativo y descriptivo de los distintos jamones formulados variando el porcentaje de extracto optimizado incorporado.

Los resultados indican que el porcentaje del extracto optimizado de residuo de aguacate incorporado a los jamones afectan los parámetros de color, sabor y aroma, siendo más marcada la diferencia en los jamones adicionados con el 10%. La aceptabilidad general de los jamones también fue evaluada, el puntaje más elevado corresponde al jamón adicionado con el 1% (7.52) correspondiente a me gusta moderadamente, es interesante señalar que, aunque estuvieron en el mismo rango de aceptación el puntaje promedio de los jueces dados al jamón control fue menor. La menor aceptabilidad la presentó el jamón adicionado con el 10%. Los panelistas mencionaron que se perciben sabores astringentes, ácidos y la presencia de olor a materia vegetal. Este hecho demuestra una gran paradoja en la formulación de alimentos con adición de compuestos fenólicos, ya que la incorporación de estos le puede conferir características poco apetecibles a los consumidores, dada la naturaleza astringente de los compuestos adicionados (Nascimento et al., 2024). Por este motivo el análisis sensorial es una herramienta necesaria para lograr productos que sean beneficiosos y a su vez satisfacer las demandas de los consumidores. Los jueces prefirieron los jamones adicionados con el 1% de extracto optimizado de residuos de aguacate sobre el resto elaborado con concentraciones mayores. Los resultados sirven para afirmar que no

siempre los productos con mayor cantidad de bioactivos son los más aceptados, por lo que se necesita un balance al momento de la realización de formulaciones de alimentos con características funcionales.

#### **7.4. Encapsulación de los CFs presentes en extractos del residuo de aguacate**

##### **7.4.1. Rendimiento de encapsulación**

Al realizar el proceso de secado por aspersión de los extractos se obtuvo un rendimiento de encapsulación de 67.24% cuando se utilizó como agente encapsulante la mezcla de grenetina/ maltodextrina (50%) y de un 89.87% al emplear solamente maltodextrina. Los resultados sugieren que la utilización de maltodextrina como agente encapsulante es más eficiente que cuando se sustituye el 50% de esta por grenetina. El rendimiento del secado por aspersión está vinculado principalmente a la adhesión de las microcápsulas a la cámara de secado y a pérdidas de producto debido a su aglutinación. Bhesh *et al.* (1997) demostraron que existe una sinergia entre los componentes de la mezcla a secar y es probable que se pueda alterar la temperatura de transición vítrea, lo que provoca que el polvo que se encuentra en la cámara pase de un estado vítreo a un estado gomoso que crea adherencias en la cámara.

La diferencia mostrada en este estudio bien puede explicarse por el fenómeno anteriormente planteado, ya que, la grenetina presenta una temperatura de transición vítrea (217°C) superior a la maltodextrina (121°C). Las características intrínsecas del material encapsulante demuestran que la grenetina necesita de una temperatura superior a la aplicada en el estudio (120°C) para pasar de un estado líquido viscoso o gomoso a un estado vítreo (Saavedra-Leos *et al.*, 2022). Debido a esto, la temperatura de transición de la maltodextrina está cercana a las condiciones de trabajo por lo que no ocurrirá una gran aglomeración de partículas dentro de la cámara, traduciéndose en un mayor rendimiento de encapsulación respecto a la mezcla de grenetina /maltodextrina.

#### 7.4.2. Contenido de humedad y actividad de agua de los encapsulados

El Cuadro 10 muestra los resultados de la humedad y actividad de agua ( $a_w$ ) de los encapsulados obtenidos. El empleo de maltodextrina como material encapsulante produjo un sólido con una menor humedad lo que indica que el proceso de deshidratación ocurre con una mayor eficiencia para este material encapsulante. Este comportamiento puede ser explicado por las propiedades termodinámicas de los distintos materiales encapsulantes. Anteriormente se había mencionado que la temperatura de transición al estado vítreo tiene un rol importante en las características físicas de los encapsulados obtenidos. En este caso, la maltodextrina posee una temperatura de transición menor que la gretina, por lo que, al someterse ambos agentes a las mismas condiciones de secado, la deshidratación de la gota ocurrirá de una manera más rápida en la solución que contiene maltodextrina al 100%.

**Cuadro 10.** Contenido de humedad y actividad de agua de los encapsulados obtenidos.

Muestra	Humedad (% b.h.)	$a_w$
M/G50	1.99±0.12 <sup>a</sup>	0.225±0.001 <sup>a</sup>
M100	1.67±0.06 <sup>b</sup>	0.306±0.001 <sup>b</sup>

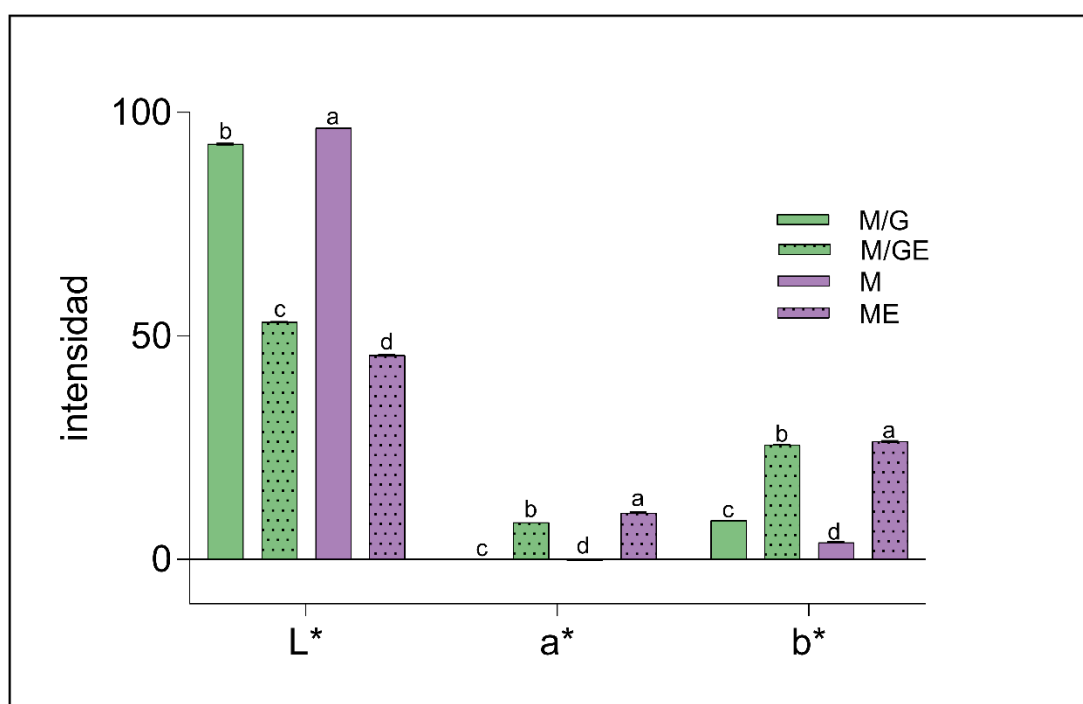
Literales diferentes indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Por otro lado, la actividad de agua varió entre 0.225 y 0.306. Tonon *et al.* (2009) comprobaron que valores de  $a_w$  iguales o menores a 0.3 es mejor para la estabilidad del polvo. Valores menores indican que existe menor cantidad de agua libre disponible para el crecimiento de microorganismos y reacciones bioquímicas redox, provocando un aumento en la vida útil y conservación de las características químicas de los compuestos encapsulados (Figura y Teixeira, 2023).

#### 7.4.3. Parámetros de color de los encapsulados

Los valores de color de los encapsulados sin y con los extractos residuales de aguacate se muestran en la Figura 15. Los encapsulados que se obtuvieron con el material encapsulante ya sea la mezcla de maltodextrina/ gretina o maltodextrina presentan valores superiores de luminosidad ( $L^*$ ) e inferiores para los parámetros de  $a^*$  y  $b^*$  ( $p \leq 0.05$ ). En el caso de  $L^*$ , luego de añadirse el extracto residual de aguacate su valor disminuye en los

encapsulados obtenidos, traduciéndose en la obtención de encapsulados de opacidad mayor. Además, cuando se realiza la comparación de ambos encapsulados ya con el material vegetal incorporado (M/GE y ME) se observa que un aumento en la concentración de maltodextrina provoca una disminución en la luminosidad de los polvos obtenidos. Los encapsulados con el material vegetal poseen un mayor valor de  $a^*$  y  $b^*$ , lo que indica que existe una tendencia hacia las tonalidades rojas y amarillas respectivamente, aunque los valores sean bajos y no se aprecien a simple vista. Para ambos casos la incorporación del material vegetal provocó un aumento en ambos parámetros al compararlos con los agentes encapsulantes solamente.



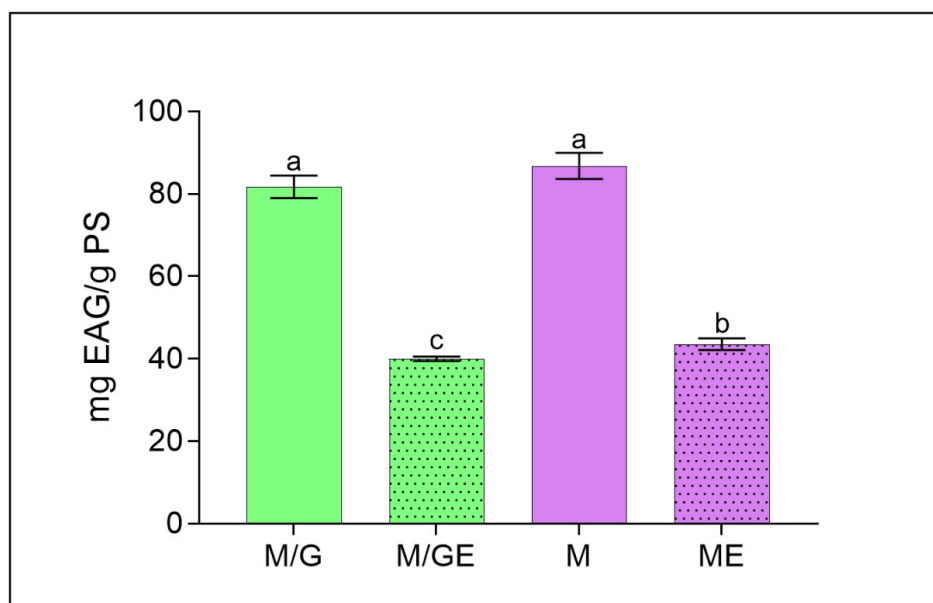
**Figura 15.** Parámetros de color evaluados en el material encapsulante: maltodextrina/ grenetina (M/G), maltodextrina (M) y en los respectivos encapsulados: M/GE y ME. Literales diferentes en cada parámetro indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

El valor de  $\Delta E$  en la mezcla de maltodextrina grenetina (50/50) fue de 44.008 y para el caso en el que se empleó solamente maltodextrina como material encapsulante fue de 56.735. Ambos encapsulados mostraron dispersiones hacia colores ligeramente más oscuros. Este tipo de modificaciones pueden ser atribuidas a la naturaleza del propio material vegetal que posee un color marrón con tonalidades amarillas lo que imparte un cambio de color al compararlos con los valores obtenidos para los materiales encapsulantes. Ahmad *et al.* (2017) reportaron que la incorporación de ácido fólico después de su encapsulación les impartió un

color amarillo y rojizo a microcápsulas de castañas de indias con ciclodextrina como material encapsulante. Los resultados demuestran que al igual que en nuestro estudio el compuesto o los compuestos de interés son capaces de conferirle distintas coloraciones a los encapsulados obtenidos.

#### 7.4.4. Eficacia del proceso de encapsulación

El contenido de compuestos fenólicos demuestra que no existen diferencias entre los extractos preparados con la mezcla maltodextrina/grenetina y maltodextrina, indicando que ambos presentan las mismas características antes de ser sometidos al proceso de secado (Figura 16). Posterior al secado por aspersión, se observa una disminución del contenido de fenólicos para ambos casos, siendo más evidente la disminución en el encapsulado de maltodextrina/grenetina ( $p \leq 0.05$ ). La mayor cantidad de fenólicos estuvo relacionada al contenido de maltodextrina y el reemplazo de grenetina al 50% reduce el contenido de  $(40.09 \pm 0.51)$  a  $(33.28 \pm 1.72)$  mg EAG/g PS. La disminución de fenólicos puede ser atribuido a las características intrínsecas de la maltodextrina y la grenetina que ocasionan diferentes grados de retención de los compuestos en la estructura interna de la microcápsula (Sarabandi *et al.*, 2019).



**Figura 16.** Parámetros de color evaluados en el material encapsulante, maltodextrina/ grenetina (M/G), maltodextrina (M) y en los respectivos encapsulados: M/GE y ME. Literales diferentes en cada parámetro indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).



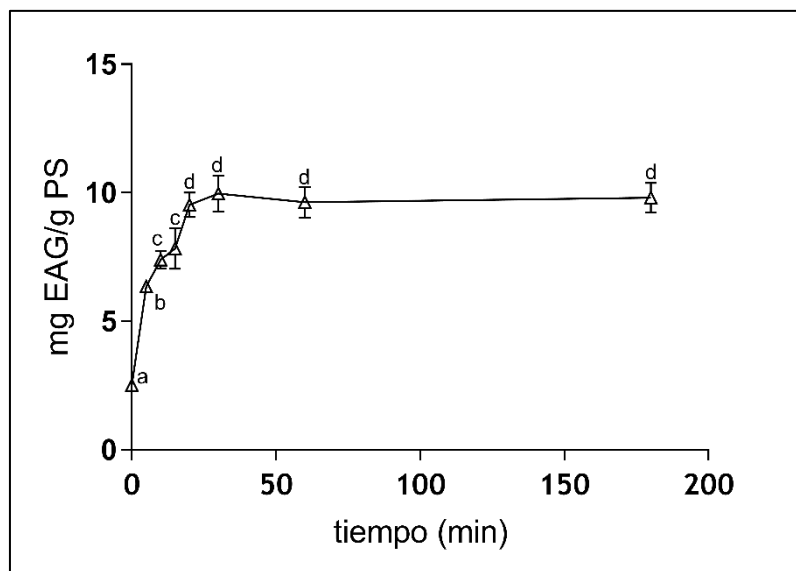
Adicionalmente, para tener un mejor entendimiento del proceso de encapsulación de los compuestos fenólicos se realizan pruebas de eficacia para estimar la capacidad de retención de compuestos de la mezcla de maltodextrina/grenetina y maltodextrina como agentes encapsulantes. De acuerdo con los cálculos realizados la eficacia de la encapsulación al emplearse la mezcla de grenetina/maltodextrina fue de  $60.48 \pm 2.14\%$  y cuando se utilizó la maltodextrina fue de  $55.29 \pm 0.20\%$ . El resultado reportado se puede contrastar con el contenido de compuestos fenólicos de la Figura 16, donde los valores obtenidos corresponden a los fenólicos que no se encuentran retenidos en las microcápsulas para el caso de M/GE y ME. El mayor contenido corresponde a los encapsulados que tiene a la maltodextrina como material encapsulante y a su vez es la que posee una menor eficacia de encapsulación. Esto indica que la maltodextrina no es capaz de retener en la microcápsula a los compuestos fenólicos dando como resultado un mayor valor en los compuestos fenólicos solubles.

Estudios llevados a cabo para la encapsulación de orujos de acerola empleando maltodextrina arrojaron porcentajes de encapsulación de hasta el 50% (Rezende *et al.*, 2018). Por otro lado, un estudio realizado por de Araújo *et al.* (2020) donde emplearon la mezcla de grenetina/maltodextrina para la encapsulación de fenólicos procedentes de aceite de cáscara de naranja se obtuvo una eficacia de encapsulación de 75.75%. Los valores que se reportan en ambos estudios pueden compararse con nuestro estudio, aunque existen algunas variaciones en las condiciones experimentales, sobre todo en las concentraciones empleadas de los agentes encapsulantes. Para darle explicación a los fenómenos de encapsulación, se puede decir que las pérdidas de los compuestos durante el proceso de secado pueden ocurrir debido a varios factores como la concentración de los agentes encapsulantes o fenómenos asociados al propio proceso como la formación de fisuras superficiales por la rápida evaporación del agua y el uso de elevadas temperaturas (Malacrida *et al.*, 2022).

#### **7.4.5. Cinética de liberación de compuestos fenólicos**

La Figura 17 muestra la cinética de liberación de los compuestos fenólicos del encapsulado que tuvo un mayor porcentaje de encapsulación (M/GE). En el gráfico se aprecia que el punto máximo de liberación de compuestos fenólicos ocurre después de 20 min. Antes de alcanzar este tiempo, existe una liberación gradual de los compuestos fenólicos retenidos en los encapsulados. Posterior a este tiempo y hasta que se concluyó el experimento (180

min) no existió una variación en el contenido de fenólicos. El comportamiento sugiere que el pico máximo de liberación es a los 20 min y adicionalmente, que las condiciones a las que se someten los encapsulados no son lo suficientemente drásticas para garantizar la total ruptura de la cápsula, con la siguiente liberación de compuestos fenólicos.



**Figura 17** Cinética de liberación de compuestos fenólicos de los encapsulados de pulpa residual de aguacate. Diferentes letras denotan diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ).

La cinética de liberación tiene características de primer orden, en este tipo de casos, los compuestos suelen liberarse de manera exponencial y llegado cierto tiempo se mantienen constantes los valores de concentración en el tiempo (Luginbuhl *et al.*, 2017). Además, se realizaron los cálculos para la tasa de liberación ( $k$ ) y el porcentaje de liberación de compuestos fenólicos. Los encapsulados presentan una liberación de  $0.041 \pm 0.002$  mg EAG/g PS\*min y porcentajes de liberación de  $25.77 \pm 0.09$  %. Una posible explicación a la obtención de estos valores es que las condiciones a las que se ejecuta el experimental no favorece que se liberen de la cápsula la totalidad de los compuestos fenólicos dado el porcentaje de liberación calculado. Por otro lado, Borah *et al.* (2023) mencionan que el perfil de liberación de compuestos fenólicos de encapsulados puede describirse como una curva dependiente del tiempo y puede clasificarse en liberación en ráfaga, retardada, activada, dirigida y sostenida. Posteriormente, se realizaron los cálculos de la concentración en el equilibrio, observándose que se alcanza con un valor de 9.82 mg EAG/g PS. En este caso, la curva muestra una rápida liberación para un posterior mantenimiento en el tiempo de la concentración, coincidiendo con el comportamiento de una liberación controlada. Los resultados encontrados en esta

investigación concuerdan con los reportes de Taheri y Jafari (2019) donde describen que el empleo de encapsulados como sistemas de liberación controlada protegen a los compuestos fenólicos atrapados en el material encapsulante y logran una liberación controlada bajo las condiciones del pH intestinal.

## **7.5. Estudios de bioaccesibilidad *in vitro***

### **7.5.1 Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos solubles totales en los residuos de aguacate (RA)**

Los resultados del estudio de digestibilidad, así como los porcentajes de bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos solubles de los residuos de aguacate se muestran en el Cuadro 11. En la fase intestinal se puede observar que existe una mayor liberación de compuestos que en el resto de las fases, siendo la muestra control la que posee una mayor liberación en comparación con RA-1 y RA-2. Este comportamiento sugiere que los compuestos presentes en la muestra control se encuentran más accesibles para su absorción en la etapa intestinal que los compuestos de los residuos de aguacate. Es importante mencionar que los niveles ligeramente más elevados de compuestos fenólicos accesibles en la muestra control se debe principalmente a la existencia de una mayor cantidad de compuesto fenólicos libres. Esta afirmación puede sustentarse debido a que los análisis de los CFs realizados en la muestra control arrojaron valores de  $59.52 \pm 1.67$  mg EAG/g PS, superiores a los encontrados en los residuos de aguacate utilizados que fueron de  $15.22 \pm 0.11$  mg EAG/g PS para RA-1 y de  $16.66 \pm 0.75$  mg EAG/g PS para RA-2.

**Cuadro 11.** Digestibilidad *in vitro* y bioaccesibilidad de fenoles solubles totales en los residuos de aguacate RA-1 y RA-2

	Fracción intestinal	Fracción indigestible soluble	Fracción indigestible insoluble	Bioaccesibilidad (%)
	mg EAG/g PS			
<b>C</b>	27.72±0.29 <sup>a</sup>	7.92±0.02 <sup>c</sup>	2.36±0.12 <sup>c</sup>	67.71±0.25 <sup>a</sup>
<b>RA-1</b>	24.32±0.26 <sup>b</sup>	19.86±0.07 <sup>a</sup>	3.01±0.15 <sup>b</sup>	16.88±0.49 <sup>c</sup>
<b>RA-2</b>	21.48±0.29 <sup>c</sup>	11.53±0.10 <sup>b</sup>	6.44±0.14 <sup>a</sup>	41.74±0.40 <sup>b</sup>

Valores son la media ± desviación estándar (n=3). C: aguacate completo; RA-1 y RA-2: residuo de aguacate pulpa desgrasada residual de empresa 1 y 2 respectivamente. mg EAG/g PS: mg equivalentes de ácido gálico/g peso seco. Literales diferentes en las medias representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

En cuanto a la fracción indigestible soluble, los mayores valores corresponden a RA-1 y en menor cuantía a la muestra control. Los CFs de esta fracción corresponden a los compuestos fenólicos que no son digeridos, no son capaces de difundir por la membrana de diálisis y poseen pesos moleculares mayores a 15 kDa. Generalmente estos compuestos son flavonoides, antocianinas, que se encuentran asociados a la fibra vegetal (Durán-Castañeda *et al.*, 2023). El planteamiento anterior nos indica que los residuos de aguacate poseen una mayor cantidad de compuestos fenólicos asociados a la fibra comparado con la muestra control. Por otro lado, la fracción indigestible insoluble corresponden a los compuestos íntimamente asociados a la fibra insoluble y que no se encuentran disponibles para su asimilación durante el proceso de simulación de la digestión. La mayor cantidad de compuestos asociados a la FII corresponde a la muestra de RA-2, seguido de RA-1 y por último la muestra control, demostrando que los residuos vegetales poseen una mayor cantidad de compuestos fenólicos no accesibles en el intestino. El mayor contenido de compuestos asociado a la FII nos indica que los residuos evaluados poseen en su composición partes de fibra insoluble, a las que se asocian este tipo de compuestos de naturaleza fenólica. Adicionalmente, se ha indicado que los compuestos que se encuentran en esta fracción son metabolizados principalmente por la microbiota residente en el intestino grueso (Williamson y Clifford, 2017).

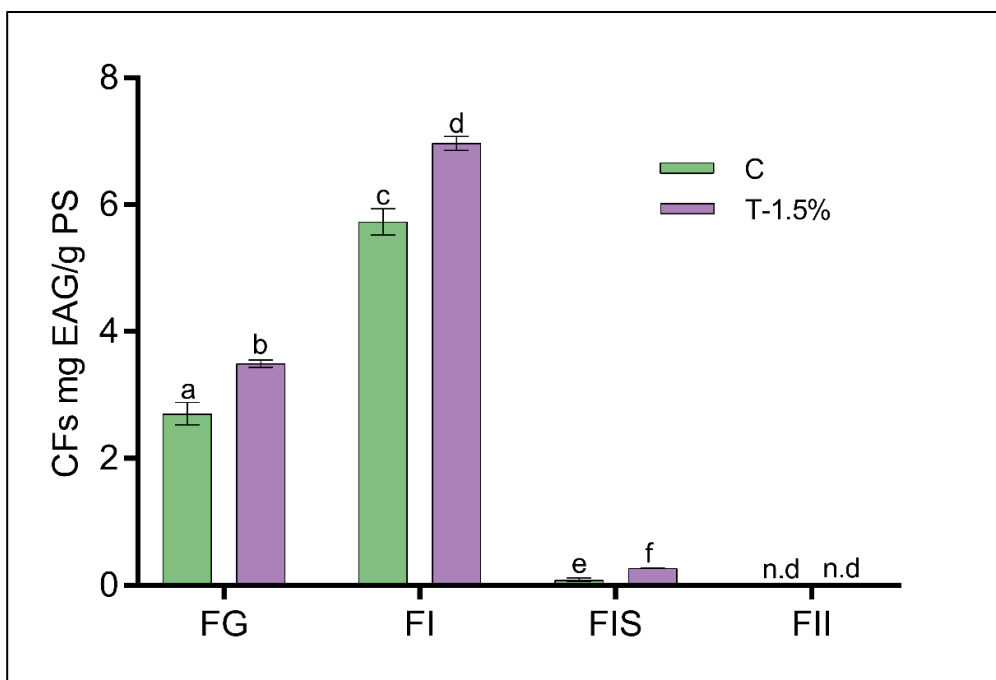
Los cálculos de bioaccesibilidad (Cuadro 11) reflejan que la muestra control presenta los mayores porcentajes de bioaccesibilidad comparado con las muestras de residuos

de aguacate. Lo anteriormente planteado demuestra que los CFs presentes en la muestra control poseen una mejor digestibilidad que aquellos que se encuentran en las muestras de residuos de aguacate. Estos resultados coinciden con los resultados de los CFs en la fase intestinal, donde la muestra control presentó valores superiores, indicando que existe una mayor cantidad de compuestos disponibles para ser asimilados por el organismo. Estudios realizados en pulpa y residuos de guanábana (cáscara y semillas), Domingues *et al.* (2024) encontraron un comportamiento similar al presentado en nuestro estudio, donde los compuestos fenólicos presentes en la fruta se encontraban más accesibles que los presentes en los subproductos. Por otro lado, los residuos analizados presentan un menor bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos, debido fundamentalmente a que existe un mayor número de estos asociados a la FII. Algunos factores como la estructura de la fibra presente en los residuos y la presencia de compuestos como saponinas, taninos o alcaloides pueden afectar negativamente la digestibilidad de los CFs durante el proceso de simulación (Luo *et al.*, 2022).

#### **7.5.2 Bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos solubles en jamones adicionados con el extracto optimizado del residuo de aguacate (RA)**

La Figura 18 muestra el comportamiento de los CFs durante el proceso de digestión *in vitro*. Se puede observar que existe un aumento en el contenido de CFs cuando tanto el jamón C como T-1.5% transitan de la fase gástrica (FG) a la fase intestinal (FI). El incremento puede estar dado principalmente por la acción de las enzimas como la pancreatina y  $\alpha$ -amilasa facilitan el desdoblamiento de proteínas, grasa y azúcares, lo que facilita la exposición de los compuestos fenólicos que quedaron atrapados en la red heterogénea formada durante la emulsión, cocción y gelificación del jamón. El tiempo de tránsito que tiene el jamón en las distintas fases también debe considerarse, en FG solo se encuentra por 1 hora, mientras que en la FI las enzimas actúan por 22 h, lo que garantiza una mayor desnaturalización proteica y liberación de compuestos fenólicos (Angelino *et al.*, 2017). También este incremento se atribuye a la hidrólisis ácida de compuestos fenólicos glucosidados, que pasan a su forma de aglicona libre por acción de las enzimas digestivas, resultando en una mayor cuantificación de estos (Lee *et al.*, 2016). Otro factor que influye en estos resultados es el pH, el cambio de un medio ácido a uno cercano al neutro genera cambios estructurales como la deprotonación

de los grupos hidroxilos presentes en los anillos aromáticos de los compuestos fenólicos. Se afirma que la deprotonación de estos grupos facilita la solubilización y disponibilidad de interacción con otras moléculas, mejorando potencialmente su acción antioxidante (Kim y Hur, 2018).



**Figura 18.** Digestión *in vitro* del jamón control (C) y el jamón adicionado con 1.5% (T-1.5%) de extracto optimizado de la pulpa desgrasada residual. FG: compuestos fenólicos liberados en la fase gástrica; FI: compuestos fenólicos liberados en la fase intestinal; FIS: compuestos fenólicos asociados a la fracción indigestible soluble; FII: compuestos fenólicos asociados a la fracción indigestible insoluble, n.d.: no detectable. Literales diferentes en cada barra indican diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Por otro lado, la cuantificación de estos compuestos en la FIS es mínima y en la fracción indigestible insoluble no fueron detectados. El contenido en FIS es mayor en el jamón con un 1.5% de RA (T-1.5%) en comparación con el jamón control. La presencia de compuestos en la FIS indica que existen compuestos fenólicos incapaces de cruzar los poros de la membrana de diálisis. Estos compuestos generalmente están asociados con componentes de la fibra dietética o son CFs con un alto peso molecular (Blancas-Benitez *et al.*, 2018). Los resultados reflejan entonces que el jamón adicionado con la pulpa residual influye en el incremento de estos compuestos y se puede presumir de que al tratarse de una matriz vegetal algunos de los compuestos fenólicos quedan atrapados en la fibra. Los valores más bajos a punto de no ser detectados por el método de cuantificación de fenólicos fue el FII para ambas muestras. Los mismos corresponden a los compuestos fenólicos que no son

bioaccesibles en la digestión intestinal pero que pueden ser el sustrato para la fermentación en el intestino grueso (Williamson y Clifford, 2017). En nuestro caso, los valores encontrados indican que en los jamones no existen este tipo de compuestos y por lo que durante la digestión gástrica e intestinal se logra de una manera eficiente liberación de los compuestos fenólicos.

Teniendo en cuenta la cantidad de compuestos fenólicos liberados en cada una de las etapas de la digestión *in vitro* y los CFs asociados a las distintas fracciones se realizaron los cálculos de la bioaccesibilidad (%BA) de ambos jamones. Los valores de %BA fue de  $98.48 \pm 0.57$  y  $96.16 \pm 0.08\%$  para el jamón control y para el jamón adicionado con 1.5% del extracto optimizado respectivamente. Los resultados indican que ambos jamones poseen altos grados de bioaccesibilidad, lo que indica que la mayoría de los compuestos fenólicos se encuentran disponibles para ser asimilados por el organismo y ejercer sus efectos benéficos. Algunos autores plantean que durante el proceso de digestión gastrointestinal las enzimas (lipasas, proteasas y amilasas) son capaces de hidrolizar componentes de los alimentos liberando péptidos, azúcares, lípidos y compuestos fenólicos ligados a estos nutrientes (Congn *et al.*, 2020). Sin embargo, una parte de los compuestos permanece unida a proteínas, en nuestro caso en particular se aprecia que casi la totalidad de los compuestos son liberados teniendo en cuenta los altos porcentajes de bioaccesibilidad encontrados (Toro-Urbe *et al.*, 2019). De acuerdo con lo planteado anteriormente, los resultados aquí reportados indican que la matriz cárnica no retiene a los compuestos fenólicos adicionados a través del extracto optimizado, siendo fácilmente bioaccesibles.

### **7.5.3 Bioaccesibilidad *in vitro* del jamón horneado artesanal adicionado con los encapsulados**

El Cuadro 12 muestra el comportamiento de los fenoles solubles totales durante el proceso de digestión *in vitro* y su bioaccesibilidad en los jamones adicionados con encapsulados, adicionado con 1% de extracto y el jamón control. En la fase intestinal se observa que entre los distintos tratamientos existen diferencias ( $p \leq 0.05$ ). El mayor contenido corresponde al jamón adicionado con 1% del extracto de residuo de aguacate, mientras que los jamones encapsulados presentan menores valores. Este comportamiento sugiere que los compuestos, en el encapsulado, están protegidos por la capa de maltodextrina/grenetina. La

capa externa de la cápsula protege a los compuestos fenólicos, evitando que sean liberados por la acción de las enzimas digestivas y el pH, lo que genera una menor cuantificación, comparado con el control.

**Cuadro 12.** Digestibilidad *in vitro* y bioaccesibilidad de fenoles solubles totales en jamones adicionados con extracto optimizado del residuo de aguacate y distintos porcentajes de encapsulados.

	Fracción intestinal (FI)	Fracción indigestible soluble (FIS)	Fracción indigestible insoluble (FII)	Bioaccesibilidad (%)
	mg EAG/g PS			
C	9.26±0.61 <sup>b</sup>	3.17±0.07 <sup>a</sup>	3.37±0.13 <sup>b</sup>	48.20±2.58 <sup>d</sup>
Ext_1%	11.44±0.09 <sup>a</sup>	2.60±0.79 <sup>a</sup>	3.26±0.17 <sup>b</sup>	60.13±4.92 <sup>b</sup>
E_0.5%	9.14±0.35 <sup>b</sup>	0.95±0.23 <sup>c</sup>	3.28±0.52 <sup>ab</sup>	65.94±1.84 <sup>a</sup>
E_1.0%	7.95±1.98 <sup>d</sup>	0.34±0.33 <sup>d</sup>	3.60±0.02 <sup>a</sup>	65.66±2.58 <sup>a</sup>
E_1.5%	8.5±0.18 <sup>c</sup>	1.66±0.04 <sup>b</sup>	3.35±0.26 <sup>ab</sup>	57.74±0.95 <sup>c</sup>

Valores son la media ± desviación estándar (n=3). C: jamón control; Ext. 1%: jamón adicionado con 1% de extracto de pulpa residual; E\_0.5%, 1.0% y 1.5%: jamón adicionado con 0.5, 1.0 y 1.5% de encapsulado de pulpa desgrasada residual. mg EAG/g PS: mg equivalentes de ácido gálico/ g peso seco. Literales diferentes en las medias representan diferencias (p≤0.05).

Al realizar un análisis comparativo de las siguientes fracciones (FIS y FII), se puede apreciar que la adición de extracto o encapsulado no ejercen diferencias significativas en el incremento de los compuestos fenólicos. Por otro lado, existe una tendencia a recuperar una mayor cantidad de compuestos fenólicos en la fracción intestinal. Rocchetti *et al.* (2024) reportaron de igual manera altos valores en el contenido de fenólicos en la etapa intestinal en hamburguesas adicionadas con proteínas de grillo. Estos resultados pueden deberse a los distintos procesos por los que pasa el alimento como la simulación de los movimientos peristálticos y la hidrólisis de los compuestos de su forma glucosilada a aglicona, favoreciendo la liberación de los compuestos en esta etapa (Wang *et al.*, 2024).

Los cálculos de bioaccesibilidad reflejan que un aumento en la cantidad de encapsulado adicionado al jamón genera un aumento en la bioaccesibilidad, obteniéndose valores entre el 48 y el 60%. Al realizar una comparación de los resultados obtenidos en esta



investigación con algunos reportes existentes en la bibliografía los porcentajes aquí mostrados son superiores. Lucas-González *et al.* (2023) investigaron cómo afectaba la adición de residuos de tomate en paté sobre la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos. En dicho estudio se demostró que la bioaccesibilidad fluctuó entre 5.83 y el 38.38 %, obteniéndose mejores valores de bioaccesibilidad al tratar los residuos previamente con tratamientos térmicos. Adicionalmente, estudios de bioaccesibilidad realizado en hamburguesas adicionadas con proteínas de grillo se obtuvieron bioaccesibilidades de fenólicos que variaron entre 11.4 y 35.4% (Rocchetti *et al.*, 2024).

La mayor bioaccesibilidad reportada en nuestro estudio se puede atribuir a la naturaleza de la materia prima. Por ejemplo, en el caso del paté adicionado con residuos de tomate la muestra fue liofilizada y en el estudio donde se utilizó harina de grillo esta solamente se sometió a un proceso de molienda. En la presente investigación, el tratamiento con microondas influyó en que se aumentara la extracción de compuestos fenólicos. Por otro lado, teniendo en cuenta los porcentajes de bioaccesibilidad reportados en esta investigación, cerca del 40% de los compuestos no se encuentran disponibles para ser asimilados en el organismo. Sin embargo, esta fracción indigestible puede ser usada como sustrato por parte de la microbiota del colón y la subsecuente producción de metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta que intervienen en la regulación de niveles de glutamato, glutamina, GABA que regulan ciclos de sueño, depresión y ansiedad (Blancas-Benítez *et al.*, 2024).

Paralelamente, se llevó a cabo un estudio para conocer la digestibilidad de las proteínas presentes en los jamones elaborados (Cuadro 13) con el objetivo de conocer el grado de digestibilidad de las proteínas en los jamones. Las mayores digestibilidades corresponden a los jamones elaborados con los encapsulados, mientras que el jamón control y Ext\_1.0% poseen una menor digestibilidad proteica. Las cantidades de proteínas empleadas juegan un papel preponderante en este tipo de análisis, por ejemplo, en el caso de los encapsulados se empleó como material encapsulante la grenetina, la cual podría influir en un aporte más elevado de proteínas. Los resultados pueden explicarse por el hecho de que la digestibilidad de las proteínas puede verse afectada por factores como el procesamiento, que genera la formación de péptidos y la oxidación proteica (Orlien *et al.*, 2023). Otro factor importante podría ser los cambios estructurales inducidos por el desdoblamiento de las

proteínas incrementan la susceptibilidad ante procesos de hidrólisis por las proteasas intestinales (Chen *et al.*, 2023).

**Cuadro 13.** Digestibilidad de proteínas en jamones adicionados con extracto optimizado de residuo de aguacate y distintos porcentajes de encapsulados.

	Proteína Muestra cruda	Proteína fracción indigestible soluble	Proteína fracción indigestible insoluble	Digestibilidad (%)
	% b.s			
C	60.53±0.16 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>b</sup>	8.30±2.19 <sup>a</sup>	80.79±0.41 <sup>b</sup>
Ext_1%	56.49±3.50 <sup>b</sup>	0.09±0.03 <sup>c</sup>	7.41±3.31 <sup>ab</sup>	79.36±0.37 <sup>b</sup>
E_0.5%	54.25±2.74 <sup>b</sup>	0.12±0.02 <sup>c</sup>	5.21±0.25 <sup>ab</sup>	87.19±0.34 <sup>a</sup>
E_1.0%	61.38±0.64 <sup>a</sup>	0.48±0.11 <sup>a</sup>	4.99±1.50 <sup>ab</sup>	88.28±0.77 <sup>a</sup>
E_1.5%	53.11±1.98 <sup>b</sup>	0.22±0.04 <sup>b</sup>	4.62±1.48 <sup>b</sup>	88.47±0.76 <sup>a</sup>

Valores son la media ± desviación estándar (n=3). C: jamón control; E\_1%: jamón adicionado con 1% de extracto de pulpa residual; E\_0.5%, 1.0% y 1.5%: jamón adicionado con 0.5, 1.0 y 1.5% de encapsulado de pulpa residual. % b.s porcentaje de proteínas expresado en base seca. Literales diferentes en las medias representan diferencias (p≤0.05).

### 7.5.2 Bioaccesibilidad *in vitro* del jamón horneado artesanal adicionado con el extracto optimizado de residuos de aguacate

Los jamones horneados artesanales adicionados con distintos porcentajes del extracto optimizado de residuos de aguacate fueron sometidos un proceso de digestión *in vitro* y los datos recogidos del experimento se muestran en el Cuadro 14. Se puede apreciar el efecto que tiene la incorporación del extracto sobre el contenido de CFs en los distintos jamones formulados y entre las distintas fases analizadas. A medida que existe un incremento de los porcentajes de extracto añadido, la cantidad de compuestos fenólicos digeribles en la fase intestinal aumenta, al igual que ocurre un aumento de compuestos fenólicos asociados a las FIS y FII. El comportamiento observado se puede vincular a la cantidad de compuestos fenólicos incorporados a cada una de las formulaciones realizadas. En la fracción intestinal la mayor cantidad de compuestos fue encontrada en Ext\_10%, indicando que dichos compuestos se encuentran accesibles a nivel de intestino para su asimilación por el organismo. Los menores valores corresponden al jamón formulado con el 1% del extracto

optimizado del residuo de aguacate, indicando que la cantidad de extracto adicionada afecta positivamente la disponibilidad de los compuestos a nivel intestinal. El mayor grado de disponibilidad de estos compuestos en la fracción intestinal durante procesos de simulación de digestión *in vitro* ha sido descrito ampliamente por algunos autores (Rocchetti *et al.*, 2024). Se menciona que el alto grado de disponibilidad en esta etapa intestinal se debe fundamentalmente a compuestos fenólicos de estructura simple como ácidos hidroxycinámicos e hidroxibenzoicos los cuales son mayoritarios en matrices vegetales. Los resultados del análisis cromatográfico corroboran esta afirmación ya que se demostró que los compuestos fenólicos mayoritarios presentes en el residuo pertenecen a las familias de compuestos anteriormente mencionadas.

**Cuadro 14.** Digestibilidad *in vitro* y bioaccesibilidad de fenoles solubles totales en jamón horneado artesanal adicionado con extracto optimizado de residuos de aguacate.

	Fracción intestinal (FI)	Fracción indigestible soluble (FIS)	Fracción indigestible insoluble (FII)	Bioaccesibilidad (%)
	mg EAG/g PS			
C	8.44±0.19 <sup>d</sup>	5.29±0.19 <sup>c</sup>	1.69±0.16 <sup>c</sup>	31.11±1.54 <sup>d</sup>
Ext_1%	9.36±0.24 <sup>c</sup>	5.70±0.25 <sup>c</sup>	1.92±0.23 <sup>c</sup>	32.49±1.47 <sup>d</sup>
Ext_3%	9.24±0.29 <sup>c</sup>	5.4±0.13 <sup>c</sup>	1.80±0.14 <sup>c</sup>	34.79±0.10 <sup>c</sup>
Ext_5%	22.60±0.68 <sup>b</sup>	12.27±0.27 <sup>a</sup>	2.26±0.19 <sup>b</sup>	41.51±1.01 <sup>b</sup>
Ext_10%	30.16±1.04 <sup>a</sup>	11.13±0.71 <sup>b</sup>	2.75±0.43 <sup>a</sup>	57.69±1.78 <sup>a</sup>

Valores son la media ± desviación estándar (n=3). C: jamón control; Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5%, Ext\_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. mg EAG/g PS: mg equivalentes de ácido gálico/ g peso seco. Literales diferentes en las medias representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Al igual que en la fracción intestinal, la FIS tiene una mayor presencia de compuestos no digeribles en los jamones formulados con los mayores porcentajes de extracto añadido. El comportamiento encontrado está en concordancia con los datos encontrados en el Cuadro 11 donde se demuestra la existencia de cierta cantidad de compuestos no digeribles en los residuos de aguacate. En cuanto a la FII existe una pequeña cantidad de CFs que no están disponibles para su digestión en todos los tratamientos o jamones formulados.

Los datos de los CFs en cada una de las fracciones fueron utilizados para realizar los cálculos de bioaccesibilidad de cada uno de los jamones formulados. La mayor bioaccesibilidad de CFs corresponde a Ext\_10%, mientras que el menor valor lo presentó el jamón control. Los resultados aquí reportados muestran que la bioaccesibilidad de los CFs se incrementa a medida que aumentan los porcentajes de extracto añadido en los jamones. Una de las principales características para tener en cuenta en este estudio es la posible interacción de los CFs con las proteínas y lípidos presentes en el alimento. Se tienen reportes que la proteína puede interactuar con los compuestos fenólicos por medio de interacciones no covalentes (atracciones electrostáticas) y covalentes, las que son irreversibles y más fuertes (Zhang *et al.*, 2024). Teniendo en cuenta el planteamiento anterior y los datos que se reportan de bioaccesibilidad, se puede inferir que los porcentajes de bioaccesibilidad corresponden a aquellos compuestos que no se encuentran interactuando de manera covalente con los elementos de la matriz alimentaria y, por lo tanto, se encuentran más disponibles para su metabolismo. Alrededor del 57% de los compuestos se encuentran disponibles para su absorción en los jamones formulados con 10% de extracto vegetal adicionado.

## **7.6. Estudios del comportamiento de los jamones formulados en el tiempo**

### **7.6.1 Comportamiento en el tiempo de los parámetros colorimétricos en los jamones formulados**

El Cuadro 15 muestra el comportamiento de los distintos parámetros de color analizados en el tiempo para cada jamón formulado (columnas) y entre las distintas formulaciones elaboradas (filas). Los resultados para la luminosidad ( $L^*$ ) demostraron que la incorporación del extracto a distintas concentraciones en los jamones no afecta este parámetro en el día cero, pero para el día 21 se observó que el jamón control y Ext\_1% presentaron una mayor luminosidad. Este comportamiento indica que la adición de concentraciones mayores a 1% del extracto optimizado genera pérdida de luminosidad en los jamones, provocado fundamentalmente por la coloración del extracto añadido, otorgándole tonalidades menos claras. Los análisis individuales de los jamones a través del tiempo demostraron que el almacenamiento de estos contribuye al aumento de la luminosidad comparado con los jamones recién formulados. La luminosidad en productos cárnicos como

el jamón puede verse afectado fundamentalmente por el desarrollo de procesos oxidativos de macromoléculas presentes en la matriz cárnica como los lípidos y las proteínas (Deng *et al.*, 2021). Contrastando el planteamiento anterior con los resultados encontrados en la investigación, se puede inferir que dichos procesos oxidativos no afectan significativamente las características de los jamones ya que se demostró que existe un incremento en la luminosidad durante el almacenamiento. El incremento en la luminosidad experimentado en los jamones formulados puede deberse a la formación del compuesto oxihemoglobina, generado por la reacción de la hemoglobina con el oxígeno (Badar *et al.*, 2023). Algunos procesos realizados durante el proceso de elaboración del jamón como la molienda de la carne, masajeo durante la incorporación de la salmuera y su posterior maduración, pudieron contribuir a la formación de la oxihemoglobina, generando un producto más brillante en el tiempo.

**Cuadro 15.** Análisis de color de los jamones elaborados con el extracto optimizado del residuo de aguacate en el tiempo.

Parámetro	Tiempo (días)	C	Ext_1%	Ext_3%	Ext_5%	Ext_10%
<b>L*</b>	0	52.31±1.17 <sup>Ac</sup>	50.13±1.19 <sup>Ab</sup>	50.69±0.93 <sup>Ac</sup>	48.72±2.03 <sup>Ad</sup>	51.14±1.62 <sup>Ad</sup>
	7	56.18±0.59 <sup>Aab</sup>	54.62±0.62 <sup>Ba</sup>	52.67±0.36 <sup>Ca</sup>	56.05±1.13 <sup>Aa</sup>	54.89±1.47 <sup>Ba</sup>
	14	56.55±0.49 <sup>Aa</sup>	55.04±0.52 <sup>BCa</sup>	52.30±0.38 <sup>Da</sup>	54.33±0.33 <sup>Cb</sup>	55.37±0.52 <sup>Ba</sup>
	21	55.55±0.25 <sup>Ab</sup>	55.74±0.94 <sup>Aa</sup>	51.13±0.41 <sup>Cb</sup>	53.30±0.41 <sup>Bc</sup>	53.08±0.46 <sup>Bc</sup>
<b>a*</b>	0	8.09±0.23 <sup>Ad</sup>	7.98±0.14 <sup>Ad</sup>	8.09±0.15 <sup>Ad</sup>	8.15±0.21 <sup>Ad</sup>	7.86±0.48 <sup>Ad</sup>
	7	11.04±0.16 <sup>Bc</sup>	11.49±0.18 <sup>Ac</sup>	11.66±0.11 <sup>Ac</sup>	10.85±0.29 <sup>Cc</sup>	10.08±0.27 <sup>Dc</sup>
	14	12.87±0.18 <sup>ABb</sup>	13.15±0.33 <sup>Ab</sup>	12.56±0.17 <sup>Bb</sup>	12.34±0.49 <sup>ABb</sup>	11.37±0.28 <sup>Cb</sup>
	21	55.74±0.49 <sup>Aa</sup>	55.23±0.32 <sup>Aa</sup>	49.88±0.28 <sup>Ca</sup>	53.30±0.41 <sup>Ba</sup>	53.14±0.24 <sup>Ba</sup>
<b>b*</b>	0	8.65±0.41 <sup>Ac</sup>	8.26±0.48 <sup>Ad</sup>	8.56±0.22 <sup>Ad</sup>	8.41±0.16 <sup>Ad</sup>	8.86±0.32 <sup>Ad</sup>
	7	9.07±0.14 <sup>Db</sup>	9.82±0.27 <sup>Cc</sup>	11.13±0.17 <sup>Ac</sup>	10.38±0.14 <sup>Bc</sup>	10.98±0.22 <sup>Ac</sup>
	14	10.86±0.12 <sup>Ca</sup>	10.82±0.33 <sup>Cb</sup>	11.49±0.16 <sup>Bb</sup>	11.38±0.17 <sup>Bb</sup>	11.88±0.17 <sup>Ab</sup>
	21	10.63±0.16 <sup>Da</sup>	11.25±0.13 <sup>Ca</sup>	12.13±0.16 <sup>ABa</sup>	11.92±0.19 <sup>Ba</sup>	12.31±0.17 <sup>Aa</sup>

Valores son la media ± desviación estándar (n=3). C: jamón control; Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5%, Ext\_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. Literales mayúsculas diferentes en la fila indican diferencias entre los distintos jamones formulados ( $p \leq 0.05$ ). Literales minúsculas en la columna indican diferencias a través del tiempo ( $p \leq 0.05$ ).

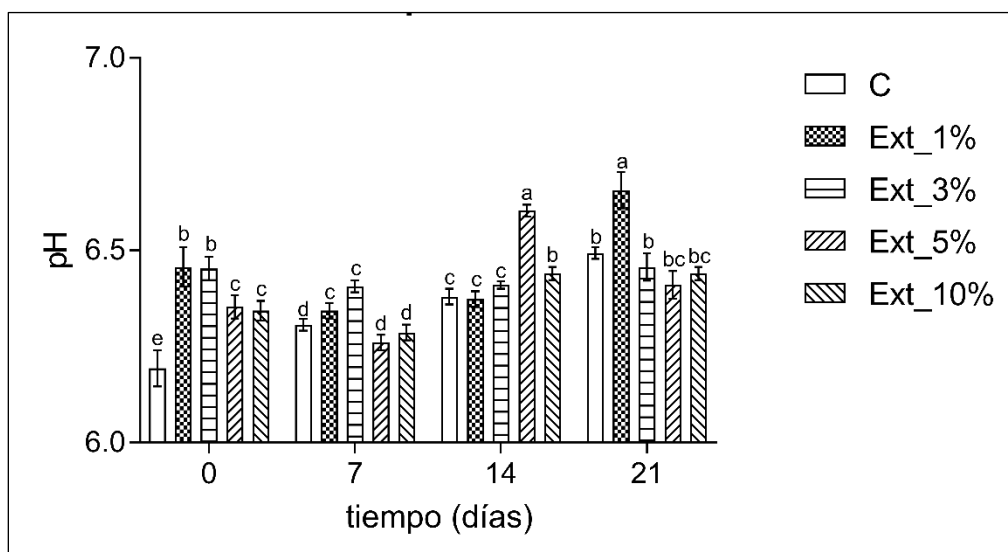
Los valores de a\* (tonalidades rojas) entre los distintos jamones fueron iguales cuando los jamones fueron recién formulados, mientras que con el paso del tiempo se observó que tanto el jamón control como el jamón adicionado con el 1% del extracto desarrollaron una tonalidad roja más marcada en comparación con el resto de las formulaciones. Este comportamiento sugiere que la adición del extracto optimizado, al igual que ocurrió con la

luminosidad ( $L^*$ ), interfiere con la percepción de las tonalidades rojas a medida que aumenta la concentración de extracto incorporado. Además, los resultados demostraron que el almacenamiento de los jamones contribuyó positivamente al desarrollo de tonalidades rojas para las distintas formulaciones de los jamones. Existe evidencia que sugiere que la incorporación de extractos ricos en compuestos fenólicos actúa como agente protector evitando que la oximioglobina se oxide a metamioglobina la cual posee un color marrón (Palanisamy *et al.*, 2024). La pérdida de la coloración roja en los productos cárnicos se puede atribuir tanto a la concentración de mioglobina, como al estado redox del producto cárnico. Las proteínas tienen la capacidad de interactuar con distintas moléculas (lípidos, radicales libres o compuestos fenólicos) e influenciar o modular el balance redox en las matrices cárnicas. La transformación de la mioglobina tiene un impacto directo en las características colorimétricas de los productos cárnicos (Zhu *et al.*, 2024). Tomando en cuenta los resultados encontrados se puede inferir que los compuestos presentes en el extracto optimizado de residuos de aguacate juegan un papel importante regulando el balance redox de los jamones y contribuyen al desarrollo de tonalidades rojas durante su almacenamiento.

Los resultados para el parámetro  $b^*$  (tonalidades amarillas) demuestran que existe un incremento en el tiempo para todos los jamones formulados, mientras que en el día 21, no existe diferencia del valor entre los jamones formulados. El planteamiento anterior demuestra que la adición del extracto optimizado en los jamones no influye significativamente en el desarrollo de tonalidades amarillas durante el almacenamiento. Los valores analizados de  $L$ ,  $a^*$  y  $b^*$  se emplearon para realizar los cálculos de  $\Delta E$ , el cual es un parámetro muy usado para establecer diferencias en la coloración de un producto a través del tiempo. El cambio total de color de los jamones fue  $47.80 \pm 1.03$  para el jamón control,  $48.21 \pm 1.11$  para Ext\_1%,  $41.95 \pm 0.71$  para Ext\_3%,  $45.58 \pm 0.42$  para Ext\_5% y de  $45.44 \pm 0.31$  para Ext\_10%. En todas las formulaciones se obtuvieron valores de  $\Delta E$  superiores a 5, permitiendo concluir que los cambios en la coloración experimentados durante el almacenamiento son perceptibles a simple vista, sin necesidad de utilizar ningún equipo especializado (Ranjan *et al.*, 2024).

### 7.6.2 Comportamiento en el tiempo de los valores de pH en los jamones formulados

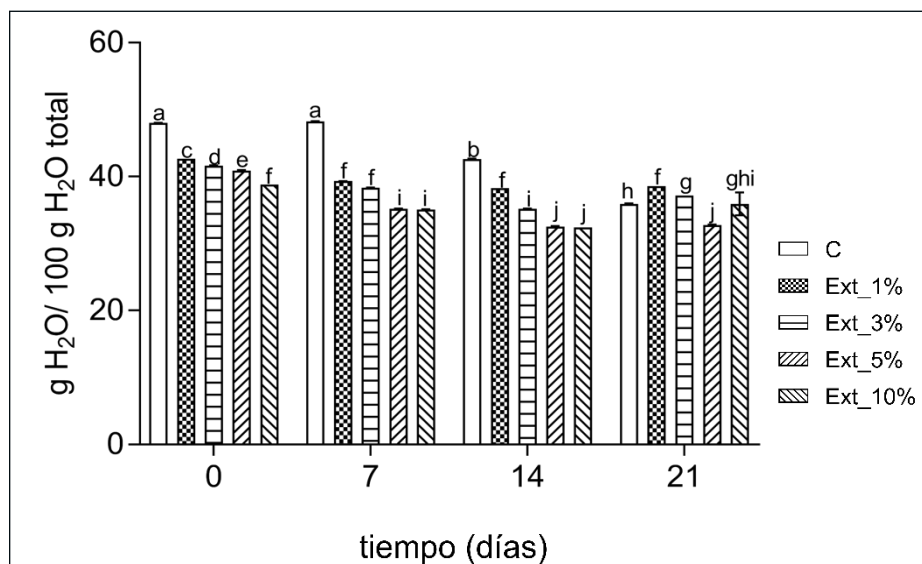
La figura 19 muestra la variación de pH de los distintos jamones formulados en el tiempo. Durante todo el desarrollo experimental el valor de pH se mantuvo en el rango de 6.19 a 6.65. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Gwak *et al.* (2024) quienes evaluaron la adición de rábano en polvo en jamones de cerdo, encontrando fluctuaciones de pH de 6.01 a 6.27. Los resultados encontrados en nuestra investigación se adecuan a los encontrados en la literatura. Además, se observó que en los jamones recién formulados la adición del extracto optimizado de residuos de aguacate contribuye al ligero incremento del pH comparado con el jamón control. A través del tiempo se evidencia que los valores se mantienen constantes y para el día 21, concluido el experimento, no se observan cambios significativos para los jamones Ext\_3%, 5% y 10%, pero si para el jamón control y Ext\_1%. El comportamiento sugiere que la adición de los extractos puede regular los valores de pH de los jamones en el tiempo.



**Figura 19.** Valores de pH de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5%, Ext\_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

### 7.6.3 Comportamiento en el tiempo de la capacidad de retención de agua en los jamones formulados

El comportamiento de la capacidad de retención de agua (CRA) fue evaluado en los jamones formulados con la adición de distintas concentraciones de extracto optimizado del residuo de aguacate (Figura 20). Los resultados para este análisis muestran que en el día cero, la adición de los extractos disminuye la CRA en los jamones formulados respecto al control. Durante el desarrollo del estudio se observó que existe la misma tendencia cuando se analizaron las muestras en los días 7 y 14. Por otro lado, en el día 21 el comportamiento fue diferente, existió un aumento en los jamones Ext\_3% y Ext\_10%, los valores se mantuvieron constantes para Ext\_1% y Ext\_5% y en el caso de la muestra control ocurrió una disminución de los valores de la CRA.



**Figura 20.** Valores de la capacidad de retención de agua (CRA) en los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5%, Ext\_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

La CRA está ligada a características sensoriales muy apreciadas por los consumidores como la jugosidad, debido a que se refiere a la capacidad que posee el jamón de ligar o retener agua. Además, también tiene un impacto en la textura, desarrollando texturas más suaves comparado con aquellos productos con poca capacidad para retener agua (Pan *et al.*, 2021). Tomando como base los resultados de la figura 20, el tiempo de

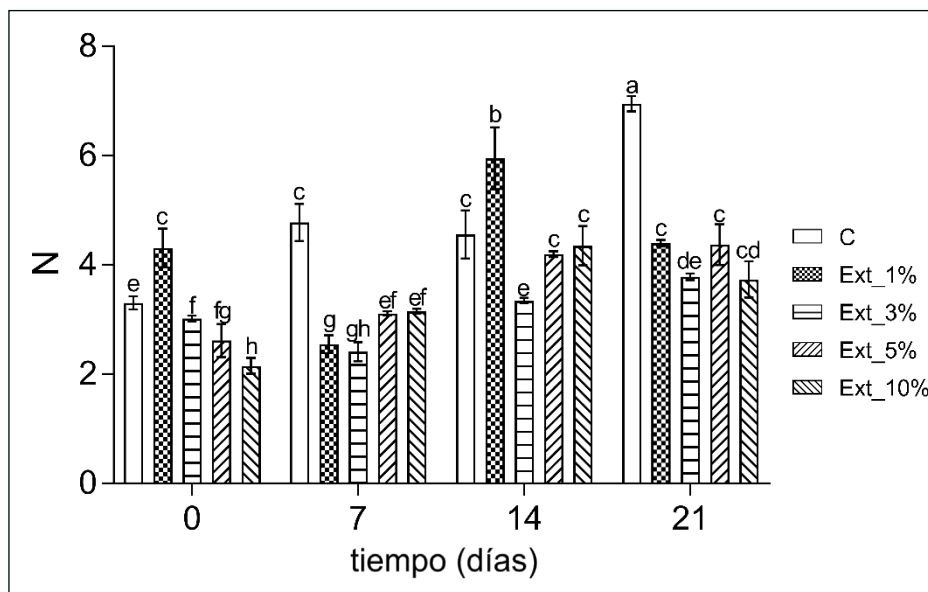


almacenamiento disminuye la CRA. Factores externos como la temperatura de refrigeración, así como la permeabilidad a los gases de la tripa empleada durante el proceso de conformado puede favorecer la migración superficial del agua, fuera de la matriz cárnica. Otro factor a tener en cuenta es que, durante el almacenamiento, ocurren distintos cambios químicos en las proteínas como su oxidación, lo que trae consigo su desnaturalización y la disminución de la interacción proteína-agua (Tan *et al.*, 2022). Los cambios mencionados anteriormente pueden afectar al jamón disminuyendo su capacidad de retención de agua. Adicionalmente, la presencia del extracto optimizado rico en compuestos de origen fenólicos también puede afectar a la CRA, como se evidenció en este estudio. Los compuestos identificados en el extracto de residuo de aguacate como ácido gálico, clorogénico y quercetina, establecen interacciones electrostáticas con las proteínas miofibrilares presentes en el jamón. Las interacciones entre compuestos fenólicos y proteínas contribuyen a preservar la estructura  $\alpha$ -hélice de las proteínas, aumentando su hidrofobicidad superficial y en consecuencia disminuyendo su capacidad de ligar agua, por ocupación de los sitios activos por los compuestos fenólicos (Xu *et al.*, 2021).

#### **7.6.4 Comportamiento de la textura en el tiempo en los jamones formulados**

La Figura 21 muestra el comportamiento de la dureza de los jamones formulados a través del tiempo. La muestra control y el jamón Ext\_5% experimentaron la mayor variación en la dureza del día cero al día 21 con un porcentaje de incremento de 67.43% (Ext\_5%) y 52.51% (C). El jamón adicionado con 1% del extracto no presentó diferencia de textura durante el almacenamiento. Por otro lado, los jamones con concentraciones de extracto añadido del 3 y 5% experimentaron un incremento menor: 25.58% para Ext\_3% y 42.35% para Ext\_10%. Los resultados muestran que para la dureza no existe correlación entre los porcentajes añadidos y su incremento en el tiempo. Sin embargo, lo que sí se puede afirmar es que independiente de la cantidad de extracto añadido, la dureza aumenta durante el almacenamiento de los jamones. En el apartado anterior se discutió acerca de la capacidad de retención de agua y como puede afectar parámetros tecno-funcionales como la dureza. Una menor CRA implica la pérdida de jugosidad y en consecuencia cambio en la estructura de los jamones como un aumento en la dureza. El incremento de la dureza está vinculado a la formación de estructuras cristalinas tridimensionales e hidrófobas entre las proteínas

durante el almacenamiento (Zhang *et al.*, 2023). Además, durante el proceso de elaboración de los jamones, el masajeo y maduración, mejoran la integración de los distintos compuestos a nivel molecular y contribuye a la formación de productos con una textura firme. Por otro lado, durante el almacenamiento ocurre la exudación del agua en las piezas de jamón lo que puede generar un incremento de la dureza en el tiempo (Liu *et al.*, 2024).

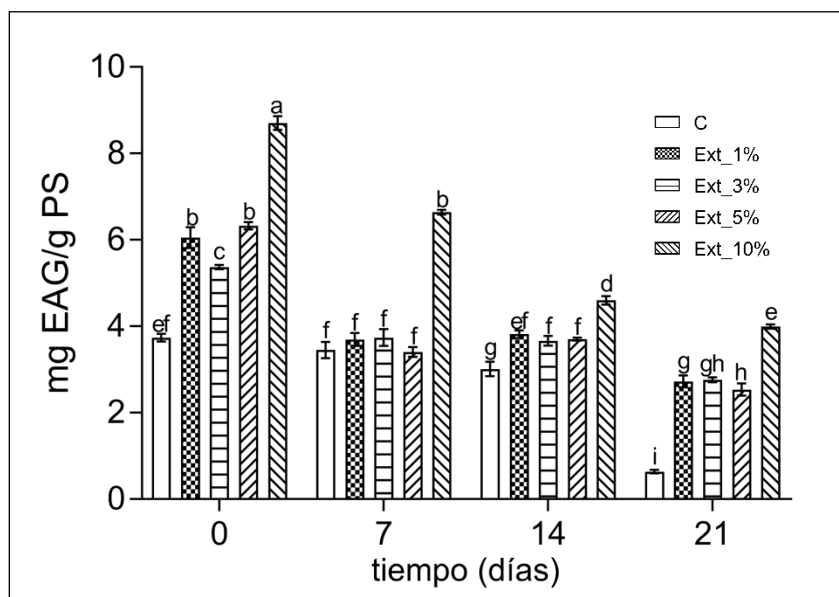


**Figura 21.** Valores de dureza expresado en Newton (N) de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media  $\pm$  desviación estándar (n=3). C: jamón control; Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5%, Ext\_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

#### 7.6.4 Comportamiento en el tiempo del contenido de CFs y actividad antioxidante en los jamones formulados

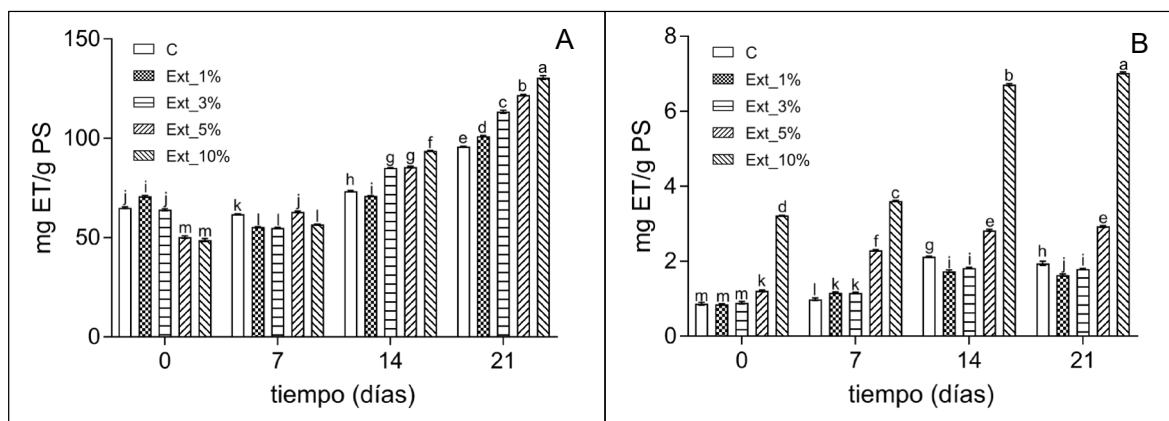
Los cambios en el contenido de CFs de los jamones en un lapso de 21 días se muestran en la Figura 22. Existe una disminución en el contenido de los compuestos en el tiempo para todas las formulaciones, obteniéndose menores niveles en el día 21. El jamón adicionado con 10% del extracto experimentó la mayor disminución, reduciéndose su contenido hasta el 55.17%. Algunos de los jamones como Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5% mantuvieron iguales valores entre los días 7 y 14 del ensayo, pero disminuyeron su valor al concluir el experimento. Por otro lado, al final del experimento el jamón control presentó los menores valores del contenido de CFs, comparado con el resto de las muestras. La disminución de este parámetro se puede asociar a procesos de oxidación de las moléculas antioxidante, lo que es un aspecto positivo, ya que probablemente estén ejerciendo acción

antioxidante sobre compuestos generados por la oxidación de proteínas y grasas o especies reactivas de oxígeno presentes en los jamones. El comportamiento descrito coincide con lo planteado en un estudio realizado por Özer *et al.* (2025), donde indican una disminución del contenido de compuestos fenólicos a partir del séptimo día en muestras de salchichas adicionadas con extractos de flor de granada.



**Figura 22.** Contenido de compuestos fenólicos solubles de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media  $\pm$  desviación estándar (n=3). C: jamón control; Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5%, Ext\_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. mg EAG/g PS: mg equivalentes de ácido gálico/ g peso seco. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Adicionalmente, los resultados de la capacidad antioxidante medida por DPPH (A) y FRAP (B) durante 21 días se muestran en la Figura 23. Los valores encontrados para la capacidad antioxidante por DPPH indican que del día cero al 21 existe un incremento en la capacidad que tienen los antioxidantes de inhibir al radical DPPH. El incremento experimentado se manifiesta en todos los jamones formulados, aunque existe correspondencia entre la cantidad de extracto añadido en las formulaciones y los valores reportados. Un comportamiento similar fue expresado por Manzo *et al.* (2022) al observar un incremento de la capacidad antioxidante en el tiempo al adicionar extractos de cáscara de mango en salchichas de pollo. Lo planteado nos indica entonces que el tiempo de almacenamiento de los jamones bajo condiciones controladas de temperatura mejora sus características antioxidantes.

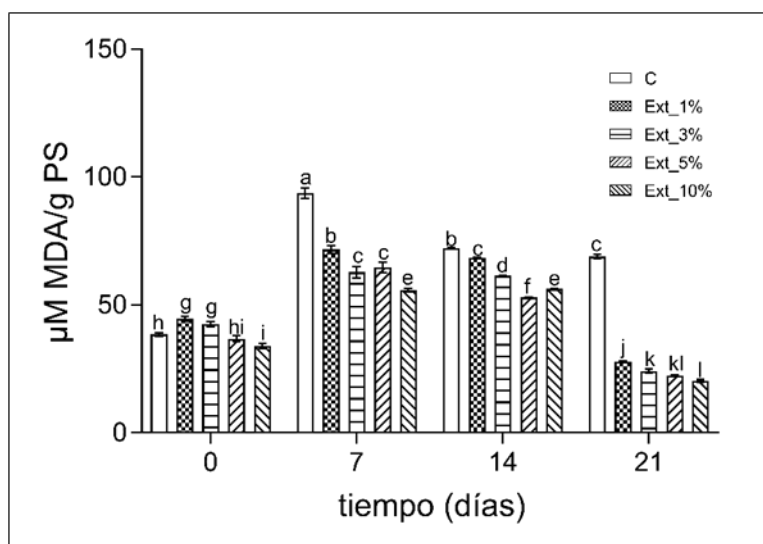


**Figura 23.** Capacidad antioxidante medida por DPPH (A) y FRAP (B) de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media  $\pm$  desviación estándar (n=3). C: jamón control; Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5%, Ext\_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate. mg ET/g PS: mg equivalentes de Trolox/ g peso seco. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Los valores que se obtuvieron para FRAP (Figura 23B) muestran un aumento en la capacidad antioxidante con el transcurso del tiempo. El valor más elevado fue encontrado en el jamón Ext\_10%, con un incremento del 45.86% respecto al día cero, corroborando que la actividad antioxidante en los jamones depende de la cantidad de extracto adicionada en los mismos. Por otro lado, el resto de los jamones experimentaron un incremento gradual pero no tan notable para este parámetro. Algunos autores han reportado que la adición de compuestos con características antioxidantes incrementa los valores de la capacidad antioxidante medida por FRAP (Chernukha *et al.*, 2023). La cantidad estimada de este valor depende de factores como la matriz cárnica a la cual se le adicionaron los antioxidantes, así como a la organización estructural e interacciones entre proteínas y antioxidantes (Echegaray *et al.*, 2021). Además, si se realiza una comparación entre ambos métodos (DPPH y FRAP) se observa que los valores obtenidos para FRAP son menores comparados con DPPH. Anteriormente se había expresado que los compuestos antioxidantes presentan distintos mecanismos para ejercer su acción neutralizando los radicales libres, ya sea por donación de protones  $H^+$  o por transferencia de electrones. De acuerdo con los resultados, se estima que los compuestos fenólicos adicionados en los jamones ejercen su acción antioxidante preferentemente mediante la donación de protones  $H^+$ .

### 7.6.2 Comportamiento en el tiempo del contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en los jamones formulados

La Figura 24 representa el efecto que tiene la adición del extracto optimizado en los jamones sobre la evolución en el tiempo del índice de oxidación lipídica medido por TBARS. Al realizarse una comparación entre los valores iniciales y finales del experimento, el jamón control experimentó un incremento del 78.99%. En cambio, la adición de extracto optimizado en los jamones redujo la formación de productos de oxidación en un 60.45% para Ext\_1%, 66.14% para Ext\_3%, 64.45% para Ext\_5% y 67.05% para Ext\_10%. El comportamiento indica que la adición de 10% de extracto reduce de manera efectiva la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico comparado con el resto de los tratamientos. La disminución de los valores se puede adjudicar al contenido de compuestos fenólicos y a la capacidad que estos poseen para neutralizar la formación de radicales libres, que son los precursores de los procesos de oxidación de las grasas en los productos cárnicos (Fiorucci da Silva *et al.*, 2025). Anteriormente se identificaron distintos compuestos de naturaleza fenólica en el residuo de aguacate, principalmente, derivados del ácido hidroxibenzoico como ácido gálico, derivados de ácido hidroxicinámico como el ácido cafeoilquínico, clorogénico y flavonoides como glucósido de quercetina, taxifolina y quercetina, que pueden actuar inhibiendo los procesos de oxidación lipídica.



**Figura 24.** Concentración de productos finales de oxidación lipídica de los jamones formulados en el tiempo. Valores son la media  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). C: jamón control; Ext\_1%, Ext\_3%, Ext\_5%, Ext\_10%: jamón adicionado con 1, 3, 5 y 10% del extracto optimizado de residuo de aguacate.  $\mu\text{M MDA/g PS}$ : micromoles de malonaldehído/ g peso seco. Literales diferentes representan diferencias ( $p \leq 0.05$ ).

Existe evidencia que refiere que los compuestos fenólicos previenen la oxidación de lípidos al impedir la aparición del radical peroxilo inicial, el cual da lugar al ciclo de propagación. Debido a que los eventos desencadenantes pueden ser de distinta naturaleza, la prevención ocurre mediante distintos mecanismos (Helberg y Pratt, 2021). Por ejemplo, compuestos fenólicos como ácido gálico, cafeoilquínico y clorogénico, encontrados en el presente estudio, son capaces de neutralizar hasta 2 radicales peroxilos mediante la transferencia de los protones  $H^+$  pertenecientes a los grupos -OH. Adicionalmente, los flavonoides como quercetina, identificada en el residuo de aguacate, puede neutralizar una mayor cantidad de radicales peroxilo (Lucarini y Pedulli, 2010). Los arreglos conformacionales que ocurren a nivel intramolecular, posterior a la primera donación del protón hidrógeno, provoca una mayor exposición de los grupos -OH, formación de enlaces hidrógeno intramoleculares y disminución de la energía de enlace, generando que los flavonoides sean más susceptibles a donar un mayor número de protones  $H^+$  (Chatgililoglu *et al.*, 2014). Los resultados de la investigación demuestran que los compuestos identificados en el residuo de aguacate contribuyen a disminuir la formación de radicales libres mediante la neutralización de radicales peroxilo y existe un incremento a medida que la concentración de los compuestos aumenta en los jamones formulados.

La formación de sustancias o compuestos derivados de la peroxidación lipídica es el tipo más importante de daño oxidativo provocado por radicales libres en los productos cárnicos, debido a su acción directa sobre biomoléculas como las proteínas (Foret *et al.*, 2020). Los reportes en la literatura acerca del uso de subproductos o extractos vegetales ricos en antioxidantes en la formulación de productos cárnicos y su impacto sobre la reducción de procesos de oxidación lipídica son muy variados. Los resultados encontrados en el experimento están acordes con lo expresado por Chernukha *et al.* (2023) en el que plantearon que la adición de extractos de residuos de cebolla retardó la formación de productos de oxidación lipídica en muestras de paté de res. De igual manera, se logró retardar los procesos de oxidación lipídica en muestras de salchichas de pollo adicionadas con extractos de cáscara de mango (Manzoor *et al.*, 2022). La adición de los extractos optimizados de residuo de aguacate tiene potencial como antioxidante y retardando la formación de productos de oxidación lipídica. Adicionalmente, su incorporación a las formulaciones le confiere características antioxidantes, altamente apreciadas por los consumidores.

## VIII. CONCLUSIONES

Los residuos del proceso de extracción de aceite de aguacate, particularmente RA-2, poseen un alto potencial como fuente de compuestos bioactivos, especialmente compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales presentan una notable capacidad antioxidante. La retención de estos compuestos en la fase acuosa durante la extracción de aceite permite su posterior aprovechamiento mediante tecnologías como la extracción asistida por microondas, cuya optimización reveló que el uso de etanol a 477.67 W por 3.05 min es eficiente y reproducible. La encapsulación de los extractos utilizando maltodextrina en combinación con grenetina, resultó efectiva, logrando rendimientos de hasta 89.87% y una liberación controlada de compuestos fenólicos, alcanzando el equilibrio después de 20 min. Estos sistemas de liberación podrían tener aplicaciones prometedoras a nivel gastrointestinal, aunque se requieren estudios adicionales para confirmar su comportamiento *in vivo*. Al incorporar los extractos en un jamón horneado artesanal, se observó un incremento en la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos y una alta digestibilidad proteica sin que la matriz cárnica interfiriera significativamente en la disponibilidad de los compuestos bioactivos. Además, la actividad antioxidante de los jamones mejoró, como lo demostró la disminución de productos de oxidación lipídica, especialmente con la adición del 10% de extracto optimizado de residuos de aguacate. No obstante, este nivel de adición afectó negativamente las características sensoriales del producto. Finalmente, aunque el jamón con 10% de extracto mostró el mejor perfil antioxidante, el jamón con 1% fue el más aceptado por los consumidores. Esto destaca la necesidad de equilibrar funcionalidad y aceptación sensorial en el desarrollo de alimentos.

## IX. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

### Publicación de artículo de revisión:

- Approaches to Assess the Functionality of Meat Products Made from the Incorporation of Vegetable By-Products: A Review.

<https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2228001>.

Campos-González, N., Gómez-Salazar, J. A., Cerón-García, A., Lorenzo, J. M., Santos, E. M., Campagnol, P. C. B., & Sosa-Morales, M. E. (2023). Approaches to Assess the Functionality of Meat Products Made from the Incorporation of Vegetable By-Products: A Review. *Food Reviews International*, 40(6), 1678–1702.

<https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2228001>

### Publicación de artículo científico:

- Valorization of avocado (*Persea americana*) residual paste: Microwave-assisted extraction, optimization and addition to an artisanal pork ham.

<https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2333889>

Campos-González, N., Gómez-Salazar, J. A., Cerón-García, A., Ozuna, C., Saldaña-Robles, A., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Sosa-Morales, M. E. (2024). Valorization of avocado (*Persea americana*) residual paste: Microwave-assisted extraction, optimization and addition to an artisanal pork ham. *CyTA - Journal of Food*, 22(1).

<https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2333889>

### Artículos sometidos:

- Ms. No. TPEE-2024-0105R2 240127689. Microwave- and Ultrasound-Assisted Extraction of Biocompounds from Poblano Chilli Waste. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*. Aceptado.
- Manuscript Number: FOOHUM-D-25-00459. Exploring the Antioxidant Potential of Avocado Residues from the Mexican Oil Industry: A Sustainable Approach for future applications. *Food and Humanity*. En primera revisión.
- Manuscript Number: FOOHUM-D-24-00833. Physicochemical and sensory properties of red wines from Guanajuato, Mexico. *Food and Humanity*. En segunda revisión.



- Encapsulated Sacha Inchi Oil in Pork Burgers: Influence on Oxidation Parameters, Technological Properties, and Phenolic Compound Content. Por someter a revisión.

#### **Participación en congresos:**

- 6<sup>to</sup> Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos. *Efecto de la incorporación de sacha inchi en el contenido de compuestos fenólicos y oxidación en hamburguesas de cerdo*. Nuevo Vallarta, Nayarit, Mexico. Noviembre 2023.
- X Congreso Internacional sobre Innovación y Tendencias en Procesamiento de Alimentos. *Cinética de liberación de compuestos fenólicos encapsulados obtenidos de subproductos del procesamiento de aceite de aguacate (Persea americana)*. Guanajuato, Guanajuato, México. Mayo 2024.
- 11<sup>th</sup> International Food Science, Biotechnology and Safety Congress Latin Food 2024. *Exploring the antioxidant potential from residues of Mexican avocado oil industry: A first approach*. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Mexico. Noviembre 2024.
- EFFoST. International Conference. *Avocado Residual Pulp Extract in Enhancing Artisanal Ham: Insights from in vitro Digestion Studies*. Bruges, Belgium. Noviembre 2024.

#### **Codirección de tesis de licenciatura:**

- *Extracción de compuestos bioactivos a partir de residuos de chile poblano asado y chile poblano crudo mediante extracción asistida por microondas y ultrasonido*. 2023. Miguel Eduardo Cardoso Ugarte. Título obtenido: Ingeniero Químico. Universidad Autónoma del Estado de México.
- *Extracción y caracterización de compuestos fenólicos de maíces criollos pigmentados endémicos de Oaxaca*. 2025. María del Carmen González González y Mariana Prieto Castañeda. Título obtenido: Ingeniero en Industrias Alimentarias. Instituto Tecnológico Superior de Abasolo. Tecnológico Nacional de México.

## X. REFERENCIAS

- Ahmad, M., Qureshi, S., Maqsood, S., Gani, A., & Masoodi, F. A. 2017. Micro-encapsulation of folic acid using horse chestnut starch and  $\beta$ -cyclodextrin: Microcapsule characterization, release behavior & antioxidant potential during GI tract conditions. *Food Hydrocolloids*, 66, 154-160. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.012>.
- Akhtar, I., S. Javad, Z. Yousaf, S. Iqbal & K. J. P. j. o. p. s. Jabeen. 2019. Microwave assisted extraction of phytochemicals an efficient and modern approach for botanicals and pharmaceuticals. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science* 32(1): 223-230.
- Alara, O. R., N. H. Abdurahman & C. I. Ukaegbu. 2021. Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science* 4:200-214. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>.
- Almusallam, I. A., I. A. Mohamed Ahmed, E. E. Babiker, F. Y. Al Juhaimi, G. J. Fadimu, M. A. Osman, S. A. Al Maiman, K. Ghafoor & H. A. S. Alqah. 2021. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive properties from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) spikelets using response surface methodology. *LWT*, 140:110816. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110816>.
- Amado, D. A. V., G. A. B. Helmann, A. M. Detoni, S. L. C. d. Carvalho, C. M. d. Aguiar, C. A. Martin, T. S. Tiuman & S. M. J. B. J. o. F. T. Cottica. 2019. Atividades antioxidante e antibacteriana e análise preliminar da toxicidade de diferentes variedades de abacate (*Persea americana* Mill.). 22. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.04418>
- Anandharamakrishnan, C. 2015. Spray drying techniques for food ingredient encapsulation. John Wiley & Sons, Chicago, USA.
- Anderson, R., H. Conway & A. Peplinski. 1970. Gelatinization of corn grits by roll cooking, extrusion cooking and steaming. *Starch-Stärke*, 22(4):130-135. doi: <https://doi.org/10.1002/star.19700220408>.
- Angelino, D., M. Cossu, A. Marti, M. Zanoletti, L. Chiavaroli, F. Brighenti, D. Del Rio & D. J. F. Martini. 2017. Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in bread: A review. *Food and Function*, 8(7):2368-2393.
- Angiolillo, L., M. A. Del Nobile & A. Conte. 2015. The extraction of bioactive compounds from food residues using microwaves. *Current Opinion in Food Science* 5:5. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.10.001>.
- Araújo, R. G., R. M. Rodriguez-Jasso, H. A. Ruiz, M. M. E. Pintado & C. N. Aguilar. 2018. Avocado by-products: Nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology* 80:51-60. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.027>.
- Ashton, O. B., M. Wong, T. K. McGhie, R. Vather, Y. Wang, C. Requejo-Jackman, P. Ramankutty, A. B. J. J. o. A. Woolf & F. Chemistry. 2006. Pigments in avocado tissue and oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26):10151-10158. doi: <https://doi.org/10.1021/jf061809j>.
- Athaydes, B. R., G. M. Alves, A. L. E. M. de Assis, J. V. D. Gomes, R. P. Rodrigues, B. P. Campagnaro, B. V. Nogueira, D. Silveira, R. M. Kuster & T. M. C. Pereira. 2019. Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Food Research International*, 119:751-760. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.057>.

- Badar, I. H. Li, Y. Chen, Q. Liu & B. Kong. 2023. Effect of vegetable oil hydrogel emulsion as a fat substitute on the physicochemical properties, fatty acid profile, and color stability of modified atmospheric packaged buffalo burgers. *Meat Science*, 199, 109143. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2023.109143>
- Badhani, B., N. Sharma & R. Kakkar. 2015. Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Advances*, 5(35):27540-27557.
- Balmus, I. M., A. Ciobica, A. Trifan & C. Stanciu. 2016. The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in inflammatory bowel disease: clinical aspects and animal models. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 22(1):14. Doi: <https://doi.org/10.4103/1319-3767.173753>.
- Barroso, C., M. Rostagno, P. d JM & M. Meireles. 2013. Extraction of natural products: Principles and fundamental aspects. In: M. ROSTAGNO y J. PRADO, editors, Natural Product Extraction: Principles and Applications No. 1. RSC Publishing, Cambridge, UK. p. 58 - 82. <https://doi.org/10.1039/9781849737579-00058>
- Benzie, I. F. & J. J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239(1):70-76. Doi: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- Bhandari, B. R., Datta, N., & Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. *Drying technology*, 15(2), 671-684. <https://doi.org/10.1080/07373939708917253>
- Blancas-Benítez, F. J., E. Montalvo-González, G.A. González-Aguilar & S. G Sáyago-Ayerdi. 2019. Bioaccesibilidad y cinética de liberación *in vitro* de compuestos fenólicos en pulpas de guayaba (*Psidium guajava* L.) y guanábana (*Annona muricata* L.). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 22(1), 1-7.
- Blancas-Benitez, F. J., J. Pérez-Jiménez, E. Montalvo-González, G.A. González-Aguilar & S. G Sáyago-Ayerdi. 2018. *In vitro* evaluation of the kinetics of the release of phenolic compounds from guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *Journal of Functional Foods*, 43, 139-145. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.011>
- Blancas-Benitez, F. J., J. Pérez-Jiménez, E. Montalvo-González, G. A. González-Aguilar & S. G. Sáyago-Ayerdi. 2018. *In vitro* evaluation of the kinetics of the release of phenolic compounds from guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *Journal of Functional Foods*, 43:139-145. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.011>.
- Blancas-Benítez, F. J., Zamora-Gasga, V. M., Tovar, J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. 2024. Gastrointestinal digestion and colonic fermentation: Beyond classic food science. In *Health-Promoting Food Ingredients during Processing* (pp. 157–174). CRC Press. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781003332558-11/gastrointestinal-digestion-colonic-fermentation-francisco-blancas-ben%C3%ADtez-v%C3%ADctor-zamora-gasga-juscelino-tovar-sonia-s%C3%A1yago-ayerdi>
- Borah, M. S., Tiwari, A., Sridhar, K., Narsaiah, K., Nayak, P. K., & Stephen Inbaraj, B. 2023. Recent trends in valorization of food industry waste and by-products: Encapsulation and *in vitro* release of bioactive compounds. *Foods*, 12(20), 3823. <https://doi.org/10.3390/foods12203823>
- Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier & C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1):25-30. doi: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

- Brodkorb, A., L. Egger, M. Alminger, P. Alvito, R. Assunção, S. Ballance, T. Bohn, C. Bourlieu-Lacanal, R. Boutrou, F. Carrière, A. Clemente, M. Corredig, D. Dupont, D. Dufour, C. Edwards, M. Golding, S. Karakaya, B. Kirkhus, S. Le Feunteun,...I. Recio. 2019. INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991-1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Campos-Gonzalez, N. 2019. Aplicación de Ultrasonido para aumentar la concentración de compuestos bioactivos en una bebida funcional de mango, zanahoria y cúrcuma, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), México.
- Carboni Martins, C., Rodrigues, R. C., Domeneghini Mercali, G., & Rodrigues, E. 2022. New insights into non-extractable phenolic compounds analysis. *Food Research International*, 157, 111487. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111487>
- Cárdenas-Castro, A. P., Á. Fernández-Ochoa, M. d. I. L. Cádiz-Gurrea, A. Segura Carretero & S. G. Sáyo-Ayerdi. 2021. Bioactive Phytochemicals from Avocado Oil Processing by-Products, Bioactive Phytochemicals from Vegetable Oil and Oilseed Processing By-products. Springer. p. 1-28. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-91381-6\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-030-91381-6_18)
- Cárdenas-Castro, A. P., Á. Fernández-Ochoa, M. d. I. L. Cádiz-Gurrea, A. Segura Carretero & S. G. Sáyo-Ayerdi. 2023. Bioactive Phytochemicals from Avocado Oil Processing By-Products. In M. F. Ramadan Hassanien (Ed.), *Bioactive Phytochemicals from Vegetable Oil and Oilseed Processing By-products* (pp. 403-430). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-91381-6\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-030-91381-6_18)
- Cárdenas-Castro, A. P., J. Pérez-Jiménez, L. A. Bello-Pérez, J. Tovar & S. G. Sáyo-Ayerdi. 2020. Bioaccessibility of phenolic compounds in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) after *in vitro* gastrointestinal digestion: A comparison of two cooking procedures. *Cereal Chemistry*, 97(3):670-680. doi: <https://doi.org/10.1002/cche.10283>.
- Carne, C. M. d. I. 2018. Compendio Estadístico. <https://comecarne.org/estadisticas/> (Accessed 23/10/2021 2021).
- Cassol, L., E. Rodrigues & C. P. Zapata Noreña. 2019. Extracting phenolic compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. calyx using microwave assisted extraction. *Industrial Crops and Products*, 133:168-177. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.023>.
- Castaldo, L., S. Lombardi, A. Gaspari, M. Rubino, L. Izzo, A. Narváez, A. Ritieni & M. Grosso. 2021. *In Vitro* Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Polyphenolic Compounds from Spent Coffee Grounds-Enriched Cookies. *Foods*, 10(8):1837. doi: <https://doi.org/10.3390/foods10081837>.
- Chatgililoglu, C., C. Ferreri, M. Melchiorre, A. Sansone & A. Torreggiani. 2014. Lipid geometrical isomerism: from chemistry to biology and diagnostics. *Chemical Reviews*, 114(1), 255-284.
- Chemat, F. J. C. E. O. F., Fragrance & M. Sawamura, Ed. 2011. Techniques for oil extraction. 9-20.
- Chemat, F., N. Rombaut, A.-G. Sicaire, A. Meullemiestre, A.-S. Fabiano-Tixier & M. Abert-Vian. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34:540-560. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>.
- Chen, J., Gao, Q., Zhang, X., Bassey, A. P., Zeng, X., Zhou, G., & Xu, X. 2023. A structural explanation for protein digestibility changes in different food matrices. *Food Hydrocolloids*, 136, 108281. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108281>

- Chernukha, I., N. Kupaeva, D. Khvostov, Y. Bogdanova, J. Smirnova, & E. Kotenkova. 2023. Assessment of Antioxidant Stability of Meat Pâté with *Allium cepa* Husk Extract. *Antioxidants*, 12(5), 1103. <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/5/1103>
- Cilek, B., A. Luca, V. Hasirci, S. Sahin, G. J. E. F. R. Sumnu & Technology. 2012. Microencapsulation of phenolic compounds extracted from sour cherry pomace: effect of formulation, ultrasonication time and core to coating ratio. *European Food Research and Technology*, 235(4):587-596. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1786-8>.
- Cofrades, S., J. Benedí, A. Garcimartin, F. Sánchez-Muniz & F. Jimenez-Colmenero. 2017. A comprehensive approach to formulation of seaweed-enriched meat products: From technological development to assessment of healthy properties. *Food Research International*, 99:1084-1094. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.029>.
- Cong, J., J. Cui, H. Zhang, C. S. Dzah, Y. He & Y. J. F. R. I. Duan. 2020. Binding affinity, antioxidative capacity and in vitro digestion of complexes of grape seed procyanidins and pork, chicken and fish protein. *Food Research International*, 136:109530. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109530>.
- Dahmoune, F., B. Nayak, K. Moussi, H. Remini & K. J. F. c. Madani. 2015. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chemistry*, 166:585-595. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.066>.
- Dal-Bó, V. & J. T. Freire. 2022. Effects of lyophilization on colorimetric indices, phenolics content, and antioxidant activity of avocado (*Persea americana*) pulp. *Food Control*, 132:108526. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108526>.
- Dalle Mulle Santos, C., C. H. Pagno, T. M. Haas Costa, D. Jung Luvizetto Faccin, S. Hickmann Flôres & N. S. Medeiros Cardozo. 2016. Biobased polymer films from avocado oil extraction residue: Production and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(37):9. doi: <https://doi.org/10.1002/app.43957>.
- Dantas, D., M. A. Pasquali, M. Cavalcanti-Mata, M. E. Duarte & H. M. Lisboa. 2018. Influence of spray drying conditions on the properties of avocado powder drink. *Food Chemistry*, 266:284-291. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.016>.
- Das, A. K., P. K. Nanda, P. Madane, S. Biswas, A. Das, W. Zhang & J. M. Lorenzo. 2020. A comprehensive review on antioxidant dietary fibre enriched meat-based functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 99:323-336. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.010>.
- Davey, M. W., E. Stals, B. Panis, J. Keulemans & R. L. Swennen. 2005. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Analytical Biochemistry*, 347(2):201-207. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2005.09.041>.
- de Araújo, J. S. F., de Souza, E. L., Oliveira, J. R., Gomes, A. C. A., Kotzebue, L. R. V., da Silva Agostini, D. L., ... & Cavalcanti, M. T. (2020). Microencapsulation of sweet orange essential oil (*Citrus aurantium* var. *dulcis*) by liophylization using maltodextrin and maltodextrin/gelatin mixtures: Preparation, characterization, antimicrobial and antioxidant activities. *International journal of biological macromolecules*, 143, 991-999. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.160>.
- Deng, S., Y. Han, T. Gao, K. Ye & J. Liu. 2021. Effect of temperature fluctuation during frozen storage on beef quality. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), e15043.
- Dhobi, M., V. Mandal & S. Hemalatha. 2009. Optimization of microwave assisted extraction of bioactive flavonolignan-silybinin. *Journal of Chemical Metrology*, 3(1):11.



- Di Stefano, V., Avellone, G., Bongiorno, D., Indelicato, S., Massenti, R., & Lo Bianco, R. (2017). Quantitative evaluation of the phenolic profile in fruits of six avocado (*Persea americana*) cultivars by ultra-high-performance liquid chromatography-heated electrospray-mass spectrometry. *International Journal of Food Properties*, 20(6), 1302-1312. Doi: <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1208225>.
- Domingues, Y. O., G.A. Lemes, F.L. de Oliveira, T.R. de Souza, B. Silva, J.A.C. Bento & M. Caldeira Morzelle. 2024. *In vitro* simulated gastrointestinal digestion and bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidants of soursop (*Annona muricata* L.) peel and pulp. *LWT*, 208, 116694. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116694>
- Durán-Castañeda, A. C., A.P. Cardenas-Castro, J. Pérez-Jiménez, A.M. Pérez-Carvajal, J.A. Sánchez-Burgos, R. Mateos & S.G. Sáyago-Ayerdi. 2023. Bioaccessibility of phenolic compounds in *Psidium guajava* L. varieties and *P. friedrichsthalianum* Nied. after gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 400, 134046. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134046>
- Dutra, M. P., G. P. Cardoso, E. M. Ramos, A. d. L. S. Ramos, A. C. M. Pinheiro & P. R. Fontes. 2012. Technological and sensory quality of restructured low-fat cooked ham containing liquid whey. *Ciência e Agrotecnologia*, 36:86-92. doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542012000100011>.
- Ecchegaray, N., M. Pateiro, P.E.S. Munekata, J.M. Lorenzo, Z. Chabani, M. A. Farag & R. Domínguez. 2021. Measurement of Antioxidant Capacity of Meat and Meat Products: Methods and Applications. *Molecules*, 26(13), 3880. <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/13/3880>
- Elez Garofulić, I., Z. Zorić, S. Pedisić & V. Dragović-Uzelac. 2017. Retention of polyphenols in encapsulated sour cherry juice in dependence of drying temperature and wall material. *LWT - Food Science and Technology*, 83:110-117. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.017>.
- Elkelish, A., S. H. Qari, Y. S. Mazrou, K. A. Abdelaal, Y. M. Hafez, A. M. Abu-Elsaoud, G. E.-S. Batiha, M. A. El-Esawi & N. El Nahhas. 2020. Exogenous ascorbic acid induced chilling tolerance in tomato plants through modulating metabolism, osmolytes, antioxidants, and transcriptional regulation of catalase and heat shock proteins. *Plants*, 9(4):21. doi: <https://doi.org/10.3390/plants9040431>.
- Embuscado, M. E. 2015. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants—a mini review. *Journal of Functional Foods*, 18:811-819. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.005>.
- Emilia, S., R. D. Yetti, R. J. G. I. J. o. H. S. Asra & Research. 2020. Development and Analysis of Analytical Methods for Determination of Catechins and Quercetin in Natural Products: A Review. *Galore International Journal of Health Sciences and Research*, 5(3):38-46.
- Estévez-Moreno, L. X., G. A. María, W. S. Sepúlveda, M. Villarroel & G. C. Miranda-de la Lama. 2021. Attitudes of meat consumers in Mexico and Spain about farm animal welfare: A cross-cultural study. *Meat Science*, 173:108377. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108377>.
- Euromonitor. 2019. Meat and Meat Products in Mexico. <https://www.euromonitor.com/meat-and-meat-products-in-mexico/report> (Accessed 23/10/2021 2021).

- Fadimu, G. J., K. Ghafoor, E. E. Babiker, F. Al-Juhaimi, R. A. Abdulraheem, M. K. J. J. o. F. M. Adenekan & Characterization. 2020. Ultrasound-assisted process for optimal recovery of phenolic compounds from watermelon (*Citrullus lanatus*) seed and peel. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14:1784-1793. doi: <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00426-z>.
- FAO/OMS. 2019. Comisión del Codex Alimentarius: NORMA PARA EL JAMÓN CURADO COCIDO, CXS 96-1981. In: FAO (ed.), Roma.
- Farmer, E. E. & M. J. Mueller. 2013. ROS-Mediated Lipid Peroxidation and RES-Activated Signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 64(1):429-450.
- Fazaeli, M., Z. Emam-Djomeh, A. K. Ashtari, M. J. F. Omid & b. processing. 2012. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and bioproducts processing*, 90(4):667-675. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.04.006>.
- Fernández, J., E. Ledesma, J. Monte, E. Millán, P. Costa, V. G. de la Fuente, M. T. F. García, P. Martínez-Camblor, C. J. Villar & F. Lombó. 2019. Traditional Processed Meat Products Re-designed Towards Inulin-rich Functional Foods Reduce Polyps in Two Colorectal Cancer Animal Models. *Scientific Reports*, 9(1):17. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51437-w>.
- Fernández-Ginés, J., J. Fernández-López, E. Sayas-Barberá, E. Sendra & J. Pérez-Alvarez. 2003. Effect of storage conditions on quality characteristics of bologna sausages made with citrus fiber. *Journal of Food Science*, 68(2):710-714. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05737.x>.
- Fernández-Marín, R., S. C. M. Fernandes, M. A. Andrés & J. Labidi. 2021. Microwave-assisted extraction of *Curcuma longa* l. Oil: Optimization, chemical structure and composition, antioxidant activity and comparison with conventional soxhlet extraction. *Molecules*, 26(6):1516. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26061516>.
- Figueroa, J. G., I. Borrás-Linares, J. Lozano-Sánchez & A. Segura-Carretero. 2018. Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS. *Food Research International*, 105, 752-763. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.082>
- Figueroa, J. G., I. Borrás-Linares, J. Lozano-Sánchez, R. Quirantes-Piné & A. J. E. Segura-Carretero. 2018. Optimization of drying process and pressurized liquid extraction for recovery of bioactive compounds from avocado peel by-product. *Electrophoresis*, 39(15):1908-1916. doi: <https://doi.org/10.1002/elps.201700379>.
- Figura, L. O. & A. A. Teixeira. 2023. Water activity, Food Physics: Physical Properties-Measurement and Applications. Springer. p. 1-57.
- Fiorucci da Silva, T., F.A.R Cardoso, N.L. H. Brito, S.G. Trelha, S.C. Casarin, L.L.M Marques & A.A Droval. 2025. Evaluation of pitomba extract as a natural antioxidant in fresh sausages: Effects on physicochemical properties and lipid oxidation. *Journal of Agriculture and Food Research*, 19, 101697. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101697>
- Fiszman, S. & P. Varela. 2013. The satiating mechanisms of major food constituents – An aid to rational food design. *Trends in Food Science & Technology*, 32(1):43-50. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.006>.

- Foret, M. K., R. Lincoln, S. Do Carmo, A.C. Cuello & G. Cosa. 2020. Connecting the “dots”: from free radical lipid autoxidation to cell pathology and disease. *Chemical Reviews*, 120(23), 12757-12787.
- Galan, A.-M., I. Calinescu, A. Trifan, C. Winkworth-Smith, M. Calvo-Carrascal, C. Dodds, E. J. C. E. Binner & P. P. Intensification. 2017. New insights into the role of selective and volumetric heating during microwave extraction: Investigation of the extraction of polyphenolic compounds from sea buckthorn leaves using microwave-assisted extraction and conventional solvent extraction. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 116:29-39. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2017.03.006>.
- García-Alonso, A., Alvarado López, A. N., & Redondo-Cuenca, A. 2024. Effect of high hydrostatic pressure and thermal treatment on polyphenolic compounds and the antioxidant capacity of *Phaseolus coccineus* L. *Cereal Chemistry*, 101(4), 750–758. <https://doi.org/10.1002/cche.10776>
- García-García, A. B., M. E. Fernández-Valle, D. Castejón, R. Escudero & M. I. Cambero. 2019. Use of MRI as a predictive tool for physicochemical and rheological features during cured ham manufacturing. *Meat Science*, 148:171-180. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.015>.
- Georgantelis, D., G. Blekas, P. Katikou, I. Ambrosiadis & D. J. Fletouris. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, 75(2):256-264. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.07.018>.
- Gonzales, C. M. 2024. *Microencapsulation of bioactive compounds from avocado oil residues* Universidade de São Paulo].
- Granato, D., F. J. Barba, D. Bursać Kovačević, J. M. Lorenzo, A. G. Cruz & P. Putnik. 2020. Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11:93-118.
- Grisales-Mejía, J. F., V. Cedeño-Fierro, J.P. Ortega, H.G. Torres-Castañeda, M.M. Andrade-Mahecha, H.A. Martínez-Correa, G. Álvarez-Rivera, J.A. Mendiola, A. Cifuentes & E. Ibañez. 2024. Advanced NADES-based extraction processes for the recovery of phenolic compounds from Hass avocado residues: A sustainable valorization strategy. *Separation and Purification Technology*, 351, 128104. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.seppur.2024.128104>
- Gullón, P., G. Astray, B. Gullón, D. Franco, P. C. B. Campagnol & J. M. Lorenzo. 2021. Inclusion of seaweeds as healthy approach to formulate new low-salt meat products. *Current Opinion in Food Science*, 40:20-25. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.05.005>.
- Gwak, S. H., S.M. Bae & J.Y. Jeong. 2024. Evaluating the Potential of Vegetable Powders as Nitrite Replacements in Cured Pork Sausages: Effects of Different Processing Methods to Produce Chinese Cabbage and Radish Powders. *Food Science of Animal Resources*, 44(5), 1028-1039. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2024.e34>
- Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D., & Hagerman, A. E. 2002. Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 1785–1790. <https://doi.org/10.1021/jf0111155>
- Helal, A. & D. Tagliazucchi. 2018. Impact of in-vitro gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred



- cinnamon-fortified yogurt. *LWT*, 89:164-170. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.047>.
- Helberg, J. & D.A. Pratt. 2021. Autoxidation vs. antioxidants—the fight for forever. *Chemical Society Reviews*, 50(13), 7343-7358.
- Honikel, K.-O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78(1-2):68-76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.05.030>.
- Huang, L., X. Zeng, Z. Sun, A. Wu, J. He, Y. Dang & D. Pan. 2020. Production of a safe cured meat with low residual nitrite using nitrite substitutes. *Meat Science*, 162:108027. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108027>.
- IEC, I. E. C. 1999. IEC publication 60705:1999. Household Microwave Ovens- Methods for Measuring Performance. In: I. E. Commission (ed.), Génova
- Jafari, S. M., M. Ghalegi Ghalenoei & D. Dehnad. 2017. Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. *Powder Technology*, 311:59-65. doi: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2017.01.070>.
- Juarez, C. 2020. Los embutidos más consumidos en México. [https://thefoodtech.com/tendencias-de-consumo/los-embutidos-mas-consumidos-en-mexico/#:~:text=El%20jam%C3%B3n%20y%20la%20salchicha,de%20Establecimientos%20TIF%20\(ANETIF\)](https://thefoodtech.com/tendencias-de-consumo/los-embutidos-mas-consumidos-en-mexico/#:~:text=El%20jam%C3%B3n%20y%20la%20salchicha,de%20Establecimientos%20TIF%20(ANETIF)). (Accessed 08/12/2023).
- Kaderides, K., L. Papaoikonomou, M. Serafim & A. M. Goula. 2019. Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 137:1-11. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.01.006>.
- Kanner, J., J. Selhub, A. Shpaizer, B. Rabkin, I. Shacham & O. Tirosh. 2017. Redox homeostasis in stomach medium by foods: The Postprandial Oxidative Stress Index (POSI) for balancing nutrition and human health. *Redox Biology*, 12:929-936. doi: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.04.029>.
- Kardum, N., A. Konic Ristic, M. Zec, M. Kojadinovic, G. Petrovic-Oggiano, M. Zekovic, P. A. Kroon & M. Glibetić. 2017. Design, formulation and sensory evaluation of a polyphenol-rich food placebo: An example of aronia juice for food intervention studies. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(6):742-749. doi: <https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1283682>.
- Kausar, T., M. A. Kausar, S. Khan, S. Haque & Z. Azad. 2021. Optimum additive composition to minimize fat in functional goat meat nuggets: A healthy red meat functional food. *Processes*, 9(3):475. doi: <https://doi.org/10.3390/pr9030475>.
- Khajavi, M. Z., K. Abhari, F. Barzegar & H. Hosseini. 2020. Functional Meat Products: The New Consumer's Demand. *Current Nutrition & Food Science*, 16(3):260-267. doi: <https://doi.org/10.2174/1573401315666190227161051>
- Khanam, U. K. S., S. Oba, E. Yanase & Y. Murakami. 2012. Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4(4):979-987. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.07.006>
- Kim, H. S. & S. J. Hur. 2018. Effects of in vitro human digestion on the antioxidant activity and stability of lycopene and phenolic compounds in pork patties containing dried tomato prepared at different temperatures. *Journal of Food Science*, 83(7):1816-1822. doi: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14205>

- King-Brink, M. & J. Sebranek. 1993. Combustion method for determination of crude protein in meat and meat products: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 76(4):787-793.
- Kroehnke, J., J. Szadzińska, M. Stasiak, E. Radziejewska-Kubzdela, R. Biegańska-Marecik & G. Musielak. 2018. Ultrasound- and microwave-assisted convective drying of carrots – Process kinetics and product's quality analysis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48:249-258. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.040>
- Lai, W.-F. & F. S. Wong. 2022. Design and optimization of quercetin-based functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62 (26)1-17. doi: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1913569>
- Lee, S.-J., S. Y. Lee, M.-S. Chung & S. J. Hur. 2016. Development of novel in vitro human digestion systems for screening the bioavailability and digestibility of foods. *Journal of Functional Foods*, 22:113-121. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.01.005>
- Leopoldini, M., T. Marino, N. Russo & M. Toscano. 2004. Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism. *The Journal of Physical Chemistry A*, 108(22):4916-4922. Doi: <https://doi.org/10.1021/jp037247d>
- Li, Y., A. S. Fabiano-Tixier, M. A. Vian & F. Chemat. 2013. Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 47:1-11. doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.02.007>
- Li, Y., J.-J. Zhang, D.-P. Xu, T. Zhou, Y. Zhou, S. Li & H.-B. Li. 2016. Bioactivities and health benefits of wild fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8):1258- 1285. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms17081258>
- Ling, B., Tang, J., Kong, F., Mitcham, E. J., & Wang, S. 2015. Kinetics of food quality changes during thermal processing: a review. *Food and bioprocess technology*, 8, 343-358. doi: <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1398-3>
- Liu, J., X. Li, R. Jing, X. Huang, F. Geng, Z. Luo, P. Shang, Z. Liu & Q. Huang. 2024. Effect of prolonged cooking at low temperatures on the eating quality of Tibetan pork: meat quality, water distribution, and microstructure. *Food Quality and Safety*, 8. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyae025>
- Liu, L., Y. Li, Y. Xiong & D. Cavallucci. 2020. A new function-based patent knowledge retrieval tool for conceptual design of innovative products. *Computers in Industry*, 115:103- 154. doi: <https://doi.org/10.1016/j.compind.2019.103154>
- Llauradó Maury, G., D. Méndez Rodríguez, S. Hendrix, J. C. Escalona Arranz, Y. Fung Boix, A. O. Pacheco, J. García Díaz, H. J. Morris-Quevedo, A. Ferrer Dubois & E. I. Aleman. 2020. Antioxidants in plants: A valorization potential emphasizing the need for the conservation of plant biodiversity in Cuba. *Antioxidants*, 9(11):1048- 1084. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox9111048>
- López-Cobo, A., A. M. Gómez-Caravaca, F. Pasini, M. F. Caboni, A. Segura-Carretero & A. J. L. Fernández-Gutiérrez. 2016. HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part and by-products of avocado. *LWT*, 73:505-513. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.049>
- Lopez-Vega, L. A., J. M. Gil-Cortez, M. A. Sierra-Sarmiento & J. D. Hoyos-Leyva. 2021. Hass avocado oil extraction: In the way of malaxation process optimization. *LWT*, 152:112312. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112312>

- Lucarini, M. & G.F. Pedulli. 2010. Free radical intermediates in the inhibition of the autoxidation reaction. *Chemical Society Reviews*, 39(6), 2106-2119.
- Lucas-González, R., Díez-Riquelme, V., Viuda-Martos, M., Pérez-Álvarez, J. Á., Sánchez-Zapata, E., & Fernández-López, J. 2023. Effect of the food matrix on the (poly)phenol stability of different plant-based meat products and their main ingredients after in vitro gastrointestinal digestion. *Food & Function*, 14(24), 10796–10813. doi: <https://doi.org/10.1039/D3FO03265E>
- Luginbuhl, K. M., Schaal, J. L., Umstead, B., Mastria, E. M., Li, X., Banskota, S., Arnold, S., Feinglos, M., D'Alessio, D., & Chilkoti, A. 2017. One-week glucose control via zero-order release kinetics from an injectable depot of glucagon-like peptide-1 fused to a thermosensitive biopolymer. *Nature Biomedical Engineering*, 1(6), 0078. doi: <https://doi.org/10.1038/s41551-017-0078>
- Luna-Guevara, J. J., C. E. Ochoa-Velasco, P. Hernández-Carranza & J. A. Guerrero-Beltrán. 2017. Microencapsulation of walnut, peanut and pecan oils by spray drying. *Food Structure*, 12:26-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2017.04.001>
- Luo, X., M. Tian, Y. Cheng, C. Ji, S. Hu, H. Liu, J. Lu & J. Ren. 2022. Effects of simulated *in vitro* gastrointestinal digestion on antioxidant activities and potential bioaccessibility of phenolic compounds from *K. coccinea* fruits. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1024651. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1024651>
- Maftoonazad, N., M. R. Dehghani & H. S. J. D. t. Ramaswamy. 2020. Hybrid microwave-hot air tunnel drying of onion slices: Drying kinetics, energy efficiency, product rehydration, color, and flavor characteristics. *Drying Technology*, 1-21. doi: <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1841790>
- Malacrida, C. R., S. Ferreira & V. R. J. A. S. T. Nicoletti. 2022. Turmeric oleoresin encapsulated by spray drying in maltodextrin/gelatin and starch/gelatin blends: storage stability and water sorption. *Acta Scientiarum. Technology*, 44:e56950-e56950.
- Mancini, S., G. Preziuso, A. Dal Bosco, V. Roscini, Z. Szendrő, F. Fratini & G. Paci. 2015. Effect of turmeric powder (*Curcuma longa* L.) and ascorbic acid on physical characteristics and oxidative status of fresh and stored rabbit burgers. *Meat Science*, 110:93-100. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.07.005>
- Manessis, G., A. I. Kalogianni, T. Lazou, M. Moschovas, I. Bossis & A. I. Gelasakis. 2020. Plant-derived natural antioxidants in meat and meat products. *Antioxidants*, 9(12):1215. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox9121215>
- Manzoor, A., S. Ahmad & B. Yousuf. 2022. Effect of bioactive-rich mango peel extract on physicochemical, antioxidant and functional characteristics of chicken sausage. *Applied Food Research*, 2(2), 100183. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100183>
- Martić, N., J. Zahorec, N. Stilinović, B. Andrejić-Višnjić, B. Pavlić, N. Kladar, D. Šoronja-Simović, Z. Šereš, M. Vujčić & O. J. P. Horvat. 2022. Hepatoprotective effect of carob pulp flour (*Ceratonia siliqua* L.) extract obtained by optimized microwave-assisted extraction. *Pharmaceutics*, 14(3):657. doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030657>
- Martínez-Olivo, A. O., Zamora-Gasga, V. M., Medina-Torres, L., Pérez-Larios, A., & Sánchez-Burgos, J. A. 2023. Formulation of double emulsions of mango seed extract (*Mangifera indica* L.) 'Ataulfo' incorporated into a mango by-product flour drink:

- Release kinetics, antioxidant capacity, and inhibition of cyclooxygenases. *Food Hydrocolloids for Health*, 3, 100120. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2023.100120>
- Melgar, B., M. I. Dias, A. Ciric, M. Sokovic, E. M. Garcia-Castello, A. D. Rodriguez-Lopez, L. Barros & I. C. Ferreira. 2018. Bioactive characterization of *Persea americana* Mill. by-products: A rich source of inherent antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 111:212-218. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.024>
- Melini, V., F. Melini, F. Luziatelli & M. Ruzzi. 2020. Functional Ingredients from Agri-Food Waste: Effect of Inclusion Thereof on Phenolic Compound Content and Bioaccessibility in Bakery Products. *Antioxidants*, 9(12):1216. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox9121216>
- Mercado-Mercado, G., E. Montalvo-González, G. A. González-Aguilar, E. Alvarez-Parrilla & S. G. Sáyago-Ayerdi. 2018. Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from mango (*Mangifera indica* L. 'Ataulfo') by-products on in vitro bioaccessibility. *Food Bioscience*, 21:125-131. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.012>
- Montowska, M. & E. Fornal. 2017. Label-free quantification of meat proteins for evaluation of species composition of processed meat products. *Food Chemistry*, 237:1092-1100. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.059>
- Moreira, M. M., M. F. Barroso, J. V. Porto, M. J. Ramalhosa, J. Švarc-Gajić, L. Estevinho, S. Morais & C. Delerue-Matos. 2018. Potential of Portuguese vine shoot wastes as natural resources of bioactive compounds. *Science of The Total Environment*, 634:831-842. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.035>
- Mrkonjić, Ž., D. Rakić, A. Takači, M. Kaplan, N. Teslić, Z. Zeković, I. Lazarević & B. J. F. Pavlić. 2022. Polyphenols Recovery from *Thymus serpyllum* Industrial Waste Using Microwave-Assisted Extraction—Comparative RSM and ANN Approach for Process Optimization. *Foods*, 11(9):1184. doi: <https://doi.org/10.3390/foods11091184>
- Nascimento, N. P. d., Í. G. A. Vinhal-Borges, J.S. de Castro, C.P. d. Nascimento, L.A. Bitu, P.H.M. de Sousa & E.M.C. da Silva. 2024. Enhancing the quality and antioxidant properties of beef burgers with dried *Hibiscus sabdariffa* L. leaves: Characterization and sensory evaluation. *Food Bioscience*, 57, 103568. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103568>
- Navidad-Murrieta, M. S., A. Pérez-Larios, J. A. Sánchez-Burgos, J. A. Ragazzo-Sánchez, G. Luna-Bárcenas & S. G. Sáyago-Ayerdi. 2020. Use of a Taguchi Design in *Hibiscus sabdariffa* Extracts Encapsulated by Spray-Drying. *Foods*, 9(2):128. doi: <https://doi.org/10.3390/foods9020128>
- Nissen, L. R., D. V. Byrne, G. Bertelsen & L. H. Skibsted. 2004. The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. *Meat Science*, 68(3):485-495. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.05.004>
- NMX-F-545-2002. 2002. Método de prueba para extracción de materia grasa (Método Soxhlet) en alimentos cárnicos. In: S. d. E. G. d. México (ed.).
- Oliveira, C. A., A. A. Massingue, A. P. R. Moura, P. R. Fontes, A. L. Ramos & E. M. Ramos. 2018. Restructured low-fat cooked ham containing liquid whey fortified with lactulose. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(2):807-816. doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8529>
- Orlien, V., Aalaei, K., Poojary, M. M., Nielsen, D. S., Ahrné, L., & Carrascal, J. R. 2023. Effect of processing on *in vitro* digestibility (IVPD) of food proteins. *Critical Reviews*

- in *Food Science and Nutrition*, 63(16), 2790–2839. Doi:<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1980763>
- Özer, C. O., G.B. Var, E. Demir Özer & B. Kiliç. 2025. Effects of Pomegranate Flower Extracts on Antioxidant Properties, Phenolic Content, and Quality Attributes of Nitrite Reduced Chicken Sausages. *Animal Science Journal*, 96(1), e70039. <https://doi.org/10.1111/asj.70039>
- Ozuna, C., S. Mulík, B. Valdez-Rodríguez, M. d. R. Abraham-Juárez & C. L. Fernández-López. 2020. The effect of organic farming on total phenols, total flavonoids, brown compounds and antioxidant activity of spent coffee grounds from Mexico. *Biological Agriculture & Horticulture*, 36(2):107-118. doi: <https://doi.org/10.1080/01448765.2019.1704876>
- Pacheco-Ordaz, R., M. Antunes-Ricardo, J. A. Gutiérrez-Urbe & G. A. González-Aguilar. 2018. Intestinal permeability and cellular antioxidant activity of phenolic compounds from mango (*Mangifera indica* cv. Ataulfo) peels. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2):514. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms19020514>
- Pahua-Ramos, M. E., A. Ortiz-Moreno, G. Chamorro-Cevallos, M.D. Hernández-Navarro, L. Garduño-Siciliano, H. Necoechea-Mondragón & M. Hernández-Ortega. 2012. Hypolipidemic Effect of Avocado (*Persea americana* Mill) Seed in a Hypercholesterolemic Mouse Model. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(1), 10-16. <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0280-6>
- Palanisamy, S., A. Singh, B. Zhang, Q. Zhao & S. Benjakul. 2024. Effects of Different Phenolic Compounds on the Redox State of Myoglobin and Prevention of Discoloration, Lipid and Protein Oxidation of Refrigerated Longtail Tuna (*Thunnus tonggol*) Slices. *Foods*, 13(8), 1238. <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/8/1238>
- Pan, N., C. Dong, X. Du, B. Kong, J. Sun & X. Xia. 2021. Effect of freeze-thaw cycles on the quality of quick-frozen pork patty with different fat content by consumer assessment and instrument-based detection. *Meat Science*, 172, 108313. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108313>
- Panzella, L., & Napolitano, A. 2022. Condensed Tannins, a Viable Solution To Meet the Need for Sustainable and Effective Multifunctionality in Food Packaging: Structure, Sources, and Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(3), 751–758. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07229>
- Pashazadeh, H., O. Zannou, M. Ghellam, I. Koca, C. M. Galanakis & T. Aldawoud. 2021. Optimization and Encapsulation of Phenolic Compounds Extracted from Maize Waste by Freeze-Drying, Spray-Drying, and Microwave-Drying Using Maltodextrin. *Foods*, 10(6):1396. Doi: <https://doi.org/10.3390/foods10061396>
- Patlán-González, J. S. & 2018. Extracción asistida con microondas de biocomponentes de cáscara de tuna roja (*Opuntia streptacantha*) y su encapsulación, Universidad de Guanajuato, México.
- Pavez-Guajardo, C., S. R. S. Ferreira, S. Mazzutti, M. E. Guerra-Valle, G. Sáez-Trautmann & J. Moreno. 2020. Influence of *In Vitro* Digestion on Antioxidant Activity of Enriched Apple Snacks with Grape Juice. *Foods*, 9(11):1681. doi: <https://doi.org/10.3390/foods9111681>
- Pérez-Jiménez, J., S. Arranz, M. Tabernero, M. E. Díaz-Rubio, J. Serrano, I. Goñi & F. J. F. r. i. Saura-Calixto. 2008. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results.



- Food research international*, 41(3):274-285. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.12.004>
- Pfalzgraf, A., M. Frigg & H. Steinhart. 1995. alpha.-Tocopherol Contents and Lipid Oxidation in Pork Muscle and Adipose Tissue during Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(5):1339-1342. doi: <https://doi.org/10.1021/jf00053a039>
- Pimentel-Moral, S., I. Borrás-Linares, J. Lozano-Sánchez, D. Arráez-Román, A. Martínez-Férez & A. Segura-Carretero. 2019. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of bioactive compounds from *Hibiscus sabdariffa*. *The Journal of Supercritical Fluids*, 147:213-221. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.11.005>
- Plazzotta, S., R. Ibarz, L. Manzocco & O. Martín-Belloso. 2020. Optimizing the antioxidant biocompound recovery from peach waste extraction assisted by ultrasounds or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 63:104954. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104954>
- Prasad, K. N. 2016. Simultaneous activation of Nrf2 and elevation of antioxidant compounds for reducing oxidative stress and chronic inflammation in human Alzheimer's disease. *Mechanisms of Ageing and Development*, 153:41-47. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mad.2016.01.002>
- Quintero Quiroz, J., A. Celis Torres, L. Muñoz Ramirez, M. Silva Garcia, G. Ciro Gomez & J. Rojas Camargo 2019. Optimization of the Microwave-Assisted Extraction Process of Bioactive Compounds from Annatto Seeds (*Bixa orellana* L.). *Antioxidants*, 8(2):37. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox8020037>
- Ranjan, R., H. Shroff, K. Sharrer, S. Tsukuda & C. Good. 2024. FilletCam AI: A handheld tool for precise fillet color profiling of Atlantic salmon and rainbow trout. *Journal of Agriculture and Food Research*, 18, 101461. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101461>
- Reed, J. D., McDowell, R. T. E., Van Soest, P. J., & Horvath, P. R. J. 1982. Condensed tannins: A factor limiting the use of cassava forage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33(3), 213–220. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740330302>
- Rehman, A., T. Ahmad, R. M. Aadil, M. J. Spotti, A. M. Bakry, I. M. Khan, L. Zhao, T. Riaz & Q. Tong. 2019. Pectin polymers as wall materials for the nano-encapsulation of bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 90:35-46. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.015>
- Requejo-Jackman, C., M. Wong, Y. Wang, T. McGhie, M. Petley & A. J. O. Woolf. 2005. The good oil on avocado cultivars: A preliminary evaluation. *Orchardist*, 78(10):54-58.
- Rezende, Y. R. R. S., J. P. Nogueira & N. Narain. 2018. Microencapsulation of extracts of bioactive compounds obtained from acerola (*Malpighia emarginata* DC) pulp and residue by spray and freeze drying: Chemical, morphological and chemometric characterization. *Food Chemistry*, 254:281-291. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.026>
- Rezvankhah, A., Z. Emam-Djomeh & G. Askari. 2020. Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*, 38(1-2):235-258. doi: <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1653906>
- Roberfroid, M. 2000. Defining functional foods. *Functional Foods*, 9:9-27.
- Rocchetti, G., G. Zengin, G. Giuberti, M. Cervini & L. Lucini. 2024. Impact of *In Vitro* Gastrointestinal Digestion on the Phenolic Bioaccessibility and Bioactive Properties

- of Insect-Containing Beef Burgers. *Antioxidants*, 13(3), 365. <https://doi.org/10.3390/antiox13030365>
- Rocchetti, G., Zengin, G., Giuberti, G., Cervini, M., & Lucini, L. 2024. Impact of In Vitro Gastrointestinal Digestion on the Phenolic Bioaccessibility and Bioactive Properties of Insect-Containing Beef Burgers. *Antioxidants*, 13(3), 365. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox13030365>
- Rodríguez, G. R. V., F. J. Blancas-Benítez, A. Wall-Medrano, S. G. Sáyo-Ayerdi & G. A. González-Aguilar. 2017. Bioaccessibility and Bioavailability of Phenolic Compounds from Tropical Fruits. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*, 2:9. Doi: <https://doi.org/10.1002/9781119158042.ch8>
- Rodríguez-Pérez, C., R. Quirantes-Piné, A. Fernández-Gutiérrez & A. Segura-Carretero. 2015. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Industrial Crops and Products*, 66:246-254. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.002>
- Rodsamran, P. & R. Sothornvit. 2019. Extraction of phenolic compounds from lime peel waste using ultrasonic-assisted and microwave-assisted extractions. *Food Bioscience*, 28:66-73. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.01.017>
- Rosa, G. S. d., T. R. Martiny, G. L. Dotto, S. K. Vanga, D. Parrine, Y. Gariepy, M. Lefsrud & V. Raghavan. 2021. Eco-friendly extraction for the recovery of bioactive compounds from Brazilian olive leaves. *Sustainable Materials and Technologies*, 28:276. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2021.e00276>
- Roy, A., A. Khan, I. Ahmad, S. Alghamdi, B.S. Rajab, A.O. Babalghith, M.Y. Alshahrani, S. Islam & M.R. Islam. 2022. Flavonoids a bioactive compound from medicinal plants and its therapeutic applications. *BioMed Research International*, 2022(1), 5445291. <https://doi.org/10.1155/2022/5445291>
- Rubio, N. R., N. Xiang & D. L. Kaplan. 2020. Plant-based and cell-based approaches to meat production. *Nature Communications*, 11(1):6276.
- Ruiz-Hernández, K. 2019. Extracción de aceite esencial de comino asistida con microondas y su encapsulación para adición en jamón, Universidad de Guanajuato, México.
- Saavedra-Leos, M. Z., M. Román-Aguirre, A. Toxqui-Terán, V. Espinosa-Solís, A. Franco-Vega & C. J. P. Leyva-Porras. 2022. Blends of carbohydrate polymers for the co-microencapsulation of *Bacillus clausii* and quercetin as active ingredients of a functional food. *Polymers*, 14(2):236. Doi: <https://doi.org/10.3390/polym14020236>
- Safe, S., A. Jayaraman, R. S. Chapkin, M. Howard, K. Mohankumar & R. Shrestha. 2021. Flavonoids: structure–function and mechanisms of action and opportunities for drug development. *Toxicological Research*, 37(2):147-162. doi: <https://doi.org/10.1007/s43188-020-00080-z>
- Salazar-López, N. J., J. A. Domínguez-Avila, E. M. Yahia, B. H. Belmonte-Herrera, A. Wall-Medrano, E. Montalvo-González & G. González-Aguilar. 2020. Avocado fruit and by-products as potential sources of bioactive compounds. *Food Research International*, 138:109774. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109774>
- Sarabandi, K., S. M. Jafari, A. S. Mahoonak & A. Mohammadi. 2019. Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140:59-68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.133>
- Sasikumar, R., M. Das & S. C. Deka. 2020. Process optimization for the production of blood fruit powder by spray drying technique and its quality evaluation. *Journal of Food*

- Science and Technology*, 57(6):2269-2282. doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04264-1>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., K. Venema, M. Tabernero, B. Sarriá, L. L. Bravo & R. Mateos. 2021. Bioconversion by gut microbiota of predigested mango (*Mangifera indica* L.) 'Ataulfo' peel polyphenols assessed in a dynamic (TIM-2) in vitro model of the human colon. *Food Research International*, 139:109963. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109963>
- Sáyago-Ayerdi, S. G., L. A. de la Rosa, G. Mercado-Mercado & G. del Carmen Perales-Vázquez. 2020. Bioaccessibility and in vitro kinetics release of phenolic compounds in some Mexican cuisine sauces. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23(1):1-9.
- Sebranek, J. G. & J. N. Bacus. 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science*, 77(1):136-147. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.025>
- Serrano, A., J. Librelotto, S. Cofrades, F. Sánchez-Muniz & F. Jiménez-Colmenero. 2007. Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method. *Meat Science*, 77(3):304-313. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.017>
- Shishir, M. R. I., L. Xie, C. Sun, X. Zheng & W. Chen. 2018. Advances in micro and nano-encapsulation of bioactive compounds using biopolymer and lipid-based transporters. *Trends in Food Science & Technology*, 78:34-60. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.018>
- Sicari, M., R. Stevanato, I. Ongaro, R. Zuliani, G. Ravagnan & V. Lucchini. 2018. Searching for an absolute kinetic scale of antioxidant activity against lipid peroxidation. *Food Chemistry*, 239:964-974. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.139>
- Singleton, V. L. & J. A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3):144-158. doi: <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Solaberrieta, I., A. Jiménez & M. C. J. A. Garrigós. 2022. Valorization of aloe vera skin by-products to obtain bioactive compounds by microwave-assisted extraction: antioxidant activity and chemical composition. *Antioxidants*, 11(6):1058. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox11061058>.
- Stahl, W. & H. Sies. 2003. Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6):345-351. doi: [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00030-X)
- Subramanian, A. P., S. K. Jaganathan, M. Mandal, E. Supriyanto & I. I. Muhamad. 2016. Gallic acid induced apoptotic events in HCT-15 colon cancer cells. *World Journal of Gastroenterology*, 22(15):3952.
- Swatland, H. J. 2010. Meat products and consumption culture in the West. *Meat Science*, 86(1):80-85. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.024>
- Szmańko, T., T. Lesiów & J. Górecka. 2021. The water-holding capacity of meat: A reference analytical method. *Food Chemistry*, 357, 129727. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129727>
- Taheri, A., & Jafari, S. M. 2019. Gum-based nanocarriers for the protection and delivery of food bioactive compounds. *Advances in Colloid and Interface Science*, 269, 277–295. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.04.009>



- Tan, M., Z. Ding, J. Mei & J. Xie. 2022. Effect of cellobiose on the myofibrillar protein denaturation induced by pH changes during freeze-thaw cycles. *Food Chemistry*, 373, 131511. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131511>
- Tohma, H., İ. Gülçin, E. Bursal, A. C. Gören, S. H. Alwasel & E. Köksal. 2017. Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2):556-566. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9423-z>
- Tonon, R. V., C. Brabet, D. Pallet, P. Brat & M. D. Hubinger. 2009. Physicochemical and morphological characterisation of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced with different carrier agents. *Clinical & Experimental Immunology*, 44(10):1950-1958. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02012.x>
- Toro-Urbe, S., L. J. López-Giraldo, G. Alvarez-Rivera, E. Ibáñez & M. J. J. o. a. Herrero. 2019. Insight of stability of procyanidins in free and liposomal form under an *in vitro* digestion model: study of bioaccessibility, kinetic release profile, degradation, and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67 (7), 1990-2003. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00351>.
- Tremocoldi, M. A., P. L. Rosalen, M. Franchin, A. P. Massarioli, C. Denny, É. R. Daiuto, J. A. R. Paschoal, P. S. Melo & S. M. d. Alencar. 2018. Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PloS One*, 13(2):192577. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192577>
- Ursachi, C. Ş., S. Perța-Crișan & F.-D. Munteanu. 2020. Strategies to improve meat products' quality. *Foods*, 9(12):1883. doi: <https://doi.org/10.3390/foods9121883>
- Verma, A. K., V. Rajkumar, R. Banerjee, S. Biswas & A. K. Das. 2013. Guava (*Psidium guajava* L.) powder as an antioxidant dietary fiber in sheep meat nuggets. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(6):886 - 892. Doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12671>
- Villa-Rodriguez, J. A., E.M. Yahia, A. González-León, I. Ifie, R.E. Robles-Zepeda, J.A. Domínguez-Avila & G.A. González-Aguilar. 2020. Ripening of 'Hass' avocado mesocarp alters its phytochemical profile and the *in vitro* cytotoxic activity of its methanolic extracts. *South African Journal of Botany*, 128, 1-8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.020>
- Vinatoru, M., T. Mason & I. Calinescu. 2017. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97:159-178. doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002>
- Wang, J., Zhang, X., Li, S., Zhang, T., Sui, W., Zhang, M., Yang, S., & Chen, H. 2024. Physical properties, phenolic profile and antioxidant capacity of Java tea (*Clerodendranthus spicatus*) stems as affected by steam explosion treatment. *Food Chemistry*, 440, 138190. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138190>
- Williamson, G. & M. N. J. B. Clifford. 2017. Role of the small intestine, colon and microbiota in determining the metabolic fate of polyphenols. *Biochemical Pharmacology*, 139:24-39. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.03.012>.
- Williamson, G., & M.N. Clifford. 2017. Role of the small intestine, colon and microbiota in determining the metabolic fate of polyphenols. *Biochemical Pharmacology*, 139, 24-39. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.03.012>

- Wu, H.-Y., K.-M. Yang & P.-Y. Chiang. 2018. Roselle anthocyanins: Antioxidant properties and stability to heat and pH. *Molecules*, 23(6):1357- 1366. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules23061357>
- Wu, P. & X. D. Chen. 2021. Validation of *in vitro* bioaccessibility assays-A key aspect in the rational design of functional foods towards tailored bioavailability. *Current Opinion in Food Science*, 39:10. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.03.002>
- Xu, Q.-D., Z.-L. Yu & W.-C. Zeng. 2021. Structural and functional modifications of myofibrillar protein by natural phenolic compounds and their application in pork meatball. *Food Research International*, 148, 110593. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110593>
- Yagci, S., R. Caliskan, Z. S. Gunes, E. Capanoglu & M. Tomas. 2022. Impact of tomato pomace powder added to extruded snacks on the *in vitro* gastrointestinal behaviour and stability of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 368:130847. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130847>
- Yagoubi, Y., M. Joy, G. Ripoll, M. Mahouachi, J. Bertolín & N. Atti. 2018. Rosemary distillation residues reduce lipid oxidation, increase alpha-tocopherol content and improve fatty acid profile of lamb meat. *Meat Science*, 136:23-29. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.10.007>
- Zeb, A. 2020. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *Journal of Food Biochemistry*, 44(9):e13394. doi: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>
- Zhang, H., X. Li, H. Kang & X. Peng. 2023. Chitosan nanoparticles effectively improved quality stability of pork patties subjected to multiple freeze-thaw cycles. *Meat Science*, 196, 109029. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.109029>
- Zhang, K., J. Huang, D. Wang, X. Wan & Y. Wang. 2024. Covalent polyphenols-proteins interactions in food processing: formation mechanisms, quantification methods, bioactive effects, and applications [Review]. *Frontiers in Nutrition*, Volume 11 - 2024. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1371401>
- Zhu, W., H. Menglin, B. Ying, L. Xuepeng, Y. Shumin, X. Yongxia & J. Li. 2024. Plant polyphenols regulating myoglobin oxidation and color stability in red meat and certain fish: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(8), 2276-2288. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2122922>
- Zuñiga-Martínez, B. S., J.A. Domínguez-Avila, A. Wall-Medrano, J.F. Ayala-Zavala, J. Hernández-Paredes, N.J. Salazar-López, M.A. Villegas-Ochoa & G.A. González-Aguilar. 2021. Avocado paste from industrial byproducts as an unconventional source of bioactive compounds: characterization, *in vitro* digestion and *in silico* interactions of its main phenolics with cholesterol. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 5460-5476. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01117-z>