

## Efecto del extracto acuoso de granos de café gastado como antioxidante en hamburguesas de cerdo crudas durante el almacenamiento refrigerado

Juan Luis Murillo Hernández <sup>a</sup>

Rey David Vargas Sánchez <sup>b</sup>

Brisa del Mar Torres Martínez <sup>b</sup>

Nelson Huerta Leidenz <sup>c</sup>

Gastón Ramón Torrescano Urrutia <sup>b</sup>

Armida Sánchez Escalante <sup>b\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Zamora. Ingeniería en Industrias Alimentarias. Michoacán, México.

<sup>b</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD). Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal (CTAOA). Carretera a La Victoria Km. 0.6, 83148 Sonora, México.

<sup>c</sup> Texas Tech University. Department of Animal and Food Sciences. Texas, USA.

\*Autor de correspondencia: [armida-sanchez@ciad.mx](mailto:armida-sanchez@ciad.mx)

### Resumen:

Se estudió el efecto del extracto acuoso de granos de café gastado (CG) y el butilhidroxitolueno (BHT) sobre el deterioro del color, la oxidación de lípidos y el estado antioxidante de las hamburguesas de cerdo crudas durante el almacenamiento refrigerado (4 °C/9 días, en oscuridad). Se evaluó el contenido de polifenoles y la actividad antirradical del extracto de CG. Las hamburguesas de cerdo se evaluaron para determinar el pH, los parámetros de color y la oxidación de lípidos (OXL), así como la actividad antioxidante total de la carne. Los resultados mostraron que el extracto de CG es una fuente importante de

polifenoles y ejerce actividad antioxidante. Su inclusión en muestras de carne mitigó los cambios indeseables en los valores de pH, color y OXL y aumentó la estabilidad antioxidante durante el almacenamiento ( $P<0.05$ ). En conclusión, el uso del extracto de CG como antioxidante natural puede mejorar la calidad y la vida útil de las hamburguesas de cerdo crudas.

**Palabras clave:** Extracto natural, Residuos de café, Actividad antioxidante, Pro-oxidación, Calidad de la carne.

Recibido: 29/01/2024

Aceptado: 25/09/2024

## Introducción

La oxidación de lípidos (OXL) de las carnes conduce al desarrollo de compuestos indeseables que socavan la composición de nutrientes (por ejemplo, aminoácidos esenciales y ácidos grasos) y los atributos sensoriales (color, olor, sabor y textura), comprometiendo así las intenciones de compra y la aceptabilidad de los consumidores finales. Por lo tanto, para reducir el proceso de OXL en la carne y los productos cárnicos, se han utilizado ampliamente antioxidantes sintéticos (por ejemplo, butilhidroxitolueno y butilhidroxianisol). Sin embargo, la creciente preocupación por los riesgos para la salud que plantean los antioxidantes sintéticos está obligando a su sustitución por compuestos antioxidantes naturales<sup>(1)</sup>.

Los compuestos antioxidantes naturales se han extraído de cada estructura anatómica de las plantas, como flores, frutos, hojas, entre otros. No obstante, los subproductos derivados de la industria de procesamiento de frutas también han sido considerados una fuente importante de polifenoles con esta propiedad<sup>(2)</sup>. El residuo insoluble que se obtiene después de filtrar la bebida es un subproducto comúnmente conocido como café gastado (CG). El CG generalmente se desecha cuando no se utiliza como fertilizante<sup>(3)</sup>.

En lugar de tratar el CG como un residuo, otras industrias de procesamiento han aprovechado esta materia prima como sustrato para el crecimiento de hongos<sup>(4)</sup> y como aditivo alimentario para panaderías<sup>(5)</sup>. En este contexto, el extracto de residuos de café tostado molido añadido al 15 % a las caballas saladas ha disminuido la OXL durante 15 días de almacenamiento refrigerado<sup>(6)</sup>. El CG también se ha propuesto como ingrediente para que la industria cárnica reduzca la OXL<sup>(1)</sup>. Sin embargo, la evaluación de CG y sus extractos como aditivo antioxidante para el desarrollo de nuevos productos cárnicos para mejorar la vida útil necesita más investigación.

Por lo tanto, se estudió la inclusión del extracto acuoso de CG como ingrediente funcional para mejorar el estado antioxidante de las hamburguesas de cerdo crudas durante el almacenamiento refrigerado.

## Material y métodos

### Extracción de polifenoles

Se obtuvo el CG (Caffenio®, *Coffea arabica* L. oscuro) y se sometió a esterilización térmica. Los compuestos polifenoles de CG se extrajeron con agua como disolvente mediante un método asistido por ultrasonido (42 KHz/25 °C/30 min), utilizando una proporción 1:10 CG-disolvente (Bransonic 3800; Jeju, Corea). La mezcla resultante se filtró (papel filtro Whatman 1) al vacío (MVP 6; Jeju, Corea), se evaporó a 100 rpm/60 °C (Yamato RE301BW; Tokio, Japón) y se secó (Yamato DC401; Tokio, Japón). El extracto resultante de CG se almacenó a -20 °C/en condiciones de oscuridad<sup>(7)</sup>.

### Contenido de polifenoles

El contenido de ácido clorogénico (CAC) se determinó como se reportó anteriormente<sup>(8)</sup>. El extracto de CG (100 µl, 500 µg/ml) se mezcló con 200 µl de urea (0.17 M) y 200 µl de ácido acético glacial (0.1 mol/L), luego se añadieron 500 µl de dH<sub>2</sub>O. La mezcla resultante se homogeneizó con 500 µl de NaNO<sub>2</sub> (0.14 mol/L) y 500 µl de NaOH (0.5 mol/L), luego se centrifugó (2,250 xg/4 °C, 10 min). La absorbancia se midió a 510 nm y los resultados se mostraron en mg de equivalentes de ácido clorogénico (EAC)/por gramo de extracto.

El contenido de fenoles totales (CFT) se determinó por el procedimiento de Folin-Ciocalteu<sup>(9)</sup>. El extracto de CG (10 µl, 500 µg/ml) se mezcló con 80 µl de dH<sub>2</sub>O y 60 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7 %, p/v), luego se añadieron 40 µl de reactivo Folin-Ciocalteu (2 M). La mezcla resultante se homogeneizó con 80 µl de dH<sub>2</sub>O y se incubó (25 °C/1 h, en oscuridad). La absorbancia se midió a 750 nm y los resultados se mostraron como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g.

El contenido de flavonoides totales (CFIT) se determinó por el procedimiento de NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-NaOH<sup>(10)</sup>. El extracto de CG (500 µl, 500 µg/ml) se homogeneizó con 1 ml de NaNO<sub>2</sub> (5 %, p/v), 10 ml de NaOH (1 mol/L) y 1 ml de AlCl<sub>3</sub> (10 %, p/v). Luego se añadieron 25 ml de etanol (70 %, v/v). La solución resultante se incubó (25 °C/15 min, en oscuridad). La absorbancia se midió a 510 nm y los resultados se mostraron en mg de equivalentes de rutina (ER)/g.

El contenido de taninos totales (CTT) se determinó por el procedimiento de vainillina<sup>(11)</sup>. El extracto de CG (0.2 g) se mezcló con 10 ml de metanol y se centrifugó (10,000 xg/4 °C, 20 min). A continuación, se mezclaron 180 µl del sobrenadante con 900 µl de vainillina (1 %, p/v) y 900 µl de HCl (8 %, v/v) y se incubaron (25 °C/20 min, en oscuridad). La absorbancia se midió a 500 nm y los resultados se mostraron como mg de equivalentes de (+)-catequina (EC)/g.

## Ensayos de antioxidantes

La actividad de eliminación de radicales libres se determinó mediante el procedimiento del radical DPPH<sup>•</sup> (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)<sup>(12)</sup>. A continuación, se homogeneizaron 100 µl de extracto de CG (500 µg/ml) con 100 µl de solución de radical (300 µM/kg) y se incubaron (25 °C/30 min, en oscuridad). La absorbancia se midió a 520 nm y los resultados se mostraron como (%) de inhibición: DPPH<sup>•</sup> (%) = [(Absorción de radicales a 0 min) – (Absorción de radicales antioxidantes a 30 min) / (Absorción de radicales a 0 min)] × 100.

La actividad eliminadora de cationes radicales se evaluó mediante el procedimiento del radical ABTS<sup>•+</sup> [catión radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)]<sup>(13)</sup>. El catión radical (absorbancia de 0.8) se mezcló con extracto de CG (500 µg/ml) en una proporción de 99:1 y se incubó (25 °C/6 min, en oscuridad). La absorbancia se midió a 734 nm y los resultados se mostraron como (%) de inhibición: ABTS<sup>•+</sup> (%) = [(Absorción de radicales en solución a 0 min) – (Absorción de radicales antioxidantes a 6 min) / (Absorción de radicales)] × 100.

El poder reductor fue determinado por el procedimiento del poder antioxidante reductor férrico (FRAP, por sus iniciales en inglés)<sup>(14)</sup>. A continuación, se homogeneizaron 5 µl de extracto de CG (500 µg/ml) con 150 µl de solución FRAP [10:1:1, 300 mM/kg tampón de acetato de sodio en ácido acético glacial y 10 mM/kg de reactivo TPZ en 40 nM/kg de HCl y 20 mM/kg de FeCl<sub>3</sub>] y se incubaron (25 °C/8 min/en oscuridad). La absorbancia se midió a 595 nm y los resultados se mostraron en mg de hierro equivalente (Fe<sup>2+</sup>)/g.

El poder reductor también se determinó por el procedimiento RPA<sup>(14)</sup>. A continuación, se homogeneizaron 100 µl de extracto de CG (500 µg/ml) con 300 µl de tampón fosfato (0.2 mol/L, pH 6.6) y 300 µl de C<sub>6</sub>FeK<sub>4</sub>N<sub>6</sub> (1 %, p/v). La mezcla resultante se incubó a 50 °C durante 20 min. A continuación, se añadieron 300 µl de TCA (10 %, p/v) y las muestras se centrifugaron a 4,200 xg/4 °C, 15 min (Sorvall ST18R, Thermo Fisher Scientific; Waltham, EE. UU.). El sobrenadante se homogeneizó con 100 µl de dH<sub>2</sub>O y 250 µl de FeCl<sub>3</sub> (0.1 %, p/v). La absorbancia se midió a 700 nm y los resultados se mostraron como absorbancia.

## Elaboración de hamburguesas de cerdo

Se obtuvo carne picada fresca de cerdo (músculo *Semimembranoso*) (Norson®) y se mezcló con 1.5 % de sal (NaCl, p/p) y grasa dorsal (20 %, p/p). Las hamburguesas de cerdo se evaluaron en cuatro tratamientos (por triplicado) de la siguiente manera: Testigo (muestras sin antioxidante); T1 (muestras con 0.05 % de extracto de CG, p/p); T2 (muestras con 0.1 % de extracto de CG, p/p); T3 (muestras con 0.02 % de BHT, p/p). Se elaboraron dieciséis hamburguesas (40 g por hamburguesa) por tratamiento, se empaquetaron en bandejas de Styrofoam™ (poliestireno expandido) y se recubrieron con película de cloruro de polivinilo (17,400 cm<sup>3</sup> O<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>/23 °C, 24 h). Las hamburguesas empaquetadas se refrigeraron (4 °C/9 días/en oscuridad) y en cada día de muestreo, se abrieron cuatro paquetes por tratamiento para su debido análisis.

## Mediciones de la calidad de la carne

La composición química proximal (contenido de humedad, grasa, proteína, cenizas y carbohidratos) del producto cárnico se determinó siguiendo procedimientos estándar<sup>(15)</sup>.

El pH del producto cárnico se determinó mezclando las muestras con dH<sub>2</sub>O (proporción 1:10) a 4,500 rpm/5 °C, 1 min (T25, IKA®; Staufen, Alemania), y utilizando un potenciómetro (pH211, Hanna; RI, EE. UU.)<sup>(15)</sup>.

Se utilizó el procedimiento de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico para medir la oxidación lipídica (OXL)<sup>(16)</sup>. El producto cárnico (1 g) se homogeneizó con 2,000 µl de TCA (10 %, p/v) (4,500 rpm/5 °C, 1 min) y se centrifugó (2,300 xg/4 °C, 20 min). A continuación, se homogeneizaron 200 µl de la solución filtrada (papel filtro Whatman 1) con 200 µl de reactivo TBA (0.02 mol/kg) y se incubaron a 98 °C, 20 min. La absorbancia se midió a 531 nm y los resultados se mostraron como mg de malondialdehído (MDA)/g.

El color del producto cárnico se midió espectrofotométricamente (CM-508d, Konica Minolta Inc.; Tokio, Japón). Las muestras se expusieron a O<sub>2</sub> en refrigeración a 4 °C, 30 min. Después de eso, se realizaron 10 lecturas en la superficie de las muestras para registrar: L\*, luminosidad; a\*, rojez; b\*, amarillez; C\*: cromaticidad; h\*, ángulo de matiz<sup>(17)</sup>.

El homogeneizado de la carne se obtuvo después de homogeneizar las hamburguesas de cerdo con dH<sub>2</sub>O (proporción 1:10) a 4,500 xg/4 °C, 10 min. Posteriormente, el sobrenadante se filtró y se sometió a mediciones de contenido de polifenoles, actividad antirradical y poder reductor.

## Análisis estadístico

Los polifenoles y los datos de actividad antioxidante ( $n=6$ ) se analizaron mediante un ANOVA de una sola vía, mientras que las mediciones de la calidad de la carne se sometieron a un ANOVA de dos vías. Se realizó una prueba de Tukey ( $P<0.05$ ). Además, se utilizó un análisis multivariado para determinar la relación entre todos los parámetros (SPSS versión 21).

## Resultados y discusión

### Contenido de polifenoles y actividad antioxidante del extracto de CG

La presencia de polifenoles en el extracto de CG se demostró mediante los resultados obtenidos, incluyendo CAC ( $205.03 \pm 4.13$  mg EAC/g), CFT ( $562.71 \pm 20.04$  mg EAG/g), CFIT ( $756.38 \pm 11.82$  mg ER/g) y CTT ( $12.50 \pm 3.33$  mg EC/g). Además, los valores medios de actividad antioxidante también mostraron que el extracto de CG muestra una alta actividad antirradical DPPH<sup>•</sup> ( $84.95 \pm 0.61$  %) y ABTS<sup>•+</sup> ( $43.93 \pm 2.08$  %), aunque el estándar (BHT) mostró los valores antioxidantes más altos ( $P<0.05$ ) respecto al extracto de CG ( $89.12 \pm 2.10$  % y  $81.20 \pm 1.15$  %, respectivamente). Además, el extracto de CG muestra valores moderados de FRAP ( $0.21 \pm 0.10$  mg Fe<sup>2+</sup>/g) y RPA ( $0.11 \pm 0.01$  abs) en relación con BHT ( $0.53 \pm 0.15$  mg Fe<sup>2+</sup>/g y  $0.60 \pm 0.10$  abs, respectivamente) ( $P<0.05$ ).

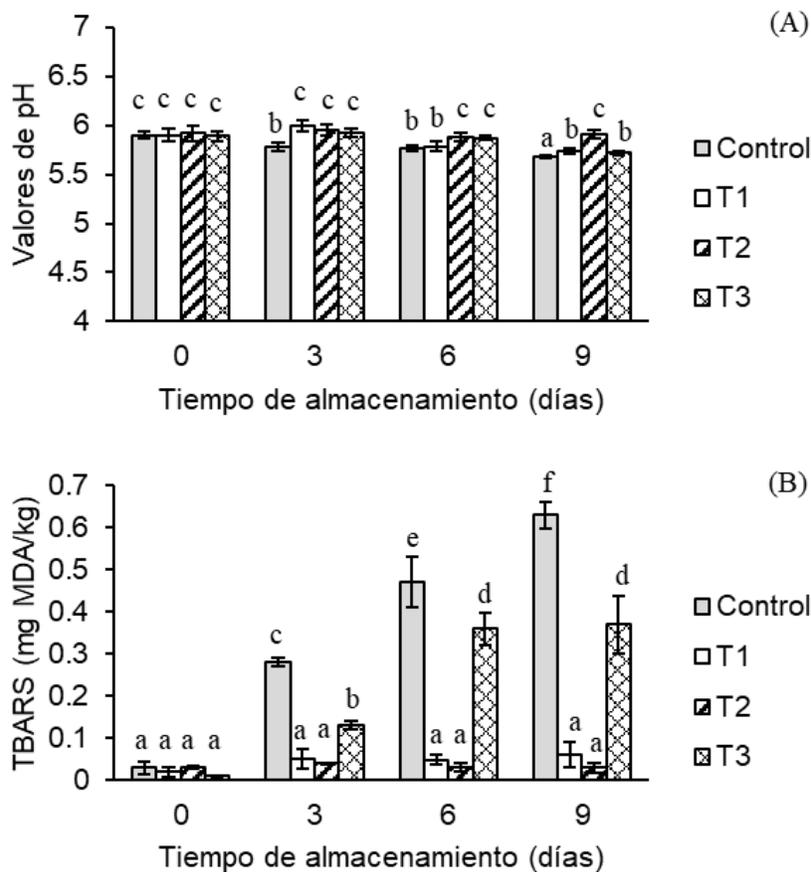
En trabajos anteriores se ha demostrado que estos subproductos agroindustriales son una fuente clave de polifenoles, incluyendo flavonoides y ácidos fenólicos, ampliamente correlacionados con su efecto antioxidante *in vitro*<sup>(2)</sup>. No obstante, la ausencia o presencia de estos componentes en los extractos de residuos de café podría estar asociada a la variedad (*C. arabica* y *C. robusta*), sistema de extracción (sólido-líquido, Soxhlet, entre otros), y el tipo de solvente (agua o etanol) utilizado para la extracción del compuesto<sup>(18,19)</sup>. Además, la presencia de polifenoles en el extracto de CG se relaciona con su efecto antirradical; por lo tanto, una estrategia prometedora para mejorar la estabilidad antioxidante de los productos cárnicos de cerdo durante el almacenamiento podría ser la adición de extracto de CG.

### Calidad de las hamburguesas de cerdo

De acuerdo con los resultados, la composición proximal de las muestras de carne no varió con la inclusión de 0.05 y 0.1 % de extracto de CG ( $P>0.05$ ). Los valores promedio obtenidos fueron 55.73 % (humedad), 19.5 % (proteína), 22.5 % (grasa), 1.8 % (cenizas) y 0.53 % (carbohidratos). Se ha observado que la adición de 1 y 2 % de extractos de residuos agroindustriales en las formulaciones de las hamburguesas de cerdo no afectaba significativamente la composición proximal original<sup>(20)</sup>.

La Figura 1 ilustra los cambios de pH y OXL de las hamburguesas de cerdo crudas (A y B, respectivamente). La interacción del tratamiento × tiempo de almacenamiento afectó significativamente ( $P < 0.05$ ). En el primer día de almacenamiento (día 0), la incorporación de tratamientos antioxidantes no afectó los valores de pH y OXL ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, los valores de pH disminuyeron y los valores de OXL aumentaron durante el tiempo de almacenamiento ( $P < 0.05$ ). Al día 9 (fin de almacenamiento), las muestras de carne tratadas con T1 y T2 presentaron los valores de pH más altos y los valores más bajos de OXL ( $P < 0.05$ ).

**Figura 1:** Valores de pH (A) y OXL (B) (Media ± DE, n= 6) de hamburguesas de cerdo crudas durante el tiempo de almacenamiento



T1= hamburguesas de cerdo con 0.05 % de extracto de CG; T2= hamburguesas de cerdo con 0.1 % de extracto de CG; T3= hamburguesas de cerdo con 0.02 % de BHT.

<sup>abcdef</sup> Los superíndices en minúsculas indican diferencias significativas cuando se considera el efecto de la interacción del tratamiento x el tiempo de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).

La evaluación de la calidad de la carne indica cambios *antemortem* y *postmortem* que ocurren en los animales de sacrificio; el pH y la OXL son propiedades clave en la percepción de la calidad de la carne que influyen en la intención de compra de carne asociadas con las pérdidas

de calidad en los productos de la industria cárnica<sup>(16,21)</sup>. Pero también se ha demostrado que la inclusión de fuentes no sintéticas ricas en polifenoles mejora la calidad de los alimentos<sup>(22)</sup>. En esta investigación, los valores iniciales de pH en las hamburguesas de cerdo se mantuvieron dentro del rango típico de la carne fresca de cerdo (pH 5.5-5.9). Se observó una reducción en los valores de pH de las hamburguesas de cerdo durante el almacenamiento en frío cuando se agregaron extractos de antioxidantes sintéticos o naturales (semillas de dátiles)<sup>(23)</sup>. Además, de acuerdo con los resultados de este estudio, se observó una disminución del 42 % en la OXL de las hamburguesas de cerdo cocidas adicionadas con extracto de CG claro y oscuro (1 g/kg o 10 %), almacenadas en condiciones de congelación durante tres meses<sup>(24)</sup>. Al añadir 0.05 y 0.1 % de extracto etanólico de CG, se redujo la OXL en un sistema de carne de cerdo cruda almacenada a 37 °C/12 h<sup>(19)</sup>. Además, se ha demostrado una reducción de OXL de la carne de res molida (tapa superior) añadida con 0.1 % de café tostado molido (claro, medio y oscuro) durante el almacenamiento (4 °C/6 días)<sup>(25)</sup>.

De acuerdo con los resultados obtenidos (Cuadro 1), la interacción del tratamiento × el tiempo de almacenamiento tuvo un efecto significativo sobre los valores de color ( $P < 0.05$ ). Al día 0, la incorporación de antioxidantes no afectó estos parámetros ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, los valores de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  se redujeron durante el tiempo de almacenamiento, mientras que los valores de  $h^*$  aumentaron ( $P < 0.05$ ). En el día 9, las muestras de carne tratadas con T1 y T2 presentaron los valores más altos de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  y los valores más bajos de  $h^*$  ( $P < 0.05$ ). El color es otro parámetro clave en la percepción de la calidad de la carne<sup>(21)</sup>. En concordancia con el estudio, se ha reportado una reducción en los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  a través del almacenamiento refrigerado (4 °C/6 días) en muestras de carne control en comparación con sus contrapartes tratadas con 0.1 % de café tostado molido<sup>(25)</sup>.

**Cuadro 1:** Cambios de color de las hamburguesas de cerdo crudo tratadas con el extracto acuoso de CG durante el tiempo de almacenamiento

Ítem	Tratamiento	Tiempo de almacenamiento, días			
		0	3	6	9
L*	Testigo	57.14 ± 1.36 <sup>c</sup>	51.51 ± 1.57 <sup>a</sup>	51.77 ± 1.36 <sup>a</sup>	49.39 ± 1.35 <sup>a</sup>
	T1	56.83 ± 1.16 <sup>c</sup>	54.40 ± 1.74 <sup>b</sup>	54.06 ± 1.93 <sup>b</sup>	54.63 ± 1.56 <sup>b</sup>
	T2	56.97 ± 0.86 <sup>c</sup>	53.61 ± 0.90 <sup>b</sup>	53.24 ± 1.39 <sup>b</sup>	53.18 ± 1.98 <sup>b</sup>
	T3	56.35 ± 1.56 <sup>c</sup>	56.01 ± 0.63 <sup>c</sup>	54.31 ± 1.86 <sup>b</sup>	53.25 ± 1.31 <sup>b</sup>
a*	Testigo	10.56 ± 1.37 <sup>c</sup>	7.55 ± 1.39 <sup>b</sup>	6.27 ± 0.97 <sup>b</sup>	4.15 ± 0.94 <sup>a</sup>
	T1	9.60 ± 0.88 <sup>c</sup>	9.33 ± 1.14 <sup>c</sup>	8.28 ± 1.39 <sup>bc</sup>	7.25 ± 0.83 <sup>b</sup>
	T2	10.79 ± 1.18 <sup>c</sup>	10.12 ± 1.67 <sup>c</sup>	8.25 ± 0.74 <sup>bc</sup>	8.52 ± 1.01 <sup>bc</sup>
	T3	9.22 ± 0.68 <sup>c</sup>	9.10 ± 1.79 <sup>c</sup>	7.68 ± 0.82 <sup>b</sup>	4.75 ± 1.38 <sup>a</sup>
b*	Testigo	18.09 ± 1.37 <sup>c</sup>	15.68 ± 1.43 <sup>b</sup>	14.56 ± 0.95 <sup>a</sup>	12.28 ± 1.65 <sup>a</sup>
	T1	18.20 ± 0.97 <sup>c</sup>	16.67 ± 1.05 <sup>b</sup>	16.34 ± 1.01 <sup>b</sup>	15.84 ± 1.35 <sup>b</sup>
	T2	19.08 ± 1.21 <sup>c</sup>	17.21 ± 1.65 <sup>bc</sup>	16.95 ± 1.40 <sup>b</sup>	16.11 ± 1.50 <sup>b</sup>
	T3	17.62 ± 1.03 <sup>bc</sup>	16.16 ± 1.34 <sup>b</sup>	15.75 ± 0.90 <sup>b</sup>	14.95 ± 1.11 <sup>a</sup>
C*	Testigo	21.15 ± 1.49 <sup>c</sup>	17.35 ± 1.77 <sup>b</sup>	16.74 ± 1.29 <sup>b</sup>	13.54 ± 0.86 <sup>a</sup>
	T1	20.35 ± 1.08 <sup>c</sup>	18.62 ± 1.61 <sup>bc</sup>	18.45 ± 1.80 <sup>bc</sup>	16.77 ± 1.32 <sup>b</sup>
	T2	21.25 ± 1.29 <sup>c</sup>	19.45 ± 1.60 <sup>c</sup>	18.84 ± 1.44 <sup>bc</sup>	17.78 ± 1.71 <sup>b</sup>
	T3	19.06 ± 1.17 <sup>c</sup>	17.52 ± 1.69 <sup>b</sup>	16.51 ± 1.72 <sup>b</sup>	15.64 ± 1.68 <sup>ab</sup>
h*	Testigo	61.41 ± 1.16 <sup>a</sup>	63.62 ± 1.51 <sup>a</sup>	66.17 ± 1.72 <sup>b</sup>	72.75 ± 1.02 <sup>c</sup>
	T1	63.80 ± 1.60 <sup>a</sup>	63.10 ± 2.06 <sup>a</sup>	65.74 ± 1.46 <sup>ab</sup>	67.83 ± 1.88 <sup>b</sup>
	T2	62.21 ± 1.53 <sup>a</sup>	62.47 ± 1.90 <sup>a</sup>	63.01 ± 1.46 <sup>a</sup>	64.45 ± 1.49 <sup>a</sup>
	T3	62.51 ± 1.86 <sup>a</sup>	65.09 ± 1.84 <sup>ab</sup>	66.44 ± 1.51 <sup>b</sup>	71.73 ± 2.06 <sup>c</sup>

Los resultados se expresan como media ± DE (n= 6); T1= hamburguesas de cerdo con 0.05 % de extracto de CG; T2= hamburguesas de cerdo con 0.1 % de extracto de CG; T3= hamburguesas de cerdo con 0.02 % de BHT.

<sup>abc</sup> Los superíndices en minúsculas indican diferencias significativas cuando se considera el efecto del tratamiento x tiempo de almacenamiento ( $P<0.05$ ).

## Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los homogeneizados de carne

De acuerdo con los resultados obtenidos (Cuadro 2), la interacción del tratamiento × el período de almacenamiento afectó significativamente el contenido de polifenoles de los homogeneizados de carne ( $P<0.05$ ). No se detectaron diferencias ( $P>0.05$ ) en los valores de CTT (valor promedio 0.87 mg EC/g), ABTS<sup>+</sup> (49.58 %) y RPA (0.87 abs) durante el almacenamiento. En el día 0, los valores de ácido clorogénico (CAC), CFT y CFIT aumentaron ( $P<0.05$ ) en las muestras de carne tratadas con extracto de CG (T2>T1). No obstante, los valores de CAC, CFT y CFIT disminuyeron significativamente ( $P<0.05$ )

durante el período de almacenamiento, y en el día 9, los valores más altos ( $P<0.05$ ) de CAC, CFT y CFIT correspondieron a T2.

**Cuadro 2:** Contenido de polifenoles de las hamburguesas de cerdo tratadas con el extracto acuoso de CG durante el tiempo de almacenamiento

Ítem	Día	Tratamientos			
		Testigo	T1	T2	T3
CAC,	0	31.01 ± 0.50 <sup>a</sup>	85.99 ± 1.50 <sup>d</sup>	110.15 ± 2.78 <sup>e</sup>	31.43 ± 0.50 <sup>a</sup>
mg EAC/g	9	31.20 ± 0.62 <sup>a</sup>	33.10 ± 0.42 <sup>b</sup>	75.72 ± 0.33 <sup>c</sup>	31.60 ± 0.44 <sup>a</sup>
CFT,	0	31.70 ± 3.01 <sup>c</sup>	33.17 ± 2.50 <sup>c</sup>	42.84 ± 2.10 <sup>e</sup>	38.67 ± 1.15 <sup>d</sup>
mg EAG/g	9	23.20 ± 1.04 <sup>a</sup>	21.20 ± 1.30 <sup>a</sup>	27.10 ± 1.23 <sup>b</sup>	26.62 ± 1.00 <sup>b</sup>
CFIT,	0	34.01 ± 0.90 <sup>d</sup>	34.46 ± 1.50 <sup>d</sup>	46.20 ± 0.80 <sup>e</sup>	22.27 ± 1.98 <sup>b</sup>
mg ER/g	9	15.60 ± 1.13 <sup>a</sup>	20.30 ± 1.55 <sup>b</sup>	31.91 ± 2.56 <sup>c</sup>	20.16 ± 1.13 <sup>b</sup>
CTT,	0	1.00 ± 0.50	0.96 ± 0.15	1.06 ± 0.42	0.78 ± 0.28
mg EC/g	9	0.80 ± 0.45	0.74 ± 0.31	0.79 ± 0.30	0.84 ± 0.33

Los resultados se expresan como media ± DE (n= 6); T1= hamburguesas de cerdo con 0.05 % de extracto de CG; T2= hamburguesas de cerdo con 0.1 % de extracto de CG; T3= hamburguesas de cerdo con 0.02 % de BHT.

<sup>abcde</sup> Los superíndices en minúsculas indican diferencias significativas cuando se considera el efecto de la interacción del tratamiento x tiempo de almacenamiento ( $P<0.05$ ).

De acuerdo con los resultados obtenidos (Cuadro 3), la interacción del tratamiento × el período de almacenamiento afectó significativamente el estado antioxidante de los homogeneizados de carne ( $P<0.05$ ). En cuanto a la actividad antioxidante, en el día 0, los valores de DPPH<sup>\*</sup> y FRAP aumentaron ( $P<0.05$ ) en las muestras de carne debido al extracto de CG. Sin embargo, los valores de antioxidantes se redujeron ( $P<0.05$ ) durante el almacenamiento en las muestras control y de T3. En el día 9, T1 y T2 presentaron los valores más altos de DPPH<sup>\*</sup> y FRAP ( $P<0.05$ ).

**Cuadro 3:** Estado antioxidante de las hamburguesas de cerdo tratadas con el extracto acuoso de CG durante el tiempo de almacenamiento

Ítem	Día	Tratamientos			
		Testigo	T1	T2	T3
DPPH*, %	0	30.10 ± 2.70 <sup>c</sup>	41.97 ± 1.00 <sup>d</sup>	48.65 ± 1.54 <sup>e</sup>	43.92 ± 2.99 <sup>d</sup>
	9	13.50 ± 0.55 <sup>a</sup>	43.70 ± 1.60 <sup>d</sup>	45.08 ± 2.04 <sup>de</sup>	15.37 ± 1.02 <sup>b</sup>
ABTS* <sup>+</sup> , %	0	50.40 ± 1.55 <sup>a</sup>	51.98 ± 1.83 <sup>a</sup>	48.68 ± 2.75 <sup>a</sup>	48.52 ± 3.00 <sup>a</sup>
	9	49.10 ± 1.52 <sup>a</sup>	48.95 ± 1.45 <sup>a</sup>	49.25 ± 3.22 <sup>a</sup>	49.83 ± 2.99 <sup>a</sup>
FRAP, mg Fe <sup>2+</sup> /g	0	4.64 ± 0.52 <sup>a</sup>	12.09 ± 1.13 <sup>b</sup>	17.03 ± 0.50 <sup>c</sup>	3.89 ± 0.55 <sup>a</sup>
	9	3.97 ± 0.50 <sup>a</sup>	10.62 ± 0.55 <sup>b</sup>	18.42 ± 1.74 <sup>c</sup>	4.64 ± 0.52 <sup>a</sup>
RPA (Abs)	0	1.10 ± 0.30	1.03 ± 0.05	0.91 ± 0.30	0.92 ± 0.25
	9	0.80 ± 0.20	0.70 ± 0.30	0.81 ± 0.30	0.70 ± 0.30

Los resultados se expresan como media ± DE (n= 6); T1= hamburguesas de cerdo con 0.05 % de extracto de CG; T2= hamburguesas de cerdo con 0.1 % de extracto de CG; T3= hamburguesas de cerdo con 0.02 % de BHT.

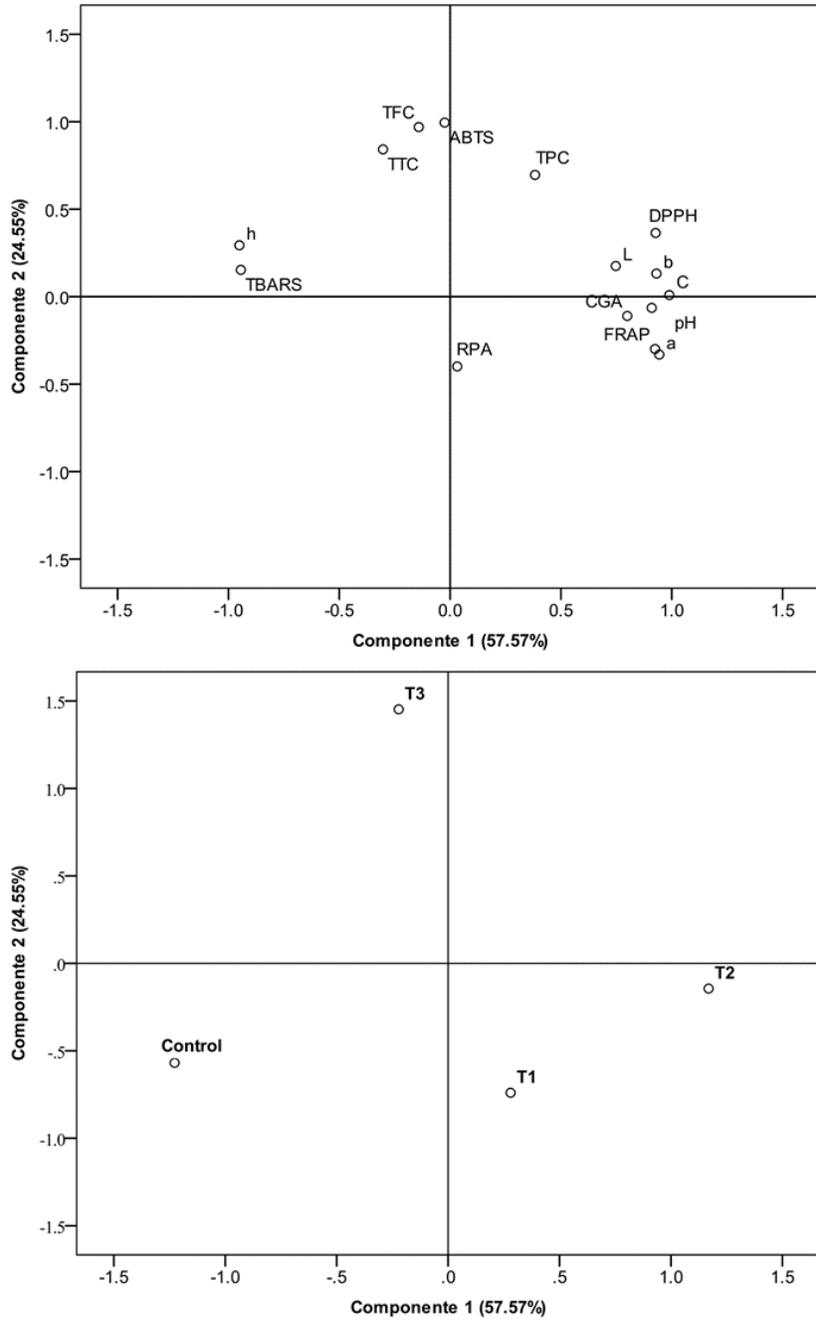
<sup>abcd</sup> Los superíndices en minúsculas indican diferencias significativas cuando se considera el efecto de la interacción del tratamiento x tiempo de almacenamiento ( $P < 0.05$ ).

Las reacciones oxidativas en los alimentos, incluyendo la carne y los productos cárnicos, se consideran la principal causa no microbiana del deterioro de la calidad, y se asocian con una pérdida de antioxidantes endógenos *postmortem*. La especie animal, la raza, el tipo de músculo y la ubicación anatómica pueden influir en el contenido de antioxidantes endógenos<sup>(22)</sup>. En cuanto al contenido de antioxidantes exógenos, la presencia de compuestos fenólicos en la carne y los productos cárnicos puede ser el resultado de la dieta del animal<sup>(26)</sup>, mientras que la extracción e incorporación de compuestos bioactivos de fuentes naturales en las formulaciones cárnicas puede aumentar el estado antioxidante de los productos cárnicos<sup>(22)</sup>. En este contexto, se incrementó el contenido fenólico y el estado antioxidante de las hamburguesas de cerdo crudas y cocidas almacenadas (4 °C/6 días) y adicionadas con un 2 % de un extracto etanólico natural<sup>(27)</sup>.

### Análisis multivariante

En la Figura 2 se muestra un análisis de componentes principales para determinar las diferencias entre las variables y los tratamientos analizados. El primer y segundo componente mostraron una varianza de 57.57 y 24.55 %, respectivamente. En este contexto, el 82.12 % de la variación total fue explicado por ambos componentes. Además, se observó una separación de los tratamientos en cuanto a las variables; por ejemplo, el tratamiento T2, cargado hacia el cuadrante derecho, presentó el mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante.

**Figura 2:** Análisis de los componentes principales de los parámetros y tratamientos evaluados



Control, muestras sin antioxidante; T1= hamburguesas de cerdo con 0.05 % de extracto de CG; T2= hamburguesas de cerdo con 0.1 % de extracto de CG; T3= hamburguesas de cerdo con 0.02 % de BHT.

## Conclusiones e implicaciones

El extracto de CG es una fuente novedosa de componentes antioxidantes, incluidos los polifenoles. La incorporación del extracto de CG en las hamburguesas de cerdo provoca respuestas deseables en los valores de pH, el color y la estabilidad de la oxidación de lípidos durante los tiempos de almacenamiento. Además, el extracto de CG aumenta el contenido de polifenoles y el estado antioxidante de las muestras de carne. El extracto de CG se puede utilizar en la formulación de hamburguesas de cerdo para prevenir reacciones de oxidación y mitigar las pérdidas de calidad de la carne durante el almacenamiento refrigerado.

### Agradecimientos y conflicto de intereses

Agradecemos la beca recibida del programa “Investigadoras e Investigadores por México” – CONAHCYT. También agradecemos el apoyo técnico de Melina Estrada-Alanis.

### Literatura citada:

1. Shah MA, Bosco SJD, Mir SA. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Sci* 2014;98(1):21-33.
2. Oswell NJ, Thippareddi H, Pegg RB. Practical use of natural antioxidants in meat products in the US: A review. *Meat Sci* 2018;145:469-479.
3. Anastopoulos I, Karamesouti M, Mitropoulos AC, Kyzas GZ. A review for coffee adsorbents. *J Mol Liq* 2017;229:555-565.
4. Besufekad Y, Mekonnen A, Girma B, Daniel R, Tassema G, Melkamu J, Asefa M, Fikiru T, Denboba L. Selection of appropriate substrate for production of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *J Yeast Fungal Res* 2020;11(1):15-25.
5. Martínez-Saez N, García AT, Pérez ID, Rebollo-Hernanz M, Mesías M, Morales FJ, *et al.* Use of spent coffee grounds as food ingredient in bakery products. *Food Chem* 2017;216:114-122.
6. Song EJ, Kim JY, Lee SY, Kim KBWR, Kim SJ, Yoon SY, *et al.* Effect of roasted ground coffee residue extract on shelf-life and quality of salted mackerel. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2009;38(6):780-786.
7. Pérez-Hernández LM, Chávez-Quiroz K, Medina-Juárez LÁ, Meza NG. Phenolic compounds, melanoidins, and antioxidant activity of green coffee bean and processed coffee from *Coffea arabica* and *Coffea canephora* species. *Biotechnia* 2013;15(1):51-56.

8. Griffiths DW, Bain H, Dale MFB. Development of a rapid colorimetric method for the determination of chlorogenic acid in freeze-dried potato tubers. *J Sci Food Agric* 1992;58(1):41-48.
9. Ainsworth EA, Gillespie KM. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nat Protoc* 2007;2:875-877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>.
10. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 1999;64(4):555-559.
11. Price ML, Butler LG. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J Agric Food Chem* 1977;25(6):1268-1273.
12. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol* 2004;26(2):211-219.
13. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad Biol Med* 1999;26(9-10):1231-1237.
14. Berker KI, Güçlü K, Tor İ, Demirata B, Apak R. Total antioxidant capacity assay using optimized ferricyanide/prussian blue method. *Food Anal Methods* 2010;3:154-168.
15. AOAC. Official methods of analysis. 18th ed.; Gaithersburg, MD, USA: Association of Official Analytical Chemists. 2005.
16. Pfalzgraf A, Frigg M, Steinhart H. Alpha-Tocopherol contents and lipid oxidation in pork muscle and adipose tissue during storage. *J Agric Food Chem* 1995;43(5):1339-1342.
17. Hernández B, Sáenz C, Alberdi C, Diñeiro JM. CIELAB color coordinates versus relative proportions of myoglobin redox forms in the description of fresh meat appearance. *J Food Sci Technol* 2016;53:4159-4167.
18. Bravo J, Monente C, Juárez I, De Peña MP, Cid C. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Res Int* 2013;50(2):610-616.
19. Kim JH, Ahn DU, Eun JB, Moon SH. Antioxidant effect of extracts from the coffee residue in raw and cooked meat. *Antioxidants* 2016;5(3):21.
20. Schmidt MM, Kubota EH, Prestes RC, Mello RO, Rosa CS, Scapin G, Ferreira S. Development and evaluation of pork burger with added natural antioxidant based on extract of banana inflorescence (*Musa cavendishii*). *CyTA J Food* 2016;14(2):280-288.

21. Hughes JM, Clarke FM, Purslow PP, Warner RD. Meat color is determined not only by chromatic heme pigments but also by the physical structure and achromatic light scattering properties of the muscle. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2020;19(1):44-63.
22. Falowo AB, Fayemi PO, Muchenje V. Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Res Int* 2014;64:171-181.
23. Sayas-Barberá E, Martín-Sánchez AM, Cherif S, Ben-Abda J, Pérez-Álvarez JÁ. Effect of date (*Phoenix dactylifera* L.) pits on the shelf life of beef burgers. *Foods* 2020;9(1):102-116.
24. Jully KMM Toto CS, Were L. Antioxidant effect of spent, ground, and lyophilized brew from roasted coffee in frozen cooked pork patties. *LWT-Food Sci Technol* 2015;66:244-251.
25. Lin C, Toto C, Were L. Antioxidant effectiveness of ground roasted coffee in raw ground top round beef with added sodium chloride. *LWT-Food Sci Technol* 2015;60(1):29-35.
26. Beghelli D, Cosmo AD, Faeti V, Lupidi G, Bailetti L, Cavallucci C, Polidori P. *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. aqueous extracts in growing-finishing pig nutrition: effects on antioxidant status, immune responses, polyphenolic content and sensorial properties. *J Food Res* 2019;8(2):90-99.
27. Vargas-Sánchez RD, Torrescano-Urrutia GR, Torres-Martínez BDM, Pateiro M, Lorenzo JM, Sánchez-Escalante A. Propolis extract as antioxidant to improve oxidative stability of fresh patties during refrigerated storage. *Foods* 2019;8(12):614.