



# **ESTUDIO DE LOS POLIFENOLES DEL TEGUMENTO DE DOS VARIEDADES DE MANÍ, RUNNER Y VIRGINIA, Y SU USO COMO CONSERVANTE DE ALIMENTOS**

**Mgter Licenciada María Guillermina Barrionuevo**

## **Comisión Asesora de Tesis**

**Director:** Dra. Valeria Nepote \_\_\_\_\_

**Co-Director:** Dr. Nelson R. Grosso \_\_\_\_\_

**Asesor:** Dra. Claudia M. Asensio \_\_\_\_\_

## **Tribunal Examinador de Tesis**

Dra. Claudia M. Asensio \_\_\_\_\_

Dr. Damián Maestri \_\_\_\_\_

Dra. María José Martínez \_\_\_\_\_

## **Presentación Formal Académica**

16 de septiembre de 2022

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Universidad Nacional de Córdoba



## Agradecimientos

A mis dos pilares los que estuvieron en cada momento de mi formación académica de posgrado. A Rubén por creer y confiar en mí, por su calidad de persona, por darme tantas oportunidades, por permitirme aprender a su lado, por su gran humildad, “humildad que sólo los GRANDES tienen”. ¡No sabes cuánto ayudó todo eso! Gracias por permitirme conocer a Vale. Gracias Vale, mi directora de tesis, mi amiga, compañera. Por tantas cosas compartidas. Cuántas cosas hemos vivido, cuántas cosas nos han pasado, Gracias por ayudarme tanto en este trabajo, sin vos hubiera sido difícilísimo. Gracias infinitas, hoy no encuentro palabras para expresar todo lo quiero decirte y agradecerte. Siempre en mi corazón.

Gracias a mis hijos, por ser lo mejor que me pasó en la vida, mi gran doctorado! Gracias Augusto de mi corazón, por tus “...dale ma, tenés que terminar eso...” “...que suerte, que bien mami...” “...no queda nada ya...”. Delfi, hija de mi alma, gracias, por tanto, por tu escucha, por tus “...ya está mami, ya queda menos...”, por tus buenos días, de todos los días, gran oxígeno que me permite continuar y sentirte cerquita. Tade, mi Toto, tus “...bien ma... que bueno ma...”; de pocas palabras, pero esas me llagan a lo más profundo de mi corazón. Cómo me hubiera gustado que estén aquí, pero feliz de que estén allí. Aprovecho esta oportunidad para decirles nuevamente que son lo más importante que tengo en la vida. Gracias a Agustina también, a quien considero una hija, te adoro; a Martín otro hijo adquirido que también he aprendido a querer; a Beni, el amor más puro. ¡¡Los extraños tanto, tantísimo!!

A mis padres, por acompañarme en cada momento y situación, en los momentos más felices y en los mas tristes; en los logros y en las derrotas. Cada uno a su modo, como puede y quiere. Eternamente agradecida.

A mis amigas del alma, Mabel y Ara. Gracias por tanta compañía, por sus sonrisas, por sus hombros. ¡¡¡Qué haría sin ustedes!!! Cubren mis espacios más oscuros y mis días más soleados. Gracias por tanta ayuda en este tirón que fue largo, muy largo. Me hicieron el camino más agradable. Sólo decirles que estoy eternamente agradecida por haberme elegido como amiga, yo les cuento que las elegí antes de conocerlas. Las quiero con toda mi alma.

A Valeria, Vale Vera, mi psicóloga, por ser “una pieza” tan importante en el rompecabezas de mi vida. Por permitirme desanudar lo anudado, por señalar mi camino que estaba tan cerquita y costaba verlo. Una gran persona. Gracias por tu ayuda.

A mis compañeras del laboratorio, Marianita gracias por tu ayuda, por brindarme todo tu conocimiento por tu humildad y predisposición. Patito gracias también por ser tan amable y facilitarme las soluciones a mis dudas, preguntas, por explicarme tan bien la técnica del DPPH que tanto costaba interpretar. Paula querida, colega, siempre recurriendo por dudas, y siempre dispuesta a responderlas. Gracias Claudia, aún recuerdo cuando hacíamos las técnicas de antioxidantes tantas veces repetidas, cuánta sabiduría que no quería desperdiciar ni un minuto. Gracias Ceci, fue hermoso haberte conocido.

Gracias a todos los presentes y ausentes. A todos los que me quieren bien, amigos, familia, conocidos, colegas, a todos los que se alegran con mis triunfos, a todos los que me quieren de corazón.

A mis mascotas, esa mezcla de los tuyos, los míos, los nuestros, los que se llevaron, los que me dejaron. Ellos que me acompañan con el amor más genuino, con una lealtad que estremece.

¡A ella, a mi Mac! Mi mano derecha y mi mano izquierda; mi mente y mi cuerpo entero. Gracias por ser tan fiel, se valora, ¡¡¡¡¡LO LOGRAMOS!!!!!!

Y por último gracias a la VIDA, por ser siempre tan generosa conmigo, por permitirme brillar con luz propia.

## **Dedicatoria**

Para Delfi, Tade y Augusto,  
otro modo sutil de demostrarles que se puede, los adoro!

Para Beba y Noni,  
por supuesto, mis triunfos siempre les pertenecen, gracias por tanto!

Camina, siempre camina. En tu plenitud da mil pasos,  
en tus angustias al menos unos centímetros, no dejes de  
caminar.

De los momentos mas complicados nacen grandes  
proyectos.

Camina, aunque cueste, ya empezarás a trotar y sin  
darte cuenta te encontrarás en tu mejor estado.

Hoy..., toca correr.

MGB

## RESUMEN

El tegumento es un residuo de la industria de blanchado de maní que posee importantes cantidades de polifenoles con actividad antioxidante y con potencial para ser aplicado como conservante natural en alimentos. El objetivo general de este trabajo fue evaluar la actividad antioxidante y antimicrobiana de polifenoles del tegumento de dos variedades de maní argentino, Runner y Virginia, sobre alimentos. Se obtuvieron extractos polifenólicos de los tegumentos, se determinaron rendimientos y composición química. Se evaluó la actividad antioxidante de ambos extractos utilizando técnicas *in vitro* (capacidad de captura de radicales libres por DPPH, de radicales hidroxilos, actividad quelante de ion ferroso, ensayo ABTS, prueba de oxidación acelerada a 60 °C y Rancimat utilizando aceite de girasol como sustrato). Se aplicaron los extractos de tegumento de maní en un alimento cárnico: salchichas tipo Frankfurt. Se elaboraron 7 tratamientos de salchichas: control sin aditivos (C), con agregado de los extractos (R y V), con aceite esencial de orégano (O), con extractos y aceite esencial (OR y OV), y como referencia salchicha (F) con aditivos comerciales (nitratos/nitritos, entre otros). Se evaluó el efecto del agregado de los compuestos naturales sobre las características químicas, microbiológicas y sensoriales de los productos elaborados, y durante su almacenaje. Los datos (n=3) se analizaron estadísticamente mediante ANOVA, test posterior LSD ( $\alpha=0,05$ ), análisis de correlación y regresión. El tegumento Runner presentó mayor proporción de cenizas y lípidos, y menor porcentajes de hidratos de carbono que el Virginia. El tegumento Virginia tuvo superiores rendimientos de extracción, contenidos de fenoles y flavonoides totales, y mayores cantidades de compuestos polifenólicos particulares (procianidinas, ácido coutárico, entre otros) que el tegumento Runner. Los compuestos polifenólicos predominantes encontrados en los extractos de ambos tegumentos fueron: ácido cis-/trans-coutárico, dímero de procianidina tipo A y ácido malonil cafeoil quínico. Ambos extractos tuvieron actividad antioxidante en las diferentes técnicas *in vitro*. El extracto de tegumento Virginia presentó mayor actividad secuestrante de radical DPPH y en el ensayo ABTS, pero menor actividad secuestrante de radicales hidroxilos, que el extracto Runner, sin diferencias entre ellos en cuanto a su actividad quelante del ion ferroso. En el estudio de almacenaje de aceite de girasol a 60 °C los extractos de tegumentos Runner y Virginia demostraron actividad antioxidante similar y cercana al antioxidante sintético (BHT). Mayores contenidos de polifenoles se relacionaron con mejores propiedades antioxidantes evaluadas mediante ABTS, DPPH y en Rancimat, mientras que mayores contenidos en flavonoides se relacionaron con mejores propiedades antioxidantes sobre aceite de girasol almacenado en condiciones de oxidación acelerada. Los resultados del ensayo sobre salchichas tipo Frankfurt indican que estos compuestos naturales tienen efectos positivos en la prevención del deterioro químico y microbiológico del producto durante el almacenamiento. En general, la combinación de los extractos con el aceite esencial de orégano tuvo mejores propiedades conservantes que los aditivos comerciales. Además, los consumidores aceptaron las salchichas con aditivos naturales, aunque prefirieron al producto comercial debido al color que aporta la presencia de nitratos/nitritos. Los productos con aditivos naturales no se diferenciaron del comercial en cuanto a otros atributos sensoriales importantes característicos como sabor salchicha, gustos básicos, factores de sensación y textura. Los resultados sugieren que ambos extractos de tegumento de maní, Runner y Virginia, combinados con aceite esencial de orégano, poseen propiedades conservantes y pueden ser utilizados para reemplazar a los aditivos comerciales en este tipo de producto y similares alimentos.

**Palabras Clave:** tegumento de maní, polifenoles, antioxidantes, salchicha tipo Frankfurt.

## ABSTRACT

Peanut skins are a residue from the blanching industry having significant amounts of polyphenols with antioxidant activity and with potential applications as natural food preservatives. The objective of this study was to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of polyphenol extracts in different food systems. Polyphenolic extracts (PSE) were obtained from the seed coats of two Argentine peanut varieties: Runner (R) and Virginia (V). Firstly, it was determined the extract yields and chemical composition, and the antioxidant activity of both extracts (R-PSE and V-PSE) was evaluated by different in vitro techniques (free radical scavenging capacity by DPPH, hydroxyl radicals, ferrous ion chelating activity, ABTS assay, accelerated oxidation tests at 60 °C, and Rancimat). Secondly, both R-PSE and V-PSE were applied to a meat food: Frankfurt-type sausages. Seven treatments were prepared: control sample (C: without additives); sausage with commercial additives (F); with oregano essential oil (O); with Runner-PSE (R); with Virginia-PSE (V); with O and Runner-PSE (OR), and with O and Virginia-PSE (OV). Consumer tests and general composition analyses were performed on the fresh products (sausages without storage). On the other hand, sausages were stored at 4 °C for 37 days and samples were extracted at days 0, 12, 23, and 37 for microbiological, chemical (peroxide value and conjugated dienes), and sensory descriptive analysis. Data were statistically analyzed using ANOVA, LSD ( $\alpha=0.05$ ), correlation and regression analyses. Runner skins showed higher proportion of ash and lipids, and lower carbohydrates than Virginia. Virginia had higher extraction yield, total phenol and flavonoid contents, and higher amounts of polyphenolic compounds (procyanidins, coumaric acid, among others) than Runner skin. The predominant polyphenolic compounds in both extracts were cis-/trans-coumaric acid, type A procyanidin dimer and malonyl caffeoyl quinic acid. Both extracts had antioxidant activity in different in vitro techniques. V-PSE showed higher DPPH radical scavenging and ABTS activity, lower hydroxyl radical scavenging, and similar ferrous ion chelating activity than the R-PSE. Both extracts showed similar antioxidant effect to synthetic antioxidant (BHT). When examined on sunflower oil under accelerated oxidation conditions (60 °C). Higher polyphenol contents were correlated with higher antioxidant activities in DPPH, ABTS, and Rancimat assays, while higher flavonoid contents were associated with higher antioxidant activity in the accelerated oxidation test. The results from the storage study of sausages with PSE and oregano essential oil indicated that these natural compounds had positive effects on preventing chemical and microbiological deterioration during storage. In general, the treatments with natural additives had less microbiological and chemical deterioration compared to the control sample. All sausages had low fat content and good color, flavor, and texture acceptance scores by consumers. The absence of commercial additives (nitrite, nitrate, and other compounds) affected the sausage color, reducing the consumer's acceptance. The results suggest Runner and Virginia peanut skin extracts and oregano essential oil can replace commercial additives as preservatives in sausages and in other foods.

**Keywords:** peanut skins, polyphenols, antioxidants, sausages

# TABLA DE CONTENIDO

<b>Agradecimientos</b> .....	<b>iii</b>
<b>Dedicatoria</b> .....	<b>v</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>TABLA DE CONTENIDO</b> .....	<b>viii</b>
<b>Lista de Tablas</b> .....	<b>xv</b>
<b>Lista de Figuras</b> .....	<b>xvii</b>
<b>Lista de Abreviaturas</b> .....	<b>xx</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>1</b>
<b>INTRODUCCCIÓN GENERAL</b> .....	<b>1</b>
<b>ALIMENTOS</b> .....	<b>1</b>
<i>Características y composición química de los alimentos</i> .....	<i>1</i>
<i>Reacciones de deterioro de los alimentos</i> .....	<i>1</i>
<i>Reacciones de oxidación de los lípidos</i> .....	<i>2</i>
<i>Métodos de conservación de alimentos</i> .....	<i>5</i>
<b>ANTIOXIDANTES</b> .....	<b>6</b>
<i>Tipos de antioxidantes</i> .....	<i>8</i>
Antioxidantes sintéticos .....	9
Antioxidantes naturales .....	9



<b>COMPUESTOS FENÓLICOS NATURALES.....</b>	<b>11</b>
<i>No-flavonoides.....</i>	<i>11</i>
<i>Flavonoides .....</i>	<i>16</i>
<b>POLIFENOLES Y SALUD .....</b>	<b>22</b>
<b>TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE</b> <b>.....</b>	<b>23</b>
<i>Métodos TAH.....</i>	<i>24</i>
<i>Métodos TES.....</i>	<i>25</i>
<b>COMPUESTOS ANTIMICROBIANOS .....</b>	<b>26</b>
<b>ALIMENTOS CÁRNICOS EMBUTIDOS.....</b>	<b>27</b>
<i>SALCHICHAS TIPO FRANKFURT.....</i>	<i>28</i>
Ingredientes de los embutidos cárnicos cocidos.....	30
Uso de antioxidantes naturales en productos cárnicos .....	34
<b>EL MANÍ.....</b>	<b>36</b>
<i>Características y variedades .....</i>	<i>36</i>
<i>Tipos comerciales de maní.....</i>	<i>37</i>
<i>Composición química del maní .....</i>	<i>39</i>
<i>Producción y consumo de maní.....</i>	<i>41</i>
<i>Tegumento de maní .....</i>	<i>45</i>
Actividad antioxidante del tegumento de maní.....	46

Usos del tegumento de maní como ingrediente de alimentos de consumo humano y animal .....	49
Actividad biológica y efectos en la salud del tegumento de maní .....	50
Propiedades antimicrobianas del tegumento de maní .....	51
<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>54</b>
<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>54</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>54</b>
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>56</b>
<b>OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE TEGUMENTOS DE MANÍ RUNNER Y VIRGINIA .....</b>	<b>56</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>56</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>59</b>
<b>MATERIALES .....</b>	<b>59</b>
<b>MÉTODOS.....</b>	<b>59</b>
<i>Obtención de los tegumentos de maní.....</i>	<i>59</i>
<i>Obtención de los extractos de tegumento de maní .....</i>	<i>59</i>
<i>Rendimiento de extracción .....</i>	<i>59</i>
<i>Composición química general.....</i>	<i>60</i>
Composición química de los extractos y tegumentos .....	60
Humedad. ....	60
Materia grasa .....	60

Proteínas.....	60
Cenizas.....	60
Hidratos de carbono.....	61
Contenido de polifenoles totales .....	61
Contenido de flavonoides totales .....	61
<i>Identificación y cuantificación de polifenoles.....</i>	<i>62</i>
<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</i>	<i>63</i>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>63</b>
<i>Rendimiento de extracción.....</i>	<i>63</i>
<i>Composición química general.....</i>	<i>64</i>
<i>Identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos de los extractos.....</i>	<i>66</i>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>71</b>
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>72</b>
<b>ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS POLIFENOLICOS DE TEGUMENTOS DE MANÍ RUNNER Y VIRGINIA .....</b>	<b>72</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>72</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>75</b>
<b>MATERIALES.....</b>	<b>75</b>
<b>MÉTODOS.....</b>	<b>75</b>
<i>Actividad antioxidante de los extractos de tegumento de maní.....</i>	<i>75</i>
<i>Actividad secuestrante de radicales libres por DPPH .....</i>	<i>75</i>

Actividad quelante de ion ferroso .....	76
Capacidad de capturar radicales hidroxilos .....	76
Ensayo ABTS .....	77
<i>Pueba de oxidación acelerada: método Rancimat</i> .....	78
<i>Prueba de oxidación acelerada (Test de oven)</i> .....	78
Índice de Peróxidos .....	79
Dienos Conjugados.....	79
Análisis de volátiles de oxidación: determinación de hexanal.....	79
<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</i> .....	80
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>81</b>
<i>Actividad secuestrante de radicales libres (DPPH), quelante de ion ferroso (Fe<sup>2+</sup>), secuestrante de radicales hidroxilos (·OH) y ensayo ABTS.....</i>	<i>81</i>
<i>Prueba de oxidación acelerada (Test de oven)</i> .....	<i>84</i>
<i>Análisis de correlación entre variables dependientes.....</i>	<i>89</i>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>92</b>
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>93</b>
<b>APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS POLIFENÓLICOS EN SALCHICHAS TIPO FRANKFURT. CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS, QUÍMICOS Y SENSORIALES DURANTE EL ALMACENAMIENTO.....</b>	<b>93</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>93</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>97</b>
<b>MATERIALES .....</b>	<b>97</b>

<b>MÉTODOS.....</b>	<b>97</b>
<i>Obtención del aceite esencial de orégano y análisis de su composición.....</i>	<i>97</i>
<i>Elaboración y almacenaje de las salchichas tipo Frankfurt.....</i>	<i>98</i>
<i>Análisis químicos de los productos frescos.....</i>	<i>99</i>
Composición química general.....	99
Composición de ácidos grasos.....	99
<i>Análisis microbiológico de los productos durante el almacenaje.....</i>	<i>100</i>
<i>Análisis químico de los productos durante el almacenaje.....</i>	<i>100</i>
<i>Análisis sensorial de los productos.....</i>	<i>100</i>
Pruebas afectivas sobre productos frescos: aceptabilidad y preferencia.....	100
Pruebas descriptivas sobre los productos durante el almacenaje.....	102
<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</i>	<i>106</i>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>106</b>
<i>Composición del aceite esencial de orégano.....</i>	<i>106</i>
<i>Composición química de las sachichas frescas.....</i>	<i>107</i>
Composición química general.....	107
Composición de ácidos grasos.....	108
<i>Aceptabilidad y preferencia por parte de los consumidores de los productos frescos.....</i>	<i>109</i>
<i>Análisis microbiológicos de los productos durante el almacenaje.....</i>	<i>112</i>
<i>Análisis químicos de los productos durante el almacenaje.....</i>	<i>113</i>
<i>Análisis sensorial descriptivo de los productos durante el almacenaje.....</i>	<i>116</i>

<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>121</b>
<b>CAPITULO V .....</b>	<b>122</b>
<b>CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>122</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>127</b>

## **Lista de Tablas**

<b>Tabla 1.1 Composición de ácidos grasos de maní Runner de dos cultivares: Tegua y Granoleico. ....</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 1.2 Principales países exportadores de maní (Fuente: D'Angelo et al., 2021). .</b>	<b>44</b>
<b>Tabla 2.1 Composición química general, fenoles y flavonoides totales de los tegumentos y extractos de las variedades Runner y Virginia (medias <math>\pm</math> desvío estándar, n= 3). ....</b>	<b>64</b>
<b>Tabla 2.2. Contenido (<math>\mu\text{g}/\text{mg}</math> de extracto) de compuestos polifenólicos en los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia identificados por HPLC-MS/MS (medias y desvíos estándar, n = 3).....</b>	<b>69</b>
<b>Tabla 3.1. Valores de los indicadores de actividad antioxidante de los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia (media <math>\pm</math> desvío estándar, n = 3)..</b>	<b>81</b>
<b>Tabla 3.2. Coeficientes de regresión lineal simple (media y error estándar, n = 3) para los datos de índice de peróxido (IP) y dienos conjugados (DC) de las muestras de aceite de girasol Control y adicionado con BHT y con los extractos de maní Runner y Virginia, almacenadas a 60 °C, representados en las Figuras 3.2 y 3.3. ....</b>	<b>88</b>
<b>Tabla 3.3. Coeficientes de correlación de Pearson significativos (<math>p &lt; 0,05</math>) entre las variables dependientes analizadas en los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia.....</b>	<b>90</b>
<b>Tabla 4.1. Escala hedónica de nueve puntos utilizada en la prueba sensorial afectiva de aceptabilidad de muestras de salchichas. ....</b>	<b>101</b>
<b>Tabla 4.2. Definición de atributos sensoriales evaluados sobre las salchichas. ....</b>	<b>103</b>
<b>Tabla 4.3. Intensidades de referencias estándares y de muestra warm up utilizados en las pruebas sensoriales descriptivas de muestras de salchichas.....</b>	<b>104</b>

<b>Tabla 4.4 Composición química del aceite esencial de orégano (media <math>\pm</math> error estándar, n = 3).</b> .....	<b>106</b>
<b>Tabla 4.5 Composición química general (media <math>\pm</math> error estándar, n = 3) de las salchichas frescas.</b> .....	<b>108</b>
<b>Tabla 4.6. Composición de ácidos grasos (media <math>\pm</math> error estándar, n = 3) de las salchichas frescas.</b> .....	<b>108</b>
<b>Tabla 4.7. Orden de preferencias (media de ranking, n = 75) de los consumidores por las salchichas a tiempo cero de almacenamiento.</b> .....	<b>111</b>
<b>Tabla 4.8. Intensidad de los atributos sensoriales (media <math>\pm</math> error estándar, n = 3) de las salchichas frescas (día 0 de almacenamiento).</b> .....	<b>117</b>



## **Lista de Figuras**

<b>Figura 1.1 Mecanismo de auto-oxidación.....</b>	<b>4</b>
<b>Figura 1.2 Estructura de antioxidantes sintéticos (Fennema, 2008).....</b>	<b>9</b>
<b>Figura 1.3 Fenol y fenoles simples .....</b>	<b>11</b>
<b>Figura 1.4 ácidos hidroxibenzóicos .....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 1.5 Ácidos hidroxicinámicos.....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 1.6 Cumarinas .....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 1.7 Benzofenona, xantona y resveratrol (estilbeno) .....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 1.8 Quinonas .....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 1.9 Betanidina .....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 1.10 Lignanos.....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 1.11 Ligninas.....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 1.12 Estructura básica de un flavonoide .....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 1.13 Flavononas y flavonoles .....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 1.14 Estructuras de flavonoles y flavonas .....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 1.15 Estructuras de isoflavonas y neoflavonoides .....</b>	<b>19</b>
<b>Figura 1.16 Catequinas .....</b>	<b>20</b>
<b>Figura 1.17 Antocianidinas.....</b>	<b>21</b>
<b>Figura 1.18 Chalconas.....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 1.19 Proceso de elaboración de la salchicha tipo Frankfurt .....</b>	<b>28</b>

<b>Figura 1.20</b>	<b>Planta y semilla de maní.....</b>	<b>37</b>
<b>Figura 1.21</b>	<b>Superficie Sembrada por Provincia y su porcentaje sobre la superficie total (Fuente: SISA, 2020). .....</b>	<b>41</b>
<b>Figura 1.22</b>	<b>Superficie sembrada por departamento, campaña 2019/2020 (Fuente: SISA, 2020).....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 1.23</b>	<b>Maní con piel, blanchado y tegumento de maní.....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 1.24</b>	<b>Cultivares de maní con colores de tegumento claros y oscuros. Fuente: U.S. National Plant Germplasm System (Toomer, 2018).....</b>	<b>48</b>
<b>Figura 2.1.</b>	<b>A: extracto polifenólico del tegumento de maní variedad Virginia. B: extracto polifenólico del tegumento de maní variedad Runner. ....</b>	<b>63</b>
<b>Figura 2.2</b>	<b>Estructuras moleculares de los principales compuestos polifenólicos encontrados en los extractos de tegumentos de maní Runner y Virginia. 70</b>	
<b>Figura 3.1.</b>	<b>Período de inducción (h) (media y desvío estándar, n = 3) e índice de actividad antioxidante (AAI) por Rancimat. ....</b>	<b>84</b>
<b>Figura 3.2.</b>	<b>Índice de peróxidos (media y desvío estándar, n = 3) en función del tiempo de almacenaje a 60 °C de los tratamientos de aceite de girasol: control, adicionado con BHT y adicionados con extractos de maní Runner y Virginia.....</b>	<b>85</b>
<b>Figura 3.3.</b>	<b>Dienos Conjugados (media y desvío estándar, n=3) en función del tiempo de almacenaje a 60 °C de los tratamientos de aceite de girasol: control, adicionado con BHT y adicionados con extractos de maní Runner y Virginia.....</b>	<b>86</b>
<b>Figura 3.4.</b>	<b>Contenido de hexanal (media y desvío estándar, n = 3) en función del tiempo de almacenaje a 60 °C de los tratamientos de aceite de girasol: control, adicionado con BHT y adicionados con extracto de maní Runner y Virginia. .....</b>	<b>88</b>

<b>Figura 4.1. A recipientes codificados con tres dígitos con las muestras de salchichas a evaluar. B cabina sensorial, rodajas de cada tratamiento a evaluar. ....</b>	<b>105</b>
<b>Figura 4.2. Tratamientos de las salchichas tipo Frankfurt: WU: warm-up; T1: control; T2; Frankfurt; T3: Runner; T4: Virginia; T5: Orégano; T6: Orégano-Runner; T7: Orégano-Virginia. ....</b>	<b>105</b>
<b>Figura 4.3. Aceptabilidad (medias y errores estándar, n = 75) del color, sabor y textura de los tratamientos de salchichas (C: control, F: Frankfurt, R: Runner, V: Virginia, O: Orégano, OR: Orégano-Runner, OV: Orégano-Virginia) medidos en una escala hedónica de 9 puntos, a tiempo 0 de almacenamiento. ....</b>	<b>111</b>
<b>Figura 4.4. Análisis microbiológico (bacterias aerobias mesófilas totales) en muestras de salchichas durante el almacenamiento a 4 °C. Medias y errores estándar (n = 3).....</b>	<b>113</b>
<b>Figura 4.5. Medias y errores estándar (n = 3) del índices de peróxido de las muestras de salchicha durante el almacenamiento a 4 °C. ....</b>	<b>115</b>
<b>Figura 4.6. Medias y errores estándar (n = 3) de los dienos conjugados de las muestras de salchicha durante el almacenamiento a 4 °C. ....</b>	<b>115</b>
<b>Figura 4.7. Medias y errores estándar de intensidad de color (, n = 3) evaluado en las muestras de salchichas durante el almacenaje a 4 °C.....</b>	<b>119</b>
<b>Figura 4.8. Medias y errores estándar de intensidad de sabor orégano (, n = 3) evaluado en las muestras de salchichas durante el almacenaje a 4 °C. ....</b>	<b>120</b>
<b>Figura 4.9. Medias y errores estándar de intensidad de sabor salchicha (, n = 3) evaluado en las muestras de salchichas durante el almacenaje a 4 °C. ....</b>	<b>120</b>

## Lista de Abreviaturas

$^{\circ}\text{C}$  = grados centígrados

$\mu\text{g/mL}$  = microgramo/mililitro

$\mu\text{L}$  = microlitro

$\mu\text{m}$  = micrómetro

$\mu\text{mol}$  = micro molar

**16:0** = Ácido Palmítico

**18:0** = Ácido Estéarico

**18:1** = Ácido Oleico

**18:2** = Ácido Linoleico

**18:3** = Ácido Linolénico

$^1\text{O}_2$  = Oxígeno singlete

$A_{(\text{DPPH})}$  = absorbancia de la solución de DPPH con el extracto o fracción de tegumento de maní.

$A_{(\text{muestra})}$  = absorbancia de la reacción con el extracto o fracción de tegumento de maní.

$A_0(\text{DPPH})$  = absorbancia de la solución de DPPH.

$A_{(\text{control})}$  = absorbancia de la reacción.

**AAI** = Índice de Actividad Antioxidante

**ABTS** = 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6- sulphonic acid

**AC** = Análisis de Conglomerados

**ACP** = Análisis de Componentes Principales

**ADN** = Ácido Desoxiribonucleico

**AG** = Ácidos grasos

**ATCC** = American Type Culture Collection

**AV** = Análisis de volátiles de oxidación

**BHA** = Butil-hidroxianisol

**BHT** = Butil-hidroxitolueno

**C** = Control

**CAA** = Código alimentario argentino

**CBM** = Concentración Bactericida Mínima

**CIM** = Concentración Inhibitoria Mínima

**COI** = Consejo Oléicola Internacional

**CP** = Componentes Principales

**DC** = Dienos Conjugados

**DPPH** = radical 2,2-difenyl-1-picrilhidrazil

**EAG** = Equivalente Acido Gálico

**EDE** = Energía de disociación del enlace

**EDTA** = Etilen diamino tetra acético

**EDTA** = Ácido etilen-diamino-tetra acético

**EE** = Error estándar

**EMAG** = Esteres metílicos de ácidos grasos

**EQ** = Equivalente Quercetina

**ERO** = Especies Reactivas al Oxígeno

**F** = Frankfurt

**F-C** = Follin-Ciocalteau

**FDA** = Food and Drug Administration

**Fe<sup>2+</sup>** = Ion ferroso

**g/L** = gramos/litro

**g** = gramos

**GC** = Cromatógrafo de gases

**GC-MS** = Cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masa

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** = Peróxido de hidrógeno

**HCl** = ácido clorhídrico

**HP** = Hidroperóxidos

**HPLC** = Cromatografía Líquida de Alta Eficacia

**hs** = horas

**IC<sub>50</sub>** = concentración inhibitoria 50%

**IP** = Índice de Peróxidos

**L/h** = litro/hora

**L/min** = litro/minuto

**LDL** = lipoproteínas de baja densidad

**m/z** = relación masa/carga

**M** = molar

**meq O<sub>2</sub> / kg** = mili equivalente de oxígeno / kilogramo

**mg/g** = miligramo/gramo

**mg/g** = miligramo/gramo

**min** = minuto

**mL** = mililitro

**mL/min** = mililitro/minuto

**mm** = milímetro

**mM** = milimolar

**MS** = Masa

**N°** = número

**nc** = no cuantificado

**nd** = no detectado

**nm** = nanómetro

**O<sub>2</sub>** = Anión superóxido

**O** = Orégano

**OH<sup>·</sup>** = Radical hidroxilo

**OMS** = Organización Mundial de la Salud

**OR** = Orégano Runner

**OV** = Orégano Virginia

**p/p** = porcentaje peso/peso

**p/v** = porcentaje peso/volumen

**PG** = Propil galato

**PI** = potencial de ionización

**R** = Runner

**R<sup>·</sup>** = radicales libres

**ROO<sup>·</sup>** = radical peróxido

**ROOH** = hidroperóxido

**ROSS** = especies reactivas del oxígeno

**T** = tratamiento

- TAH** = Transferencia de átomos de hidrogeno
- TBHQ** = Terbutil-hidroxiquinona
- TES** = Transferencia de un electrón simple
- TG** = Triglicéridos
- TMAB** = Recuento total de bacterias aeróbias mesófilas
- TSA** = Triptone Soya Agar
- U/mL** = Unidades/mililitro
- UFC** = Unidades Formadoras de Colonias
- V**= Virginia
- v/v** = porcentaje volumen/volumen
- WU** = warm-up



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### ALIMENTOS

#### Características y composición química de los alimentos

Desde el punto de vista químico, todos los alimentos poseen componentes mayoritarios, dentro de los cuales podemos mencionar al agua, las proteínas, los lípidos, y los carbohidratos. Por otro lado, también poseen componentes minoritarios, pero con gran importancia también para la nutrición, como por ejemplo las vitaminas, minerales, entre otros (Fennema, 2008).

El valor nutricional de un alimento y sus atributos sensoriales, es decir, el sabor, el aroma y la textura están determinados por su composición química. Pero en definitiva es el consumidor quién tiene la decisión final sobre lo que considera “calidad” de un determinado producto, de aquí la importancia que se les da a los aspectos organolépticos de un alimento.

#### Reacciones de deterioro de los alimentos

Muchas reacciones determinan el deterioro de la calidad del alimento o afectan su inocuidad (Fennema, 2008). Algunas de las más importantes de estas reacciones son:

- Pardeamiento no enzimático
- Pardeamiento enzimático
- Hidrólisis lipídica
- Oxidación lipídica
- Desnaturalización proteica
- Entrecruzamiento proteico
- Hidrólisis de oligo y polisacáridos
- Hidrólisis proteica
- Síntesis de polisacáridos
- Degradación de pigmentos naturales
- Cambios glicolíticos

En cada reacción están implicados distintos mecanismos y substratos, dependiendo del alimento y las condiciones de procesado y almacenamiento. Cada tipo de compuesto sufre un tipo de deterioro característico.

## **Reacciones de oxidación de los lípidos**

Los lípidos son un grupo de compuestos químicamente diferentes pero que comparten una característica común: su baja polaridad e insolubilidad en agua. Los lípidos alimentarios son llamados grasas (sólidos) y aceites (líquidos) indicando esta denominación su estado físico a temperatura ambiente. El contenido total en lípidos de los alimentos y su composición, varían ampliamente y juegan un papel muy importante en la calidad de los alimentos, contribuyendo a atributos como la textura, sabor, capacidad nutritiva, valor calórico. Los componentes mayoritarios de los lípidos son los ácidos grasos que se clasifican generalmente en saturados e insaturados, conteniendo estos últimos uno o más dobles enlaces. Alrededor del 99% de los ácidos grasos encontrados en plantas y animales están esterificados al glicerol. La longitud de cadena de la mayoría de estos compuestos naturales oscila entre 14 y 24 átomos de carbono, pero algunas grasas poseen ácidos grasos con menos de 14 átomos de carbono, encontrándose niveles significativos de estos compuestos de cadena corta principalmente en el aceite de coco y grasas lácteas (Fennema, 2008).

Entre las principales causas de deterioro químico de los lípidos se encuentran las reacciones de oxidación. El término oxidación lipídica, generalmente se usa para referirse a una secuencia de transformaciones que ocurren debido a la interacción de los lípidos con el oxígeno. Durante este proceso los ácidos grasos tanto los esterificados (acilglicéridos y fosfolípidos) como los no esterificados (ácidos grasos libres) se descomponen generando moléculas pequeñas volátiles responsables de la rancidez oxidativa.

La oxidación lipídica puede ocurrir a través de tres mecanismos principales: auto-oxidación, oxidación fotosensible y oxidación catalizada por enzimas.

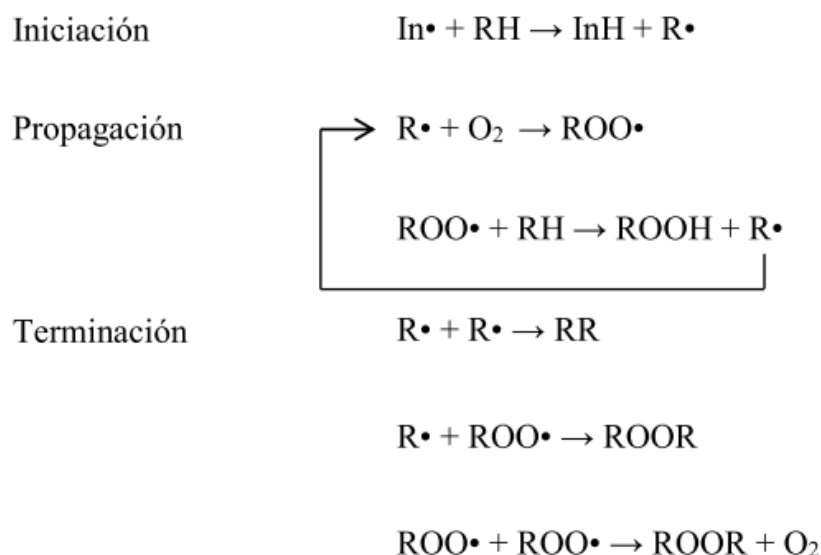
**Auto-oxidación.** Es una reacción en cadena mediada por radicales libres en la cual los ácidos grasos insaturados son atacados por el oxígeno molecular para formar radicales libres y una serie de otros productos de oxidación que afectan severamente el sabor, la

textura, la seguridad y la calidad nutricional de los alimentos. La auto-oxidación se produce en tres etapas: *iniciación* (formación de radicales libres), *propagación* (reacción en cadena de los radicales libres) y *terminación* (formación de especies no radicales) (**Figura 1.1**) (Ballard, 2008).

La *iniciación* comienza con la sustracción de un hidrógeno de un ácido graso con la formación posterior de un radical alquilo. Este radical libre se estabiliza por deslocalización a través del o los dobles enlaces, dando como resultado un doble enlace móvil que en el caso de ácidos grasos poliinsaturados llevan a la formación de dobles enlaces conjugados. Esta movilidad produce enlaces dobles en las configuraciones *cis* o *trans* predominando esta última a causa de su mayor estabilidad.

En la fase de *propagación* el primer paso corresponde a la adición de oxígeno al radical alquílico. El oxígeno posee dos electrones con el mismo spin. Los radicales libres del oxígeno triplete poseen baja energía y no originan una extracción de hidrógeno. Ambos no pueden coexistir en un mismo radical, por tal motivo, uno de ellos se une a un radical alquilo a través de un enlace covalente. El otro electrón del oxígeno triplete, queda libre, generando el radical resultante denominado radical peroxilo ( $\text{LOO}^\bullet$ ). La alta energía de estos radicales permite sustraer un hidrógeno de una molécula. La adición de un hidrógeno a un radical peroxilo, da como resultado la formación de un hidroperóxido de ácido graso ( $\text{LOOH}$ ) y la formación de un nuevo radical alquilo. De este modo la reacción se propaga de un ácido graso a otro.

En la etapa de *terminación*: se combinan dos radicales para formar especies no radicalarias. Bajo condiciones atmosféricas, las reacciones de terminación pueden darse entre radicales peroxilos y alcoxilos.



**Figura 1.1** Mecanismo de auto-oxidación

**Oxidación fotosensible.** La oxidación ocurre por la acción de un agente fotosensibilizante en presencia de luz. Los fotosensibilizadores más comunes en los alimentos incluyen colorantes, clorofila y riboflavina. Durante la foto-oxidación un fotosensibilizador absorbe la luz ultravioleta y llega a un estado excitado. El fotosensibilizador excitado es capaz de transferir esa energía a un átomo basal de oxígeno formando, de este modo, una especie altamente reactiva del oxígeno, el llamado oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ ). Este oxígeno puede atacar directamente los ácidos grasos insaturados haciendo que la foto-oxidación ocurra a un ritmo mucho más rápido que la auto-oxidación (Zeb, 2015). Debido a la preferencia de los consumidores por envases transparentes, muchos industriales los utilizan para conservar los alimentos y crean las condiciones ideales para la exposición de los mismos a la luz, de esta manera se aumenta la probabilidad de daño oxidativo (Vandamme et al., 2015).

**Oxidación enzimática.** La oxidación de lípidos también puede ocurrir por enzimas que catalizan las reacciones que conducen a la generación de radicales libres. El radical anión superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) son los responsables de la oxidación en este tipo de reacciones enzimáticas. Por ejemplo, la enzima superóxido dismutasa cataliza una reacción que transforma el  $\text{O}_2^{\cdot-}$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{O}_2$ . En la reacción de Fenton, los iones metálicos tales como el hierro, reaccionan con el  $\text{H}_2\text{O}_2$  para formar el radical hidroxilo

altamente reactivo ( $\bullet\text{OH}$ ). El  $\bullet\text{OH}$  puede atacar directamente al doble enlace de los ácidos grasos para iniciar el proceso de oxidación (Amiot *et al.*, 1992; Hollman *et al.*, 2011).

Los principales factores que intervienen en las reacciones de oxidación de los lípidos en un alimento son: oxígeno, fuentes de radiación, superficie de contacto, temperatura, actividad de agua, presencia de prooxidantes y antioxidantes.

Los prooxidantes son compuestos que se encuentran en muchos sistemas alimentarios y originan o aceleran la oxidación lipídica, mediante interacciones directas con los ácidos grasos insaturados formando hidroperóxidos lipídicos (lipooxigenasas, oxígeno singlete) o impulsando la formación de radicales libres (metales de transición o luz UV que favorecen la descomposición de hidroperóxidos).

## **Métodos de conservación de alimentos**

Las variables relacionadas al almacenamiento y procesado de los alimentos, que son las responsables de las reacciones químicas son (Fennema, 2008):

- Temperatura (T)
- Tiempo (t)
- Velocidad ( $dT/dt$ )
- pH
- Composición del producto
- Composición de la fase gaseosa que rodea al producto
- Actividad de agua ( $a_w$ ).

Todas estas variables deben ser tenidas en cuenta y controladas rigurosamente durante el procesamiento y almacenamiento, cuando se desea obtener un producto alimenticio, de buena calidad desde el punto de vista nutricional, sensorial, además de ser inocuo.

La preservación de alimentos se basa en la aplicación de tratamientos controlados de modo de evitar el deterioro tanto de la calidad nutricional como sensorial de los mismos.

Con la aplicación de los distintos tratamientos de conservación no solamente se busca evitar el deterioro sensorial acelerado del alimento, sino también mantener la inocuidad, es decir, que no presente contaminantes tóxicos, provenientes del desarrollo de microorganismos o por las reacciones químicas entre los componentes del alimento.

A continuación, se listan los principales métodos para mejorar la conservación de los alimentos:

**a. Métodos físicos:**

- Alta temperatura (tratamiento térmico): cocción (horneado, fritura), pasteurización, esterilización (enlatado, tratamiento aséptico);
- Baja temperatura: refrigeración, congelación;
- Reducción de aw: deshidratación (secado solar, en aire, en vacío, liofilización)
- Otros: materiales de envasado adecuados de acuerdo al alimento, atmósferas modificadas (vacío, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>), radiaciones ionizantes, shock eléctrico (aplicación de pulsos de alto voltaje), presión hidrostática.

**b. Métodos químicos:**

- Disminución aw: agregado de sales, glúcidos, etc., incremento de la concentración etanol (fermentación alcohólica);
- Reducción de pH: acidificación por agregado de ácidos, fermentación láctica o acética;
- Agregado de aditivos conservantes: antioxidantes (BHT, BHA, TBHQ, etc.), antimicrobianos (propionato, benzoato, sorbato, nitritos, sulfitos, antibióticos: nicina, pimaricina, etc.), enzimas (oxidasas, lisozima, glucosa oxidasa-catalasa, etc.).

En general, se prefiere la aplicación combinada de dos o más de los citados métodos de conservación a fin de optimizar costos y efectividad (Fennema, 2008).

## **ANTIOXIDANTES**

El agregado de compuestos antioxidantes es uno de los métodos más difundidos para la conservación de los alimentos.

El término antioxidante se aplica a todas las sustancias que inhiben las reacciones de oxidación, independientemente de su mecanismo de acción (Calomeni et al., 2017). No hay

una definición uniforme de antioxidante ya que existen numerosos mecanismos químicos por los que puede inhibirse la oxidación. La principal aplicación de los compuestos antioxidantes en la industria de los alimentos se orienta al control de los radicales libres responsables de la oxidación de los lípidos.

Los tejidos biológicos a partir de los cuales se obtienen los alimentos contienen por lo general sistemas antioxidantes endógenos. Lamentablemente, a veces el procesado de alimentos puede eliminar antioxidantes o causar una presión oxidativa que sobrepase su capacidad, es por ello que se adicionan antioxidantes exógenos para proteger la oxidación en alimentos procesados. La oxidación de lípidos y la autooxidación son una de las principales causas del deterioro de la calidad y la reducción de la vida útil de los productos alimenticios.

Los mecanismos antioxidantes de los compuestos que se usan para aumentar la estabilidad oxidativa de los alimentos incluyen el control de radicales libres, prooxidantes y productos intermedios de la oxidación.

**Control de radicales libres:** los compuestos secuestrantes de radicales libres (FRS), interaccionan con radicales peroxilo ( $\text{LOO}^*$ ) y alcoxilo ( $\text{LO}^*$ ) siguiendo la siguiente reacción:



La eficacia antioxidante depende de la capacidad de donación de hidrógeno del FRS a un radical libre y de la energía de su radical libre ( $\text{FRS}\cdot$ ). Un  $\text{FRS}\cdot$  eficaz forma radicales libres de baja energía (a causa de la deslocalización por resonancia) que no reaccionan rápidamente con oxígeno para formar hidroperóxidos. Los radicales  $\text{FRS}\cdot$  toman parte en reacciones de terminación con otros  $\text{FRS}\cdot$  radicales lipídicos, formando especies no radicalarias.

Estas sustancias antioxidantes disminuyen el número de radicales libres y por tanto bajan la velocidad de oxidación prolongando el período de inducción (Yuanyuan, 2014).

Los antioxidantes más utilizados en los alimentos son los compuestos fenólicos los cuales poseen muchas propiedades de un FRS eficiente; donan un hidrógeno de sus grupos

hidroxilos originando un radical fenólico de baja energía como consecuencia de la deslocalización electrónica por toda la estructura del anillo fenólico. Dentro de los compuestos fenólicos más comunes en los alimentos se encuentran los tocoferoles, fenoles sintéticos y naturales, ácido ascórbico y tioles.

**Control de prooxidantes:** la velocidad con la que los lípidos se oxidan en un alimento depende de la concentración y de la actividad de los prooxidantes como los metales de transición, oxígeno singlete y las enzimas como las lipooxigenasas (LOX). Dentro de los metales de transición, el hierro y el cobre son ejemplos de prooxidantes que estimulan la descomposición de hidroperóxidos. La actividad se altera con agentes secuestrantes o complejantes como el EDTA, ácido cítrico (contienen múltiples grupos carboxilos) o fosfatos, como polifosfatos y fitato. Los metales prooxidantes pueden controlarse mediante proteínas que los enlazan, tales como la transferrina, fosfitina, lactoferrina, caseína (Fennema, 2008).

**Control de compuestos intermedios de oxidación:** se han encontrado en los alimentos compuestos que influyen indirectamente sobre la velocidad de oxidación lipídica mediante la interacción con metales prooxidantes o con el oxígeno formando especies reactivas. Tal es el caso del anión superóxido que reduce a los metales de transición a un estado más activo y los peróxidos que se descomponen por metales de transición, irradiaciones, temperaturas elevadas, formando radicales libres.

## **Tipos de antioxidantes**

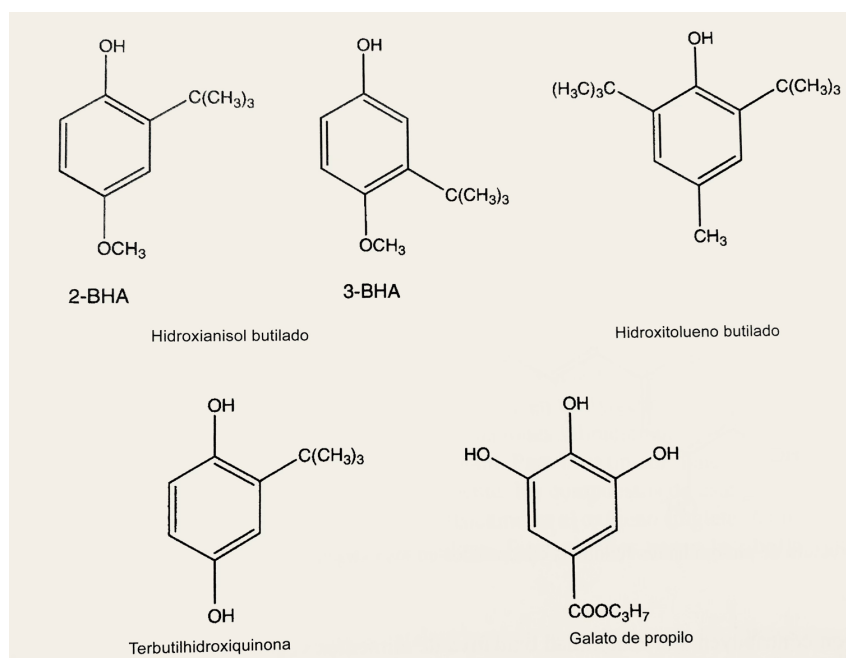
Los antioxidantes son ampliamente aplicados como aditivos en grasas y aceites y durante el procesado y almacenamiento de alimentos para prevenir o retardar el deterioro oxidativo de los lípidos, protegiendo principalmente a los ácidos grasos insaturados (Pokorny et al., 2017). La capacidad antioxidante de los alimentos puede estar afectada por varios factores tales como la solubilización del antioxidante en el sistema alimentario, las interacciones con otros componentes del alimento y las condiciones del alimento en general (pH, fuerza iónica, balance hidrofílico-lipofílico, etc.).

Los antioxidantes pueden clasificarse de acuerdo con su origen en: sintéticos y naturales.



## Antioxidantes sintéticos

La mayoría de los antioxidantes sintéticos son compuestos fenólicos monohidroxilados con uno o más sustituyentes en el anillo. El fenol no es un buen antioxidante, pero la adición de sustituyentes en el anillo mejora su actividad. Estos antioxidantes son compuestos secuestrantes de radicales libres (FRS). Los más usados en alimentos son el hidroxitolueno butilado (BHT) hidroxianisol butilado (BHA), terbutilhidroquinona (TBHQ) y galato de propilo (GP), (**Figura 1.2**).



**Figura 1.2** Estructura de antioxidantes sintéticos (Fennema, 2008).

La toxicología de los antioxidantes sintéticos se ha estudiado con profundidad. Sin embargo, actualmente se está cuestionado el uso de ellos, sobre todo si son consumidos un prolongado período de tiempo. En este sentido los productos naturales se presentan como sustancias más saludables y seguras; desde 1980 son una alternativa frente al uso de los antioxidantes sintéticos (Pokorny et al., 2017).

## Antioxidantes naturales

Los antioxidantes naturales se encuentran presentes en prácticamente todas las plantas, microorganismo, hongos e incluso en los tejidos animales. En casi todos los

alimentos, constituyen componentes minoritarios si se los compara con los macronutrientes como carbohidratos, lípidos y, proteínas. La mayoría son compuestos fenólicos entre los cuales los grupos principales son los tocoferoles, los flavonoides y los ácidos fenólicos.

Los antioxidantes naturales no sólo reducen la oxidación y degradación de los alimentos, sino que también se ha demostrado que su consumo desempeña un papel importante en la prevención de una serie de enfermedades ( Larrauri, 2016).

De acuerdo con sus funciones, los antioxidantes se dividen en: antioxidantes primarios que interrumpen la cadena de radicales cediendo un radical hidrógeno a un radical lipídico; antioxidantes secundarios o antioxidantes preventivos que estimulan la descomposición de hidroperóxidos (Yuanyuan, 2014).

Los antioxidantes primarios tienen la capacidad de donar un átomo de hidrógeno a un radical libre. Se piensa que interactúan principalmente con los radicales peroxilo a causa de su menor energía y mayor tiempo de vida (porque son menos reactivos). Luego de recibir el átomo de hidrógeno, el producto se neutraliza mientras que el antioxidante se convierte en un radical intermedio (más estable) que se estabiliza por resonancia. Dentro de este grupo se encuentran los tocoferoles, fenoles y polifenoles.

Los antioxidantes preventivos o secundarios actúan como agentes secuestrantes de iones metálicos así como también eliminan el oxígeno singlete, peróxidos u otros iniciadores. Los principales complejantes metálicos encontrados en los alimentos contienen múltiples grupos carboxilos (EDTA y ácido cítrico) o fosfatos (polifosfatos y fitato). El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) es un agente quelante de  $Fe^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$  y  $Cu^{+2}$ . La eficacia de los polifosfatos aumenta conforme se incrementa el número de grupos fosfatos. Proteínas como transferrina, fosvitina, lactoferrina, ferritina y caseína, también pueden complejar metales (Fennema, 2008).

Los compuestos sinergistas refuerzan la actividad de los antioxidantes primarios y secundarios inactivando a los iones metálicos o regenerando antioxidantes oxidados. Ejemplos de estos últimos son  $\alpha$ -tocoferol y ácido ascórbico. Este último puede reducir los radicales de  $\alpha$ -tocoferol, restaurando así su capacidad antioxidante.

## COMPUESTOS FENÓLICOS NATURALES

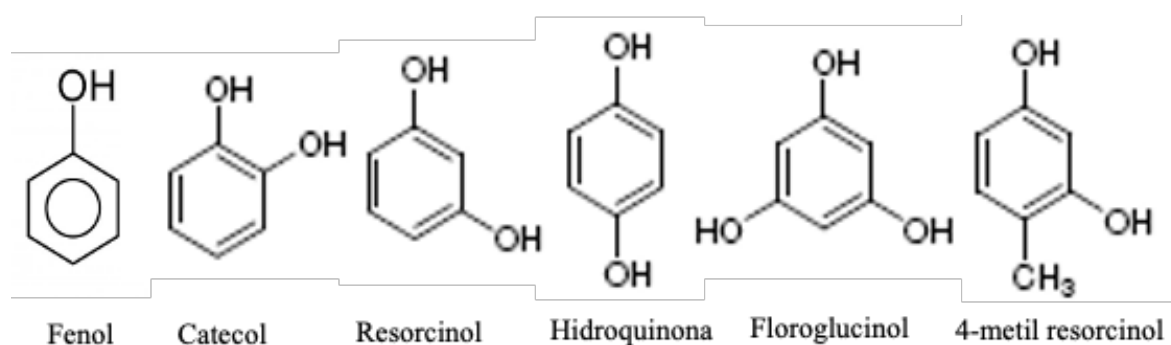
Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas con diversas funciones biológicas. Variadas estructuras químicas caracterizan a este grupo de moléculas. Su amplia distribución, así como su capacidad de captar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno asociadas con enfermedades, perfila a los extractos naturales ricos en compuestos fenólicos como ingredientes que pueden ser utilizados para el desarrollo de nuevos productos en la industria farmacéutica, de alimentos y cosméticos (Valencia Avilés et al., 2017).

Los compuestos fenólicos presentan una estructura molecular similar, caracterizada por tener uno o más anillos aromáticos con al menos un grupo hidroxilo enlazado. Su diversidad estructural implica que existan un amplio grupo de moléculas pertenecientes a este grupo, los cuales van desde estructuras simples hasta compuestos complejos, siendo clasificados de diversas maneras. Los compuestos fenólicos han sido clasificados en dos grandes grupos: flavonoides y no-flavonoides (Valencia Avilés et al., 2017).

### No-flavonoides

El fenol es la molécula básica, compuesta por un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH) (**Figura 1.3**). El anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes.

Los **fenoles simples** son compuestos que tienen dos (posiciones 1,2, 1,3 o 1,4) o tres (en las posiciones 1,3,5 o 1,2,3) grupos hidroxilo en el anillo aromático (**Figura 1.3**).

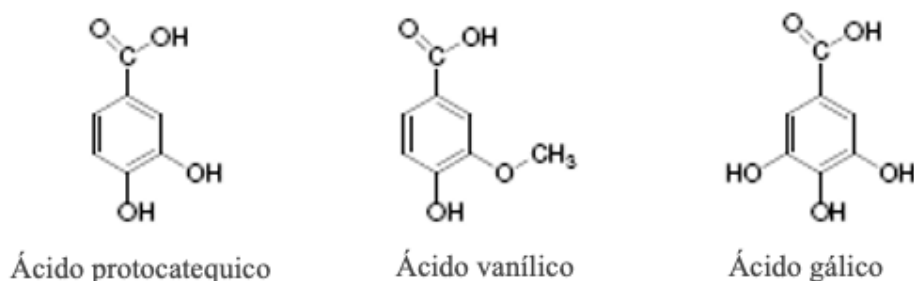


**Figura 1.3** Fenol y fenoles simples

Los derivados del resorcinol son compuestos presentes en muchos cereales, además de tener actividades antioxidantes tienen una actividad biológica importante, como antibióticos, antiparasitarios y citotóxicos.

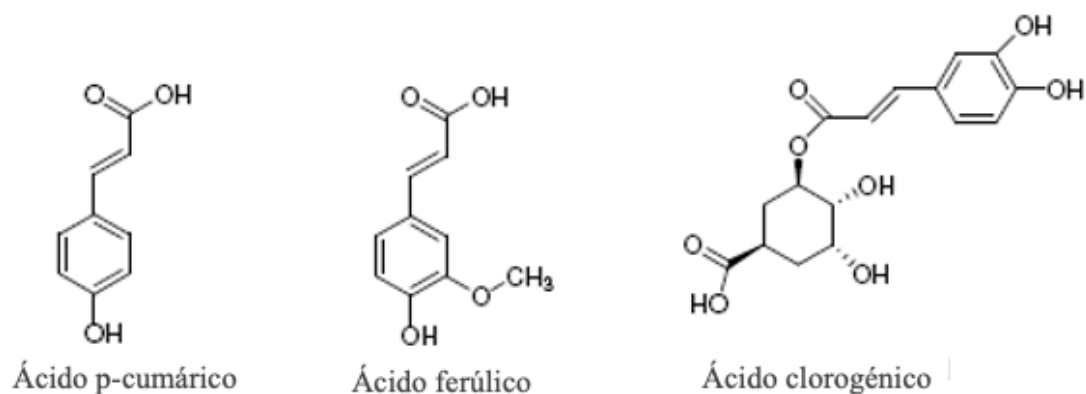
Dentro de los **fenoles ácidos** se encuentran los ácidos hidroxibenzoicos y los ácidos hidroxicinámicos. La presencia de más de un grupo hidroxilo y una mayor separación del grupo carbonilo al anillo aromático aumentan la capacidad antioxidante de estos compuestos. Los ácidos hidroxicinámicos son más efectivos en términos de la actividad antioxidante que los ácidos hidroxibenzoicos (Peñarrieta et al., 2017).

Los ácidos hidroxibenzoicos son compuestos que presentan un grupo carboxílico (grupo ácido) y grupos hidroxilo (uno o más) en un anillo aromático (**Figura 1.4.**) Están presentes en alimentos tales como frutas, verduras y cereales.



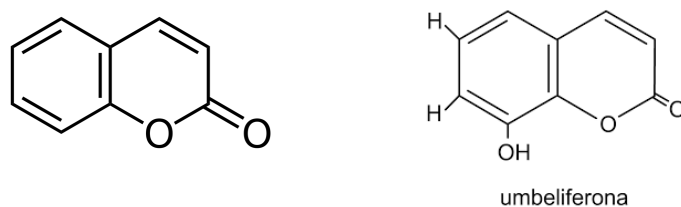
**Figura 1.4** ácidos hidroxibenzoicos

Los ácidos hidroxicinámicos se caracterizan por la presencia del grupo  $\text{CH} = \text{CH}-\text{COOH}$  en remplazo del grupo  $-\text{COOH}$  presente en los ácidos hidroxibenzoicos. El doble enlace carbono ( $\text{C} = \text{C}$ ) de la cadena aumenta la resonancia química, que puede ser descrita como una deslocalización de los electrones en los enlaces  $\pi$  estabilizando los radicales libres lo cual incrementa la capacidad antioxidante de la molécula. Alimentos como las uvas, manzanas, arándanos, espinacas, brócoli, col rizada, café y cereales son fuentes de estos ácidos. La **figura 1.5** muestra algunos compuestos de este grupo.



**Figura 1.5** Ácidos hidroxicinámicos

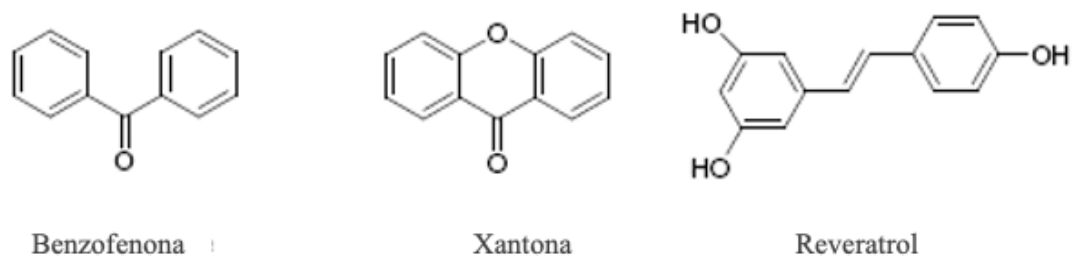
Las **cumarinas** son compuestos fenólicos que contienen un anillo aromático unido a un heterociclo con oxígeno. En la umbeliferona (**figura 1.6**) aparece un grupo hidroxilo en la posición 7 en el anillo aromático.



**Figura 1.6** Cumarinas

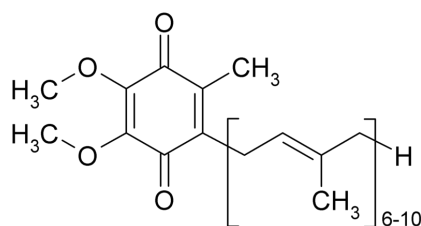
Estos compuestos ampliamente distribuidos en verduras y hortalizas, tienen actividad antioxidante como también antibacteriana (Peñarrieta et al., 2017).

**Xantonas, estilbenos y benzofenonas** también son compuestos fenólicos (**Figura 1.7**). Sus estructuras se relacionan, ya que tienen dos anillos aromáticos unidos por cetona, heterocíclicas o grupos vinilo. Xantonas y benzofenonas se han encontrado en las raíces y frutas exóticas mientras que los estilbenos han sido reportados en diferentes tipos de frutas y alimentos, en particular, en las uvas (Valencia Avilés et al., 2017).



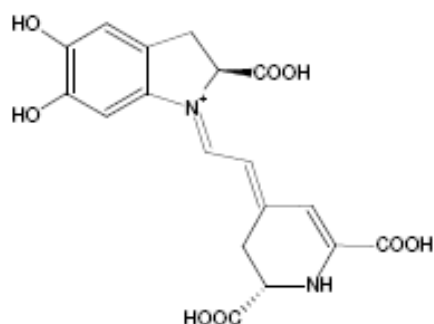
**Figura 1.7** Benzofenona, xantona y resveratrol (estilbeno)

Las **quinonas** se caracterizan por poseer un anillo diona totalmente conjugado (**Figura 1.8**). Se clasifican como *ubiquinonas* (coenzima Q10), *antraquinonas* (emodín) y *naftoquinonas*. *Estos compuestos* son poco frecuentes. Las quinonas poseen actividad redox. La coenzima Q10 es considerada un potente antioxidante.



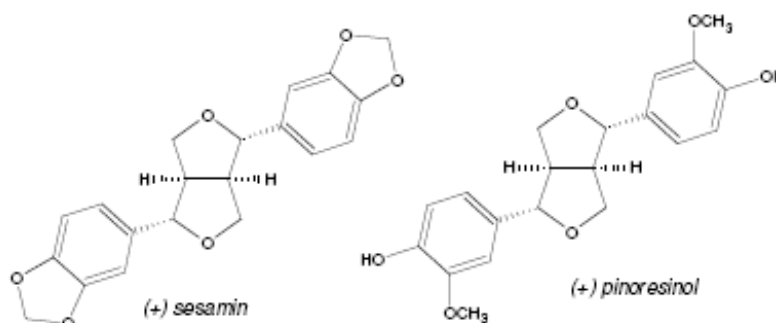
**Figura 1.8** Quinonas

Las **betacianinas** son pigmentos presentes en los alimentos como la remolacha. Dentro de éstas, se encuentran la betanidina (**Figura 1.9**) y la isobetanidina, las cuales se han identificado como responsables del color rojo de la remolacha. La betanidina ha demostrado tener una alta capacidad antioxidante in vitro. Las betacianinas también han sido encontradas en las tunas (Valencia Avilés et al., 2017).



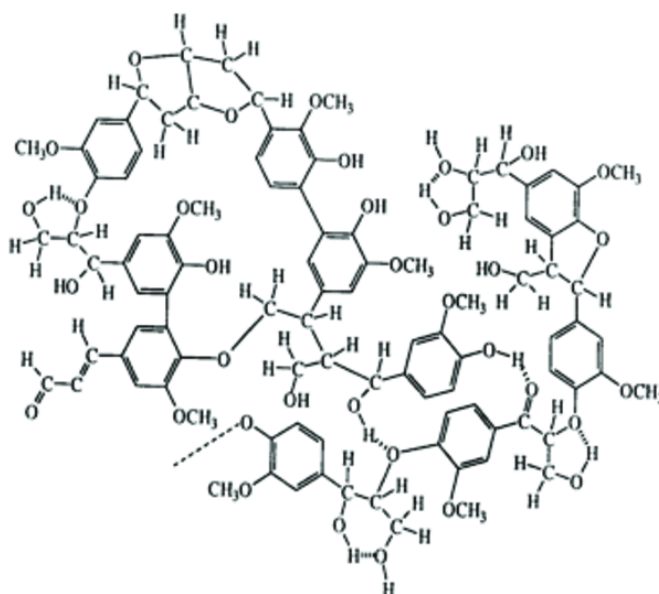
**Figura 1.9** Betanidina

Los **lignan**os son compuestos fenólicos dímeros derivados de fenilalanina y alcoholes cinámicos presentes en varios alimentos, como granos, hortalizas y uvas (**Figura 1.10**). Los lignanos han demostrado una capacidad antioxidante significativa, considerándose fuentes de fitoestrógenos en la dieta, en particular el sesamol, un derivado de la estructura de la sesamina (Jawad et al., 2013).



**Figura 1.10** Lignanos

Las **ligninas** son polímeros fenólicos complejos, formados por compuestos fenólicos polimerizados con azúcares (**Figura 1.11**). La función biológica de este tipo de moléculas es proporcionar apoyo estructural en las plantas. Están presentes en varios alimentos, especialmente en los cereales de grano entero, y han demostrado una considerable capacidad antioxidante en pruebas sobre las células de la sangre (Vinardell et al., 2008).



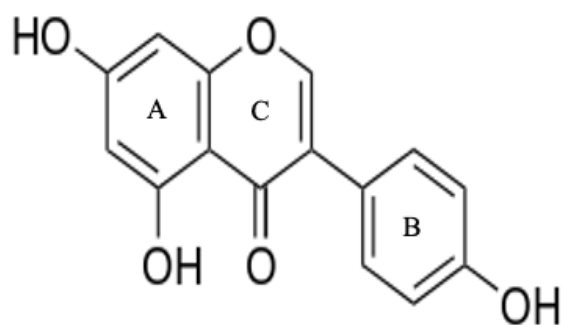
**Figura 1.11** Ligninas

## Flavonoides

Los flavonoides son la clase más abundante de polifenoles presentes en plantas. Derivan de aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina) y son los compuestos responsables del color de las flores y frutas. Los precursores de los flavonoides proceden de la ruta común fenilpropanoide que inicia con la conversión de fenilalanina en ácido cinámico por la fenilalanina-amonio liasa (PAL).

La estructura química típica de flavonoides (**Figura 1.12**) consta de tres anillos: benzopirano 2-fenil, un anillo dihidroxilado fenólico en las posiciones 5 y 7, (A), un segundo anillo fenólico generalmente mono-hidroxilado, orto-dihidroxilados o vic- trihidroxilados (B), que también pueden contener grupos metoxi (O-CH<sub>3</sub>) como sustituyentes y un anillo C, que puede ser heterocíclico con oxígeno pirano, pirylium o de forma pirona. La mayoría aparecen como glucósidos, en menor frecuencia como sulfatos, dímeros, polímeros o en su forma libre (agliconas). Los glucósidos se pueden presentar como C-glucósidos o como O-glucósidos, siendo estos últimos los más frecuentes. La glucosa es el azúcar más común en estos compuestos pero se podrían encontrar en su estructura química la ramnosa, xilosa y galactosa. Las posiciones C3 o C5 del anillo A son los sitios de glicosilación más comunes y menormente en el sitio C7 del esqueleto flavonoide (Chen et al., 2012).



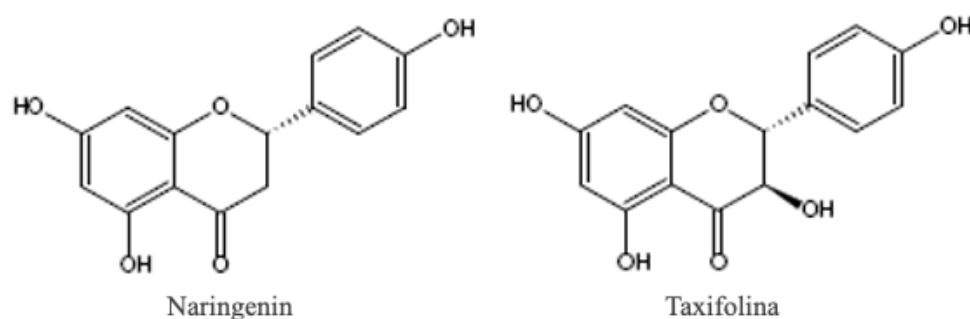


**Figura 1.12** Estructura básica de un flavonoide

Dentro del grupo de los flavonoides pueden encontrarse diversos subgrupos con una gran variedad de compuestos, diferenciados por el número y posición de grupos hidroxilos, así como por los grupos funcionales que presentan. Los principales subgrupos de los flavonoides son: flavonoles, flavonas, flavanoles, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas y chalconas (Valencia Avilés et al., 2017).

### Flavononas y flavanoles

El anillo C en flavononas es un anillo heterocíclico saturado de oxígeno de seis miembros, con un grupo cetona en la posición 4 en el anillo heterocíclico de oxígeno (naringenin), mientras que en flavanoles existe un grupo hidroxilo unido al anillo en la posición 5, cerca del grupo cetona (taxifolina) (**Figura 1.14**).

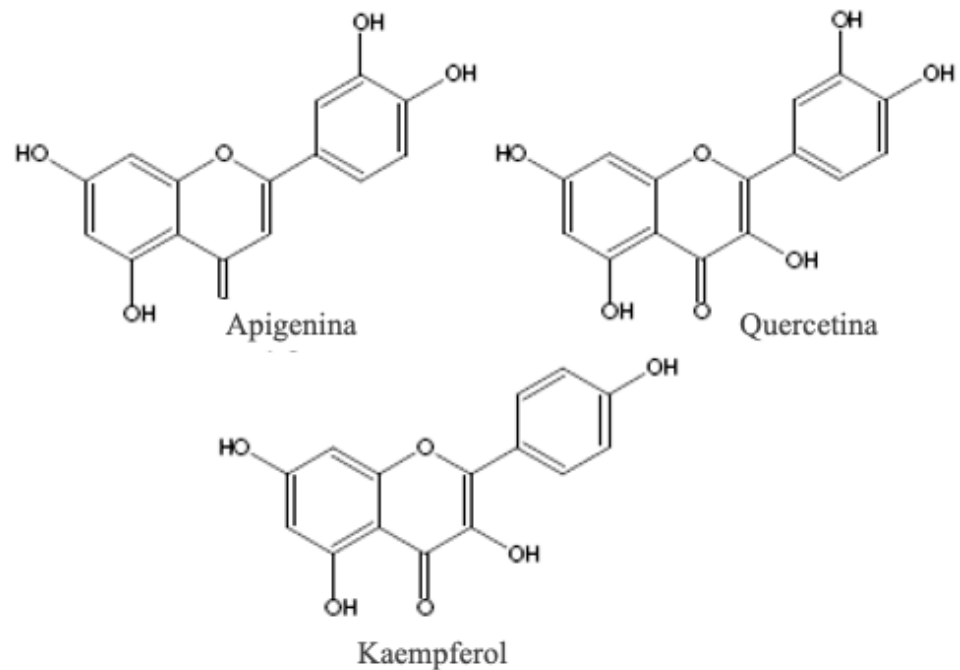


**Figura 1.13** Flavononas y flavonoles

Estos flavonoides se encuentran principalmente en las frutas. La naringenina es uno de los compuestos responsables de la amargura de los cítricos (Valencia Avilés et al., 2017).

### Flavonas y flavonoles

La estructura química es similar a flavononas y flavanoles con la diferencia en el anillo C que presenta un enlace insaturado en las posiciones 2 y 3 (**Figura 1.14**). Las flavonas y flavonoles suelen estar presentes en alimentos vegetales en forma de compuestos O-glucósidos y como C-glucósidos.

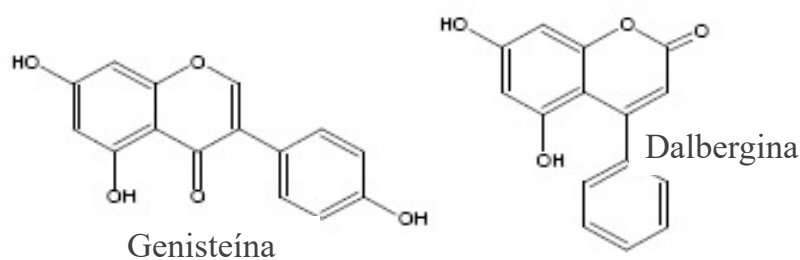


**Figura 1.14** Estructuras de flavonoles y flavonas

En el caso particular de flavonoles, la quercetina y el kaempferol son los compuestos más comunes que se encuentran como glucósidos en alimentos. Se caracterizan por su acción antioxidante, anti-inflamatoria, actividad antígenotóxica y antihiper glucemiante (Valencia Avilés et al., 2017).

### Isoflavonas y neoflavonoides

Se caracterizan por una diferencia en la posición del anillo B en comparación con la estructura básica de los flavonoides (**Figura 1.15**). En las isoflavonas (3-fenilbenzopirano) el anillo B se encuentra en la posición 3 en el heterociclo C, mientras que en neoflavonoides (4-fenilbenzopirano) el anillo B está en la posición 4 y el grupo de cetona en la posición 2.

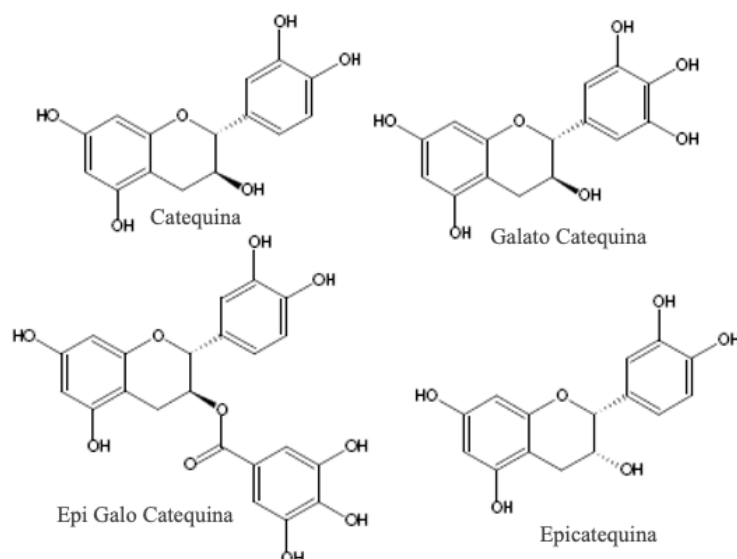


**Figura 1.15** Estructuras de isoflavonas y neoflavonoides

Las isoflavonas están presentes en la soja y los lupinos andinos. Debido a sus efectos estrogénicos, su consumo en la dieta se asocia con efectos en la salud, como protección contra el cáncer de seno en las mujeres y de próstata en los varones, enfermedades cardiovasculares, cánceres relacionados con procesos hormonales y los síntomas de la menopausia, así como actividad antioxidante con efectos antiinflamatorios y vasodilatadores. Los neoflavonoides son compuestos poco frecuentes presentes en *Dalbergia sp.* y en plantas medicinales utilizadas en China (Ma et al., 2014).

### Flavanoles

Las catequinas son el tipo más común de compuestos flavan-3-ol. Presentan al heterociclo 2-fenilbenzopirano como estructura química básica y un grupo hidroxilo o galato en la posición 3. El grupo fenilo en la posición 2 puede tener uno o más grupos hidroxilo (**Figura 1.16**).

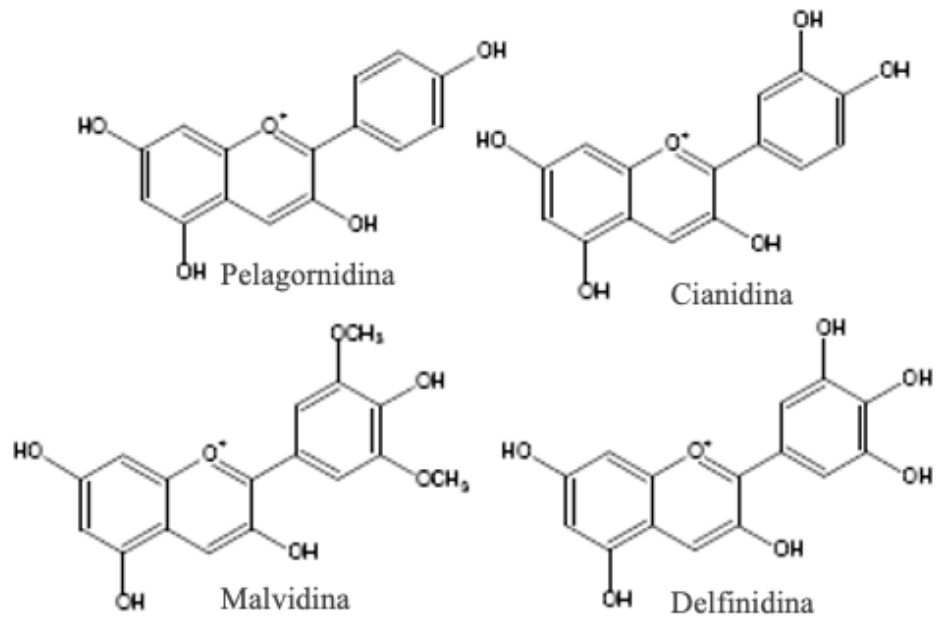


**Figura 1.16** Catequinas

Las catequinas están presentes en muchas plantas alimenticias, como el grano de cacao, té, arándanos, vid, entre otras. El efecto astringente en la boca después de comer productos de chocolate o beber té verde o vino se debe en parte a su presencia. Se consideran compuestos bioactivos. El consumo de catequina junto con los alimentos se asocia con la inhibición de la trombosis arterial, la actividad anti-inflamatoria, la reducción del colesterol total y de la lipoproteína de baja densidad in vivo como parte de su capacidad antioxidante (Valencia Avilés et al., 2017).

### **Antocianidinas**

La principal característica de antocianidinas en cuanto a su estructura química es la presencia de un catión pirulina como anillo C y un grupo hidroxilo en la posición 3 del mismo anillo, en comparación con otros flavonoides (**Figura 1.17**). Son agliconas de las antocianinas y se encuentran ampliamente distribuidas: las antocianidinas principales son la cianidina, pelargonidina, delphinidina, petunidina y la malvidina (Ma et al., 2014).

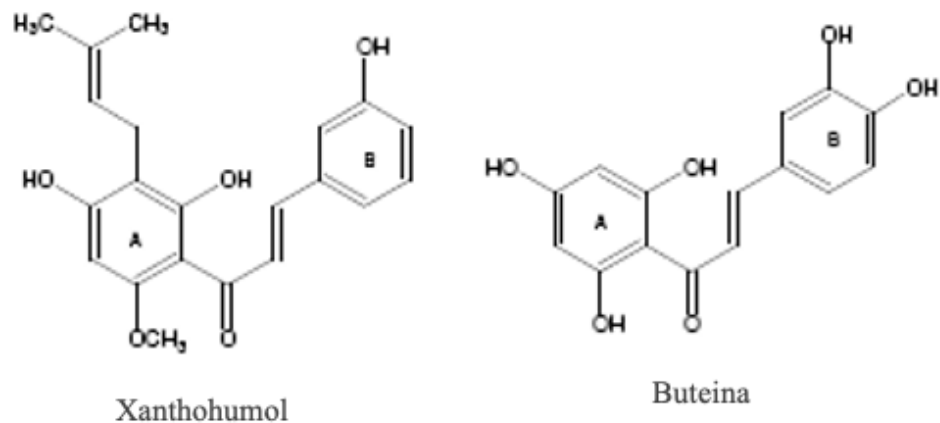


**Figura 1.17** Antocianidinas

Son responsables del color rojo, naranja, azul, violeta y morado en las frutas, flores y otras partes de las plantas. La cianidina es la antocianidina más común en los alimentos vegetales. Las antocianidinas están ampliamente distribuidas en los alimentos (Dudek et al., 2017).

### **Chalconas**

Las chalconas son flavonoides que difieren en su estructura química de los flavonoides de base, presentan una cadena lineal para conectar los anillos A y B en lugar del anillo heterocíclico C.



**Figura 1.18** Chalconas

Las chalconas son pigmentos amarillos responsables del color de las flores y frutas. La buteina es una chalcona aislada de las flores, mientras que el xanthohumol se ha encontrado en la cerveza presente en el lúpulo; tiene propiedades antibacterianas y antioxidantes (Valencia Avilés et al., 2017).

## **POLIFENOLES Y SALUD**

La creciente preferencia por los alimentos naturales ha obligado a la industria alimentaria a incluir antioxidantes naturales en varios productos para retrasar la degradación oxidativa de los lípidos, mejorar la calidad y el valor nutricional de los alimentos y reemplazar los antioxidantes sintéticos potencialmente peligrosos (Fasseas et al., 2008; Wojdyło et al., 2007). La oxidación de lípidos y la autooxidación son una de las principales causas del deterioro de la calidad y la reducción de la vida útil de los productos alimenticios (Ahmad et al., 2015).

La inclusión de antioxidantes en la dieta tiene efectos beneficiosos para la salud humana ya que los mismos protegen componentes celulares biológicamente importantes, como el ADN y las proteínas y lípidos de la membrana, además de los ataques de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Coronado et al., 2015; Lugo, 2008).

La investigación ha demostrado que los antioxidantes naturales podrían desempeñar un papel vital en la lucha contra las enfermedades causadas por el daño oxidativo e incluso disminuir la formación y mutagenicidad de aminas heterocíclicas (HCA) presentes en la

carne cocida (Valenzuela y Pérez, 2016). Los fabricantes de alimentos también se han visto motivados por el uso de antioxidantes naturales porque los estudios han demostrado que dichos compuestos no sólo son beneficiosos para la vida útil de los productos alimenticios, sino también para la medicina preventiva (Martínez et al., 2013). Los polifenoles están ampliamente distribuidos en productos naturales y sus beneficios para la salud han sido reportados en varios estudios (Čanadanović-Brunet et al., 2019; Grosso et al., 2018; Larrauri et al., 2013, 2016b; Lingua et al., 2019).

Estudios epidemiológicos han puesto en evidencia el papel que tienen los alimentos de origen vegetal en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurodegenerativas. Los antioxidantes naturales presentes en alimentos, entre los que destacan los polifenoles, son responsables de dicha actividad (Alasalvar y Bolling, 2015; Čanadanović-Brunet et al., 2019; Chen et al., 2018; Coronado et al., 2015; Costa De Camargo et al., 2014; Quiñones et al., 2012).

## **TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

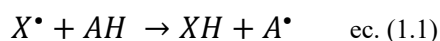
En las últimas décadas se han desarrollado diferentes métodos para evaluar la actividad y capacidad antioxidante de diferentes compuestos en los alimentos. Un método estandarizado de medición debe cumplir con los siguientes requisitos: (i) contar con una fuente de radicales biológicos que sea relevante; (ii) ser simple; (iii) contar con un mecanismo químico y un punto final de la reacción bien definido; (iv) presentar una alta reproducibilidad entre muestras de la misma serie y en el tiempo; (v) adaptarse a diferentes tipos de antioxidantes (hidrófilos y lipófilos) y usar diferentes fuentes de radicales libres; y (vi) adaptarse a los análisis de rutina en el control de calidad de los alimentos (Prior et al., 2005).

Los antioxidantes pueden desactivar los radicales libres por dos mecanismos principales: **TAH** (transferencia de átomos de hidrogeno) y **TES** (transferencia de electrones). Independientemente del mecanismo involucrado, el resultado final es el mismo, sólo que difieren en la cinética y el potencial de las reacciones secundarias. Los mecanismos TAH y TES pueden ocurrir simultáneamente y el mecanismo dominante en el sistema estará determinado por las propiedades y la estructura química del antioxidante, la solubilidad y

por el coeficiente de partición. Asimismo, la energía de disociación del enlace (EDE) y el potencial de ionización (PI) son los dos factores principales que determinan el mecanismo y la eficacia de los antioxidantes (Ballard, 2008).

## **Métodos *TAH***

Los métodos basados en *TAH* miden la capacidad de un antioxidante para eliminar los radicales libres por la transferencia de átomos de hidrógeno (AH = cualquier donante H).



Este tipo de reacciones se consideran las más relevantes y en las que normalmente actúan los antioxidantes (Prior et al., 2005).

Dentro de los métodos antioxidante que emplea el mecanismo TAH se encuentran el ORAC (oxygen radical absorbance capacity) y ABTS

**ORAC:** este reactivo mide la inhibición de los antioxidantes a las oxidaciones inducidas por los radicales peróxidos, por lo tanto, refleja la actividad antioxidante clásica por transferencia de átomos de H. Los valores ORAC generalmente se reportan como equivalentes de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox). El ensayo ORAC proporciona una fuente controlable de radicales peróxidos que modelan las reacciones de los antioxidantes con los lípidos, tanto en los alimentos como en sistemas fisiológicos (Larrauri, 2016).

**ABTS:** este método evalúa la actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC), se basa en la reducción de la coloración verde/azul producida por la reacción del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS<sup>•+</sup>) con el antioxidante presente en la muestra. El radical ABTS<sup>•+</sup> se obtiene tras hacerlo reaccionar con persulfato de potasio (2,45mM, pH 4,5). Una vez formado el radical se diluye con buffer fosfato pH 7, hasta obtener un valor de absorbancia de 0,7 a 734nm, longitud de onda de máxima absorción (Asensio et al., 2011).

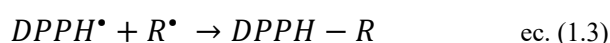


## Métodos *TES*

Los métodos basados en *TES* miden la capacidad potencial de un antioxidante para transferir un electrón y reducir un compuesto (metales, carbonilos y radicales). El oxidante cambia de color cuando se reduce y el grado de cambio de color se correlaciona con la concentración del antioxidante presente en la muestra (Prior et al., 2005).

Los principales métodos antioxidantes que emplean el mecanismo *TES* son la actividad secuestrante de radicales libres por el 2,2-difenyl-1-picrilhidrazil (DPPH), la actividad quelante de ión ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), la capacidad de capturar radicales hidroxilo, la actividad secuestrante del anión superóxido, entre otros.

**Actividad secuestrante de radicales libres (DPPH):** El radical 2,2-difenyl-1-picrilhidrazil (DPPH $\cdot$ ) es uno de los pocos radicales orgánicos estables de color violeta oscuro. La capacidad antioxidante se evalúa mediante la medición, por espectrofotometría visible a 517 nm, de la pérdida de color del radical DPPH $\cdot$  luego de la reacción con un antioxidante (AH). Ante un sustrato capaz de donar átomos de hidrógeno, como un antioxidante, los radicales DPPH $\cdot$  se convierten en moléculas no radicalarias, lo que va acompañado de disminución de la absorbancia del cromóforo formado.



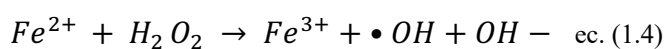
Los resultados se pueden expresar como porcentaje de inhibición o actividad anti-radicalaria (%RSA) o como Concentración Inhibitoria 50 (IC<sub>50</sub>) que corresponde a la concentración del antioxidante necesario para reducir la concentración inicial del radical DPPH $\cdot$  al 50% en un período de tiempo determinado. Un valor bajo de IC<sub>50</sub> representa una mayor actividad secuestrante del radical DPPH $\cdot$  (Molyneux, 2004).

**Actividad quelante del ion ferroso:** Los agentes quelantes pueden estabilizar los metales de transición y reducir su disponibilidad como catalizadores para inhibir la producción de los primeros radicales libres y, por consiguiente, suprimir la peroxidación lipídica tanto en los alimentos como en los sistemas biológicos (Su et al., 2007).

El ensayo para determinar la actividad quelante del ion ferroso ( $Fe^{2+}$ ) se basa en la quelación de éste con 2,2'-bipiridilo para producir un complejo de color rojo. En presencia de agentes quelantes (antioxidantes), la formación del complejo se interrumpe y el color rojo disminuye (Sánchez-Vioque et al., 2012). Las ventajas de este método son su simpleza y la posibilidad de procesar muchas muestras en un corto período de tiempo (Charles, 2013).

**Capacidad de captura de radicales hidroxilo:** El radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ) es uno de los oxidantes más activos. Cuando el  $\cdot OH$  se genera en exceso y las defensas celulares son deficientes, los radicales libres generan reacciones en cadena y afectan proteínas, lípidos y ácidos nucleicos que dañan a las células. Los sistemas vivos presentan complejos enzimáticos con actividad antioxidante (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasas) que pueden bloquear la liberación del  $\cdot OH$  e inhibir reacciones de propagación. Asimismo, son muy importantes los complejos no-enzimáticos como los antioxidantes (Valentão et al., 2002; Charles, 2013).

El radical  $\cdot OH$  es generado por la reacción de Fenton:



## COMPUESTOS ANTIMICROBIANOS

La incorporación de conservantes sintéticos es un método convencional para mejorar la seguridad alimentaria. Sin embargo, hoy en día los organismos de salud y los consumidores se encuentran cada vez más preocupados por los residuos químicos presentes en los alimentos y tienden a elegir productos naturales, saludables y seguros. La adición de compuestos fenólicos que actúan como antimicrobianos naturales se considera una buena alternativa para reducir los riesgos en la salud y las pérdidas económicas debido a contaminaciones microbiológicas y, además, ayudan a extender la vida útil de los alimentos procesados (Côté et al., 2011).

Por su parte, numerosos estudios han demostrado la presencia de compuestos bioactivos en distintos residuos agroindustriales que representan un uso potencial en la industria alimenticia. Su reutilización disminuiría los riesgos ambientales causados por su eliminación y, además, proporcionaría una fuente de rentabilidad para las poblaciones que viven alrededor de las regiones industriales al adjudicarle valor agregado a los residuos

(Anastasiadi et al., 2012). Diferentes extractos naturales exhiben un espectro amplio de actividad antimicrobiana frente a agentes patógenos presentes en los alimentos como hongos y bacterias (Delgado Adámez et al., 2012).

Diferentes tipos de residuos han sido utilizados como fuente de materia prima para extraer compuestos naturales con actividad antimicrobiana, como por ejemplo semillas de uva (Delgado Adámez et al., 2012); bagazo de guayaba y tomate, orujos de uva, residuos vegetales derivados del repollo, remolacha y nabo (Martin et al., 2012) y tegumento de pistacho (Bisignano et al., 2013), entre otros.

Por otra parte, las plantas aromáticas y/o medicinales son conocidas por sus metabolitos secundarios, con remarcada bioactividad. Los aceites esenciales (y sus componentes) de plantas aromáticas, como orégano o romero, constituyen una alternativa de compuestos naturales que pueden ser utilizados como conservantes de alimentos, por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Grosso et al., 2018; Quiroga et al., 2011, 2013). Su capacidad conservante podría incrementarse al combinarse diferentes antioxidantes naturales (polifenoles, aceites esenciales, compuestos puros).

## **ALIMENTOS CÁRNICOS EMBUTIDOS**

Se entiende por chacinados a los productos preparados sobre la base de carne y/o sangre, vísceras y/u otros subproductos animales que hayan sido autorizados para el consumo humano, adicionados o no con sustancias aprobadas a tal fin. Los chacinados se clasifican en embutidos (frescos, secos y cocidos) y no embutidos (frescos y cocidos) (CAA, 2014).

Según el artículo 303 de CAA, se entiende por embutidos a los chacinados en cualquier estado y forma admitida que se elaboren, que hayan sido introducidos a presión en fracciones de intestino u otras membranas naturales o artificiales aprobadas a tal fin, aunque en el momento del expendio y/o consumo carezcan del continente. Los embutidos pueden ser frescos, secos o embutidos cocidos (SENASA).

Las salchichas tipo Frankfurt se encuentran comprendidas en la clasificación de embutidos cocidos y se las define según CAA como el embutido cocido, elaborado sobre la

base de carne de cerdo o carne de cerdo y vacuno, con el agregado de tocino, sal y especias, escaldadas y luego ahumadas hasta obtención de color moreno claro superficial (CAA, 2014).

## SALCHICHAS TIPO FRANKFURT

A lo largo de la edad media, la salchicha fue tomando diferentes tamaños y diámetros, se adaptó a la cultura que la acogió; por ejemplo, en países mediterráneos se inclinaron por hacerla más secas para que aguantase el calor mientras que en países del norte como Escocia, la harina de avena se convirtió en el principal relleno de esta preparación. En Alemania, la carne y la grasa ofrecieron salchichas más blandas, y fue hasta mediados del año 1852 que los carniceros alemanes crearon la salchicha “Frankfurter” más delicada, especiada, ahumada y con figura estética, haciendo honor a su ciudad natal. Otros autores anexan que la salchicha originalmente tenía forma curvada y fue conocida alternativamente como “salchicha dachshund”, nombre que llegaría hasta América, donde también adquiriría la popular denominación de “hot dog”(Carrillo Bernal y Tobito Herrera, 2019).

El proceso de elaboración de este producto puede resumirse en las siguientes etapas

(Figura 1.19):

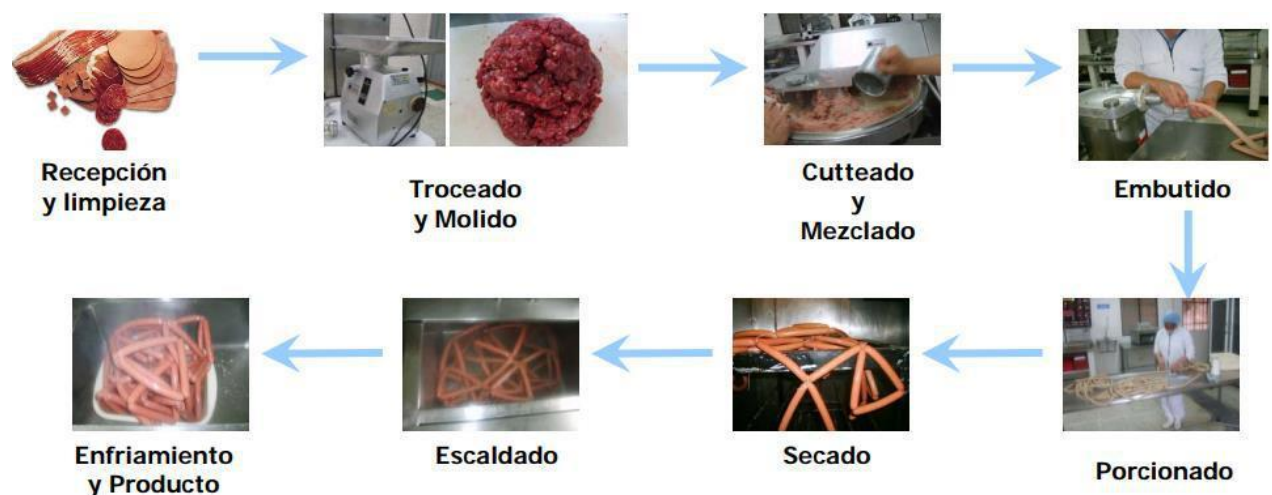


Figura 1.19 Proceso de elaboración de la salchicha tipo Frankfurt

**Recepción de las materias primas cárnicas.** Es uno de los pasos más importantes de la elaboración. Tiene como objetivo la evaluación visual para asegurar que la apariencia,

olor y color de las carnes son los normales y de que no contienen materiales extraños, tejidos desgarrados y otros defectos o anomalías. La temperatura de recepción de la carne vacuna o de cerdo debe ser menor a 7 °C y la ideal menor o igual a 5 °C (Carrillo Bernal y Tobito Herrera, 2019).

**Troceado y molido.** En el proceso de troceado se pretende fraccionar la carne y la grasa en raciones más pequeñas para que la etapa de molienda sea más sencilla donde se busca obtener una masa homogénea (Matovelle, 2016).

La temperatura es una condición importante a cuidar durante el proceso de molido; el mantener la carne a temperaturas de refrigeración ayuda a disminuir el crecimiento microbiano y se reduce la oxidación de la mioglobina lo cual también propicia estabilidad en el color rojo característico de la carne (Carrillo Bernal y Tobito Herrera, 2019)

Para la elaboración de salchichas, la carne y la grasa se muelen por separado, en discos que pueden ir de 2 a 5 mm; aunque algunos autores sugieren moler la carne con disco de 5 mm y la grasa con disco de 8 mm (Gómez, 2013).

**Cuteado y mezclado.** El objetivo de esta etapa del proceso es obtener un producto uniforme, con una distribución regular de los diversos ingredientes que intervienen en la formulación, mejorar la textura de la materia prima al reducir su tamaño y facilitar la mezcla (Benzzo et al., 2009).

En el cutter se hace la mezcla de materia prima y adición de conservante, especias y saborizantes. Se debe tener un tiempo máximo de 4 minutos ya que en este tiempo se evita que se caliente en exceso la grasa y la proteína cárnica que puede dañar la calidad de la pasta (Rodríguez, 2012; Müller y Ardoíno, 2018). En el proceso de emulsificación (Cuteado), hay una gran fricción de la carne con las cuchillas y las proteínas pueden desnaturalizarse o quemarse. La temperatura máxima y límite es 14 °C, lo que se puede controlar con la adición de hielo en forma de escarcha y mantener las cuchillas del cutter bien afiladas (Grajales Herrera & Huertas, Zipasuca, Katherine, 2011). La temperatura de la pasta no debe exceder de 15 °C. El proceso se suspende cuando la emulsión se muestre homogénea (Gómez, 2013).

**Embutido y polucionado.** La masa lista es pasada a la embutidora donde es inyectada a presión. La salchicha tipo Frankfurt generalmente es embutida dentro de tripas

de celulosa regenerada transparente, que normalmente puede ir desde calibre 22 hasta el calibre 28; viene en tubos corrugados que se deben remojar en agua entre los 60 a 70 °C por 20 minutos (Montañez Quiroga y Perez, 2007). Posteriormente, inicia el proceso de cerrado, mediante el cual se cierran las puntas de la tripa en cada salchicha para evitar la salida de la masa y/o un proceso de retorcido por el cual se cierran las puntas de cada salchicha retorciendo la tripa entre una y otra.

El tamaño de una salchicha tipo Frankfurt debe ser de 15 cm, sin embargo, actualmente en el mercado nacional e internacional existen presentaciones de 10 a 20 cm, incluyendo presentaciones de 13,5 cm (Carrillo Bernal y Tobito Herrera, 2019).

**Escaldado y enfriado.** El producto que se somete a cocción se puede hacer en instalaciones a vapor (hornos), o en calderos con agua, a temperaturas de 76 a 80 grados centígrados, hasta alcanzar una temperatura interna de 70 grados. Luego, se enfría en ducha o por inmersión en agua a temperatura ambiente y finalmente se refrigera por duchado o inmersión en agua helada.

Algunos autores establecen que la temperatura externa del agua o de los hornos de cocimiento no debe pasar de 75 – 80 °C. Los productos elaborados con féculas se sacan con una temperatura interior de 72 – 75 °C y sin fécula 70 – 72 °C (Müller y Ardoíno, 2018).

Este tratamiento tiene gran influencia en la textura del producto, también cambia el color de la carne, favorece la digestión, inhibe la acción enzimática y el crecimiento microbiano.

### **Ingredientes de los embutidos cárnicos cocidos**

En la elaboración de salchichas existen tres ingredientes fundamentales, carne, grasa y agua.

**Carne.** El ingrediente principal de los embutidos es la carne que suele ser de cerdo o vacuno, aunque realmente se puede utilizar cualquier tipo de carne animal. Las proteínas de la carne se dividen en miofibrilares, sarcoplasmáticas y del estroma. La proteína miofibrilar es la fracción proteica más importante de los ingredientes de una emulsión cárnica que corresponde a miosina, actina, tropomiosina, troponina y actinina. La actina y la miosina son las más abundantes, responsables de la textura de la carne. Son proteínas

solubles en solución salina, esta propiedad facilita su extracción ya que solubiliza durante el procesamiento de la carne con la adición de sal. Las proteínas sarcoplasmáticas están representadas por mioglobina, hemoglobina y algunas enzimas. Son las responsables del 80% de la coloración de la carne y son buenos agentes emulsificantes, al retener gran cantidad de agua durante el proceso de cocción. El grupo del estroma corresponde al colágeno, llamada proteína del estroma, cuya cantidad, estructura y composición depende del tipo animal, la edad y el sexo entre otros factores (Rodríguez, 2012; Carrillo Bernal y Tobito Herrera, 2019).

**Grasa.** La grasa es un ingrediente fundamental en la formulación de las salchichas cocidas, ya que hace posible la formación de la emulsión cárnica (mezcla de proteínas y grasa). Puede provenir de la carne o ser adicionada en forma de tocino de cerdo que tiene una adecuada temperatura de fusión (35 °C y 50 °C) y aporta buen sabor y aroma, y determina la textura del producto (jugosidad, consistencia, etc.). Contribuye en gran medida a las propiedades sensoriales y a la ligazón del producto (Montañez Quiroga, 2007). Se prefiere la grasa porcina debido a que tiene menor punto de fusión y una composición de ácidos grasos que son los que contribuyen al aroma y sabor característico.

La grasa que posee un alto contenido de ácidos grasos insaturados, está predisposta a un fácil enranciamiento por lo cual disminuye la capacidad de conservación del producto, por ende su vida útil. La grasa favorece la formación de una masa pegajosa durante el picado dado que pequeñas gotas se adhieren a la carne dificultando el embutido y provocando defectos de consistencia. Es por ello que debe ser trabajada en refrigeración o congelada.

En las últimas décadas, ha habido un mayor interés en la elección de alimentos más saludables, con menor contenido graso. Por lo tanto, los investigadores han sugerido el uso de sustitutos de grasa, como fibra dietética (Ayo et al., 2007; Jiménez-Colmenero et al., 2010), geles de tejido conectivo (Cierach et al., 2009), aceites vegetales (Álvarez et al., 2011), para mejorar las características de calidad de los productos cárnicos (Arriaza Lozano, 2019; Choe et al., 2013).

**Agua.** Este ingrediente permite la formación de soluciones verdaderas y coloidales; su bipolaridad se fija a las proteínas brindando suavidad y jugosidad. Igualmente sirve como vehículo para disolver la sal u otros ingredientes; en forma de hielo ayuda a mantener la

temperatura baja y promueve la emulsión. En el proceso de picado se liberan las proteínas de la carne, que junto con el agua añadida forman un gel que condiciona la capacidad para ligar el agua y la grasa de la masa y formar la emulsión (Bernal, 2019). La cantidad de agua añadida depende de la relación carne magra/grasa del embutido.

**Aditivos.** Los aditivos alimentarios que se emplean en la elaboración de productos cárnicos, deben ser inocuos para el manipulador y consumidor final. Su aplicación debe estar regulada por normas de aplicación universal, deben desempeñar una función útil, no deben alterar el valor nutricional del alimento, y su inclusión no debe buscar enmascarar problemas microbiológicos, organolépticos o nutricionales del producto. Son sustancias que mejoran el poder de conservación, aroma, color, sabor y la consistencia (Grajales Herrera et., al 2011).

**Nitritos y Nitratos ( $NO_2$ ,  $NO_3$ ):** Los nitratos y nitritos desempeñan un importante papel en el desarrollo de características esenciales en los embutidos, tienen acción bactericida, acción antioxidante, intervienen en la aparición del color rosado característico de estos, dan un sabor y aroma especial al producto y poseen un efecto protector sobre determinados microorganismos como *Clostridium botulinum*. La función del nitrito como antioxidante puede deberse a la formación de un complejo con los hemo pigmentos, la liberación del hierro del grupo hemo y la catálisis de la oxidación lipídica (Carrillo Bernal y Tobito Herrera, 2019).

**Sal ( $NaCl$ ):** La cantidad de sal utilizada en la elaboración de embutidos varía entre el 1 y 1.7%. Su principal fin tecnológico es la solubilización de las proteínas miofibrilares, el aumento de las repulsiones electrostáticas en la proteína al incrementar la fuerza iónica dada su estructura como cloruro de sodio generando a su vez un rompimiento de la estructura miofibrilar, por lo tanto, mayor espacio para la fijación de agua y grasa logrando un mejor rendimiento en los derivados cárnicos (Rodríguez, 2012). También desempeña las funciones de dar sabor al producto y actuar como conservante. La sal retarda el crecimiento microbiano pero favorece el enranciamiento de las grasas (Grajales Herrera et., al 2011).

**Fosfatos (polifosfatos  $P_2O_5$ ):** Su principal función es formar complejos con el calcio, se pierde la estructura tisular y se favorece la retención de agua de los productos, contribuyendo en la solubilización de las proteínas cárnicas, lo que le ofrece una estructura elástica y agradable al producto terminado. Los fosfatos emulsifican la grasa, disminuyen



las pérdidas de proteínas durante la cocción y reducen el encogimiento (Grajales Herrera et., al 2011). Debido a su habilidad para secuestrar metales pesados retrasan la oxidación de las grasas con lo que refuerzan la actividad de los antioxidantes. Poseen acción antimicrobiana sobre las bacterias gram positivas, debido a la formación de complejos con metales divalentes (calcio, magnesio).

***Ascorbato y eritorbato de sodio:*** Aceleradores del curado. Son sustancias reductoras que reaccionan de forma idéntica con el nitrito evitando la formación de nitrosamina. La función es la de reducir pigmentos cárnicos y también el nitrito a óxido nítrico. Dan estabilidad en el color, mejoran el sabor. Se pueden utilizar como ácidos (ascórbico o eritórbito), o sus sales. Las formas más ácidas actúan más rápidamente y a menores concentraciones pero las sales se conservan mejor (Grajales Herrera y Huertas, Zipasuca, 2011). Además, actúan como antioxidantes del pigmento muscular.

***Azúcares:*** Los azúcares más comúnmente utilizados en los embutidos son la sacarosa, la lactosa, la dextrosa, la glucosa, el jarabe de maíz, el almidón y el sorbitol. Se utilizan para dar sabor por sí mismos y para enmascarar el sabor de la sal. Todos los monosacáridos y algunos disacáridos desarrollan efectos reductores. Esta reacción actúa positivamente sobre la intensidad y estabilidad del color en el proceso de enrojecimiento, es por ello que se los utiliza como auxiliares del curado (Arriaza Lozano, 2019).

***Espicias:*** producto constituido por ciertas plantas o partes de ellas que, por tener sustancias saborizantes o aromatizantes, se emplean para aderezar, aliñar o modificar el aroma y sabor de los alimentos. Entre las más comunes se encuentra el laurel, la canela, mostaza, pimentón, pimienta, azafrán, nuez moscada, cardamomo y clavos. Se emplean mezclas de varias especias que se pueden adicionar enteras o no. Además de impartir aromas y sabores especiales al embutido, ciertas especias como la pimienta negra, el pimentón, el tomillo o el romero y condimentos como el ajo, tienen propiedades antioxidantes (Grajales Herrera et., al 2011).

***Colorantes:*** Deben ser preferiblemente de origen vegetal y su función es modificar el color de los productos cárnicos a la totalidad deseada.

**Los aglutinantes:** sustancias que se esponjan al incorporar agua, lo que facilita la capacidad fijadora de agua; también mejoran la cohesión de las partículas de los diferentes ingredientes.

**Extendedores:** además de proteína de origen muscular, se han agregado una variedad de ingredientes los cuales son utilizados como espesantes, ligadores o extendedores que tienen como función reducir el encogimiento del producto y los costos de formulación, así como mejorar la capacidad de emulsificación, la estabilidad de la emulsión, la capacidad de retención de agua, el valor nutritivo, una mayor flexibilidad de la formulación, asegurar una uniformidad en el producto y en general minimizar las pérdidas durante el procesamiento. Muchos productos, incluidas las salchichas, contienen extendedores y/o espesantes tales como leche en polvo descremada, proteínas de soya en sus diferentes presentaciones (harinas, concentrados y/o aislados), gluten de trigo, harinas de cereales, dextrinas, entre otros (Grajales Herrera et., al 2011).

### **Uso de antioxidantes naturales en productos cárnicos**

Los antioxidantes se consideran ingredientes necesarios en los alimentos para prevenir reacciones oxidativas y sus efectos indeseables en la calidad de los alimentos durante su procesamiento y almacenamiento. Sin embargo, el uso de tales compuestos está regulado debido a sus posibles efectos nocivos revelados por estudios in vitro e in vivo. El uso de antioxidantes naturales aparece como una alternativa interesante para los productores de alimentos, en particular los de la industria cárnica (Lorenzo et al., 2018).

La oxidación lipídica en carnes y derivados cárnicos son una de las principales causas de deterioro de los mismos, debido a que estos últimos presentan en su composición lípidos como los ácidos grasos insaturados, que los hacen muy susceptibles a las reacciones oxidativas (Valenzuela y Pérez, 2016).

Durante la producción de los derivados cárnicos, ingredientes como carne magra y tejido adiposo son finamente picados; esto altera la integridad de membranas y expone a los lípidos al oxígeno molecular, enzimas oxidativas, hemopigmentos, iones metálicos, entre otros, lo cual aumenta el desarrollo de reacciones de oxidación durante el posterior almacenamiento refrigerado (Valenzuela y Pérez, 2016). Las reacciones oxidativas

deterioran algunos atributos organolépticos, nutricionales y tecnológicos deseables, y disminuyen la vida útil de los derivados cárnicos con la producción de compuestos tóxicos. De hecho, luego del deterioro microbiológico, la oxidación lipídica es el principal factor de reducción de tales atributos (Isaza Maya et al., 2013).

El uso de antioxidantes es una alternativa para inhibir o minimizar estos procesos de oxidación y mejorar la vida útil de los mismos. Comúnmente se usan antioxidantes sintéticos como el hidroxitolueno butilado (BHT) y el hidroxianisol butilado (BHA). Sin embargo, la utilización de éstos es limitada porque han sido asociado con problemas de toxicidad y efectos negativos sobre la salud, y además, los consumidores exigen cada vez más productos naturales o libres de aditivos (Agregán et al., 2017; Carocho y Ferreira, 2013; Isaza Maya et al., 2013; Valenzuela V. y Pérez M., 2016)

Para atender las expectativas del consumidor en cuanto a aspectos saludables, los fabricantes de alimentos, productores e investigadores buscan constantemente alternativas naturales a los aditivos sintéticos. Actualmente se da gran importancia a antioxidantes extraídos de fuentes naturales tales como frutas, hierbas y especias, entre otras (romero, cereza, salvia, laurel, albahaca, etc), por su potencial efecto antioxidante, debido a su composición que es rica en compuestos químicos tales como ácidos fenólicos, tocoferoles, antocianinas, flavonoides, vitamina C y vitamina E, entre otros, que, además de inhibir la oxidación lipídica de los productos a los que son aplicados, pueden tener efectos positivos sobre la salud (Armenteros et al., 2012; Isaza Maya et al., 2013; Pateiro et al., 2014; Shahidi y Ambigaipalan, 2015; Fernandes et al., 2016, 2017). El grupo de compuestos fenólicos, presentes de forma natural en los tejidos vegetales y ampliamente distribuidos en la naturaleza, juega un papel central en esta estrategia. Existe un creciente interés por los compuestos fenólicos por los beneficios que pueden aportar a la salud del consumidor, relacionados con su capacidad para disminuir el riesgo de diversas enfermedades, y también por sus ventajas tecnológicas, principalmente relacionadas con su actividad antioxidante (Lorenzo et al., 2018; Castromonte et al., 2020; Pintado et al., 2021).

Se han reportado diversos estudios en carne y derivados cárnicos con adición de antioxidantes naturales que contribuyen a mantener la calidad de los mismos, ya sea el uso de estrategias nutricionales a animales en vivo o la adición directa a la carne durante el proceso de elaboración de derivados cárnicos. Extractos y sustancias con propiedades

antioxidantes adicionadas en productos cárnicos durante su elaboración (proteínas hidrolizadas de papa, romero, salvia, te verde, café verde, piel de uvas, aloe vera, proteína de soja, entre otros) han presentado buenos efectos sobre las propiedades tecnológicas y de conservación de los mismos ( Isaza Maya et al., 2013; Larrauri et al., 2013; Feng et al., 2016; Valenzuela y Pérez, 2016; Pintado et al., 2021).

El tegumento de maní, subproducto del procesamiento del grano, es una fuente de nutrientes valiosos, incluidos los antioxidantes naturales y los antimicrobianos con propiedades conservantes que ha sido probado por algunos autores en productos cárnicos. En un estudio realizado por Larrauri et al. (2013) se concluyó que el agregado de 0.1 ppm de extracto de piel de maní mostró un efecto protector prolongado en la vida útil del salami, así como también mejoró su perfil sensorial. Las proantocianidinas son los principales compuestos en la piel del maní que están asociados con la actividad antioxidante in vitro y su efecto protector en productos cárnicos. Los estudios en la literatura reciente refuerzan el papel de la piel del maní como una fuente natural de antioxidantes donde se retrasan las reacciones oxidativas que involucran principalmente pigmentos, lípidos y proteínas (Armenteros et al., 2012).

## **EL MANÍ**

### **Características y variedades**

El maní (*Arachis hypogaea* L) es una planta anual, herbácea, de la familia de las fabáceas (leguminosas), de porte erecto o rastrero. Sus semillas están contenidas en el interior de vainas (legumbres) que crecen enterradas en el suelo, en cantidades de una a cuatro semillas por vaina, dependiendo de la variedad (**Figura 1.20**).



**Figura 1.20** Planta y semilla de maní

### **Tipos comerciales de maní**

A nivel internacional, la clasificación más utilizada distingue 4 tipos de maní, basándose en las características de las vainas y semillas (Fernandez y Giayetto, 2017):

**Virginia:** vainas grandes, con dos semillas oblongas (generalmente rosadas o beige). Los granos se comercializan generalmente dentro de las vainas y se consumen (tostados), también dentro de las mismas. En EE.UU., para clasificar dentro de este tipo comercial, las vainas deben quedar retenidas en una zaranda de 12,7 x 76,2 mm y el número de semillas por libra (454 g) no debe superar las 225. Los maníes Virginia poseen background predominantemente de *A. hypogaea* subsp. *hypogaea* (Knauff et al., 1987).

**Runner:** vainas medianas, con dos semillas redondeadas (generalmente rosadas o beige). Los granos se comercializan una vez descascarados. Se utilizan fundamentalmente para consumo directo (tostado o frito) y para pastas/manteca de maní. Los maníes Runner

poseen background predominantemente de *A. hypogaea* subsp. *hypogaea* (Knauff et al., 1987).

**Español o Spanish:** vainas pequeñas, con dos semillas redondeadas (generalmente rosadas o beige). Los granos se comercializan una vez descascarados. Se utilizan fundamentalmente para golosinas y obtención de aceite. Los maníes Spanish poseen background predominantemente de *A. hypogaea* subsp. *fastigiata* var. *fastigiata* (Knauff et al., 1987).

**Valencia:** vainas largas, con más de dos semillas redondeadas con un extremo plano (generalmente coloradas). Los granos se comercializan comúnmente dentro de las vainas y se consumen (tostados, hervidos) también dentro de las mismas. Los maníes Valencia poseen background predominantemente de *A. hypogaea* subsp. *fastigiata* var. *vulgaris* (Knauff et al., 1987).

**Mejoramiento genético y tipos comerciales:** En la mejora genética, es práctica usual que los parentales de un cierto tipo comercial se crucen entre sí para obtener nuevos materiales del mismo tipo comercial (Isleib et al., 2001).

En el caso de Argentina, desde comienzos de los años '80 la producción se ha enfocado a maníes tipo "Runner". Desde el punto de vista del mejoramiento, ello ha causado una intensa utilización de parentales runner de porte rastrero (Baldessari, 2010; Fernandez y Giayetto, 2017).

**Maní "Alto Oleico".** Hacia finales de los años '70, en el Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Florida se comenzó a analizar la calidad química de líneas avanzadas, y se encontró una línea con alto contenido de ácido oleico, similar al aceite de oliva (Norden et al., 1987). Este tipo de maní, denominado "alto oleico", posee mayor estabilidad oxidativa que los "tradicionales" (O'Keefe et al., 1993), particularmente en condiciones de altas temperaturas que se dan en los procesos de blanchado, tostado y frito (Mozingo et al., 2004). Esto implica una menor aparición de sabores no deseables durante el almacenaje y una mayor vida útil de estos productos (Braddock et al., 1995; Bolton y Sanders, 2002; Nepote et al., 2006), características muy adecuadas desde el punto de vista industrial (Mozingo et al., 2004; Fernandez y Giayetto, 2017).

## Composición química del maní

Como alimento, los granos de maní son una importante fuente de energía (570 kcal 100 g<sup>-1</sup>) (Ofuya y Akhidue, 2005), ricos en lípidos (44-56%) y proteínas (22-33%) (Ahmed y Young, 1982), con 15-20% de hidratos de carbono, 3% de cenizas y el resto constituido por otros componentes menores. En Argentina, se han registrado valores de 45,2% de aceite y 30,2% de proteína en un cultivar tipo Valencia (Colorado Irradiado) y de 50,1% y 26,7%, respectivamente, en uno tipo Virginia runner (Florman INTA) (Grosso y Guzmán, 1995). El conjunto de los compuestos (lípidos, proteínas y azúcares) contribuyen al sabor del maní tostado (Sanders et al., 1995). La composición de los azúcares varía con el genotipo (Ross y Kvien, 1989).

La composición de ácidos grasos del aceite tiene efectos sobre la nutrición humana, y define la calidad alimenticia y la estabilidad del producto. El ácido palmítico (16:0) es hipercolesterolémico y el ácido behénico (22:0) puede estar relacionado a propiedades aterogénicas (Worthington y Hammons, 1977). En general, se considera que los ácidos grasos saturados favorecen la manifestación de problemas cardiovasculares (Driss, 1990), mientras que el mayor consumo de ácido oleico (18:1) –mono insaturado-, disminuye hasta un 70% los problemas cardíacos (miocardio) (Renaud et al., 1995). El ácido linoleico (18:2) y linolénico son considerados esenciales, pues los animales no pueden desaturar las posiciones 6 y 3 sus cadenas carbonadas (Viola y Audisio, 1987). Estos ácidos grasos les confieren estabilidad a las membranas, su deficiencia está asociada con enfermedades neurológicas e inmunológicas (Holman et al., 1993), son responsables de la formación de las prostaglandinas, y reducen los niveles plasmáticos de colesterol. Son también precursores de sus homólogos superiores (ácidos grasos de 20 y 22 átomos de C) (Viola y Audisio, 1987).

El aceite de maní tradicional está compuesto principalmente por los ácidos 18:1 y 18:2, independientemente del tipo botánico y de las condiciones de crecimiento del cultivo. En cultivares tipo Virginia y Runner, sembrados en la región manisera de Córdoba, se han registrado valores entre 39,5-49,0% de 18:1 y 33,1-40,7% de 18:2 dependiendo de las condiciones ambientales (Grosso et al., 1994a; Fernandez et al., 2001; Pramparo et al., 2001). En cambio, en EE.UU. –donde las temperaturas son más elevadas durante el llenado de los granos, las diferencias entre ambos ácidos grasos es mayor (55 y 25%,

respectivamente) aunque siguen representando la mayor proporción en el aceite (Knauf et al., 1993). En los maníes denominados alto oleico, el 18:1 puede alcanzar 80% y el 18:2 bajar a un 2% (Norden et al., 1987). Si bien existe un componente genético en la composición -principalmente 18:1 y 18:2- otros factores como los ambientales pueden modificarla (Dwivedi et al., 1993; Fernandez et al., 2001; López et al., 2001).

En la **Tabla 1.1** se muestra la composición de ácidos grasos comparativa entre dos cultivares de maní Runner de Córdoba, uno tradicional (Tegua) y otro alto oleico (Granoleico), donde se observan claramente las diferencias en composición, principalmente de 18:1 y 18:2 (Nepote et al., 2006). En este trabajo, se estudió la estabilidad oxidativa de maní frito elaborado con estos cultivares, concluyendo que el producto elaborado con maní alto oleico tiene una vida útil casi 7 veces superior en comparación con el obtenido a partir de maní tradicional.

**Tabla 1.1** Composición de ácidos grasos de maní Runner de dos cultivares: Tegua y Granoleico.

Ácidos grasos	Runner “Tegua” *			Runner “Granoleico” *		
Ácido palmítico (C16:0)	8,9	± 0,9	b	4,9	± 0,5	a
Ácido esteárico (C18:0)	2,5	± 0,3	a	2,5	± 0,2	a
Ácido oleico (C18:1)	45,8	± 4,5	b	78,5	± 7,8	c
Ácido linoleico (C18:2)	33,3	± 3,3	b	4,6	± 0,5	a
Ácido araquídico (C20:0)	1,3	± 0,1	b	1,3	± 0,1	b
Ácido eicosenoico (C20:1)	1,7	± 0,2	b	2,5	± 0,3	c
Ácido behénico (C22:0)	3,0	± 0,3	b	2,7	± 0,3	b
Ácido lignocérico (C24:0)	2,0	± 0,3	b	2,0	± 0,2	b
Relación Oleico/Linoleico	1,4			17,1		
Relación Saturados/insaturados	0,22			0,16		

\*Letras distintas entre las muestras indican diferencias significativas (ANOVA, test Duncan 0,05). Fuente: Nepote et al., 2006.

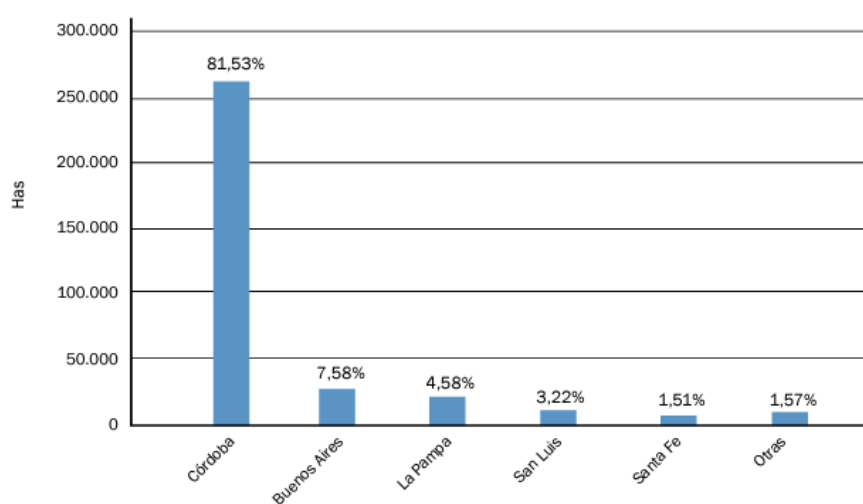


## Producción y consumo de maní

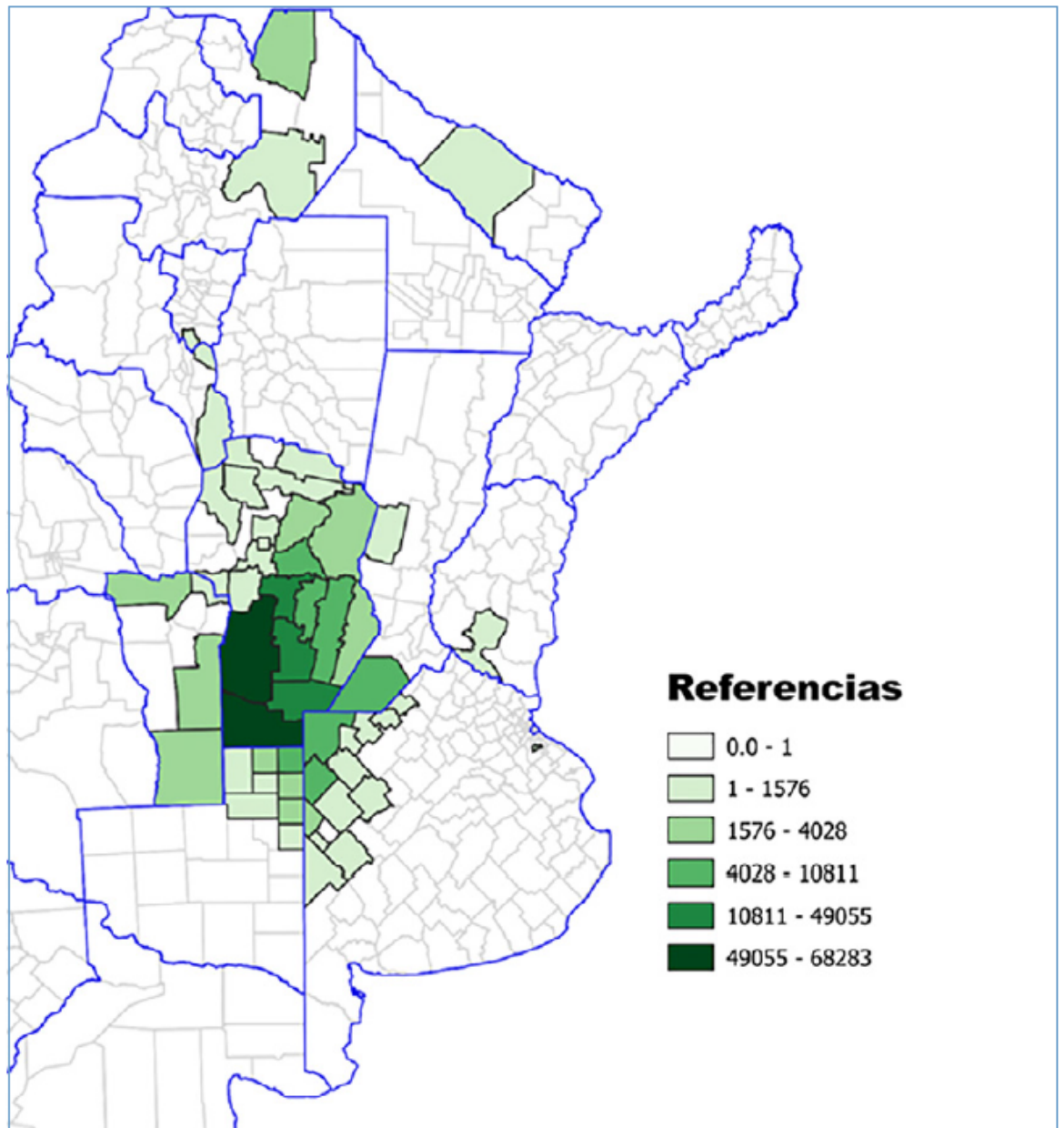
El maní producido en Argentina tiene como destino principal el consumo humano, directo o a través de productos elaborados en base al grano, y en menor proporción la extracción de aceite (Blengino, 2014).

La exportación de maní representa el 80 % de la producción (Blengino, 2014). En el comercio internacional está inscripto en el capítulo de nueces o frutos secos. El maní producido tiene distintos destinos; luego de la cosecha se lo traslada a las plantas seleccionadoras, donde se obtienen principalmente dos categorías de maní: el maní *confitería* y el *industria*. El maní confitería es un producto clasificado dentro de las MOA (Manufacturas de Origen Agropecuario) y su principal destino es la elaboración de snacks y confituras. El maní confitería en su mayoría se exporta como tal o como *maní blanchado*; otra parte se utiliza para producir maní partido, pasta de maní, maní tostado, etc. (Blengino, 2015).

La producción de maní argentino se ha concentrado, históricamente, en la región Centro-Sur de Córdoba, donde se reúne más del 80% de la superficie total del país sembrada (**Figuras 1.21 y 1.22**), alcanzando en ella prácticamente el 94% de la producción nacional, lo que le otorga la característica de cultivo regional y es considerada territorialmente un clúster manisero.



**Figura 1.21** Superficie Sembrada por Provincia y su porcentaje sobre la superficie total (Fuente: SISA, 2020).



**Figura 1.22** Superficie sembrada por departamento, campaña 2019/2020 (Fuente: SISA, 2020).

Algunos departamentos cordobeses se destacan por su especificidad productiva manisera, como Río Cuarto, General Roca, Roque Sean Peña, General San Martín y Juárez Celman. La ubicación geográfica le otorga ciertas características agroindustriales, que hacen posible considerar a esta producción como un disparador del desarrollo local, respetando valores de identidad y diversidad propios de la región. Al cultivarse en la región más austral

del mundo, le confiere ciertas características organolépticas y sanitarias que hacen del maní argentino un verdadero emblema del buen paladar (Keller, 2009).

La denominación “Maní de Córdoba – Certificación de Origen” (Ley Provincial 10.094/12) es un sello de calidad que garantiza calidad premium, según los más rigurosos estándares internacionales. Certifica la calidad de su industrialización a través de la certificación de normas de aseguramiento de calidad como BPM, HACCP, ETI, BRC, ISO, IRAM entre otras. El maní de Córdoba se distingue por un marcado sabor a maní tostado con una suave reminiscencia dulce, dado gracias al importante contenido en sacarosa. Su alto contenido de calcio le otorga una textura particularmente crocante, ideal para degustar en sus diferentes presentaciones. Su coloración marrón clara se realza con un tenue brillo dorado, muy agradable a la vista. (Cam, 2020).


La actividad manisera en Argentina se remonta a los años 70. Pasó de ser una actividad desconocida a ser un referente mundial. En los años 80, se introduce la variedad Runner mejorando de ese modo la calidad y los rendimientos. Esto permitió mejoras en la tecnología utilizada. En la década de los 90 hubo un auge de inversiones tecnológicas en las plantas maniseras. Desde entonces la incorporación de las nuevas tecnologías ha sido constante, convirtiendo a Argentina en el país con las mejores plantas procesadoras del mundo (Cam, 2020).

En las últimas dos décadas, el cultivo de maní viene creciendo tanto en área sembrada como en rendimiento productivo gracias a la incorporación de nuevas tecnologías y la especialización de técnicos y productores. Según el informe de estimaciones agrícolas del Ministerio de Agricultura de la Nación, se calcula un volumen de producción de 1250 toneladas en la campaña 2020/2021 y en 2021/2022 se espera un área sembrada de 410 mil hectáreas (D’Angelo et al., 2021).

El volumen de maní producido en Argentina representa aproximadamente un 3% del total de la producción mundial. Nuestro país es uno de los mayores productores y exportadores de maní junto con India, China, Nigeria y Estados Unidos, siendo el mayor productor de maní de América Latina, y el séptimo en el mundo. Sin embargo, es el primer exportador mundial de maní de alta calidad (**Tabla 1.2**) (D’Angelo et al., 2021). A diferencia de China, India, Nigeria, Brasil, Senegal y otros orígenes, Argentina y los Estados Unidos

compiten en el mercado del maní de alta calidad para consumo humano. En ese contexto, nuestro país es un importante referente en el mercado externo, en términos de formador de precios, por los altos volúmenes exportables y por la reconocida calidad comercial del producto. Ambos factores hacen de la Argentina uno de los principales competidores a nivel internacional. Como resultado de este comercio mundial -de productos y derivados- ingresa al país una importante cantidad de divisas, así como también su producción ejerce una gran influencia en el desarrollo de la microrregión donde se cultiva (Fernandez y Giayetto, 2017).

**Tabla 1.2** Principales países exportadores de maní (Fuente: D'Angelo et al., 2021).



### Principales exportadores de maní

Por campaña. En millones de toneladas

País	2019/2020	2020/2021	2021/2022*	Promedio últimas 5 campañas	% del mercado mundial 21/22	% de la producción 21/22 que se exporta
<b>Argentina</b>	0,99	0,98	0,99	<b>0,82</b>	<b>21,2%</b>	<b>71,0%</b>
India	0,98	0,95	0,75	0,85	16,0%	11,9%
Estados Unidos	0,73	0,66	0,68	0,62	14,5%	21,2%
China	0,55	0,45	0,50	0,59	10,7%	2,7%
Senegal	0,43	0,40	0,45	0,27	9,6%	29,0%
Sudán	0,45	0,36	0,40	0,21	8,5%	16,0%
Brasil	0,26	0,29	0,34	0,27	7,3%	48,6%
Myanmar	0,13	0,18	0,18	0,13	3,8%	11,3%
Nicaragua	0,10	0,10	0,12	0,11	2,6%	58,5%
Egipto	0,04	0,04	0,04	0,05	0,9%	21,0%

@BCRmercados en base a PSD-USDA

El principal destino del maní producido en Argentina es en la industria de snacks y confituras. Los principales productos derivados de esta cadena alimentaria son: maní confitería entero/partido, maní blanchado, maníes preparados y/o saborizados, pasta y manteca de maní, grana de maní, aceite de maní, harina y pellets de maní y cáscara de maní.

## Tegumento de maní

Los procesos de industrialización del maní luego de su cosecha incluyen diferentes etapas de limpieza, descascarado, clasificación de los granos según tamaño y calidad, blanchado, tostado, entre otros. Estos procesos generan dos subproductos principales: las cáscaras o cajas de la etapa de descascarado y el tegumento del proceso de blanchado (Toomer, 2018).

Las cáscaras son un subproducto agrícola muy abundante de la industria del maní en todo el mundo, con un estimado de 230 a 300 g de cáscaras de maní por kg de maní producido (Zhao et al., 2012). Las cáscaras de maní son ricas en fibra y contienen aproximadamente un 47,3 % de fibra cruda (Collins y Post, 1981), pero tienen poco valor nutricional. Estas cáscaras poseen diversas aplicaciones, como absorbentes para limpieza química y ambiental, mantillo para jardinería, arena para gatos, material de empaque para envíos y carbón alternativo. Sin embargo, la gran mayoría de los desechos de cáscara de maní generados anualmente se incineran a nivel mundial, y se utilizan como combustible para producción de energía eléctrica (Toomer, 2018).

El otro subproducto obtenido en grandes cantidades en las industrias maniceras es el tegumento o piel del grano de maní (**Figura 1.23**), que representa aproximadamente un 3% del peso del grano (Woodroof, 1983). En muchas áreas del mundo, el tegumento del maní se consume tradicionalmente como parte del maní entero sin efectos adversos (Yu et al., 2010).

La piel del maní contiene 12% de proteína, 16% de grasa y 72% de carbohidratos, además de 140-150 mg de compuestos fenólicos totales por gramo de piel (base seca) (Nepote et al., 2002). Los granos de maní enteros sin blanchar proporcionan una fuente de polifenoles biológicamente activos como el estilbeno trans-resveratrol (Sobolev y Cole, 1999), flavonoides como las proantocianidinas (Gu et al., 2004) y las isoflavonas daidzeína y genisteína (Toomer, 2018).

En la composición del tegumento se encuentran un alto contenido en compuestos polifenólicos antioxidantes, tales como flavonoides, ácidos fenólicos, fitoesteroles, y estilbenos, por lo que constituye una excelente materia prima para su explotación como

fuente de antioxidantes naturales de grado alimentario (Nepote et al. 2002, 2005, 2004 a, b; Larrauri et al. 2013, 2016 a, b; Barrionuevo et al. 2020).



**Figura 1.23** Maní con piel, blanchado y tegumento de maní

### **Actividad antioxidante del tegumento de maní**

Los estudios sobre la composición fenólica y las propiedades antioxidantes de la piel del maní comenzaron en la década de 1990, desde entonces han aparecido numerosos artículos sobre su uso como ingredientes alimentarios (de Camargo et al., 2014; Nepote et al. 2002, 2005, 2004 a, b, Larrauri et al. 2013, 2016 a, b, Barrionuevo et al. 2020).

Yen et al. (2005) demostraron que extractos etanólicos de tegumento de maní (100 mg/L) tienen actividad secuestrante de radicales libres (DPPH) del 92,6 % y de 4,10 mM de equivalentes de Trolox/mM de compuestos fenólicos totales que corresponde a niveles superiores a los observados para el té verde. Yu et al. (2005) también informaron que un gramo de tegumento de maní contiene 90–125 mg de compuestos fenólicos totales, que es comparable con el contenido total de compuestos fenólicos de la piel y las semillas de uva. Yu et al. (2006) demostraron que extractos acuosos y etanólicos de tegumento de maní tienen

niveles más altos de actividad antioxidante total que el Trolox y la vitamina C en concentraciones equivalentes.

En nuestro país, el tegumento de maní ha sido estudiado principalmente en la variedad Runner utilizando diferentes técnicas *in vitro* (Nepote et al. 2002, 2005, 2004 a, b, Larrauri et al. 2013, 2016 a, b). Larrauri et al. (2016b) obtuvieron rendimientos de extracción entre 167 y 180 mg de extracto/g tegumento, contenidos de polifenoles entre 416 y 716 mg de polifenoles /g de extracto, con actividad antioxidante de 1,51-5,62  $\mu\text{g/mL}$  de extracto expresado como IC50 utilizando DPPH.

Por otra parte, el género del maní (*Arachis*) incluye una amplia variedad de colores del tegumento que van desde el blanco/tostado hasta el morado oscuro/negro (**Figura 1.24**). Se han reportado trabajos demostrando que los cultivares de maní que contienen tegumentos de colores más oscuros o intensos poseen mayor contenido fenólico total y capacidad antioxidante (Chukwumah et al., 2009; Chen et al., 2009). En otros estudios (Shem-Tov et al., 2012; Kuang et al., 2017), se informó que el contenido total de antocianinas se correlacionó positivamente con el color de la piel de la cubierta de la semilla, lo que indica que las antocianinas son la fuente predominante para la intensidad del color de la piel del maní. Las antocianinas son una categoría de compuestos fenólicos responsables de los colores púrpura oscuro, rojo y azul que se encuentran en muchas frutas y verduras, como arándanos (*Vaccinium L.*), bayas negras (*Rubus L.* híbridos), grosellas negras (*Ribes nigrum L.*) y fresas (*Fragaria vesca*) (Aaby et al. 2012).



**Figura 1.24** Cultivares de maní con colores de tegumento claros y oscuros. Fuente: U.S. National Plant Germplasm System (Toomer, 2018).

Los polifenoles de la piel del maní no son sólo abundantes por la cantidad, sino también por la variedad. Diferentes autores identificaron más de 300 compuestos fenólicos y polifenólicos en el tegumento de maní procedente de diferentes países utilizando cromatografía líquida de alta presión acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) (Reed, 2009; Larrauri et al., 2016b; de Camargo et al., 2017). Además, se pudo identificar unos 68 o más compuestos, caracterizados como potentes antioxidantes que poseen propiedades antiinflamatorias, con efectos beneficiosos para la salud, útiles para el tratamiento de diversas afecciones relacionadas con la salud humana (Toomer, 2017). Los principales compuestos encontrados incluyen ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, ferúlico, coumárico), flavonoides (epigallocatequina, catequín galato, epicatequín galato) y estilbenos (trans-resveratrol) (Reed, 2009; Larrauri et al. 2016b; de Camargo et al, 2017). La mayoría de estos estudios utilizaron extracción sólido-líquido, en la que se extrajeron los compuestos polifenólicos usando solventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, agua, acetato de etilo, hexano, y mezclas de solventes, y se trabajó con los extractos líquidos o secos por evaporación a presión reducida o liofilización (Nepote et al., 2002, 2005, 2004 a,



b; Larrauri et al., 2013, 2016 a, b; Huang et al., 2003; Yu et al., 2006; Reed 2009; Cheng et al., 2009; Constanza et al., 2012; Shem-Tov et al., 2012; Kuang et al., 2017).

En otros trabajos se utilizó el extracto de tegumento mezclado con maltodextrina y secado por aspersion para obtener microcápsulas en polvo, las cuales fueron incorporadas en chocolate con leche. Como resultado se observó un incremento de las propiedades antioxidantes sin realzar sabores amargos, demostrando que estos compuestos fenólicos pueden utilizarse como fuente novedosa de antioxidantes vegetales, para el enriquecimiento de alimentos y como ingrediente alimentario funcional (Constanza et al., 2012; Dean et al., 2016).

### **Usos del tegumento de maní como ingrediente de alimentos de consumo humano y animal**

En las últimas dos décadas, los estudios de investigación han comenzado a centrarse en la composición química (Lou et al., 1999, 2004; Nepote et al. 2002, 2005, 2004 a, b; Larrauri et al. 2013, 2016 a, b) y los usos de fuentes vegetales ricas en antioxidantes, como el tegumento de maní, como ingrediente alimentario funcional dentro de la industria alimentaria (Nepote et al. 2005, 2004 a, b; Larrauri et al., 2013, 2016 a, b; Isanga y Zhang, 2007; Constanza et al., 2012; Lewis et al., 2013; Calomeni et al., 2017; de Camargo et al., 2014, 2017; Barrionuevo et al., 2020). Sin embargo, en algunos casos el tegumento como ingrediente alimentario incrementa los sabores amargos y la sensación de astringencia en la boca debido al alto contenido de proantocianidinas o taninos (Hathorn y Sanders, 2012).

Hathorn y Sanders (2012) informaron que la inclusión de más del 1% de cáscaras de maní en la pasta de maní y/o la mantequilla de maní resultó en la aparición de sabor a cáscaras, gusto amargo y astringencia. Francisco y Resurrección (2012) elaboraron infusiones y bebidas funcionales a partir de tegumento de maní, que resultaron ricas en compuestos fenólicos, con alta actividad antioxidante, pero de sabor amargo e indeseable. Por el contrario, estudios realizados por Larrauri et al. (2013) demostraron que la inclusión de 1,0 g/kg de extractos de piel de maní en salame reducía la oxidación de lípidos y conservaba los atributos sensoriales, sin efectos negativos en amargo o astringente, incrementando la vida útil del producto durante el almacenamiento. Paralelamente, de Camargo et al. (2014) encontraron que galletas fortificadas con piel de maní al 2,5% fueron

bien aceptadas tras la evaluación sensorial, con un aumento de hasta un 30% en el contenido total de polifenoles y de un 52% de fibra insoluble.

El uso de la piel del maní en la alimentación animal se limita a un componente menor debido a su alto contenido en taninos y bajo nivel calórico (Francisco y Resurreccion, 2009; Sobolev y Cole, 2004). Varios estudios de alimentación animal han tenido como objetivo el uso de tegumento de maní como ingrediente para piensos para ganado vacuno lechero. Algunos estudios determinaron que el alto contenido de tanino y procianidina en la piel del maní inhibe la digestión y absorción de proteínas y altera negativamente el desempeño animal (Hill, 2002; Sobolev y Cole, 2004). Por lo tanto, en los ensayos actuales de alimentación animal, la inclusión de tegumentos de maní generalmente se limita a concentraciones entre el 8 al 16% en el alimento para ganado lechero (West et al., 1993). En otros estudios (Hill et al., 1986) se informa que dicho inconveniente puede morigerarse mediante el agregado de urea al tegumento antes de incluirlo en las dietas del ganado vacuno lechero. Esto disminuye el contenido de taninos y procianidinas que inhiben la digestión y absorción de proteínas. Estos autores encontraron que el contenido de taninos se redujo en aproximadamente un 42%; sin embargo, no fue eficaz para mejorar la digestibilidad de las proteínas y la retención de nitrógeno y el rendimiento se vio afectado negativamente en los novillos.

Otros ensayos más recientes de alimentación de cabras (Saito et al., 2016) demostraron que el malondialdehído (biomarcador de estrés oxidativo en plasma) fue menor en las cabras alimentadas con la dieta suplementada con 15% de tegumento de maní, lo que sugiere función antioxidante en la alimentación animal. Martínez Luque et al. (2019) también informaron efectos positivos al suplementar la alimentación de vacas lecheras en Argentina con tegumento de maní, incrementando el contenido de polifenoles en la leche.

### **Actividad biológica y efectos en la salud del tegumento de maní**

Diferentes autores han publicado efectos terapéuticos derivados de la utilización de extractos polifenólicos obtenidos del tegumento de maní, como antioxidante, antibacteriano, antifúngico y antiinflamatorio (Pizzolitto et al., 2013; Oldoni et al., 2016). También se reportaron estudios sobre los beneficios en enfermedades como la diabetes, hipertensión arterial y cáncer (de Camargo et al., 2017; Chen et al., 2018 ).

Se han encontrado pocos trabajos relacionados con la actividad biológica, los efectos en la digestión, biodisponibilidad y absorción de los polifenoles del tegumento de maní. Tsujita et al. (2014) encontraron efecto inhibitorio de diferentes extractos de tegumento de maní sobre la enzima  $\alpha$ -amilasa. Esta enzima digestiva se encuentra en las secreciones salivales y pancreáticas de humanos y mamíferos y es la responsable de la digestión de los polisacáridos (almidón y glucógeno) en azúcares simples para su absorción.

Bansode et al. (2014) demostró que las ratas a las que se les administró extracto de tegumento de maní por sonda (250 mg/kg de peso corporal) tenían niveles séricos detectables de procianidina tipo A, catequina y epicatequina dentro de los 30 minutos posteriores a la administración.

Shimizu-Ibuka et al. (2009) encontraron que la ingesta de tegumento de maní y/o extractos de tegumento de maní solubles en agua (sin fibra) reduce significativamente las lipoproteínas de baja densidad (LDL) totales, las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y el colesterol sérico esterificado después de 3 semanas de alimentación en ratas, con efecto más pronunciado en el colesterol LDL, con aumento en la cantidad de colesterol total fecal, pero sin cambios en el contenido total de lípidos hepáticos.

Tamura et al. (2012) demostraron que la alimentación con fracciones de polifenoles de bajo peso molecular (LMW) del extracto de tegumento de maní redujo significativamente los niveles de lípidos en plasma en ratas alimentadas con una dieta alta en colesterol en comparación con las ratas alimentadas con la dieta control.

Bansode et al. (2012) demostraron que las ratas suplementadas con extractos de polifenoles de tegumento de maní (150 o 300 mg/kg de peso corporal) y alimentadas con una dieta alta en grasas durante 10 semanas redujeron el peso corporal y el tejido adiposo blanco en comparación con ratas alimentadas sólo con la dieta rica en grasas. Además, las ratas suplementadas con extracto tuvieron un menor contenido hepático de triglicéridos y colesterol en comparación con el grupo no suplementado alimentado con una dieta rica en grasas.

### **Propiedades antimicrobianas del tegumento de maní**

Debido a la demanda de los consumidores de productos naturales con cantidades limitadas de conservantes químicos y antimicrobianos, han aparecido numerosos estudios de investigación sobre el uso de extractos fenólicos de origen vegetal como aditivos alimentarios con actividad antimicrobiana (Gould 1996; Tajkarimi et al., 2010; Toomer, 2018).

Sarnoski et al. (2012a) encontraron que extractos y fracciones de proantocianidinas extraídas del tegumento de maní, en concentraciones entre 1 mg/mL y 10 mg/mL, inhibieron el crecimiento de 3 cepas de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii* y *Zygosaccharomyces bisporus*) implicadas en el deterioro de jugos de frutas. Sin embargo, estas concentraciones son demasiado altas para aplicaciones prácticas dentro de la industria de alimentos y bebidas como aditivo natural.

Pizzolito et al. (2013) encontraron que el extracto de tegumento de maní Runner argentino tiene actividad inhibitoria sobre *Fusarium verticillioides* y la producción de micotoxina (fumonisina B1).

Valle Calomeni et al. (2017) y Yu et al. (2010) determinaron que el extracto fenólico de tegumento de maní es un agente antibacteriano efectivo que reduce el crecimiento de *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Xia et al. (2017) también informaron actividad antimicrobiana eficaz, con una acción similar al antibiótico bencilpenicilina sódica, inhibiendo el crecimiento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Penicillium* sp., *Actinomucor* sp. y *Aspegillus niger*. En dicho estudio, los extractos de polifenoles tuvieron actividad antimicrobiana más significativa contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Aspegillus niger* y *Actinomucor* sp. que contra *Escherichia coli* y *Penicillium* sp., a una concentración de 0,8 g/L o más.

Levy et al. (2017) demostraron que el extracto de tegumento de maní posee actividad antimicrobiana menor contra tres patógenos (*L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 y *S. Typhimurium*) que el extracto de semilla de uva. Yu, Ahmedna y Goktepe (2010) demostraron que los extractos de tegumento de maní, en una concentración de 3000 ppm (0,3 % p/p), inhibieron completamente la actividad de *E. coli* O157:H7 y *S. Typhimurium*.

De Camargo et al. (2017) encontraron que los extractos tanto de tegumento como de harina de maní inhiben el crecimiento de 9 cepas bacterianas: bacterias grampositivas (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Geobacillus stearothermophilus*) y bacterias gramnegativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*).

Peng et al. (2015) demostraron que una concentración del 0,5% de extracto de tegumento de maní ejerce un efecto inhibitor sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* y *L. plantarum*. A diferencia de otros estudios, Peng et al. (2015) encontraron que los extractos promovieron el crecimiento de *Salmonella Typhimurium* y *Escherichia coli* enterohemorrágica O157:H7.

Un estudio más reciente (Makau et al., 2018) ha revelado que los extractos de tegumento de maní (1,3 µg/mL) exhibieron actividad antiviral *in vitro* contra los virus de influenza tipo A y tipo B. Este estudio también demostró que los extractos de piel de maní administrados en co-cultivo con medicamentos contra la influenza (oseltamivir y amantadina) mejoraron sinérgicamente la actividad antiviral, lo que implica que los extractos de piel de maní pueden tener una aplicación potencial en el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos para el manejo de la influenza.

Teniendo en cuenta la preferencia por parte de los consumidores hacia los alimentos saludables, la tendencia actual en la industria alimentaria está orientada hacia la incorporación de compuestos de origen natural como conservantes, reemplazando a los aditivos sintéticos en los productos para mejorar su calidad química, nutricional, microbiológica y sensorial. En este sentido, los compuestos polifenólicos del tegumento de maní poseen propiedades bioactivas beneficiosas para la salud y su utilización para la conservación de alimentos implica el aprovechamiento e incremento de valor agregado de un subproducto de una de las agroindustrias más importantes de la provincia de Córdoba y el país. Sin embargo, la obtención de estos compuestos, el estudio de sus propiedades y su inclusión en los alimentos son un desafío, por lo que en el presente trabajo se plantean la siguiente hipótesis y objetivos:

## **HIPÓTESIS**

El tegumento, subproducto de la industria de blanchado, de las variedades de maní argentino (Runner y Virginia) poseen polifenoles con actividades antioxidante y antimicrobiana que pueden ser utilizados como conservantes naturales para prevenir el deterioro químico, microbiológico y sensorial, de alimentos con alto contenido lipídico.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la actividad antioxidante y antimicrobiana de polifenoles de tegumentos de maní argentino (Runner y Virginia) sobre un producto cárnico.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar y comparar rendimiento y composición química de los extractos polifenólicos de tegumento de maní argentino Runner y Virginia.
2. Evaluar y comparar la actividad antioxidante de los extractos polifenólicos de tegumentos de maní Runner y Virginia.
3. Analizar los efectos de los extractos solos y en combinación con aceite esencial de orégano, sobre la estabilidad oxidativa, calidad química y sensorial de un producto cárnico (salchicha tipo Frankfurt).

4. Estudiar los cambios microbiológicos, químicos y sensoriales de los productos cárnicos elaborados durante el almacenaje.

## **CAPÍTULO II**

# **RENDIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE TEGUMENTO DE MANÍ RUNNER Y VIRGINIA**

### **INTRODUCCIÓN**

El manejo de la biomasa residual producida por la actividad agrícola o por la agroindustria ocasiona dificultades tanto para las empresas, como para los gobiernos locales, debido a que grandes cantidades de desechos deben ser tratados internamente en las empresas, o recolectados y transportados a los centros de tratamiento y disposición de los gobiernos locales (Santacruz et al., 2020).

Los sub-productos agroindustriales de origen vegetal se consideraron durante muchos años como desechos, contándose con pocas estrategias para su reutilización, siendo su eliminación problemática y pudiendo generar contaminación del medio ambiente (De Corato et al., 2018; Castromonte et al., 2020).

Actualmente, la urgente demanda de sustentabilidad en los sectores alimentarios y agrícolas lleva a la revalorización de este tipo de sub-productos como fuente de antioxidantes naturales. El origen de estos sub-productos es variado ya que se generan después del procesamiento de vegetales para producir vino, jugos, compotas, salsas, aceites, etc (Čanadanović-Brunet et al., 2019; Castromonte et al., 2020).

La mayor preferencia por alimentos naturales y saludables por parte de la población ha obligado a la industria alimentaria a incluir antioxidantes naturales para retrasar la degradación oxidativa de lípidos y proteínas, mejorar su calidad, darles un valor agregado y reemplazar los posibles riesgos que puedan involucrar la utilización de antioxidantes artificiales (Ahmad et al., 2015; Valenzuela y Pérez 2016).

Se están produciendo continuos avances en el desarrollo de alimentos más saludables, fundamentados en la presencia de compuestos biológicamente activos. En la actualidad los problemas de salud pública se centran principalmente en el envejecimiento de



la población y en el aumento de la prevalencia de determinadas enfermedades crónicas (Chalé et al., 2014). La oxidación inducida por especies reactivas de oxígeno (ROS) da lugar a diversos procesos de deterioro tanto a nivel celular como molecular incluyendo daños en proteínas y lípidos y la mutaciones del ADN, que pueden iniciar el desarrollo de enfermedades como cáncer, la diabetes, enfermedades neurodegenerativas y disfunciones cardiovasculares (Ravishankar et al., 2013; Xiao et al., 2014). Estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de compuestos bioactivos con potencial antioxidante, como vitaminas, carotenoides, flavonoides y otros compuestos fenólicos tiene efectos protectores contra las enfermedades anteriormente mencionadas. Además de sus propiedades biológicas, los fitoquímicos con gran potencial antioxidante han despertado el interés en las tecnologías de alimentos, ya que pueden ser utilizados como sustitutos de los antioxidantes sintéticos, proporcionando protección contra la degradación oxidativa de los radicales libres (Cárdenas Baquero et al., 2016).

Las frutas y verduras tienen gran interés por parte de la comunidad pública y científica, puesto que se ha comprobado que promueven la salud de la población humana, reduciendo el riesgo de contraer enfermedades tales como trastornos cardiovasculares, diabetes mellitus, obesidad, hiperlipidemia, cáncer, entre otras (Betz et al., 2012; George et al., 2009; Valenzuela y Pérez 2016) y porque son fuente de una gran variedad de antioxidantes naturales (Arenas y Trinidad, 2017; Barcia et al., 2014; Lingua et al., 2019), que pueden ser extraídos y utilizados para disminuir la oxidación en productos alimenticios (Ahmad et al., 2015; Falowo et al., 2014).

Los compuestos fenólicos son un grupo extenso de sustancias no energéticas presentes en alimentos vegetales. Se originan en las plantas como producto de su metabolismo secundario. Sus propiedades antioxidantes justifican mucho de sus efectos beneficiosos. Los frutos secos y las semillas oleaginosas, incluido el maní, sus productos y subproductos son fuentes reconocidas de compuestos fenólicos (Alasalvar y Bolling, 2015).

La piel de maní se caracteriza por poseer abundantes compuestos polifenólicos, no sólo en cantidad, sino también en variedad. Los métodos de procesamiento de la piel de maní afectan significativamente el contenido y la composición de los fenoles extraídos de dicho material (Yu et al., 2006). Yu *et al.* (2006) estudiaron el efecto de tres metodologías diferentes para remover el tegumento del grano de maní (pelado directo, blanchado y

tostado), que luego fue extraído utilizando distintos solventes, y determinaron el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de los extractos. Los citados autores publicaron valores de compuestos fenólicos entre 90-125 mg/g de tegumento seco tostado. Por su lado, Wang *et al.* (2007) determinaron el contenido de fenoles totales en extractos acuosos de tegumento de maní deslipidizado. El contenido hallado fue de 90 mg fenoles/g extracto seco y, además, los extractos mostraron una fuerte actividad antioxidante frente al radical DPPH (2,2-difenyl-1-picrilhidrazil). Estudios realizados por Larrauri *et al.*, (2016b) concluyeron que el tegumento de maní obtenido por blanchado presenta mayor contenido de compuestos fenólicos que los obtenidos mediante el tostado.

Los principales grupos de polifenoles encontrados en la piel del maní son ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, ferúlico y cumarico), flavonoides (epicatequinas, epigallocatequina, galato de catequina y galato de epicatequina) y estilbenos (trans-veratrol) (Larrauri *et al.*, 2016b; Quiñones *et al.*, 2012). Los flavonoides constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal. Los principales subgrupos de compuestos flavonoides son: flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas y flavanoles (Quiñones *et al.*, 2012).

Nepote *et al.*, (2005) estudiaron el efecto de varios parámetros en la extracción de polifenoles del tegumento de maní, relación etanol/agua, tamaño de partícula, número de extracciones, entre otros. En función de ello, se determinaron las condiciones óptimas de extracción basándose en la cantidad de compuestos fenólicos totales extraídos.

El **objetivo** del estudio presentado en este capítulo fue determinar y comparar rendimiento y composición química de los extractos polifenólicos de tegumento de maní argentino Runner y Virginia (objetivo específico 1).

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## **MATERIALES**

Se trabajó con tegumento de maní argentino de las variedades Runner y Virginia, provisto por el Criadero El Carmen de General Cabrera, Provincia de Córdoba, Argentina. Cosecha 2013.

## **MÉTODOS**

### **Obtención de los tegumentos de maní**

El tegumento se obtuvo de forma manual a partir de los granos de maní de las dos variedades. Los granos se colocaron en bandejas y se calentaron a 90 °C durante 20 minutos en horno. Posteriormente, los granos se colocaron sobre una zaranda y haciendo presión con un oflador se desprendió la mayor parte del tegumento que luego fue separado. Los tegumentos fueron almacenados a -18 °C hasta su utilización.

### **Obtención de los extractos de tegumento de maní**

Los tegumentos obtenidos anteriormente se deslipidizaron durante 12 horas por el método Soxhlet utilizando n-hexano como solvente y, posteriormente, se secaron bajo campana y a temperatura ambiente por 24 horas (Larrauri et al., 2016b). A partir de cada una de las muestras deslipidizadas, se realizó una extracción sólido-líquido utilizando etanol-agua (70-30 v-v) como solvente de extracción. Se pesaron 10 g de cada tipo tegumento y se mezclaron con 200 mL de solvente, durante 2 horas a temperatura ambiente y oscuridad. La solución obtenida se filtró utilizando equipo de filtrado al vacío y papel de filtro Whatman N° 3. Posteriormente se evaporó completamente el solvente de los extractos en evaporador rotatorio, bajo vacío a 35 °C.

### **Rendimiento de extracción**

Se determinó el rendimiento de extracción mediante el peso de materia seca extraída en relación al tegumento inicial, según la siguiente fórmula (Larrauri et al., 2016b):

$$\text{Rendimiento de extracción} = (g \text{ extracto seco}) / (100 g \text{ tegumento seco})$$

(ec. 2.1)

## Composición química general

**Composición química de los extractos y tegumentos:** Se determinó la composición química general: humedad, materia grasa, proteínas, cenizas y carbohidratos totales (AOAC, 2010). Contenidos de polifenoles totales (Larauri et al., 2016b) y flavonoides (Luximon-Ramma et al., 2005).

**Humedad.** Se secaron 5 g de muestra en estufa a 100 °C hasta peso constante (AOAC, 2010). y se determinó el porcentaje de humedad por diferencia de peso, según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{g \text{ muestra húmeda} - g \text{ muestra seca}}{(g \text{ muestra húmeda})} \times 100 \text{ (ec. 2.2)}$$

**Materia grasa.** Se realizó mediante extracción con n-hexano como solvente, por un período de 12 horas, utilizando equipo Soxhlet. La materia grasa se calculó por diferencia de peso de las muestras antes y después de la extracción (AOAC, 2010), según la fórmula:

$$\% \text{ Aceite} = \frac{g \text{ aceite}}{g \text{ muestra}} \times 100 \text{ (ec. 2.3)}$$

**Proteínas.** Se determinó el porcentaje de nitrógeno por el método de Kjeldhal en 0,5 g de muestra. Para convertir el porcentaje de nitrógeno en porcentaje de proteínas se utilizó el factor 5,46, siendo este factor el utilizado para maní y todos sus productos derivados (AOAC, 2010).

**Cenizas.** Las muestras de tegumento y extractos se incineraron en horno mufla a 550 °C durante 6 h. El porcentaje de cenizas se determinó por la diferencia de peso antes y después de la incineración (AOAC, 2010), utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{g \text{ después de la incineración}}{g \text{ antes de la incineración}} \times 100 \text{ (ec. 2.4)}$$

**Hidratos de carbono.** Los carbohidratos totales se calcularon por diferencia (Barrionuevo et al., 2020).

$$\% H. de C. = 100 - (\% humedad + \% mat. grasa + \% cenizas + \% proteínas)_{(ec. 2.5)}$$

### **Contenido de polifenoles totales**

Se determinó el contenido de polifenoles totales de los extractos por el método de Folin-Ciocalteu adaptado para un volumen de 10 mL, según (Larrauri et al., 2016 b). Se trabajó con una dilución conocida en etanol-agua (70:30, v/v) de cada uno de los extractos secos (500 µg/mL). La curva de calibración se obtuvo con soluciones de ácido gálico (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) en etanol-agua (70:30, v/v). Para ello se colocó en un tubo de ensayo 8,4 mL de agua destilada y 100 µL de la dilución de cada extracto, se agregó 500 µL del reactivo Folin-Ciocalteu y se dejó reposar durante 3 a 6 minutos. Posteriormente se agregó 1 mL de solución saturada de carbonato de sodio y se dejó reposar durante 1 hora en oscuridad. Se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 760 nm.

Se determinó el contenido de fenoles totales de la muestra en base a una curva de calibración construida con distintas concentraciones de ácido gálico. Los resultados se expresaron como equivalente de ácido gálico (mg EAG/g muestra seca).

### **Contenido de flavonoides totales**

Se determinó el contenido de flavonoides totales según el método utilizado por Luximon-Ramma et al. (2005) y Larrauri et al. (2016 b). Se trabajó con una dilución conocida en etanol-agua (70:30, v/v) de cada uno de los extractos secos (1,5 mg/mL). La curva de calibración se obtuvo con soluciones de distinta concentración de quercetina (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) en etanol-agua (70:30, v/v).

Se procedió de la siguiente manera: se colocó en un tubo de medio ensayo 1,5 mL de la dilución de cada extracto y se agregó igual volumen de una solución al 2% de  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$  (2 g en 100 mL etanol). La mezcla se agitó vigorosamente y se dejó reposar en oscuridad durante 10 minutos. Se midió la absorbancia en espectrofotómetro UV-visible a 367 nm.

Por comparación con los valores obtenidos con una curva de calibración realizada con quercetina, se determinó el contenido de flavonoides totales de la muestra y los resultados se expresaron como equivalente quercetina (mg EQ/g muestra seca).

## **Identificación y cuantificación de polifenoles**

El perfil de polifenoles de los extractos de tegumento se analizó por HPLC-MS/MS, utilizando un equipo Agilent Technologies 1200 Series, equipado con una bomba de gradiente (Agilent G1312B SL Binary), desgasificador de solvente (Agilent G1379B) y autosampler (Agilent G1367D SL+WP), según Lingua et al., (2016). La separación cromatográfica se realizó en una columna de fase reversa C18 (LUNA, Phenomenex, Torrance, CA, USA; C18(2), 5  $\mu$ m, 250 mm, 4.60 mm i.d.) a 35 °C. La fase móvil consistió en un gradiente de solventes (solvente A: 0.5% ácido fórmico y solvente B: 0.5% ácido fórmico, v/v en metanol). El flujo de solvente fue de 0.4 mL/min y el volumen inyectado de 5  $\mu$ L. El sistema HPLC estaba acoplado a un detector de diodos (Agilent G1315 C Starlight DAD) seguido por un espectrómetro de masas QTOF (MicroTOF-Q11 Series, Bruker) equipado con una fuente de ionización electrospray (ESI). Las longitudes de onda seleccionadas fueron 280, 320 y 350 nm y el espectro UV-Vis desde 200 a 600 nm. Las condiciones de trabajo de la fuente de ionización fueron: voltaje capilar de 4500 V, presión de atomización de gas de 4,0 bar, flujo de gas de secado de 8,0 L / min, y temperatura de secado de 200 °C. Se usaron los gases N<sub>2</sub> y Ar para nebulización y colisión, respectivamente. Los espectros de MS se registraron en modo negativo en el rango de 80 a 1500 m/z. El detector de MS se programó para realizar un barrido de MS/MS de los tres iones más abundantes, utilizando energía de colisión de 10.0 eV. La adquisición y el procesamiento de datos se realizaron utilizando el software Compass Versión 3.1 y el software Data Analysis Versión 4.1, respectivamente. Los compuestos polifenólicos fueron identificados por co-análisis de compuestos puros con idénticos tiempos de retención y masa exacta, y por comparación con propiedades espectroscópicas (UV, ESI-MS, y MS/MS) de compuestos disponibles en literatura. Los resultados se expresaron en  $\mu$ g/mg de muestra (Larrauri et al., 2016 b).

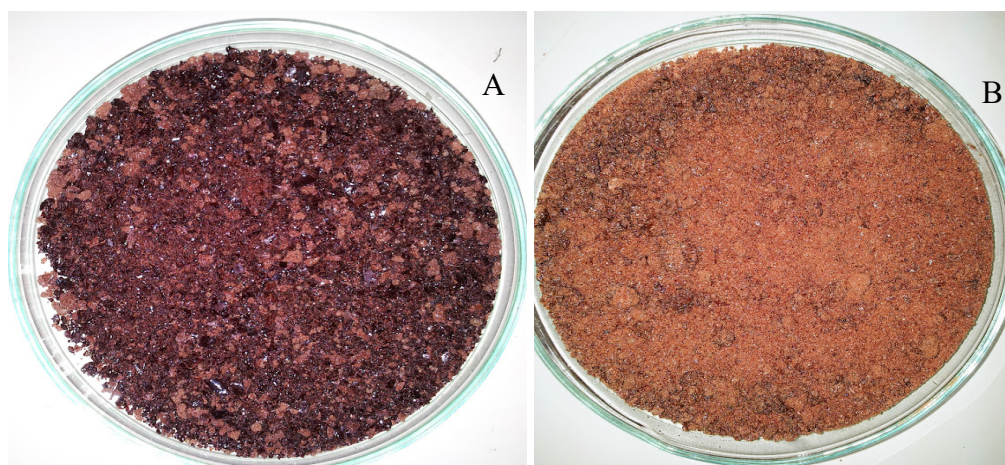
## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los experimentos se realizaron por triplicado ( $n=3$ ) y los resultados se analizaron estadísticamente con el programa InfoStat versión 2020 (Di Rienzo et al., 2013). Se calcularon medias y desvíos estándar. Se realizaron análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha = 0,05$ ) y test posterior LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ) para encontrar diferencias significativas entre las muestras.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Rendimiento de extracción

En la **Figura 2.1** se observan las diferencias de aspecto y coloración de los extractos secos obtenidos del tegumento de ambas variedades de maní. El tegumento de la variedad Virginia resultó con superior rendimiento de extracción ( $18,96 \pm 0,30$  g extracto/100 g tegumento deslipidizado) en comparación con el de la variedad Runner ( $10,96 \pm 0,45$  g extracto/100 g tegumento deslipidizado) ( $\alpha = 0,05$ ) para las condiciones de extracción y solventes utilizados. En trabajos previos sobre extracción de polifenoles de tegumento de maní Runner, bajo similares condiciones, se obtuvieron rendimientos similares por Nepote et al. (2004a) ( $10,56$  g extracto/100 g tegumento deslipidizado), mientras que Larrauri et al. (2016 b) encontraron rendimiento similar al tegumento de la variedad Virginia ( $17,99$  g/100 g tegumento).



**Figura 2.1.** A: extracto polifenólico del tegumento de maní variedad Virginia. B: extracto polifenólico del tegumento de maní variedad Runner.

## Composición química general

En la **tabla 2.1** se muestra la composición química general y los contenidos de polifenoles y flavonoides totales de los tegumentos y de los extractos de ambas variedades.

Por un lado, comparando la composición química general de los tegumentos, la variedad Runner presentó mayores porcentajes de cenizas y lípidos (2,89 y 17,84 g/100 g) que la variedad Virginia (2,57 y 10,70 g/100 g), respectivamente. Esta última presentó en cambio mayor contenido de hidratos de carbono (69,20 g/100 g) que el Runner (60,31 g/100 g) ( $\alpha = 0,05$ ). No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de proteínas y humedad entre los tegumentos. En cuanto a los extractos, la variedad Runner resultó con mayor contenido de cenizas, lípidos y proteínas, pero inferior humedad respecto del extracto del tegumento de la variedad Virginia ( $\alpha = 0,05$ ). No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de hidratos de carbono de ambos extractos.

De acuerdo con datos encontrados en la bibliografía, se hallaron valores cercanos en tegumento Runner argentino: lípidos entre 15,65-16,60%, proteínas entre 10,78-12,32%, cenizas entre 2,41-2,8% (Nepote et al., 2002; Larrauri et al., 2013). Otros autores publicaron valores similares en tegumentos de otros orígenes, reportando los siguientes porcentajes: 12% de proteínas, 16% de lípidos y 72% de hidratos de carbono (Yu et al., 2006; Woodroof, 1983). Muñoz-Arrieta et al. (2021) informaron contenidos de 9,59% de lípidos, 12,7% de proteínas, 2,13% de cenizas y 42,8% fibra dietaria en tegumento de maní Virginia de USA.

Respecto al contenido de fenoles totales, el tegumento y extracto de Virginia (230,27 mg/g y 1214,5 mg/g, respectivamente) resultaron con superiores contenidos en fenoles totales en comparación con el tegumento y extracto de Runner (79,63 mg/g y 726,6 mg/g, respectivamente). En contraposición a lo hallado, estudios de Francisco y Resurreccion (2009b), encontraron mayor contenido de fenoles totales en los extractos de la variedad Runner respecto a los extractos de la variedad Virginia. Por otra parte, Larrauri et al., (2016 b) publicaron contenidos de fenoles totales en el extracto Runner (672,40 mg/g) similares a los del presente trabajo. En general, los trabajos realizados sobre tegumentos de maní de otros orígenes indican menores contenidos de fenoles totales en comparación con el tegumento argentino (Francisco y Resurreccion, 2009b; Lorenzo et al., 2018; Meng et al., 2020). La diferencia entre el contenido fenólico total del tegumento de maní de origen



norteamericano y argentino podría explicarse por efectos genéticos y ambientales (Young et al., 2005).

Los flavonoides totales fueron superiores en el tegumento de la variedad Virginia, no encontrándose diferencias significativas entre los extractos Runner y Virginia. Larrauri et al. (2016 b) reportaron valores de flavonoides en extracto de maní Runner blanchado de 19,96 mg/g, inferiores a los encontrados en este trabajo. Otros autores informan amplios rangos de contenidos de flavonoides (entre 5 y 140 mg/g) en diferentes variedades de tegumento de maní (Lorenzo et al., 2018). Las diferencias en cuanto a los rendimientos y los contenidos de fenoles y flavonoides se pueden explicar debido a múltiples factores: variedad de maní, localización geográfica, clima, pretratamiento, método y solvente de extracción (puro o mezcla), número de etapas, relación tegumento/solvente, tiempo, temperatura, entre otras (Lorenzo et al., 2018).

**Tabla 2.1** Composición química general, fenoles y flavonoides totales de los tegumentos y extractos de las variedades Runner y Virginia (medias  $\pm$  desvío estándar, n= 3).

Composición	Tegumentos		Extractos	
	Runner *	Virginia *	Runner **	Virginia **
Humedad (g/100 g)	6,69 $\pm$ 0,16 a	5,99 $\pm$ 0,27 a	9,24 $\pm$ 1,02 A	11,08 $\pm$ 0,27 B
Cenizas (g/100 g)	2,89 $\pm$ 0,08 b	2,57 $\pm$ 0,11 a	2,10 $\pm$ 0,05 B	1,33 $\pm$ 0,02 A
Lípidos (g/100 g)	17,84 $\pm$ 1,35 b	10,70 $\pm$ 0,52 a	7,68 $\pm$ 2,15 B	5,00 $\pm$ 0,18 A
Proteínas (g/100 g)	12,27 $\pm$ 1,20 a	11,53 $\pm$ 1,10 a	5,00 $\pm$ 0,05 B	3,41 $\pm$ 0,03 A
Hidratos de Carbono	60,31 $\pm$ 1,11 a	69,20 $\pm$ 0,95 b	75,97 $\pm$ 3,18 A	79,18 $\pm$ 0,47 A
Polifenoles Totales (mg/g)	79,63 $\pm$ 13,03 a	230,27 $\pm$ 17,61 b	726,60 $\pm$ 118,80 A	1214,50 $\pm$ 0,09 B
Flavonoides (mg/g)	8,36 $\pm$ 0,24 a	14,88 $\pm$ 0,23 b	76,31 $\pm$ 2,20 A	78,48 $\pm$ 1,18 A

\* Letras minúsculas distintas en las filas indican diferencias significativas entre tegumentos (ANOVA, Test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

\*\* Letras mayúsculas distintas en las filas indican diferencias significativas entre extractos (ANOVA, Test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

## Identificación y cuantificación de compuestos polifenólicos de los extractos

En la **Tabla 2.2** se presentan los compuestos identificados por HPLC-MS/MS y cuantificados en  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de los extractos de tegumentos de maní Runner y Virginia. Se identificaron, en ambos tegumentos, un total de 21 compuestos polifenólicos de tres tipos: ácidos fenólicos (ácido malonil cafeoil quínico, ácido quínico, ácido cafeoil tartárico, ácido cis/trans ácido cutárico, ácido p-coumaroil nicotinoil tartárico, ácido cafeoil tartárico, ácido di-p-coumaroil tartárico), flavonoides (procianidina dímero A, B, trímero A; mannilflavanona; quercetina-3-O-rutinósido; isorhamnetin rutinósido; glucósido de crisoeriol/ hexósido de crisoeriol; quercetina) y un estilbeno (hexósido resveratrol). En el tegumento Virginia, el total cuantificado fue 42,39  $\mu\text{g}/\text{mg}$  y en el tegumento Runner 39,61  $\mu\text{g}/\text{mg}$ .

Los compuestos polifenólicos predominantes en ambos tegumentos fueron: ácido cis/trans cutárico, dímero A de procianidina y ácido malonil cafeoil quínico. Las estructuras de estas moléculas se muestran en la **Figura 2.2**. Se observaron diferencias significativas en la mayor parte de los compuestos presentes en ambos extractos. El tegumento de maní Virginia presentó mayores contenidos de procianidina dímero A, B, (I y II), procianidina trímero A, procianidina dímero A-II, cis/trans ácido cutárico (I y II), mannilflavanona, quercetina-3-O-rutinósido, ácido di cafeoil tartárico II, isorhamnetin rutinósido. Mientras que el tegumento de maní Runner tuvo mayores contenidos de ácido malonil cafeoil quínico, ácido quínico, procianidina dímero A-I, glucósido de crisoeriol/ hexósido de crisoeriol y quercetina. La diferencia entre las composiciones de ambos tegumentos podría estar relacionada con el factor genético.

En el trabajo publicado por Larrauri et al. (2016 b) se observa la presencia de compuestos similares en extractos purificados de tegumento Runner. Dichos autores informaron la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides y estilbenos. Los principales componentes encontrados fueron: procianidina dímero tipo A y B, dímero de proantocianidina, catequina, quercetina y epi-catequina (Larrauri et al., 2016 b).

En estudios realizados por Ma et al. (2014) se reportaron una gran variedad de compuestos fenólicos en extracto de tegumento de maní, siendo los más abundantes:

proantocianidinas, ácidos fenólicos libres y sus ésteres, estilbenos (trans-resveratrol y trans-piceatanol), flavonoides y biflavonoides. Por su parte, Sarnoski et al. (2012) reportaron que el tegumento de maní de la variedad Virginia presentó altos contenidos de proantocianidinas, siendo las más abundantes las proantocianidinas del tipo A Costa de Camargo et al. 2017a, identificaron en el tegumento de maní, proantocianidinas, ácido p-coumárico, ácido ferúlico y ácido ellágico, como así también catequinas y epicatequinas. Las procianidinas representaron el 84% de los compuestos fenólicos, mientras que los flavonoides monoméricos y los ácidos fenólicos representaron el 13% y 3%, respectivamente.

Es de destacar que la cuantificación de los polifenoles puede verse afectada por muchos factores relacionados con la extracción de la piel. Un cierto porcentaje de compuestos fenólicos, incluidas las proantocianidinas, están unidos al material de la pared celular, como los polisacáridos, a través de enlaces puente de hidrógeno e interacciones hidrófobas (Pinelo et al., 2006) impidiendo su completa extracción. Por otra parte, estudios realizados por Yu et al. (2006) informaron sobre la influencia de los métodos de eliminación de piel del maní en el contenido de proantocianidinas. Larrauri et al. (2016b) reportaron que el porcentaje de polifenoles totales obtenidos del tegumento blanchado fue mayor que el logrado a partir del tegumento tostado.

Por otra parte, el resveratrol es un estilbeno muy abundante en uvas y vino tinto, apreciado por sus propiedades antioxidantes y beneficios para la salud previniendo enfermedades cardiovasculares (Renaud et al., 2004; Anastasiadi et al., 2012). En otros estudios se ha reportado, en cambio, resveratrol aglicona en maní, productos y subproductos (Nepote et al., 2004a; J Yu et al., 2005; Ballard et al., 2010; Ma et al., 2014; Larrauri et al., 2016b; M. Yu et al., 2016). En el presente estudio, los extractos obtenidos a partir de los tegumentos de maní Runner y Virginia presentaron bajas cantidades de un compuesto derivado del resveratrol (hexóxido de resveratrol), 0,01 µg/mg del extracto Runner y 0,02 µg/mg del Virginia.

Larrauri et al., (2016b) encontraron cis/trans-resveratrol en baja concentración, en dos fracciones purificadas obtenidas a partir de extracto de tegumento de maní Runner. Costa de Camargo et al. (2017b) no detectaron resveratrol en extractos de tegumento de maní. Factores tales como las condiciones climáticas y de estrés, así como la calidad del suelo,

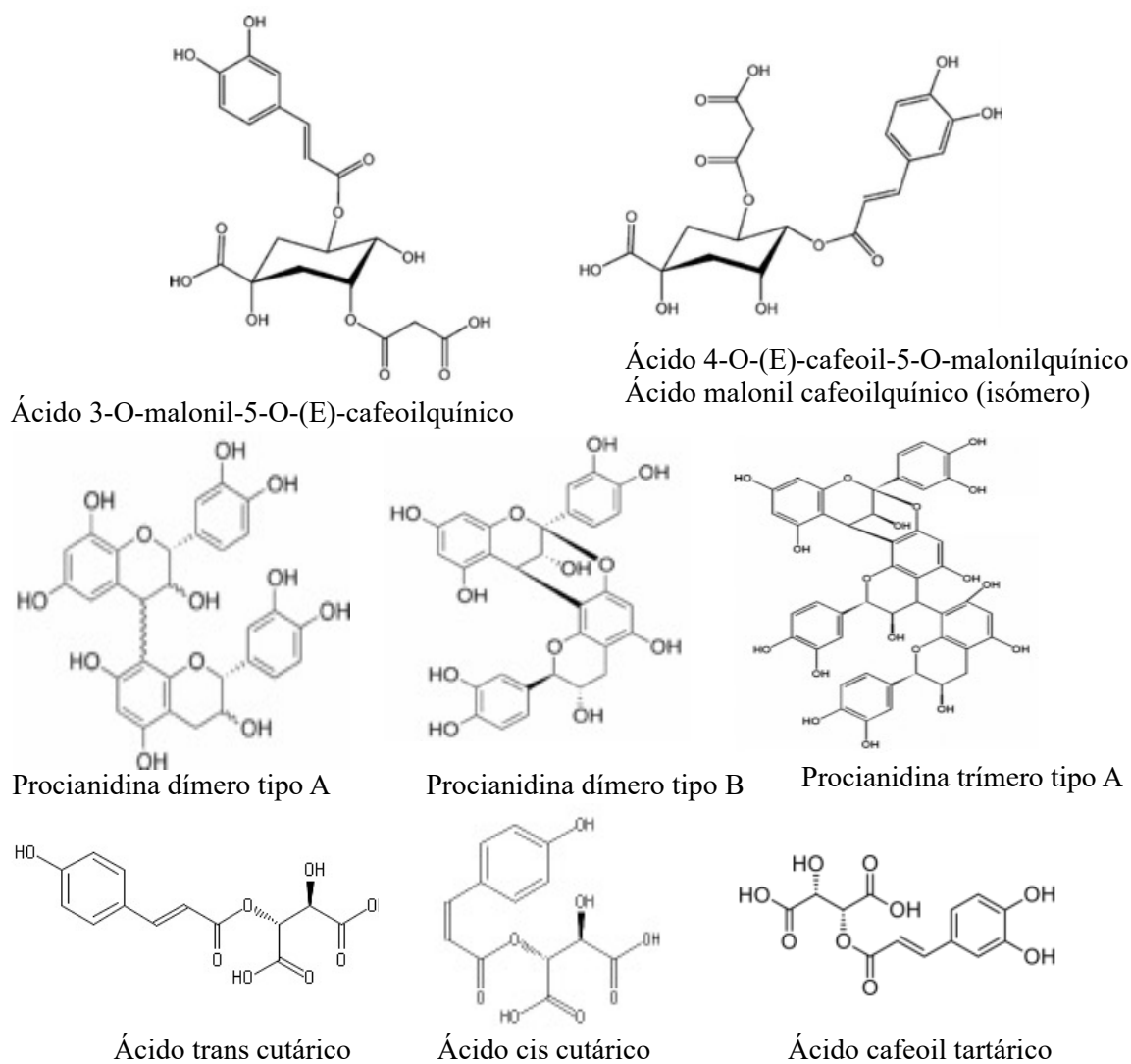
juegan un papel importante en las identidades y contenidos de diversas formas y derivados del resveratrol. (Chang et al., 2006; Yang et al., 2015)

**Tabla 2.2.** Contenido ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de extracto) de compuestos polifenólicos en los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia identificados por HPLC-MS/MS (medias y desvíos estándar,  $n = 3$ ).

N°	Compuestos	Fórmula molecular	Masa teórica	RUNNER ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )				VIRGINIA ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )			Estándar**
				RT	media	DE	*	media	DE	*	
1	Ácido malonil cafeoil quínico	C19H20O12	439,0882	7,4	5,58	0,06	b	4,83	0,08	a	Acido cafeico
2	Ácido quínico	C7H12O6	191,0561	7,5	0,98	0	b	0,43	0,02	a	Acido quínico
3	Procianidina dímero B - I	C30H26O12	577,1351	11,7	0,93	0,01	a	1,18	0,05	b	Catequina
4	Procianidina dímero B - II	C30H26O12	577,1351	12,5	0,18	0	a	0,55	0	b	Catequina
5	Procianidina trímero A	C45H36O18	863,1829	12,5	0,92	0,02	a	1,6	0,12	b	Catequina
6	Ácido cafeoil tartárico	C13H12O9	311,0409	12,9	1,32	0,03		1,26	0,06		Acido cafeico
7	Procianidina dímero A-I	C30H24O12	575,1195	13,1	5,86	0,12	b	4,25	0,41	a	Catequina
8	Procianidina dímero A-II	C30H24O12	575,1195	14,2	3,29	0,14	a	5,71	0,04	b	Catequina
9	Ácido cis cutárico /Ácido trans cutárico-I	C13H12O8	295,0459	14,2	16,36	0,07	a	16,72	0,03	b	Acido cafeico
10	Ácido cis cutárico /Ácido trans cutárico-II	C13H12O8	295,0459	15,4	0,91	0,01	a	2,51	0,06	b	Acido cafeico
11	Hexóxido resveratrol	C20H22O8	389,1242	15,9	0,01	0		0,02	0		Quercetina
12	Ácido p-cumaroil nicotinoil tartárico	C19H15NO9	400,0674	16,8	0,45	0,01		0,46	0,01		Acido cafeico
13	Ácido di cafeoil tartárico-I	C22H18O12	473,0715	16,8	0,18	0		0,22	0,01		Acido cafeico
14	Procianidina dímero A-III	C30H24O12	575,1195	18,1	0,24	0,02		0,24	0		Catequina
15	Manniflavanona	C30H22O13	589,0988	19,1	0,08	0,01	a	0,15	0	b	Quercetina
16	Quercetina-3-O-rutinósido	C27H30O16	609,1461	19,8	0,21	0	a	0,43	0,02	b	Rutina
17	Ácido di cafeoil tartárico-II	C22H18O12	473,0715	20,6	0,17	0,01	a	0,25	0	b	Acido cafeico
18	Ácido Di-p-coumaroyl tartárico	C22H18O10	441,0827	21,2	0,78	0,04		0,73	0,04		Acido cafeico
19	Isorhamnetin rutinósido	C28H32O16	623,1618	22,1	0,3	0	a	0,61	0,05	b	Rutina
20	Crisoeriol-glucósido / Crisoeriol hexóxido	C22H22O11	461,1089	22,9	0,15	0	b	0,08	0	a	Quercetina
21	Quercetina	C15H10O7	301,0354	25,3	0,69	0	b	0,18	0	a	Quercetina
	TOTAL				39,61			42,39			

\* Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ )

\*\* Compuestos puros (estándar) utilizados para la cuantificación.



**Figura 2.2** Estructuras moleculares de los principales compuestos polifenólicos encontrados en los extractos de tegumentos de maní Runner y Virginia.

## CONCLUSIONES

Los tegumentos de las dos variedades de maní analizadas, Runner y Virginia, tienen diferencias en su composición química general, rendimiento de extracción, contenidos de polifenoles, flavonoides y en las concentraciones de los diferentes compuestos polifenólicos identificados por HPLC-MS/MS en los extractos.

El tegumento de maní Runner tiene mayor contenido de cenizas y lípidos, y presenta menor cantidad de hidratos de carbono que el de maní Virginia. Este último muestra mayores rendimientos de extracción, fenoles totales y flavonoides. Además, presenta mayores cantidades de compuestos polifenólicos particulares (procianidinas, ácido cutárico, entre otros) en su extracto. Los compuestos polifenólicos predominantes en los extractos de ambos tegumentos de maní son: cis-/trans-ácido cutárico, procianidina dímero A y ácido malonil cafeoil quínico.

## **CAPÍTULO III**

# **ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS POLIFENOLICOS DE TEGUMENTO DE MANÍ RUNNER Y VIRGINIA**

## **INTRODUCCIÓN**

Las grasas, los aceites y los alimentos con base lipídica se deterioran al sufrir diversas reacciones de degradación, tanto por calentamiento como durante su almacenamiento. Los principales procesos de deterioro son reacciones de oxidación y de descomposición de los productos de tales oxidaciones que provocan una disminución del valor nutricional y de la calidad sensorial (Y. L. Isaza Maya et al., 2013).

La oxidación puede inhibirse por varios métodos que incluyen el bloqueo del acceso del oxígeno, el uso de temperaturas más bajas, la inactivación de enzimas que catalizan la oxidación, la reducción de la presión de oxígeno, como así también el uso de aditivos específicos que inhiben o retardan las reacciones de oxidación denominados principalmente antioxidantes. Esta denominación engloba a un grupo de sustancias que presentan estructuras químicas y mecanismos de acción muy variados.

Los antioxidantes, en general, son compuestos que, en bajas concentraciones, retardan el comienzo o disminuyen la velocidad de oxidación de los materiales autooxidables interfiriendo en el mecanismo fundamental de formación de radicales libres (do Valle Calomeni et al., 2017). Los antioxidantes se usaron por primera vez para preservar los alimentos antes de la segunda Guerra Mundial. Los primeros en ser utilizados fueron sustancias naturales que fueron rápidamente reemplazadas por antioxidantes sintéticos (BHT, BHA, TBHQ, entre otros), sustancias sintéticas más baratas, de pureza controlada y poseedoras de una capacidad antioxidante más uniforme. El aumento en el uso de este tipo de antioxidantes puso en tela de juicio su utilización por parte de los consumidores, debido a los efectos secundarios generados a la salud ( Sun et al., 2011; Prakash et al., 2015). En consecuencia, la demanda de antioxidantes naturales por parte de la industria alimenticia aumentó considerablemente (Ma et al., 2014; Larrauri, et al., 2016b).



El maní es una importante fuente de aceite y proteínas y contiene una amplia gama de compuestos con importantes propiedades biológicas. Estos incluyen fibra cruda, tocoferoles y algunas vitaminas (principalmente niacina, riboflavina y ácido pantoténico), esteroides y varias sustancias fenólicas y polifenólicas ( Francisco y Resurreccion, 2009a; Ma et al., 2014; Larrauri et al., 2016b; Bodoira et al., 2017; Costa de Camargo et al., 2017a)

Las principales clases de compuestos fenólicos naturales (ácidos fenólicos, flavonoides y estilbenos), incluidas varias procianidinas y proantocianidinas, encontrados en el tegumento del maní han sido reportados en varios estudios informando sobre sus propiedades antioxidantes. Yu et al. (2006) aislaron catequinas y oligómeros de procianidina a partir de extractos de piel de maní químicamente purificados y demostraron una mayor capacidad de eliminación de radicales libres que el Trolox y la vitamina C. De manera similar, Larrauri et al. (2016b) demostraron que los extractos de piel de maní, purificados mediante diferentes solventes orgánicos y compuestos principalmente por ácidos fenólicos, flavonoides, procianidina y dímeros de proantocianidina, muestran una fuerte capacidad de captura de diferentes radicales libres sintéticos. Oldoni et al. (2016) utilizó el fraccionamiento guiado por bioensayo para aislar compuestos antioxidantes de la piel del maní. En cuanto a las aplicaciones en los sistemas alimentarios, se ha encontrado que los extractos de piel de maní pueden reducir la degradación oxidativa del aceite de girasol (Larrauri et al., 2016a). Otros estudios revelan el potencial de los polifenoles del maní para mejorar la estabilidad química y las propiedades sensoriales y para extender la vida útil de los alimentos procesados (Barrionuevo et al., 2020; Mariana Larrauri et al., 2013; Munekata et al., 2016).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se basa en su capacidad secuestradora de radicales libres, quelatante de iones metálicos y donadora de electrones. Su estructura química es la ideal para reaccionar con los radicales libres y formar un radical intermedio más estable y menos reactivo, ya que la presencia de anillos aromáticos y grupos hidroxilo permite que se deslocalicen los electrones ( Larrauri et al., 2016b; Bodoira et al., 2017b).

El enfoque actual en la industria de los alimentos es adicionar antioxidantes naturales al producto final. Varios autores han realizado estudios sobre uvas, té, frutas, verduras, frutos secos, cereales y extractos de pepa de uva, ajo y cebolla, hojas de cacao, hojas de menta,

aceites esenciales de romero, tomillo y salvia, entre otros en donde se mencionan los potenciales beneficios para la salud de los compuestos fenólicos de origen natural (Quiñones et al., 2012; Alasalvar y Bolling, 2015; Valenzuela y Pérez, 2016; Chen et al., 2018).

El *objetivo* de los estudios realizados en este apartado fue evaluar y comparar la actividad antioxidante de los extractos polifenólicos de tegumentos de maní Runner y Virginia (objetivo 2)

# MATERIALES Y MÉTODOS

## MATERIALES

Se trabajó con los extractos obtenidos de los tegumentos de maní argentino de variedad Runner y Virginia, descriptos en el capítulo II.

Para el ensayo de oxidación acelerada se utilizó aceite refinado de girasol marca Natura (Aceitera General Deheza, General Cabrera, Provincia de Córdoba, Argentina, año 2018).

## MÉTODOS

### Actividad antioxidante de los extractos de tegumento de maní

A partir de los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia, obtenidos según lo detallado en el Capítulo II, se realizaron diferentes pruebas para estudiar y comparar sus propiedades antioxidantes con técnicas *in vitro*.

### Actividad secuestrante de radicales libres por DPPH

Se determinó la actividad secuestrante de radicales libres según Larrauri et al., (2016b). Se trabajó con una dilución conocida en etanol-agua (70:30, v/v) de cada una de las muestras (300 µg/mL). Se tomaron diferentes alícuotas de la dilución (5, 25 y 50 µL) que fueron agregadas a 1,5 mL de una solución metanólica del radical DPPH (20 µg/mL) para obtener una concentración final de 1, 5 y 10 µg/mL, respectivamente. La mezcla se agitó vigorosamente y se dejó reposar durante 5 minutos en oscuridad. Posteriormente, se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 517 nm. Se utilizó el antioxidante sintético butil hidroxitolueno (BHT) como control positivo. El porcentaje de inhibición del radical DPPH por los extractos y fracciones purificadas se calculó según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición de DPPH} = \left(1 - \frac{A_0 - A_b}{A_0}\right) \times 100 \text{ (ec. 3.1.)}$$

donde: A es la absorbancia de la solución de DPPH con el extracto o fracción de tegumento de maní  
A<sub>b</sub> es la absorbancia de metanol con el extracto o fracción de tegumento de maní.

$A_0$  es la absorbancia de la solución de DPPH.

Se calculó la concentración inhibitoria 50% ( $IC_{50}$ ) a partir de la curva obtenida del porcentaje de inhibición vs la concentración final de la muestra (Larrauri et al., 2016b).

### **Actividad quelante de ion ferroso**

Se determinó la actividad quelante del ion ferroso ( $Fe^{2+}$ ) según la metodología propuesta por Yamaguchi et al. (2000) y Bursal y Köksal (2011). Se diluyó la muestra en etanol-agua (70:30 v/v) a diferentes concentraciones (10 – 100  $\mu\text{g/mL}$ ). Se tomó 0,25 mL de la dilución y se mezcló con igual volumen de una solución acuosa de  $FeSO_4$  (1 mM). Las muestras y el  $FeSO_4$  se prepararon en sodio dodecil sulfato al 1%. Posteriormente, se agregó 0,5 mL de buffer Tris-HCl (pH 7,4) y 0,5 mL de 2,2-bipiridil (0,1% en 0,2 M de HCl). Finalmente, se adicionó a la reacción 0,4 mL de hidroxilamina-HCl (10% p/v), 2,5 mL etanol y 0,6 mL de agua Milli Q. Se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 522 nm. Se utilizó EDTA como control positivo. La capacidad quelante frente al ion ferroso de los extractos y fracciones purificadas se calculó según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Actividad Quelante} = \left(1 - \frac{A_m}{A_c}\right) \times 100 \text{ (ec. 3.2.)}$$

donde:  $A_m$  es la absorbancia de la reacción con el extracto o fracción de tegumento de maní.

$A_c$  es la absorbancia de la reacción.

Se calculó la concentración inhibitoria 50% ( $IC_{50}$ ) a partir de la curva obtenida del porcentaje de inhibición vs la concentración final de la muestra (Larrauri et al., 2016b).

### **Capacidad inhibitoria de radicales hidroxilo**

Se determinó la capacidad inhibitoria de radicales hidroxilo ( $OH^\cdot$ ) según lo descrito por Gao *et al.* (2010) con modificaciones. Se diluyó la muestra en etanol-agua (70:30, v/v) a diferentes concentraciones (10 – 100  $\mu\text{g/mL}$ ). Se tomó 0,10 mL de la dilución y se mezcló con 0,2 mL de buffer fosfato (35 mM, pH 7,4), 0,2 mL de deoxiribosa (10 mM) y 0,2 mL de EDTA (170 mM). Posteriormente se agregó 0,1 mL de  $H_2O_2$  (10 mM), 0,1 mL de ácido ascórbico (2 mM) y 0,1 mL de cloruro férrico (1 mM). La mezcla se agitó en vortex y se incubó en baño de agua a 37 °C durante 90 minutos. Luego del tiempo de incubación se agregó 1 mL de ácido tricloroacético (1%, v/v) y 1 mL de ácido tiobarbitúrico (1%, v/v).

Finalmente, se llevó a baño de agua hirviendo durante 15 minutos. Se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 532 nm. Se utilizó ácido ascórbico como control positivo. La capacidad inhibitoria del radical hidroxilo por los extractos se calculó según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Captura Radical Hidroxilo} = \left(1 - \frac{A_m}{A_c}\right) \times 100 \text{ (ec. 3.3.)}$$

donde:  $A_m$  es la absorbancia de reacción con el extracto o fracción de tegumento de maní.

$A_c$  es la absorbancia de la reacción.

Se calculó la concentración inhibitoria 50% ( $IC_{50}$ ) a partir de la curva obtenida del porcentaje de inhibición vs la concentración final de la muestra (Larrauri et al., 2016b).

### **Ensayo ABTS**

Se determinó la actividad antioxidante según el método ABTS modificado de acuerdo a Asensio et al. (2011). Se tomaron 0,0384 g del reactivo ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) y 0,0066 g persulfato de potasio, se diluyeron en 10 mL de etanol (absorbancia  $0,700 \pm 0,02$ ). Luego, se agregaron 10  $\mu$ L de los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia (125  $\mu$ g/mL en etanol) a 990  $\mu$ L de la solución ABTS. Se midió la absorbancia de las muestras a 734 nm. Se realizó una curva de calibración con Trolox estándar y se calculó la concentración equivalente de Trolox ( $\mu$ g Trolox/g de muestra) de cada extracto usando el porcentaje de inhibición de absorbancia del radical a 734 nm (Grosso et al., 2018).

$$\% \text{ Inhibición Radical ABTS} = [(A_c - A_m) / A_c] \times 100 \text{ (ec. 3.4.)}$$

donde:  $A_c$  es la absorbancia del radical catión ABTS más persulfato de potasio

$A_m$  es la absorbancia del radical catión ABTS más el extracto

## Prueba de oxidación acelerada: método Rancimat

Se determinó la estabilidad oxidativa mediante el ensayo de oxidación acelerada en un equipo Rancimat (Metrohm, Herisau, Switzerland), con un flujo de aire de 20 L/h y temperatura de 110 °C. Se analizaron 4 tratamientos utilizando 3 g de aceite de girasol refinado en cada tubo: (C) aceite de girasol control sin agregado de antioxidantes; (R) aceite con 0,2% (p/p) de extracto runner; (V) aceite con 0,2% (p/p) de extracto de maní Virginia; (BHT) aceite con 0,02% (p/p) de butilhidroxitolueno. Todas las muestras de aceite preparadas fueron homogeneizadas en un equipo sonicador ultrasónico durante 10 minutos (Martínez et al., 2013). Los resultados se expresaron como período de inducción en horas, que se determinó automáticamente a partir del punto de inflexión de la curva utilizando el software suministrado por el equipo (Cittadini et al., 2020). También se calculó el Índice de Actividad Antioxidante (AAI) de las muestras, según la fórmula de Chinprahast et al., (2016):

$$AAI = \frac{PI_m}{PI_c} \quad (\text{ec. 35})$$

donde:  $PI_m$  es el período de inducción de la muestra

$PI_c$  es el período de inducción del control.

## Prueba de oxidación: “Shaal oven test”

La actividad antioxidante de los extractos de los tegumentos de maní Runner y Virginia se determinaron utilizando aceite refinado de girasol con agregado de 0,2% (p/p) de los extractos de tegumento de maní Runner (R) y Virginia (V) (Larrauri et al., 2016b). Como control se utilizó aceite refinado de girasol sin agregados (C) y como referencia aceite con 0,02% (p/p) de butilhidroxitolueno (BHT) concentración admitida por Código Alimentario Argentino (CAA, 2014). Todas las muestras de aceite preparadas fueron homogeneizadas en un equipo sonicador ultrasónico durante 10 minutos. Las muestras preparadas (10 mL en tubos de medio ensayo abiertos) por triplicado fueron almacenadas en estufa a 60 °C durante 7 días, y se extrajeron muestras a los días: 0, 2, 4 y 7 para evaluar los cambios en los indicadores químicos: índice de peróxidos, dienos conjugados y volátiles por GC-MS capturados por fibra de fase sólida (Larrauri et al., 2016b), que a continuación se detallan.

**Índice de Peróxidos (IP).** Se determinó según la metodología propuesta por la AOAC (2010). Se pesó  $0,5 \pm 0,05$  g de aceite y se mezcló con 30 mL de cloroformo/ácido acético 2:3 (v/v). Luego se agregó 0,5 mL de una solución saturada de yoduro de potasio, se agitó vigorosamente y se dejó reposar en oscuridad durante 1 min. Posteriormente, se agregó 30 mL de agua destilada y 0,5 mL de almidón al 1% (p/v) utilizado como indicador. El yodo formado se tituló con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N. El IP se expresó en miliequivalentes de oxígeno activo por kilogramo de aceite ( $\text{meqO}_2/\text{kg}$ ) y se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$IP = \frac{S \times N \times 1000}{g \text{ muestra}} \quad (\text{ec. 3.6})$$

donde: S es el volumen de solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  consumido en la titulación y N es la normalidad de la solución de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

**Dienos Conjugados (DC).** Se pesaron  $0,2 \pm 0,05$  g de aceite y se disolvieron en 6 mL de n-hexano. Posteriormente se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 232 nm. Se utilizó n-hexano como blanco. El resultado obtenido se expresó como coeficiente de extinción E (1%, 1 cm) y se calculó según la siguiente fórmula (Larrauri et al., 2016b):

$$E_{(1\%, 1\text{cm})} = \frac{\left(\frac{A_{(\text{dienos})} \times 6}{\text{dilución}}\right)}{(m \times 100)} \quad (\text{ec. 3.7})$$

donde:  $A_{(\text{dienos})}$  es la absorbancia de la solución diluida.

m es el peso aceite en gramos.

6 son los mL de n-hexano.

dilución = (mL solución original aceite-hexano) / (mL solución original a-h + mL n-hexano).

**Análisis de volátiles de oxidación: determinación de hexanal.** La extracción de compuestos volátiles de las muestras se realizó por la técnica de micro extracción en fase sólida (MEFS) y se analizó por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masa (CG-MS), según lo descrito por Quiroga et al. (2015). Las condiciones de la técnica MEFS fueron las siguientes: se pesaron 2 gr de muestra y se colocaron en un vial herméticamente cerrado dentro de un equipo termostatzado a  $60^\circ\text{C}$  para acelerar el equilibrio de los compuestos volátiles entre la muestra y el espacio de cabeza. Se utilizó una fibra recubierta con divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/30  $\mu$  (StableFlex, Supelco). Luego de 10 minutos de calentamiento de la muestra a  $60^\circ\text{C}$  se expuso la fibra al

espacio de cabeza (30 min). Posteriormente, se retiró del vial y se insertó en el puerto inyector del GC donde fue desorbida inmediatamente.

El equipo de GC-MS utilizado para la detección de los compuestos volátiles fue un Perkin Elmer Clarus 600 acoplado a un detector de masas de trampa de iones (Perkin Elmer, Shelton, Connecticut, USA). Se empleó una columna capilar ELITE 5MS (30 m de longitud x 0,25 mm de diámetro interno; 0,25  $\mu\text{m}$  de espesor). El programa de temperaturas fue el siguiente: 10 minutos a 50 °C y luego una rampa de calentamiento de 4 °C/minuto hasta llegar a 280 °C, manteniendo esta temperatura por 5 minutos. La temperatura del inyector fue de 270 °C. Se utilizó helio como gas portador a un flujo de 1 mL/min. La energía de la fuente de iones fue de 70 eV. El tiempo para la desorción de la fibra fue de 10 min en el modo *splitless* (1,5 min sin división del período) (Quiroga et al., 2015).

La identificación de los compuestos volátiles en las muestras se realizó en modo de barrido completo (m/z 40 a 550) a través de una combinación de la biblioteca de espectros de masa NIST, la comparación entre sus tiempos de retención y los datos de espectros de masas de bibliografía publicada, y los tiempos de retención de cromatografía de gases de estándares. La cuantificación de los picos se realizó en función de la respuesta del detector de masa (cuentas electrónicas) por gramo de muestra (Quiroga et al., 2014; Larrauri et al., 2016). Para la caracterización de sabores rancios que resultan de la peroxidación lipídica se utilizó como indicador el contenido de hexanal (Belitz et al., 2009; Mexis et al., 2009) evaluando los cambios en las muestras durante el almacenamiento. Por esta razón, se preparó una curva de calibración con patrón de hexanal para la cuantificación de este compuesto en las muestras, los resultados se expresaron en mg hexanal/g muestra (Quiroga et al., 2015).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los ensayos se realizaron por triplicado. Los resultados fueron analizados utilizando el software INFOSTAT (versión 2020p). Se calcularon medias y desvíos estándar. Se realizó análisis de varianza y test posterior LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ) para determinar diferencias significativas de las variables analizadas entre tratamientos. A partir de los resultados de porcentajes de inhibición de las técnicas antioxidantes (actividades secuestrante DPPH, quelante de ion ferroso y secuestrante de radicales hidroxilos) para diferentes concentraciones de extracto, se obtuvieron ecuaciones de predicción mediante análisis de



regresión lineal simple. Dichas ecuaciones se utilizaron para el cálculo de los IC50 de los indicadores de actividad antioxidante. También se aplicó análisis de regresión lineal simple para los resultados del ensayo de almacenaje (test de oven) de los diferentes tratamientos de aceite de girasol, donde las variables dependientes fueron: índice de peróxidos y dienos conjugados, y la variable independiente: tiempo de almacenaje. Se compararon las pendientes obtenidas utilizando análisis de varianza y test posterior LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ). Se determinaron los coeficientes de correlación de Pearson para establecer asociaciones significativas entre las variables dependientes estudiadas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Actividad secuestrante de radicales libres (DPPH), quelante de ion ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), inhibitoria de radicales hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) y ensayo ABTS

En la tabla **Tabla 3.1.** se encuentran los resultados de IC50 correspondiente a la actividad secuestrante de radicales libres (DPPH), actividad quelante de ion ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), actividad inhibitoria de radicales hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) y la concentración equivalente de Trolox ( $\mu\text{g}$  Trolox/g de muestra) de cada extracto en el ensayo ABTS. Valores menores de IC50 corresponden a mayores actividades (Costa de Camargo et al., 2015; Costa de Camargo, Regitano-d'Arce, Rasera, et al., 2017; Wang et al., 2007).

**Tabla 3.1.** Valores de los indicadores de actividad antioxidante de los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia (media  $\pm$  desvío estándar,  $n = 3$ ).

Indicador	Runner	*	Virginia	*
IC50 DPPH ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	8,92 $\pm$ 0,51	B	4,44 $\pm$ 0,23	A
IC50 Quelante del ion ferroso ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	24,76 $\pm$ 1,57	A	23,26 $\pm$ 1,54	A
IC50 radical OH ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	10,99 $\pm$ 0,63	A	29,05 $\pm$ 1,93	B
ABTS ( $\mu\text{g}$ Trolox/g muestra)	1,61 $\pm$ 0,07	A	3,26 $\pm$ 0,19	B

\* Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre muestras (ANOVA, Test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

El extracto de tegumento de maní Virginia tuvo mayor actividad frente a DPPH (4,44  $\mu\text{g/mL}$ ) y en el ensayo ABTS (3,26  $\mu\text{g Trolox/g}$ ), pero menor actividad inhibitoria de radicales hidroxilo (29,05  $\mu\text{g/mL}$ ) que el extracto de maní Runner (10,99  $\mu\text{g/mL}$ ). No se observaron diferencias significativas entre los extractos en cuanto a su actividad quelante del ion ferroso (24,76  $\mu\text{g/mL}$  para maní Runner y 23,26  $\mu\text{g/mL}$  para maní Virginia). Otros autores informaron valores cercanos de estos indicadores en extractos de tegumento de maní Runner de Argentina. Larrauri et al., (2016b) encontraron valores inferiores de IC50 para DPPH (2,01  $\mu\text{g/mL}$ ), mayores de IC50 para la actividad quelante de ion ferroso (54,59  $\mu\text{g/mL}$ ) y similar IC50 de actividad secuestrante de radical hidroxilo (9,58  $\mu\text{g/mL}$ ).

Francisco y Resurreccion (2009b) compararon contenido de polifenoles y actividad antioxidante analizada mediante ABTS y capacidad inhibitoria de radicales peroxilo, en tegumentos de distintas variedades de maní de Estados Unidos (Runner, Virginia y Spanish). A diferencia con el presente estudio, estos autores encontraron que el tegumento de la variedad Runner resultó con superiores contenidos de polifenoles (101,43 - 280,42 mg ác. gálico/g muestra) y también mayores valores de actividad en ambos ensayos (ABTS: 1,53 mM Trolox/g y capacidad secuestrante de radicales peroxilo: 10,43 mM Trolox/g), en comparación con las variedades Virginia y Spanish. La variedad Virginia resultó con contenidos de polifenoles entre 106.60 - 148.84 mg ác. gálico/g muestra, ABTS 1,23 mM Trolox/g y capacidad secuestrante de radicales peroxilo de 2,07 mM Trolox/g. Además, encontraron que las variedades Runner y Virginia tuvieron colores más oscuros que la Spanish.

Por otra parte, Costa de Camargo et al., (2017a,b) informaron resultados sobre estos indicadores, expresados en  $\mu\text{mol}$  de catequina o trolox equivalente/g de muestra seca, encontrando superior actividad antioxidante del tegumento de maní Runner originario de Brasil en comparación con las harinas.

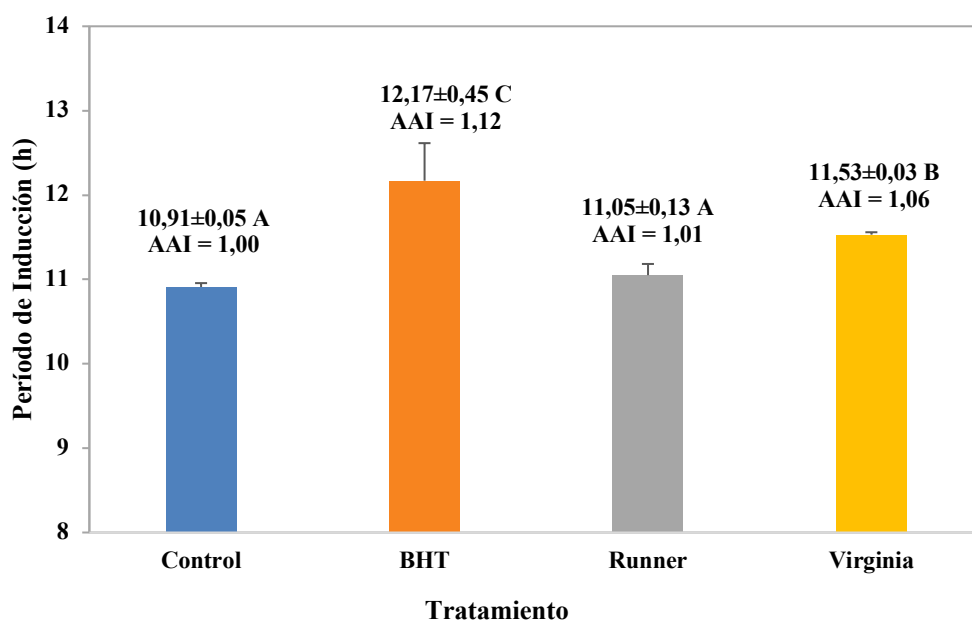
Los resultados obtenidos utilizando estas técnicas *in vitro* resaltan la importancia de evaluar la actividad antioxidante con diferentes métodos, ya que los distintos compuestos pueden tener diferentes mecanismos de acción. Según la literatura (Zhang & Tsao, 2016) los compuestos fenólicos son capaces de quelar los iones ferrosos. Por lo tanto, los compuestos fenólicos de la piel del maní pueden detener o retrasar la reacción de Fenton al reducir los iones férricos a ferrosos y quelar estos últimos cambiando la proporción de iones férricos a

ferrosos. Los iones férricos y radicales hidroxilo generados en la reacción de Fenton pueden inducir la oxidación de lípidos y proteínas (Braughler et al., 1995; Yonekura et al., 2016; Costa de Camargo et al., 2017).

En la **Figura 3.1** se presentan los períodos de inducción (en horas) y los índices de actividad antioxidante (AAI) para las diferentes muestras de aceite de girasol control, con agregados de extractos de los tegumentos de maní Runner y Virginia, y con BHT, analizados con el método Rancimat. Se observa que la muestra que tuvo mayor estabilidad fue la que contuvo BHT (12,17 h), y en segundo lugar la muestra con extracto Virginia (11,53 h). El Control y la muestra con extracto de maní Runner presentaron menor estabilidad (10,91 y 11,05 h, respectivamente), sin diferencias significativas entre ellas. Los índices de actividad antioxidante (AAI) resultaron: Control 1,00; BHT 1,12; Runner 1,01 y Virginia 1,06. Los valores superiores a 1 indican efecto antioxidante. El período de inducción proporciona evidencia directa de la tendencia en la resistencia a la rancidez oxidativa de los aceites comestibles, mientras que el índice de actividad antioxidante (AAI) se utiliza como criterio para evaluar la efectividad de un compuesto antioxidante, mostrando la posibilidad de bloquear el proceso de reacciones en cadena donde intervienen los radicales libres, los cuales son los responsables de la duración del período de inducción (Anwar et al., 2006; Chinprahast et al., 2016). De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa que los antioxidantes agregados protegieron el aceite de girasol en estas condiciones de oxidación, sin embargo, la mayor protección fue proporcionada por el antioxidante sintético (BHT).

Costa de Camargo et al. (2012) analizaron la estabilidad en Rancimat a 110 °C de aceite de soja con el agregado de diferentes concentraciones de extractos de tegumento de maní Runner de Brasil, en comparación con antioxidantes sintético (TBHQ y BHT). Encontraron períodos de inducción entre 4 y 7 h, y a mayor cantidad de extracto, mayor efectividad antioxidante, comparables con la efectividad del BHT para concentraciones de extracto entre 0,02 y 0,1 %. Yadav et al. (2014) evaluaron la actividad antioxidante de diferentes extractos obtenidos a partir de tegumento de maní originario de India, en concentraciones de 0,5 %. También, encontraron efecto antioxidante de los extractos sobre aceite de soja almacenado a 65 °C y en Rancimat a 120 °C. Los valores de períodos de inducción de dichos estudios son diferentes a los encontrados en el presente trabajo debido a que se utilizaron diferentes aceites, concentraciones de extracto y/o condiciones de ensayo.

Otros autores evaluaron la estabilidad oxidativa y el índice de actividad antioxidante, mediante Rancimat, en diferentes compuestos antioxidantes de origen natural. Chinprahast et al. (2016) encontraron AAI en muestras de aceite de girasol tratadas con extractos polifenólicos de la variedad Thai de arroz tailandés, entre 1,07 y 1,21 para los extractos, y 1,25 para el BHT, lo que sugiere una notable efectividad de dichos compuestos sobre la oxidación y estabilidad del aceite de girasol. Asnaashari et al. (2015) también informaron valores similares de AAI cuando se utilizaron extractos de *R. fruticosus* en aceite de girasol.



**Figura 3.1.** Período de inducción (h) (media y desvío estándar, n = 3) e índice de actividad antioxidante (AAI) por Rancimat.

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

### Prueba de oxidación acelerada (Shaal oven test)

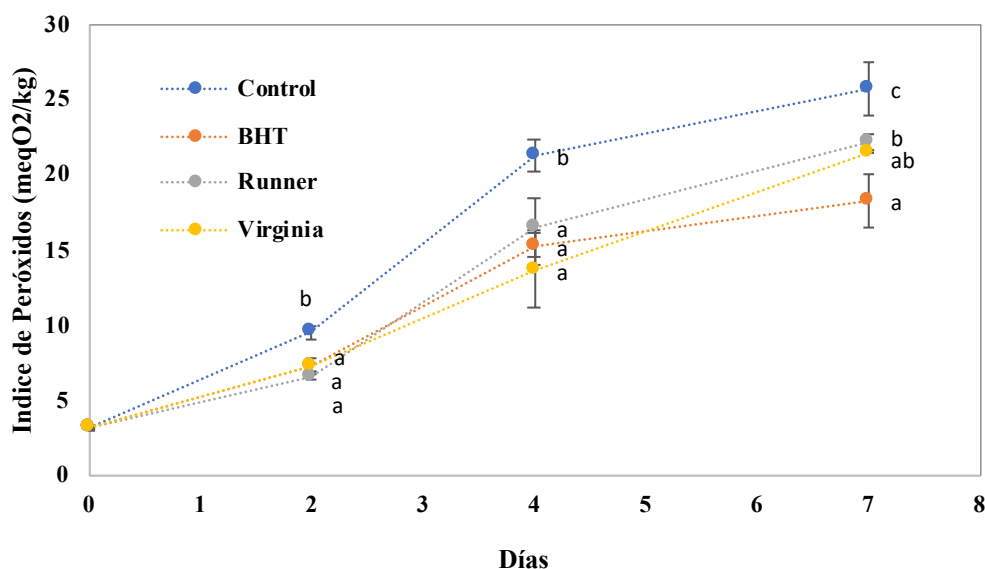
En las **Figuras 3.2, 3.3 y 3.4** se muestran los cambios de los indicadores de oxidación analizados: índice de peróxidos (IP), dienos conjugados (DC) y hexanal, respectivamente, en las muestras de aceite de girasol almacenadas a 60 °C: aceite control, aceite con el agregado de los extractos de maní Runner y Virginia y con BHT.

Los valores de índice de peróxidos (**Figura 3.2**) y dienos conjugados (**Figura 3.3**) mostraron incrementos significativos durante el almacenaje en todas las muestras estudiadas

( $\alpha = 0,05$ ). Inicialmente todas las muestras tuvieron valores bajos de IP (3,18 meq O<sub>2</sub>/kg) y dienos conjugados (4,14).

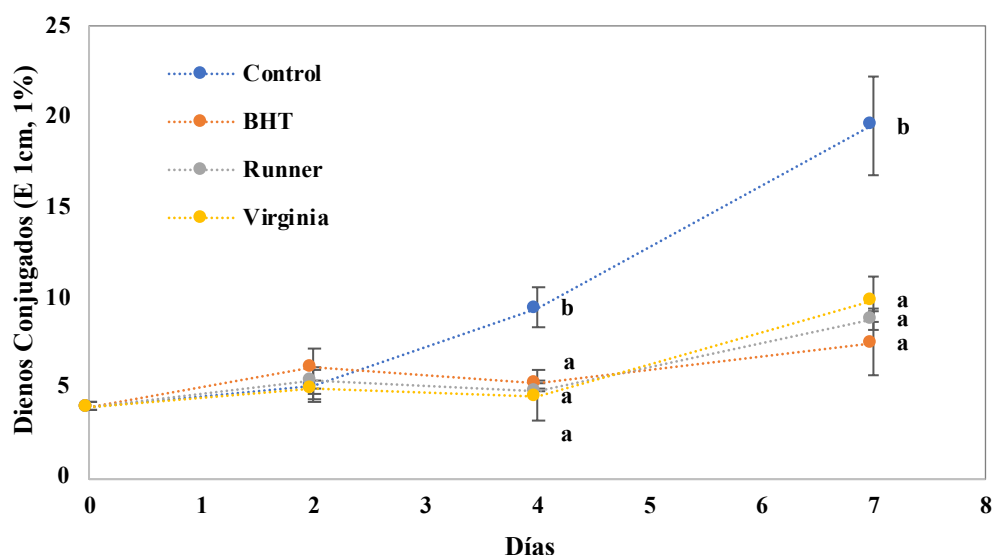
A partir del día 2, se encontraron diferencias significativas en los valores de IP entre los tratamientos (**Figura 3.2**). El aceite control tuvo los mayores valores de este indicador, con diferencias significativas en comparación con los tratamientos con antioxidantes naturales y sintético. Las muestras con antioxidantes mostraron diferencias en sus IP en el último período (7 días), donde las muestras de maní Runner (22,15±0,50 meq O<sub>2</sub>/kg) tuvo mayor IP que BHT (18,27±1,81 meq O<sub>2</sub>/kg), y Virginia (21,54±0,11 meq O<sub>2</sub>/kg) resultó con valor intermedio, sin diferencias significativas en comparación con los otros antioxidantes (extracto de maní Runner y BHT).

En cuanto a dienos conjugados (**Figura 3.3**), el control tuvo valores superiores a las otras muestras durante el almacenaje a partir del día 4. Las muestras con antioxidantes (extractos de maní Runner y Virginia y BHT) no presentaron diferencias significativas en sus valores de DC durante el almacenaje, y mostraron incrementos inferiores al control ( $\alpha = 0,05$ ).



**Figura 3.2.** Índice de peróxidos (media y desvío estándar, n = 3) en función del tiempo de almacenaje a 60 °C de los tratamientos de aceite de girasol: control, adicionado con BHT y adicionados con extractos de maní Runner y Virginia.

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).



**Figura 3.3.** Dienos Conjugados (media y desvío estándar, n=3) en función del tiempo de almacenaje a 60 °C de los tratamientos de aceite de girasol: control, adicionado con BHT y adicionados con extractos de maní Runner y Virginia.

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

Ambas variables, índice de peróxidos y dienos conjugados, se utilizan comúnmente como indicadores de la oxidación de los lípidos en las etapas iniciales y constituyen parámetros útiles para evaluar la calidad de un aceite o grasa comestible (Grosso et al., 2018; Quiroga et al., 2019).

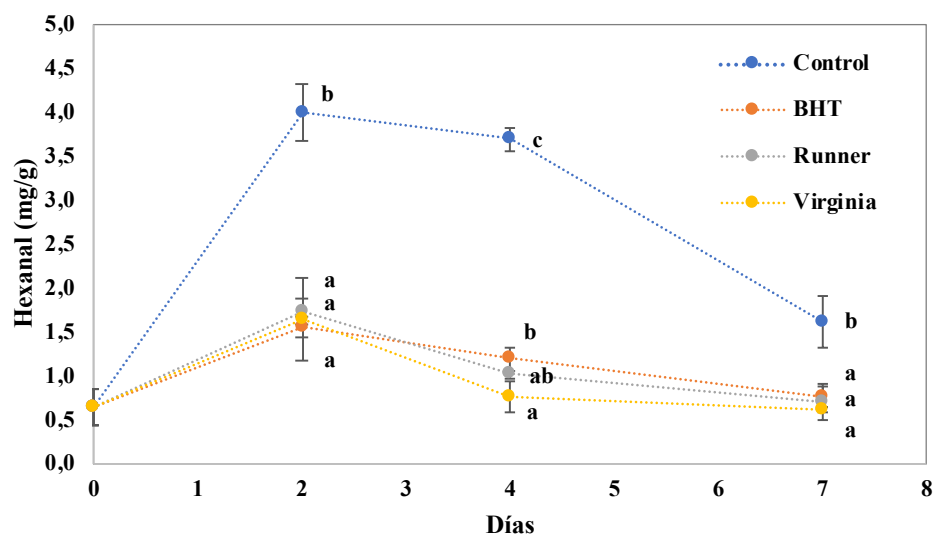
Estudios previos sobre maní runner de Argentina (Larrauri et al., 2016b; Nepote et al., 2002), donde se utilizó esta técnica de oxidación acelerada de aceite de girasol (test de oven), demostraron también efectos antioxidantes de los compuestos polifenólicos presentes en el tegumento de maní. Larrauri et al. (2016b) evaluaron el efecto antioxidante de diferentes extractos y fracciones de tegumento de maní runner de Argentina, utilizando concentraciones de 0,2% para los extractos y 0,02% para BHT. Reportaron valores similares a los hallados en este trabajo, mostrando un incremento en valores de IP de las muestras de aceite de girasol almacenadas. En el cuarto día de almacenaje observaron que el control tuvo valores de IP superiores al resto de las muestras, demostrando el efecto antioxidante de los diferentes extractos mientras que el tratamiento con extracto crudo de tegumento de maní tuvo similar valor de IP en comparación con el tratamiento con BHT. En otro estudio realizado por Nepote et al. (2002) se encontró actividad antioxidante de los extractos del

tegumento de maní en concentraciones inferiores (0,05%) sobre aceite de girasol. Dichos autores informaron que los extractos crudos de piel de maní tienen IP similares entre ellos, pero presentan valores más bajos que las muestras usadas como control y más altos que la muestra adicionadas con BHT.

Los resultados obtenidos por estos autores y en el presente trabajo, sugieren que a mayor concentración de los extractos se logra mayor efectividad antioxidante, sin embargo, no pueden utilizarse concentraciones demasiado elevadas, debido a que presentan una intensa coloración roja, afectando a los atributos sensoriales de apariencia de los alimentos sobre los que se aplica.

En la **Figura 3.4** se grafica el contenido de hexanal en los tratamientos de aceites e girasol almacenados a 60 °C. La presencia de hexanal está relacionada directamente con el desarrollo de sabores rancios en alimentos ricos en lípidos (Grosso et al., 2018; Larrauri et al., 2016a). Inicialmente las muestras presentaron bajo contenido de este compuesto ( $0,64 \pm 0,20$  mg/g). En el día 2 de almacenaje, el control presentó un valor máximo de hexanal ( $3,99 \pm 0,31$  mg/g), el cual fue decreciendo posteriormente durante el almacenaje. Esta tendencia se debe a que este tipo de compuestos (aldehídos) poseen elevada volatilidad y pueden perderse debido al efecto de la temperatura de almacenamiento. De todas formas, a partir del día 2, los valores de hexanal en la muestra Control fueron superiores el resto de los tratamientos con antioxidantes ( $\alpha = 0,05$ ). Al final del almacenamiento (7 días), la muestra control contuvo mayor cantidad de hexanal ( $1,62 \pm 0,30$  mg/g) que los otros tratamientos con antioxidantes naturales y artificiales (entre 0,60 y 0,75 mg/g). En general, los tratamientos con BHT y extractos de maní Runner y Virginia no mostraron diferencias significativas en los contenidos de este compuesto volátil durante el almacenaje.

En un estudio realizado por Grosso et al. (2018) sobre la estabilidad de aceite de nuez con agregado de polifenoles de nuez, se observó el incremento de diferentes compuestos volátiles durante el almacenaje, siendo el hexanal el aldehído predominante. Este compuesto presentó un incremento superior en el control, en comparación con los tratamientos con antioxidantes, luego de 16 días de almacenamiento. En este trabajo, tampoco se detectaron diferencias significativas en el contenido de hexanal entre los tratamientos con extractos polifenólicos de nuez y BHT.



**Figura 3.4.** Contenido de hexanal (media y desvío estándar,  $n = 3$ ) en función del tiempo de almacenaje a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  de los tratamientos de aceite de girasol: control, adicionado con BHT y adicionados con extracto de maní Runner y Virginia.

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

En la **Tabla 3.2** se presentan los resultados del análisis de regresión lineal simple a partir de los datos obtenidos de las variables índice de peróxidos y dienos conjugados de las muestras de aceite almacenadas a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Test de oven), representados en las **Figuras 3.2 y 3.3**. A partir de este análisis, se pudo observar que las variables dependientes IP y DC en función del tiempo de almacenaje, para todos los tratamientos, fueron bien representadas mediante modelos de regresión lineal simple ( $R^2 > 0,54$  y p-valor del análisis de varianza de las regresiones inferiores a  $0,05$ ). Además, las pendientes resultaron significativas en todos los casos (p-valor  $< 0,05$ ). El tratamiento control tuvo pendientes mayores, para ambas variables, en comparación con el resto de los tratamientos con antioxidantes, sin diferencias estadísticamente significativas entre estos últimos ( $\alpha = 0,05$ ). Esto sugiere una mayor tendencia a desarrollar procesos de deterioro de lípidos en el control y efecto antioxidante sobre el aceite de girasol similar entre los extractos de maní Runner, Virginia y el BHT.

**Tabla 3.2.** Coeficientes de regresión lineal simple (media y error estándar,  $n = 3$ ) para los datos de índice de peróxido (IP) y dienos conjugados (DC) de las muestras de aceite de girasol Control y adicionado con BHT y con los extractos de maní Runner y Virginia, almacenadas a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , representados en las **Figuras 3.2 y 3.3**.



Variable	Tratamiento	Ordenada al origen*			Pendiente*				p-valor Análisis de Varianza de la Regresión	R <sup>2</sup>
		Media	EE	p-valor	Media	**	EE	p-valor		
IP	Control	3,902	1,248	0,0140	3,310	b	0,289	<0,0001	<0,0001	0,9
IP	BHT	3,527	0,869	0,0030	2,337	a	0,229	<0,0001	<0,0001	0,9
IP	Runner	2,732	0,919	0,0160	2,918	a	0,242	<0,0001	<0,0001	0,9
IP	Virginia	2,739	0,626	0,0020	2,671	a	0,165	<0,0001	<0,0001	1
DC	Control	2,319	1,127	0,0700	2,246	b	0,262	<0,0001	<0,0001	0,9
DC	BHT	4,290	0,497	<0,0001	0,424	a	0,131	0,0100	0,0103	0,5
DC	Runner	3,642	0,455	<0,0001	0,637	a	0,110	0,0002	0,0002	0,8
DC	Virginia	3,201	0,697	0,0010	0,801	a	0,168	0,0008	0,0008	0,7

\* Coeficientes de análisis de regresión lineal simple según el modelo:  $y = \beta_0 + \beta_1 x$ , donde “x” es la variable independiente (tiempo), “y” la variable dependiente (IP, DC),  $\beta_0$  la ordenada al origen, y  $\beta_1$  la pendiente de la línea recta.  
 \*\* Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada variable (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ )

### Análisis de correlación entre variables dependientes

En la Tabla 3.3 se muestran los coeficientes de correlación significativos ( $p < 0,05$ ) obtenidos entre las variables dependientes evaluadas en ambos extractos (Runner y Virginia). Si bien los distintos indicadores determinados en los extractos sugieren diferentes mecanismos de acción antioxidante, estos se pueden asociar entre sí según los valores de los coeficientes de correlación obtenidos. Se observa correlación significativa positiva ( $r \geq 0,96$ ) entre las variables IC50 radical OH, ABTS y período de inducción de Rancimat. Por otro lado, se obtuvieron coeficientes de correlación negativos entre dichas variables y el IC50 DPPH ( $r \leq -0,85$ ). El índice de peróxidos de las muestras de aceite almacenadas estuvo

asociado positivamente con el contenido hexanal y el IC50 del DPPH del extracto ( $r \geq 0,83$ ) y el hexanal estuvo asociado también positivamente con IC50 de la actividad quelante  $Fe^{2+}$  ( $r = 0,84$ ).

Los contenidos de polifenoles totales obtenidos en el Capítulo 2 para los extractos de tegumentos de maní Runner y Virginia se correlacionaron positivamente con los resultados del ensayo ABTS, IC50 para radical OH y el período de inducción y negativamente con el IC50 de DPPH, sugiriendo que mayores contenidos de estos compuestos implica mayor efecto antioxidante del extracto según los métodos ABTS, actividad secuestrante de radical DPPH y en Rancimat. En cuanto a los flavonoides, se encontró correlación negativa con los valores de índice de peróxidos y hexanal del ensayo sobre aceite de girasol a 60 °C, indicando que el extracto con mayor contenido de flavonoides aportó mayor protección frente al desarrollo de reacciones de deterioro lipídico.

Larrauri et al. (2016b) también informaron asociaciones positivas entre las variables IC50 del DPPH, IC50 del  $Fe^{2+}$  y el índice de peróxidos, en diferentes extractos y fracciones de tegumento de maní Runner.

**Tabla 3.3.** Coeficientes de correlación de Pearson significativos ( $p < 0,05$ ) entre las variables dependientes analizadas en los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia.

Variab	ABTS	IC50 DPPH	Período inducción*	Índice de Peróxidos**	Hexanal**
--------	------	--------------	-----------------------	--------------------------	-----------

	IC50 Quelante Fe <sup>2+</sup>		IC50 radical OH	
IC50 DPPH	-0,90			
IC50 radical OH	1,00	-0,91		
Período inducción*	0,97	-0,85	0,96	
Índice de Peróxidos**		0,83		
Hexanal**	0,84			0,91
Polifenoles totales	0,96	-0,85	0,96	0,97
Flavonoides totales				-0,88
				-0,88

\* Período de inducción en horas mediante Rancimat.

\*\* Valores de índice de peróxidos y hexanal al día 7 del almacenaje en estufa 60 °C (test oven).

## CONCLUSIONES

Se demostró que los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia poseen actividad antioxidante, evaluado mediante diferentes técnicas *in vitro*. El extracto de tegumento Virginia presenta mayor actividad secuestrante de radical DPPH y mayor actividad antioxidante medida por el ensayo ABTS, pero evidencia menor actividad inhibitoria de radicales hidroxilo, que el extracto de maní Runner. En cuanto a su actividad quelante del ion ferroso, no se detectaron diferencias entre los extractos del tegumento de maní de las dos variedades analizadas.

Las diferencias de actividad antioxidante entre los extractos de tegumento de maní Runner y Virginia podrían estar relacionadas con los tipos de polifenoles encontrados en cada extracto, tal como se evidencia en los resultados informados en el Capítulo 2.

Por otra parte, al analizar la estabilidad de muestras de aceite de girasol con el agregado de los extractos mencionados (métodos Rancimat y Shaal oven test) se observa similar eficacia antioxidante entre los mismos y con el antioxidante sintético BHT.

Mayores contenidos de polifenoles en los extractos se relacionan con mayores propiedades antioxidantes medidas por los indicadores ABTS, DPPH y oxidación en Rancimat, mientras que mayores contenidos en flavonoides se vinculan con mejores propiedades antioxidantes sobre aceite de girasol almacenado en condiciones de oxidación acelerada.

## **CAPÍTULO IV**

# **APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS POLIFENÓLICOS EN SALCHICHAS TIPO FRANKFURT. CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS, QUÍMICOS Y SENSORIALES DURANTE EL ALMACENAMIENTO**

## **INTRODUCCIÓN**

Las salchichas tipo Frankfurt (originarias de la ciudad alemana de Frankfurt) son salchichas cocidas, preparadas a partir de carne de cerdo o cerdo y ternera, con la adición de tocino, sal y especias, escaldada y luego ahumadas para obtener un color rosa pálido homogéneo a marrón (Feiner, 2006).

Uno de los principales factores que afectan la calidad y aceptabilidad de la carne y los derivados cárnicos es la oxidación lipídica, generada por la composición de los ácidos grasos, factores de procesamiento, concentración y tipo de oxígeno, metales de transición, peróxidos, compuestos térmicamente oxidados, pigmentos y antioxidantes ( Isaza Maya et al., 2012).

Durante la producción de los derivados cárnicos, los ingredientes como carne magra y tejido adiposo son finamente picados; esto altera la integridad de membranas y expone a los fosfolípidos al oxígeno molecular, enzimas oxidativas, hemopigmentos, iones metálicos, entre otros, lo cual aumenta el desarrollo de reacciones de oxidación que pueden suceder durante el almacenamiento refrigerado posterior. Las reacciones oxidativas deterioran algunos atributos organolépticos, nutricionales y tecnológicos deseables y disminuyen la vida útil de los derivados cárnicos ( Nieto et al., 2009; Isaza Maya et al., 2012).

Para minimizar el deterioro de los productos cárnicos y mejorar su vida útil, es usual el empleo de sustancias antioxidantes. Comúnmente se usan antioxidantes sintéticos, sin embargo, su utilización es cuestionada debido a su posible toxicidad y efectos negativos sobre la salud ( Isaza Maya et al., 2012).

Los aditivos que se utilizan en la producción de salchichas tipo Frankfurt, son colorantes, reguladores de pH, antioxidantes (ácido ascórbico y sus sales entre otros), conservantes (nitrito sódico y potásico, nitrato sódico y potásico, ácido sórbico, etc.), reguladores de maduración (azúcares, dextrinas, almidones, etc), correctores y potenciadores de sabor (Dzinic et al., 2015).

El color de los productos cárnicos es un atributo de calidad importante, que influye en su aceptación por parte de los consumidores (Pinzón-Zárate et al., 2015). El color rojo es el resultado de reacciones bioquímicas entre el oxígeno y los compuestos naturales de la carne, como la mioglobina y la hemoglobina; y por la acción de agentes externos como nitratos y nitritos (Eyiler y Oztan, 2011; Herrmann et al., 2015). Los nitritos, además de la capacidad de dar color a los productos cárnicos, tienen propiedades antioxidantes, actuando como conservantes químicos sintéticos. Sin embargo, existe una tendencia a reducir el uso de nitrito en la industria cárnica, porque en condiciones apropiadas de pH y temperatura, reacciona con aminas formando nitrosaminas y otras toxinas que pueden ser cancerígenas (Herrmann et al., 2015).

Según la OMS (2015), las carnes procesadas como hamburguesas y embutidos aumentan exponencialmente el riesgo de padecer algún tipo de cáncer, tanto así, que está incluido entre los productos más peligrosos junto con el humo de tabaco, alcohol, aire contaminado, etc. Estudios indican que la principal causa de que los embutidos ocasionen efectos adversos en la salud, se debe a la presencia de nitritos en la producción a gran escala de productos cárnicos.

Actualmente, se ha dado gran importancia a antioxidantes extraídos de fuentes naturales, tales como frutas, hierbas y especias, entre otras (romero, cereza, salvia, laurel, albahaca, guayaba, entre otros), por su potencial efecto antioxidante, con ocasión de su composición rica en compuestos químicos tales como ácidos fenólicos, tocoferoles, antocianinas, flavonoides, vitamina C y vitamina E, que, además de inhibir la oxidación lipídica de los productos a los que son aplicados, pueden tener efectos positivos sobre la salud ( Isaza Maya et al., 2012; Carocho y Ferreira, 2013).

Estos procesos de oxidación pueden tener efectos negativos sobre dichos productos y causar cambios en los atributos sensoriales (decoloración, textura inadecuada, desarrollo

de olores y sabores desagradables, entre otros), en la calidad nutricional, así como en la aparición de compuestos potencialmente tóxicos ( Isaza Maya et al., 2012).

La demanda de aditivos naturales ha crecido en los últimos años, principalmente debido a los beneficios asociados con numerosos compuestos y el riesgo potencial de los sintéticos (Pinzón-Zárate et al., 2015; Solymosi et al., 2015; Valenzuela y Pérez 2016). Los compuestos colorantes naturales son una alternativa para mejorar el color de los productos cárnicos y reducir el uso de nitritos y otros aditivos sintéticos. Muchos compuestos fenólicos naturales pueden contribuir con el color rojo y también mostrar propiedades antioxidantes y antimicrobianas para aumentar la vida útil de este tipo de productos (Eyiler y Oztan, 2011; Pinzón-Zárate et al., 2015; Feng et al., 2016; Ponce-Fernández et al., 2020).

El tegumento es un residuo que se obtiene en grandes cantidades en la industria del maní blanchado. El tegumento de maní posee importantes cantidades de compuestos polifenólicos (Larrauri et al., 2016b) con un característico color rojo oscuro, presentando solubilidad en agua y con propiedades antioxidantes demostradas en varios sistemas alimentarios ( Yu et al., 2010; Larrauri, et al., 2016a; Larrauri, et al., 2016b; Lorenzo et al., 2018;). Por lo tanto, los productos cárnicos como las salchichas resultan una matriz interesante para incorporar esos compuestos naturales (Armenteros et al., 2012).

Por otro lado, los aceites esenciales de especies aromáticas son conocidos por poseer potencial como conservantes naturales, siendo efectivos contra el desarrollo de una variedad de microorganismos (Rodríguez-García et al., 2016) y previniendo reacciones de oxidación (Quiroga et al., 2013). Las hojas de orégano (*Origanum vulgare* L.) y su aceite esencial se han utilizado durante siglos debido a sus propiedades medicinales y efectos positivos sobre la salud humana, atribuidos a su actividad antioxidante (Morshedloo et al., 2018). Los compuestos fenólicos, como el timol y el carvacrol, son característicos del aceite esencial de orégano y ambos tienen propiedades antioxidantes (Quiroga et al., 2013) y una fuerte actividad antimicrobiana ( Asensio et al., 2015).

Considerando las actividades antimicrobianas y antioxidantes del aceite esencial de orégano y el color rojo característico y el potencial antioxidante de los extractos de tegumento de maní, la adición de manera combinada de ambos productos naturales podría

proporcionar un efecto conservador superior en salchichas como sustitutos de aditivos comerciales.

Los estudios realizados para el presente capítulo tuvieron como *objetivo* examinar los efectos de los extractos polifenólicos del tegumento de dos variedades de maní (Runner y Virginia) solos y en combinación con aceite esencial de orégano, sobre la estabilidad oxidativa, microbiológicas, químicas y sensoriales de salchichas tipo Frankfurt durante el almacenamiento (objetivo 3 y 4).



# MATERIALES Y MÉTODOS

## MATERIALES

Con el fin de probar el efecto conservante de los extractos de tegumento de maní sobre un alimento, se preparó un producto cárnico: salchicha tipo Frankfurt, que fue elaborada por la empresa De Federico, de Villa General Belgrano, Córdoba.

Se trabajó con los extractos de tegumentos de maní Runner y Virginia obtenidos en el capítulo II y con aceite esencial de orégano.

Las hojas de orégano (*Origanum vulgare L.*) se recolectaron en la estación experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba (2016, Córdoba, Argentina).

En la elaboración de las salchichas se utilizaron mezclas comerciales de los siguientes aditivos artificiales: SALOX (dextrosa, ácido ascórbico, eritorbato de sodio); BERNESAL (sal fina, nitrito de sodio, nitrato de sodio); BERNECOL (pirofosfato de sodio, tripolifosfato de sodio, metafosfato de potasio, hexametáfosfato de sodio, pirofosfato de sodio) Marca: Bernesa S.A., Lomas de Zamora, Provincia de Buenos Aires.

## MÉTODOS

### **Obtención del aceite esencial de orégano y análisis de su composición.**

El aceite esencial se extrajo por destilación por arrastre de vapor durante una hora en un equipo tipo Clevenger, se secó con sulfato de sodio anhidro y se mantuvo en matraz de vidrio oscuro a -18 °C hasta su uso. El aceite obtenido se analizó por CG-MS en un equipo Perkin Elmer Q-700 acoplado con un detector de masas de trampa de iones (Perkin Elmer, Shelton, CT, U.S.A.). Se utilizó una columna DB-5 (30 m, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 m de espesor de revestimiento). El gas portador fue helio (caudal de 0,9 mL/ min). El programa de temperatura fue de 3 min a 60 °C, un incremento de 4 °C/min y una temperatura final de 240 °C. El inyector se mantuvo a 250 °C. La ionización se realizó por impacto de electrones a 70 eV. Los compuestos del aceite esencial se identificaron comparando su índice

de retención y espectros de masas con los datos publicados, bibliotecas NIST y Adams (Quiroga et al., 2013). También se utilizó la coinyección de estándares auténticos (Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.) para la identificación de los componentes principales. Se usó fenchona (diclorometano 0,1 mg/ ml) como estándar interno. La composición cuantitativa se obtuvo mediante la normalización del área de pico y el factor de respuesta para cada componente se consideró igual a 1 (Quiroga et al., 2013).

## **Elaboración y almacenaje de las salchichas tipo Frankfurt**

Las salchichas fueron elaboradas de acuerdo con el procedimiento tradicional, según lo descrito por Feng et al. (2016). La pasta base de salchicha (PBS) se preparó con carne magra de vaca (25 g/100 g), carne de cerdo (41 g/100 g), gluten de trigo (3,2 g/100 g), almidón de maíz (7 g/100 g), condimentos (1,5 g/100 g) (ajo, comino, pimienta, hojas de orégano, aromas de humo y salchichas), hielo/agua (20 g/100 g), sal (1,5 g/100 g) y Bernecol (3 g/kg), Bernesal (3 g/kg) y Salox (2 g/kg) según corresponda en cada formulación. Las carnes de vaca y cerdo congeladas se picaron y se mezclaron con hielo/agua, gluten, almidón, condimentos, Bernecol® y sal, hasta que la temperatura alcanzó 4-5 °C.

Se prepararon siete tratamientos de salchichas a partir de la pasta base (PBS) antes mencionada:

- **Control (C)**: PBS sin aditivos.
- **Frankfurt (F)**: PBS con aditivos comerciales (2 g/kg de Salox FX®, 3 g/kg Bernecol y 3 g/kg de Bernesal®).
- **Runner (R)**: PBS con 0,2 g/100 g de extracto fenólico del tegumento de maní Runner.
- **Virginia (V)**: PBS con 0,2 g/100 g de extracto fenólico del tegumento de maní Virginia.
- **Orégano (O)**: PBS con 0,02 g/100 g de aceite esencial de orégano.
- **Orégano-Runner (OR)**: SBP con 0,02 g/100 g de aceite esencial de orégano y 0,2g/100 g de extracto del tegumento de maní Runner.

- **Orégano-Virginia (OV):** SBP con 0,02 g/100g de aceite esencial de orégano y 0,2 g/100g de extracto del tegumento de maní Virginia.

La concentración de aditivos naturales (aceite esencial de orégano y extractos de tegumento de maní) se eligió de acuerdo con pruebas anteriores y trabajos publicados, con el objetivo de lograr una actividad protectora con el mínimo impacto en las características sensoriales de los productos (Larrauri, et al., 2016a).

Cada mezcla de tratamiento final se embutió en tripa bovina natural (38-40 mm de diámetro) y se ató cada 12 cm. A continuación, todos los tratamientos mencionados se ahumaron y cocieron durante 90 minutos y se enfriaron en agua a 4 °C. Posteriormente, las salchichas se pasteurizaron a 80 °C durante 20 min y se enfriaron. Luego se envasaron al vacío y se almacenaron a 4 °C en refrigerador. Cada paquete contuvo tres salchichas. Las muestras se extrajeron del almacenamiento en los días 0, 12, 23 y 37 para análisis microbiológicos, químicos y sensoriales.

## **Análisis químicos de los productos frescos**

### **Composición química general**

Se determinó la composición química general de los productos: humedad, materia grasa, proteínas, cenizas según lo descrito en el Capítulo II (AOAC, 2010). Los carbohidratos totales se determinaron por diferencia entre 100% menos los porcentajes de los otros nutrientes (Barrionuevo et al., 2020)

### **Composición de ácidos grasos**

La composición de ácidos grasos de las salchichas se analizó por cromatografía gaseosa (GC), según lo descrito por (Grosso et al., 2020b). Se prepararon los ésteres metílicos de los ácidos grasos por transmetilación con una solución de ácido sulfúrico en metanol (30 g/L). Los ésteres metílicos se analizaron en un cromatógrafo Perkin Elmer Clarus 600 (Waltham, Mass., U.S.A.) equipado con un detector de ionización de llama (FID). Se utilizó una columna capilar SAC<sup>TM</sup>-5 (C # 24156, Supelco) de 30 metros de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor de fase. El gas portador fue **helio** (1 mL/min). Se utilizó el siguiente programa de temperaturas: temperatura inicial de

180 °C, con un aumento de 4 °C/min hasta los 240 °C (10 min). Los tiempos de retención relativos se consideraron en relación al del palmitato de metilo y el contenido de cada uno de los ácidos grasos identificados se expresó como valor porcentual en relación al contenido total de los mismos (Riveros et al., 2010).

### **Análisis microbiológico de los productos durante el almacenaje**

Se realizaron análisis microbiológicos en todas las muestras almacenadas. Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas totales (TMAB) se determinaron mediante el cultivo de muestras en TSA (Tryptone Soya Agar, Britania Lab, Argentina), utilizando el método de siembra en superficie para el recuento cuantitativo. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por g de muestra de salchicha (UFC/g) (FDA, USA, 2017). El recuento de levaduras y mohos totales (YM) se determinó usando SDA (Sabouraud Dextrose Agar, Britania Lab) como medio de cultivo mediante el método de siembra en inmersión. Las placas utilizadas para el recuento fueron las que contenían de 10 a 100 unidades formadoras de colonias (UFC). Todas las placas se incubaron a 25 °C durante 5 días (ISO, 1987). Además, la presencia o ausencia de *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo se determinaron de acuerdo con los métodos propuesto por la FDA, USA, (2017). ANMAT (2014)

### **Análisis químico de los productos durante el almacenaje**

La materia grasa se separó de las muestras de salchichas mediante extracción en soxhlet con n-hexano durante 6 h. El n-hexano se eliminó por evaporación al vacío (Mariana Larrauri et al., 2013). El índice de peróxido (PV) (meqO<sub>2</sub> / kg de grasa) se determinó en grasa de salchicha de acuerdo con la AOAC (2010). Los dienos conjugados (CD) se determinaron según COI (2001) y se expresaron como coeficiente de extinción E (1%, 1 cm, 232 nm).

### **Análisis sensorial de los productos**

#### **Pruebas afectivas sobre productos frescos: aceptabilidad y preferencia**

Las pruebas afectivas (aceptabilidad y de ordenamiento de preferencias) se realizaron en muestras frescas de las salchichas (0 días de almacenamiento) utilizando un panel de

consumidores (n = 75) de Córdoba (Argentina). Los jueces fueron seleccionados en base a los siguientes criterios: edad entre 18-65 años, personas sin alergias alimentarias, no fumadores y consumidores de productos cárnicos embutidos o similares al menos una vez a la semana. Las muestras fueron servidas en rodajas (5 mm de espesor) en vasos plásticos con tapa, codificados con números aleatorios de 3 dígitos. Previamente fueron calentadas durante 10 minutos en agua a 100 °C. A cada juez se le entregaron 8 muestras en forma aleatoria, y se les indicó que se enjuagaran la boca con agua y consumieran una galleta sin sal entre las muestras para minimizar el efecto residual del sabor. Los consumidores expresaron sus percepciones sobre aceptabilidad de color, sabor y textura utilizando una escala hedónica de 9 puntos, donde 1 = me disgusta muchísimo a 9 = me gusta muchísimo (Asensio et al., 2013) (**Tabla 4.1**).

**Tabla 4.1.** Escala hedónica de nueve puntos utilizada en la prueba sensorial afectiva de aceptabilidad de muestras de salchichas.

Valor	Escala	Color	Sabor	Textura
9	Me gusta muchísimo			
8	Me gusta mucho			
7	Me gusta bastante			
6	Me gusta ligeramente			
5	Ni me gusta, ni me disgusta			
4	Me disgusta ligeramente			
3	Me disgusta bastante			
2	Me disgusta mucho			
1	Me disgusta muchísimo			

Para la prueba de preferencia, se solicitó a los consumidores que ordenaran las muestras de salchichas de menor a mayor preferencia (Lawless y Heymann, 2010; Meilgaard et al., 2006).

## Pruebas descriptivas sobre los productos durante el almacenaje

Las muestras de salchichas fueron evaluadas mediante pruebas descriptivas con la finalidad de determinar cuanti y cualitativamente los atributos sensoriales y sus cambios durante el almacenamiento.

Se utilizó un método de análisis descriptivo híbrido que consiste en la combinación del Análisis Descriptivo Cuantitativo (Tragon Corp., Redwood City, USA) y el método Spectrum TM (Sensory Spectrum, Inc., Chatham, USA), utilizando una escala lineal no estructurada de 0-150 mm (Meilgaard et al., 2006).

Participaron en esta evaluación sensorial 10 jueces entrenados (ocho mujeres y dos hombres), con al menos cinco años de experiencia en análisis descriptivos en diferentes productos alimenticios. Las sesiones de entrenamiento y evaluación se realizaron según Larrauri et al., (2013) en la sala de análisis sensorial del ICTA, FCEFyN – UNC. Los jueces fueron seleccionados de acuerdo con los siguientes criterios: personas con buena dentición natural, sin alergias alimentarias, no fumadores, edades entre 18 y 64 años, con disponibilidad horaria para asistir a todas las sesiones, interesadas en participar, capaces de expresar y comunicar verbalmente las observaciones sobre el producto. Para la selección de los jueces se realizó un screening utilizando pruebas de identificación de atributos sensoriales. El panel fue entrenado y calibrado en 5 sesiones de 2 h cada una. Los atributos sensoriales evaluados y sus definiciones se presentan en la **Tabla 4.2**. Para cada uno de ellos se utilizaron referencias, a las cuales se le determinaron la intensidad correspondiente en la escala de 0-150 mm (**Tabla 4.3**) según lo consensuado por los jueces durante los entrenamientos. Se utilizó una muestra de referencia denominada “warm-up” (Grosso et al., 2017) salchicha tipo Frankfurt comercial De Federico. Todas las muestras se evaluaron en cabinas separadas a temperatura ambiente bajo luz blanca. En cada sesión de evaluación, se les entregó a los jueces la lista final con las definiciones de los atributos y las intensidades de las referencias, las muestras de salchichas para analizar (10 g), en vasos tapados codificados con números al azar de tres dígitos, planillas para registrar las intensidades percibidas de cada atributo, galletas de agua y un vaso con agua para enjuague (**Figura 4.1**). Los jueces evaluaron siete muestras y la muestra “warm-up” por sesión (**Figura 4.2**). Las muestras se distribuyeron usando un diseño de bloques completos al azar.

**Tabla 4.2.** Definición de atributos sensoriales evaluados sobre las salchichas.

<b>Atributo</b>	<b>Definición</b>
<b><i>Apariencia</i></b>	
Intensidad de color	Apariencia asociada al color rojizo sobre la superficie de la rodaja de salchicha.
Uniformidad de color	Color uniforme en la superficie de la rodaja de salchicha.
Puntos oscuros	Cantidad de puntos oscuros sobre la superficie de la rodaja de salchicha.
<b><i>Textura</i></b>	
Dureza	Fuerza requerida para comprimir media salchicha entre los molares.
Masticabilidad	Número de veces que se debe masticar para que el producto esté listo para ser tragado (Mitad de rodaja).
Granulado	Textura grumosa medida entre el paladar y la lengua, después de masticar media rodaja de salchicha.
Sensación grasa	Sensación de pastosidad en boca después de masticar media rodaja de salchicha.
<b><i>Sabor</i></b>	
Sabor salchicha tipo Frankfurt	Sabor característico a salchicha tipo Frankfurt.
Orégano	Sabor a orégano.
Rancio	Sabor asociado a grasa oxidada.
<b><i>Gustos básicos</i></b>	
Ácido	Intensidad de gusto ácido dado por una solución de ácido cítrico.
Salado	Intensidad de gusto salado dado por una solución del cloruro de sodio.
Amargo	Intensidad de gusto amargo dado por una solución de caseína.
<b><i>Factor de sensación</i></b>	
Ahumado	Sensación de “ahumado” en boca después de consumir media rodaja de salchicha.
Picante	Sensación de picor en boca después de consumir media rodaja de salchicha.

**Tabla 4.3.** Intensidades de referencias estándares y de muestra warm up utilizados en las pruebas sensoriales descriptivas de muestras de salchichas.

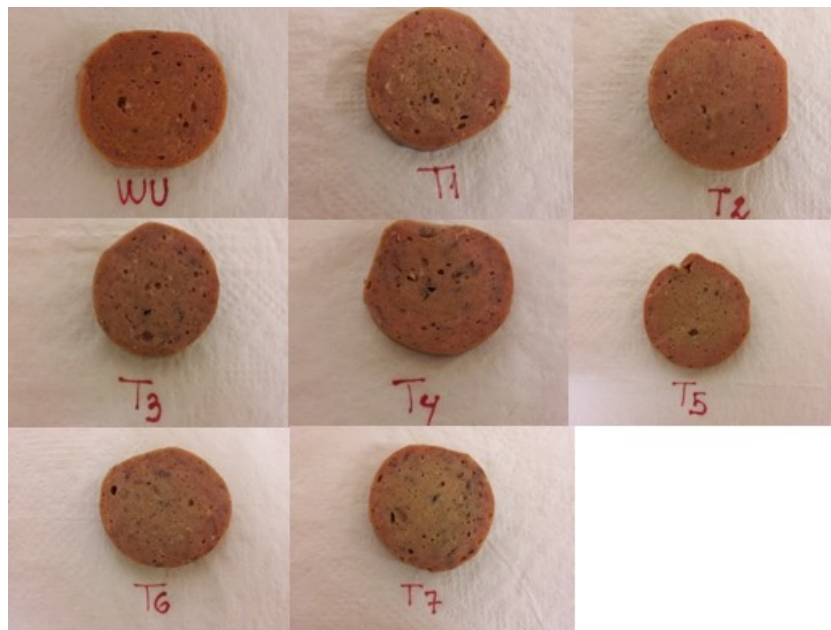
Atributos	Referencias estándares	Intensidad de atributos	Intensidad Warm up
		(escala 0-150mm)	
Intensidad de color	Color Scania roed ST 969 <sup>1</sup>	80	35
Uniformidad de color	Salchicha de Viena <sup>2</sup>	145	120
Puntos oscuros	Mortadela con pimienta <sup>3</sup>	70	10
Dureza	Almendra <sup>4</sup>	80	20
Masticabilidad	Caramelo masticable <sup>5</sup>	120	50
Granulosidad	Pan lactal blanco sin corteza <sup>6</sup>	30	40
Sensación grasa	Aceite de girasol <sup>7</sup>	75	35
Sabor salchicha	Salchicha tipo “Frankfurt” comercial <sup>8</sup>	85	85
Orégano	Salchicha tipo “Frankfurt” comercial <sup>8</sup>	15	15
Rancio	Aceite de girasol rancio <sup>9</sup>	50	0
Ácido	Ácido cítrico		15
	0,05%	20	
	0,08%	50	
	0,15%	100	
Salado	Cloruro de Sodio		50
	0,05%	25	
	0,08%	50	
	0,1%	85	
Amargo	Cafeína		15
	0,05%	20	
	0,08%	50	
	0,15%	100	
Ahumado	Salsa tabasco <sup>10</sup>	15	40
Picante	Hummus de berenjena <sup>11</sup>	80	35

<sup>1</sup> Color Scania roed ST 969. <sup>2</sup>Salchicha de Viena “Vienissima” Buenos Aires Argentina. <sup>3</sup>Mortadela con pimienta “Paladini” Córdoba, Argentina. <sup>4</sup>Almendras “Grandiet”, Córdoba, Argentina. <sup>5</sup>Caramelo masticable “Arcor” Córdoba, Argentina. <sup>6</sup>Pan lactal blanco “Veneziana” Córdoba, Argentina. <sup>7</sup>Aceite de girasol “Natura” Buenos Aires, Argentina. <sup>8</sup>Salchicha tipo “Frankfurt” de V. Gal. Belgrano, Córdoba, Argentina. <sup>9</sup>Aceite de girasol rancio, aceite “Natura” almacenado a 60 °C durante 20 días. <sup>10</sup> Salsa Tabasco Chipotle pimiento rojo ahumado México<sup>11</sup>Hummus de berenjena, KYROS, Buenos Aires, Argentina.





**Figura 4.1.** **A** recipientes codificados con tres dígitos con las muestras de salchichas a evaluar. **B** cabina sensorial, rodajas de cada tratamiento a evaluar.



**Figura 4.2.** Tratamientos de las salchichas tipo Frankfurt: WU: warm-up; T1: control; T2; Frankfurt; T3: Runner; T4: Virginia; T5: Orégano; T6: Orégano-Runner; T7: Orégano-Virginia.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los experimentos se realizaron por triplicado. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente con el programa InfoStat versión 2017p (Di Rienzo *et al.*, 2018). Se calcularon medias y errores estándar para cada variable química, microbiológica y sensorial. Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y test posterior LSD Fisher ( $\alpha = 0,05$ ) para encontrar diferencias significativas en las variables estudiadas entre tratamientos. Para la prueba de ordenamiento de preferencia se determinaron diferencias significativas entre tratamientos mediante la prueba no paramétrica de Friedman ( $\alpha = 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Composición del aceite esencial de orégano

Se identificaron un total de 21 compuestos (80,39%) en el aceite esencial de orégano (**Tabla 4.4**). Los principales monoterpenos encontrados (62,57%) fueron  $\gamma$ -terpineno, timol, terpinen-4-ol y o-cimeno. Esos compuestos son característicos del orégano y han sido observados por otros investigadores en diferentes orégano de Argentina (Quiroga *et al.*, 2013; Asensio *et al.*, 2015; Asensio *et al.*, 2020). Otros compuestos que también fueron identificados en este aceite esencial fueron  $\alpha$ -felandreno,  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno, terpinoleno,  $\alpha$ -terpineol, carvacrol, cariofileno, entre otros. El timol y el carvacrol son compuestos fenólicos con gran actividad antioxidante demostrada en productos alimenticios (Quiroga *et al.*, 2015). La composición química de este aceite esencial sugiere que puede tener propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Asensio *et al.*, 2015; Asensio *et al.*, 2020; Quiroga *et al.*, 2013).

**Tabla 4.4** Composición química del aceite esencial de orégano (media  $\pm$  error estándar, n = 3).

N°	RT	Compuesto	Porcentaje relativo	
			media	error estándar
1	8,41	$\alpha$ -Felanreno	1,20	0,03
2	8,53	$\alpha$ -Pinoeno	0,81	0,00
3	8,72	Canfeno	0,34	0,01
4	8,90	$\beta$ -Pinoeno	1,41	0,08
5	9,65	Terpinoleno	3,87	0,04
6	9,41	<b>Ocimeno</b>	<b>7,44</b>	<b>0,12</b>
7	9,46	Limoneno	0,62	0,00
8	9,74	<b><math>\gamma</math>-Terpineno</b>	<b>25,78</b>	<b>0,02</b>
9	11,00	Borneol	0,59	0,02
10	11,12	<b>Terpineno 4-ol</b>	<b>9,38</b>	<b>0,05</b>
11	11,47	$\alpha$ -Terpineol	2,73	0,04
12	11,57	Éter metílico de timol	0,72	0,03
13	11,98	Éter metílico de carvacrol	0,84	0,03
14	12,08	<b>Timol</b>	<b>19,97</b>	<b>0,22</b>
15	13,06	Carvacrol	1,21	0,03
16	13,94	$\beta$ -Bourboneno	0,06	0,00
17	14,03	Cariofileno	1,91	0,00
18	14,08	$\alpha$ -Humuleno	0,04	0,00
19	14,33	Germacreno D	0,51	0,02
20	15,04	$\alpha$ -Himachaleno	0,87	0,00
21	15,09	$\delta$ -Cadineno	0,09	0,00
<b>TOTAL identificado</b>			<b>80,39</b>	

## Composición química de las salchichas frescas

### Composición química general

En la **Tabla 4.5** se muestra la composición química general de las salchichas. Los principales componentes en los productos fueron la humedad y las proteínas, mientras que se observaron bajos contenidos de grasas y cenizas. Este bajo porcentaje de grasas se debió

a que los productos se elaboraron con carne magra, sin adición de grasas y con el agregado de gluten y almidón.

**Tabla 4.5** Composición química general (media  $\pm$  error estándar, n = 3) de las salchichas frescas.

<b>Composición</b>	<b>Contenido (g/100 g)</b>
Humedad	68,47 $\pm$ 0,40
Cenizas	2,24 $\pm$ 0,08
Lípidos (Grasas)	3,36 $\pm$ 0,26
Proteínas	12,63 $\pm$ 0,64
Carbohidratos	13,30 $\pm$ 0,80

Otros autores informaron contenidos mayores de grasas (entre 18-29 g/100 g) y menores de proteínas (11-12 g/100 g) en salchichas Frankfurt, con valores de humedad entre 52-65 g/100 g y 3,0-3,5 g/100 g de cenizas (Feng et al., 2016; Horita et al., 2016). Por otra parte, en diferentes estudios que buscan reducir el consumo de grasas animales, utilizaron diferentes compuestos (carragenanos, almidón, inulina, pectina, alginato de sodio) para obtener salchichas con bajas cantidades de grasas, alcanzando contenidos inferiores a 10 g/100 g (Cierach et al., 2009; Kang et al., 2020; Méndez-Zamora et al., 2015).

### **Composición de ácidos grasos**

La composición de ácidos grasos de las salchichas elaboradas se presenta en la Tabla 4.6. Los principales ácidos grasos encontrados en los productos fueron: ácido palmítico, ácido esteárico, ácido palmitoleico, ácido oleico y ácido linoleico. Los resultados muestran un mayor porcentaje de ácidos grasos insaturados frente a los saturados, lo que sugiere que este tipo de embutido es susceptible a la oxidación lipídica. Otros autores también encontraron los mismos ácidos grasos, que son característicos de la carne y grasa de cerdo y vaca, pero en diferentes proporciones, con menores contenidos de insaturados y mayores de saturados. Probablemente esto se debió al uso de diferentes cortes y proporciones de las carnes y grasas animales usadas en la formulación de las salchichas (Grasso et al., 2020; Pintado et al., 2021).

**Tabla 4.6.** Composición de ácidos grasos (media  $\pm$  error estándar, n = 3) de las salchichas frescas.

<b>Ácidos grasos</b>	<b>Contenidos (g/100 g)</b>
<b>Saturados</b>	<b>40,79</b>
Mirístico (14:0)	1,49 ± 0,41
Palmítico (16:0)	25,55 ± 0,01
Esteárico (18:0)	13,75 ± 0,25
<b>Monoinsaturados</b>	<b>44,61</b>
Palmitoleico (16:1)	18,86 ± 0,36
Oleico (18:1)	42,75 ± 0,58
<b>Poliinsaturados</b>	<b>14,59</b>
Linoleico (18:2)	11,93 ± 0,15
Linolénico (18:3)	2,69 ± 0,44

### **Aceptabilidad y preferencia por parte de los consumidores de los productos frescos**

Las pruebas sensoriales con consumidores son fundamentales para las industrias alimenticias a la hora de evaluar el impacto de un nuevo producto en el mercado, ya que informan directamente en la intención de compra por parte de los consumidores. Por lo tanto, el nivel general de agrado o preferencia por el producto debe ser lo más alto posible.

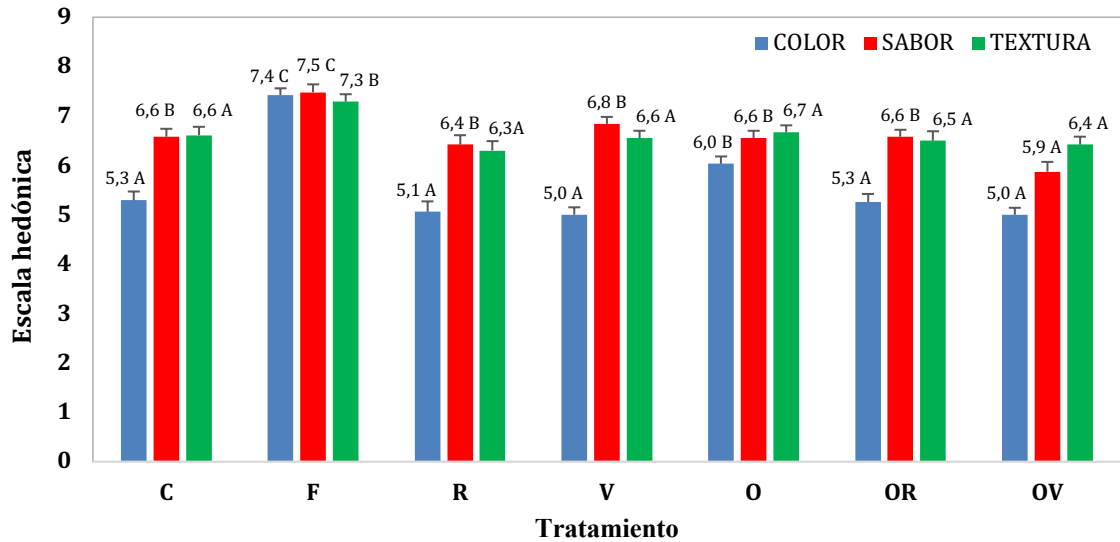
En la **Figura 4.3** se presentan los resultados de aceptabilidad por consumidores de los distintos tratamientos elaborados. Se detectaron diferencias significativas en las aceptabilidades entre los tratamientos ( $\alpha = 0,05$ ). La aceptabilidad del color fue mayor en la muestra F, con un valor de 7,4 en la escala de 9 puntos, seguida de O (6,0). La aceptabilidad del sabor fue mayor en F (7,5) y menor en las salchichas OV (5,9). Con respecto a la textura, la muestra F tuvo mayor aceptabilidad (7,3) que en el resto de las muestras (entre 6,3-6,7).

Esta prueba afectiva indica que todas las salchichas fueron aceptadas por su color, sabor y textura. Todas las muestras tuvieron valores de aceptabilidad positivas ( $\geq 5$ ) y ninguna fue rechazada por los consumidores. La incorporación en las salchichas de los extractos de los tegumentos de maní (Runner y Virginia) y del aceite esencial de orégano no afectaron negativamente al producto en cuanto a su aceptabilidad de color, sabor y textura, ya que las muestras con dichos agregados (R, V, O, OR y OV) registraron valores superiores a 5 de la escala hedónica de 9 puntos y en cierta medida fueron similares a los resultados de

la muestra control, aunque con menores valores de aceptabilidad en comparación con las salchichas con aditivos artificiales (F), que correspondió a la muestra que presentó mayores resultados en todos los atributos analizados (**Figura 4.3**).

Por otra parte, en la **Tabla 4.7** se resume el ordenamiento de preferencias de los productos. Las muestras mostraron diferencias significativas ( $\alpha = 0,05$ ), con preferencia decreciente según el siguiente orden:  $F > C$  y  $R > O > OR$ ,  $V$  y  $OV$ .

Otros autores informaron resultados de aceptabilidad en salchichas similares a los encontrados en el presente trabajo, con valores de entre 6 y 7 en una escala hedónica de 9 puntos (Delgado-Ospina et al., 2021). En otros estudios, donde se probaron diferentes aditivos naturales en salchichas, se han reportado efectos positivos en la aceptabilidad por parte de los consumidores (Méndez-Zamora et al., 2015). Eyiler y Oztan (2011) estudiaron el impacto del agregado de tomate en polvo para disminuir el nivel de nitrito, informando mayores intensidades de color y aceptabilidad en comparación con las muestras control. Cierach et al. (2009) utilizaron carragenina y Méndez-Zamora et al. (2015) inulina como reemplazo de la materia grasa, logrando productos con mejores valores de aceptabilidad que las salchichas tradicionales. Por su parte, Busatta et al. (2007) estudiaron el efecto de la incorporación de aceite esencial de orégano como agente antimicrobiano en salchichas, obteniendo resultados de aceptabilidad prometedores a concentraciones que tenían efecto bacteriostático, aunque la aceptabilidad mejoró a medida que se redujo la concentración de aceite esencial de orégano. Dichos resultados son coherentes con los encontrados en el presente trabajo, donde también se observó que los tratamientos con aceite esencial de orégano (O, OR y OV) presentaron una menor preferencia por parte de los consumidores, en comparación con el control (**Tabla 4.7**). Estos resultados sugieren que el aceite esencial debe ser incorporado en concentraciones suficientes para tener efecto antimicrobiano y no afectar negativamente las propiedades sensoriales del alimento. En este trabajo se utilizó una concentración de 0,02% del aceite esencial de orégano y 0,2% de los extractos de tegumento de maní, y los productos fueron aceptados por los consumidores con valores superiores a 5 de una escala de 9 puntos.



**Figura 4.3.** Aceptabilidad (medias y errores estándar,  $n = 75$ ) del color, sabor y textura de los tratamientos de salchichas (C: control, F: Frankfurt, R: Runner, V: Virginia, O: Orégano, OR: Orégano-Runner, OV: Orégano-Virginia) medidos en una escala hedónica de 9 puntos, a tiempo 0 de almacenamiento.

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos, para cada atributo (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

**Tabla 4.7.** Orden de preferencias (media de ranking,  $n = 75$ ) de los consumidores por las salchichas a tiempo cero de almacenamiento.

Tratamiento	Media de ranking	*
Frankfurt	1,40	A
Control	3,04	B
Runner	3,44	B
Orégano	4,12	C
Orégano-Runner	5,10	D
Virginia	5,28	D
Orégano-Virginia	5,62	D

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre medias (prueba de Friedman,  $\alpha = 0,05$ ).

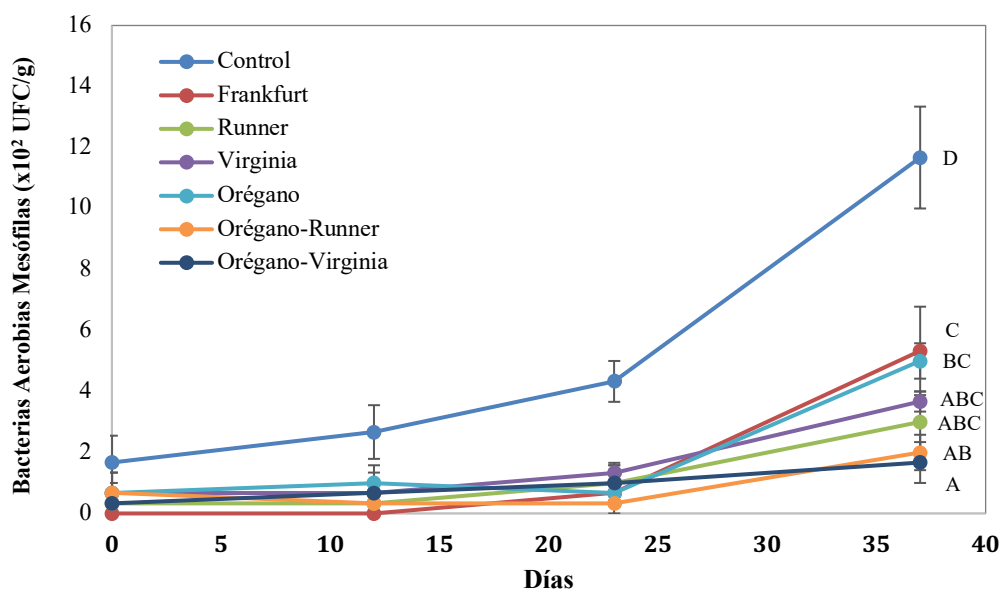
## **Análisis microbiológicos de los productos durante el almacenaje**

Todas las muestras, inicialmente (día 0), tuvieron bajas cantidades de bacterias aerobias mesófilas totales (BAM) siendo el promedio de todas las muestras  $<100$  UFC/g. También se encontraron valores bajos contenidos de mohos y levaduras totales (promedio  $<100$  UFC/g), sin diferencias significativas entre los tratamientos. Ambos indicadores de calidad microbiológica fueron inferiores a los límites establecidos por el Código Alimentario Argentino ( $<10,000$  UFC/g para BAM, y  $<100$  UFC/g para mohos y levaduras totales) para todas las muestras durante el almacenamiento (CAA, 2019). Además, no se detectaron microorganismos patógenos (*E. coli*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*) en las muestras durante el almacenamiento. Los mohos y levaduras no aumentaron significativamente durante el almacenamiento. Por el contrario, las BAM aumentaron durante el almacenamiento (**Figura 4.4.**). A partir del día 23 de almacenamiento, se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha = 0,05$ ). Al final del almacenamiento (37 días), C resultó con mayor cantidad de BAM ( $11,67 \times 10^2$  UFC/g) con respecto a las otras muestras de salchichas. No se detectaron diferencias significativas entre las muestras F ( $5,33 \times 10^2$  UFC/g), O ( $5,00 \times 10^2$  UFC/g), V ( $3,67 \times 10^2$  UFC/g) y R ( $3,00 \times 10^2$  UFC/g), y entre V, R, OR ( $2,00 \times 10^2$  UFC/g) y OV ( $1,67 \times 10^2$  UFC/g). La muestra de control tuvo un mayor incremento de BAM en comparación con las otras muestras durante el almacenamiento. Estos resultados sugieren que la adición de aditivos comerciales en la muestra F y compuestos naturales (aceite esencial de orégano y extractos de tegumento de maní) en las otras muestras proporciona un efecto protector contra el desarrollo de bacterias aeróbicas. El mejor resultado se evidenció en muestras con la adición combinada de aceite esencial de orégano y extractos de piel de maní (OV y OR).

Otros autores también informaron un bajo crecimiento microbiológico en salchichas almacenadas en diferentes condiciones durante un período más largo que el estudio actual (Horita et al., 2016). Algunos autores destacaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano contra varias bacterias en salchichas frescas (Busatta et al., 2007) y contra hongos superficiales en salchichas fermentadas (Chaves-López et al., 2012). Yu et al. (2010) estudiaron el potencial del extracto fenólico de tegumento de maní como agente antioxidante y antibacteriano en carne molida cocida y cruda. El extracto de piel de maní demostró la inhibición completa de las bacterias estudiadas in vitro (*Bacillus subtilis*,



*Salmonella typhimurium*, *S. aureus*, *Streptococcus faecalis* y *E. coli*) a una concentración del 0,4% o más. Sin embargo, el efecto antimicrobiano de estos extractos en la carne picada fue menos efectivo.



**Figura 4.4.** Análisis microbiológico (bacterias aerobias mesófilas totales) en muestras de salchichas durante el almacenamiento a 4 °C. Medias y errores estándar (n = 3).

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

### Análisis químicos de los productos durante el almacenaje

En las **Figuras 4.5 y 4.6** se muestran los cambios en las variables químicas: índice de peróxidos (IP) y dienos conjugados (DC), respectivamente, analizados en las muestras de salchichas durante el almacenaje. El IP aumentó ligeramente en las muestras C, F, R y V, mostrando diferencias significativas entre los distintos tiempos de almacenamiento y tratamientos (**Figura 4.5**). Al final del almacenamiento (37 días), C resultó con un IP más alto (5,76 meqO<sub>2</sub>/kg) seguido de las muestras F (3,85 meqO<sub>2</sub>/kg), R (3,85 meqO<sub>2</sub>/kg), V (3,72 meqO<sub>2</sub>/kg) y O (3,06 meqO<sub>2</sub>/kg). Se observó el IP más bajo en OV (2,30 meqO<sub>2</sub>/kg) y OR (2,25 meqO<sub>2</sub>/kg) sin diferencias significativas a los 37 días de almacenamiento. Las salchichas con orégano (O, OR y OV) mostraron IP casi constantes durante todo el almacenamiento.

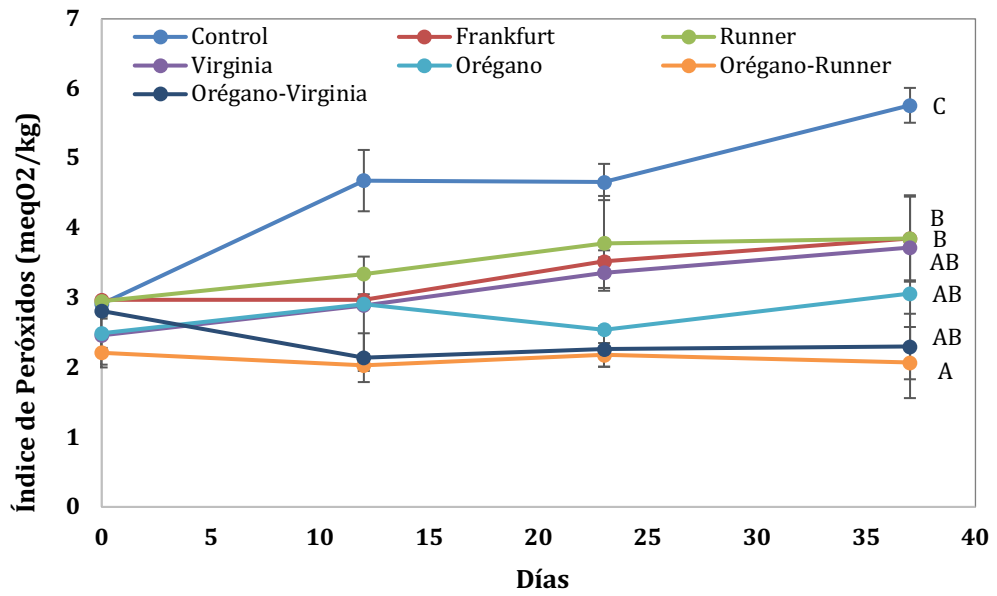
Según estos resultados, el deterioro de los lípidos de las salchichas fue bajo en estas condiciones de almacenamiento. Sin embargo, el índice de peróxido aumentó en C, lo que podría indicar una mayor tendencia a la oxidación de grasas en las muestras sin aditivos, mientras que las muestras con la adición combinada de extractos de tegumento maní y aceite esencial de orégano tuvieron mejor protección contra la peroxidación lipídica.

Con respecto a los dienos conjugados (**Figura 4.6**), los valores de este indicador de oxidación lipídica no aumentaron significativamente durante el almacenamiento y no se registraron diferencias significativas entre muestras. Todas las muestras tuvieron en promedio  $3,30 \pm 0,46$  dienos conjugados a lo largo del estudio de almacenamiento.

Larrauri et al. (2013) determinaron IP y DC en salame con el agregado de extracto de tegumento de maní Runner durante el almacenaje, demostrando un efecto protector de estos aditivos naturales contra la oxidación de lípidos en el producto. Una mayor concentración de esos compuestos naturales tuvo un mayor efecto antioxidante en las muestras almacenadas.

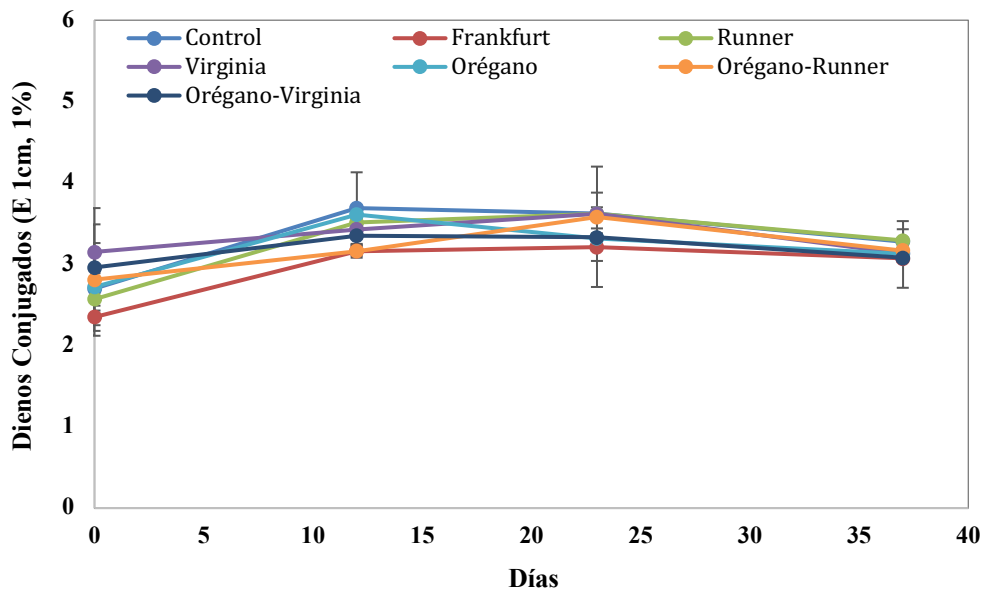
La actividad antioxidante de los extractos de piel de maní ha sido probada en otros productos cárnicos ( Yu et al., 2010) y alimentos (Larrauri, et al., 2016a), cuyos resultados están en concordancia con los obtenidos en el presente trabajo. Yu et al. (2010) informaron que la adición de extracto de tegumento de maní a carne molida cruda antes de cocinarla inhibió significativamente la formación de peróxidos en la carne molida cocida durante el almacenamiento refrigerado. Según dichos autores, la eficacia de los extractos como antioxidante a una concentración de 0,06 a 0,10% fue similar a la de 0,02% de BHA/BHT. Por otro lado, Larrauri et al. (2016b) estudiaron la adición de extractos de tegumento de maní Runner, sobre almendras recubiertas, utilizando la misma concentración que en el presente estudio (0,2%), y encontraron un aumento significativo de IP y DC en la muestra control con respecto a los tratamientos con extractos durante el almacenamiento.

Diferentes estudios han demostrado también la capacidad antioxidante del aceite esencial de orégano (Quiroga et al., 2011, 2013; Asensio et al., 2015 ). La combinación de aceite esencial de orégano más los extractos del tegumento del maní, en las muestras RO y VO sugieren una mayor actividad antioxidante; esto se podría explicar por una acción sinérgica de los compuestos presentes en los distintos extractos.



**Figura 4.5.** Medias y errores estándar (n = 3) del índice de peróxido de las muestras de salchicha durante el almacenamiento a 4 °C.

\*Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, test LSD,  $\alpha = 0,05$ ).



**Figura 4.6.** Medias y errores estándar (n = 3) de los dienos conjugados de las muestras de salchicha durante el almacenamiento a 4 °C.

## **Análisis sensorial descriptivo de los productos durante el almacenaje**

En la **Tabla 4.8** se presentan las intensidades de los atributos sensoriales de las salchichas frescas (día 0 de almacenamiento). Se encontraron diferencias significativas entre las muestras en los atributos de apariencia (intensidad, uniformidad del color y puntos oscuros) y en el sabor a orégano. La muestra F tuvo una mayor intensidad de color (31,50) y uniformidad (115,63) y mostró menos puntos oscuros (9,30) que las otras muestras ( $p < 0,05$ ). Las muestras C y O tuvieron intensidades de color similares (25,13 y 24,44, respectivamente) con mayores valores ( $p < 0,05$ ) que las muestras con extractos de tegumento de maní (R, V, OR, OV), cuyas intensidades de color estuvieron entre 19,44 y 20,25, sin diferencias significativas entre estas últimas. Las muestras sin extractos agregados (C, F y O) tuvieron menores intensidades de puntos oscuros (entre 9,30 y 16,00, sin diferencias significativas entre ellas). V y OV fueron los tratamientos con mayores intensidades del atributo puntos oscuros (37,86 y 35,00, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas), seguidos por R y OR (24,13 y 25,00, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas). Según estos resultados, la adición de aditivos comerciales (tratamiento F) significó mayores intensidades en los atributos de color (intensidad y uniformidad) del producto. Sin embargo, la ausencia de dichos aditivos no cambió sustancialmente otros atributos, como la textura y el sabor. La incorporación de extractos de tegumento de maní (Runner y Virginia) implicó una menor intensidad de color y mayor presencia de puntos oscuros en las muestras.

El sabor a orégano se detectó fuertemente en aquellas muestras con aceite esencial de orégano ( $p < 0,05$ ): O, OR y OV (33,75; 27,00 y 31,25, respectivamente) sin diferencias significativas entre ellas.

El resto de los atributos de textura (dureza, masticabilidad, granulosidad y grasoso), gusto (salado, amargo, ácido), sabor a oxidado, y factores de sensación astringencia y picante, no mostraron diferencias significativas en las intensidades entre las muestras estudiadas.

**Tabla 4.8.** Intensidad de los atributos sensoriales (media  $\pm$  error estándar, n = 3) de las salchichas frescas (día 0 de almacenamiento).

<b>Muestras de Salchichas Frankfurt</b>							
<b>Atributos sensoriales</b>	<b>Control</b>	<b>Frankfurt</b>	<b>Orégano</b>	<b>Runner</b>	<b>Virginia</b>	<b>Orégano-Runner</b>	<b>Orégano-Virginia</b>
<b>Apariencia</b>							
Intensidad de color	25,13 $\pm$ 1,54B	31,50 $\pm$ 1,20C	24,44 $\pm$ 2,43B	19,67 $\pm$ 1,48A	20,25 $\pm$ 0,86A	19,44 $\pm$ 1,34A	19,88 $\pm$ 1,62A
Uniformidad de color	100,00 $\pm$ 0,00A	115,63 $\pm$ 2,20B	97,56 $\pm$ 3,25A	94,00 $\pm$ 4,99A	92,50 $\pm$ 5,67A	91,43 $\pm$ 3,40A	91,63 $\pm$ 6,11A
Puntos oscuros	14,34 $\pm$ 1,75A	9,30 $\pm$ 0,91A	16,00 $\pm$ 1,80A	24,13 $\pm$ 3,39B	37,86 $\pm$ 3,43C	25,00 $\pm$ 1,89B	35,00 $\pm$ 3,54C
<b>Textura</b>							
Dureza	23,50 $\pm$ 1,92	23,38 $\pm$ 1,57	26,25 $\pm$ 2,66	24,75 $\pm$ 2,75	25,75 $\pm$ 2,65	24,75 $\pm$ 2,21	27,13 $\pm$ 3,06
Masticabilidad	50,88 $\pm$ 0,64	53,50 $\pm$ 1,72	51,43 $\pm$ 1,43	51,88 $\pm$ 1,88	50,00 $\pm$ 1,64	51,25 $\pm$ 1,83	49,29 $\pm$ 1,30
Granulosidad	41,88 $\pm$ 0,91	39,13 $\pm$ 0,97	41,25 $\pm$ 1,25	40,63 $\pm$ 1,13	40,63 $\pm$ 1,13	41,88 $\pm$ 1,32	44,13 $\pm$ 1,65
Grasoso	35,00 $\pm$ 0,94	35,00 $\pm$ 0,94	33,63 $\pm$ 1,50	33,75 $\pm$ 0,82	34,38 $\pm$ 1,13	35,63 $\pm$ 1,13	35,00 $\pm$ 0,94
<b>Sabor</b>							
Salchicha	84,29 $\pm$ 1,70	86,14 $\pm$ 1,34	84,67 $\pm$ 1,05	86,14 $\pm$ 1,34	86,25 $\pm$ 1,83	85,00 $\pm$ 2,24	83,86 $\pm$ 1,86
Orégano	19,17 $\pm$ 1,70A	14,00 $\pm$ 0,82A	33,75 $\pm$ 5,78B	15,20 $\pm$ 0,16A	16,60 $\pm$ 0,84A	27,00 $\pm$ 4,00B	31,25 $\pm$ 4,29B
Oxidado	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
<b>Gusto</b>							
Ácido	14,63 $\pm$ 0,38	14,75 $\pm$ 0,77	16,25 $\pm$ 1,25	14,38 $\pm$ 0,84	15,38 $\pm$ 0,38	15,75 $\pm$ 0,49	15,38 $\pm$ 0,38
Salado	47,63 $\pm$ 1,39	48,75 $\pm$ 2,27	50,38 $\pm$ 1,93	51,88 $\pm$ 1,88	52,50 $\pm$ 1,89	48,75 $\pm$ 0,82	48,13 $\pm$ 1,32
Amargo	14,88 $\pm$ 0,48	14,63 $\pm$ 0,38	17,25 $\pm$ 1,86	15,00 $\pm$ 0,00	15,75 $\pm$ 0,49	15,63 $\pm$ 0,42	15,63 $\pm$ 0,42
<b>Factor sensación</b>							
Picante	34,25 $\pm$ 1,62	32,88 $\pm$ 1,14	38,75 $\pm$ 2,27	35,75 $\pm$ 1,95	36,38 $\pm$ 0,80	38,50 $\pm$ 1,82	38,50 $\pm$ 1,56
Ahumado	38,13 $\pm$ 1,88	39,75 $\pm$ 1,54	41,25 $\pm$ 2,27	42,50 $\pm$ 1,64	41,25 $\pm$ 1,25	41,25 $\pm$ 2,06	41,88 $\pm$ 1,32

\*Letras distintas en las filas indican diferencias significativas entre tratamientos (ANOVA, prueba LSD,  $\alpha = 0,05$ ).

Durante el almacenamiento, las salchichas tuvieron cambios mínimos en las intensidades de sus atributos sensoriales.

En la **Figura 4.7** se observan las intensidades de color de las muestras durante el almacenaje. El tratamiento F tuvo, inicialmente, una intensidad de color más alta que el resto de las muestras ( $p < 0,05$ ), y esta diferencia también se observó durante el almacenamiento, sin cambios. Las muestras de C y O presentaron una disminución en sus intensidades de color ( $p < 0,05$ ) mientras que el resto de los tratamientos no mostraron cambios significativos durante el almacenaje.

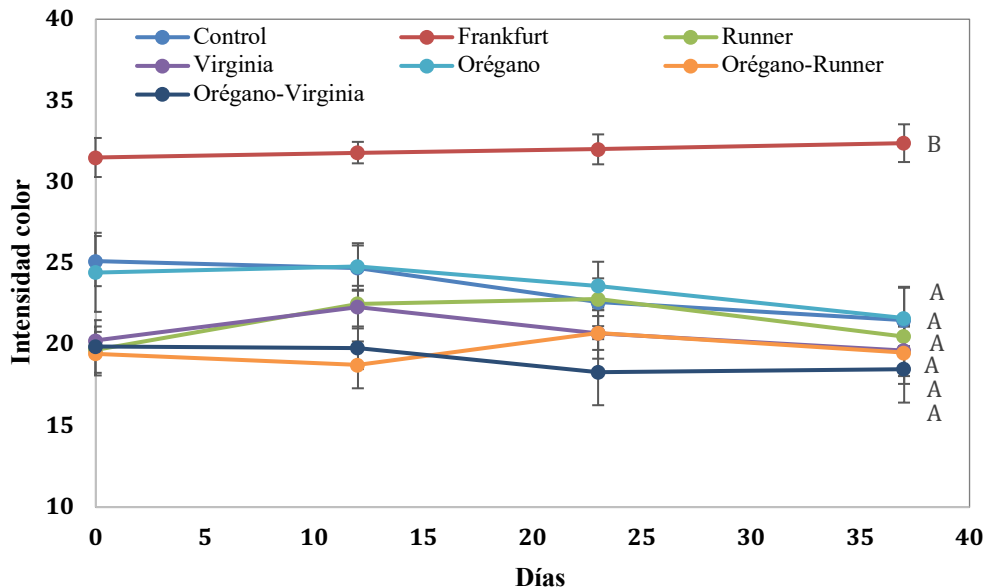
En cuanto al atributo sabor a orégano, según lo que se observa en la **Figura 4.8**, las muestras con aceite esencial de orégano (O, OR y OV) mostraron una disminución de dicho atributo ( $p < 0,05$ ) durante el almacenamiento de 27.00-33.75 (día 0) a 17.00-17.40 (día 37), sin diferencias significativas entre las muestras. Estos datos sugieren una pérdida de este atributo en estas muestras debido a su volatilización o descomposición durante el almacenamiento.

Las intensidades de sabor salchicha (**Figura 4.9**) y de los demás atributos sensoriales permanecieron prácticamente sin cambios durante el almacenamiento en todas las muestras.

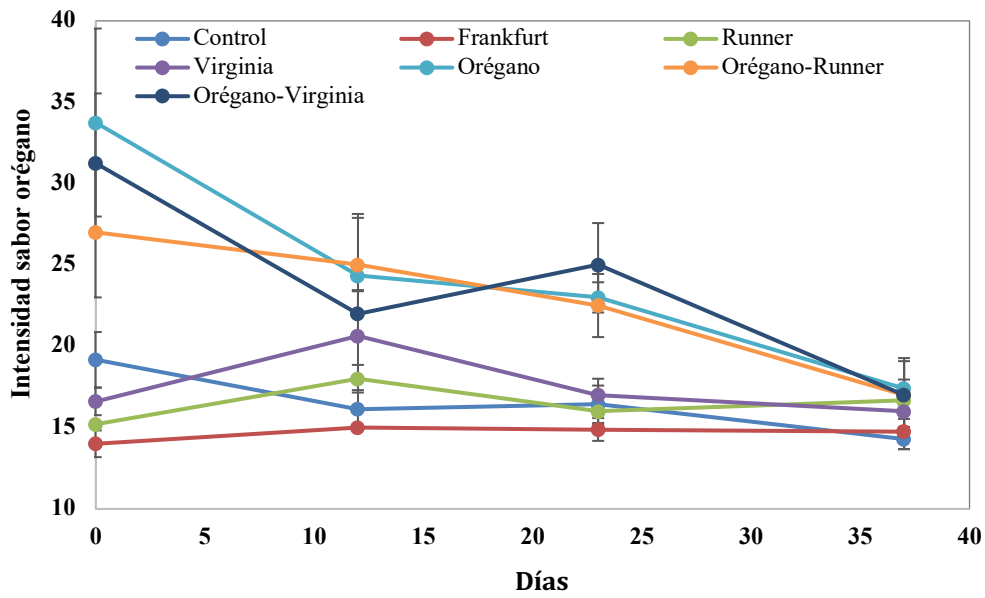
Los resultados de la evaluación sensorial descriptiva de las muestras de salchichas durante el almacenaje indican que, en general, los productos mantuvieron sus características sensoriales durante 37 días de almacenaje en las condiciones normales de conservación (4 °C), con muy pocos cambios detectados por los jueces entrenados, en algunos tratamientos. Los principales cambios de color se notaron en los tratamientos sin aditivos antioxidantes (Control y Orégano), mientras que en los tratamientos con aceite esencial de orégano (O, OR y OV) se observó leve pérdida del atributo intensidad de sabor a orégano con el tiempo.

En una investigación anterior, Larrauri et al. (2013) analizaron el efecto de extracto de tegumento de maní Runner sobre las propiedades sensoriales de salame durante el almacenamiento. Estos autores encontraron que el extracto retarda la oxidación de los lípidos y preserva las propiedades sensoriales del producto, prolongando su vida útil, de manera similar a lo observado en el presente estudio.

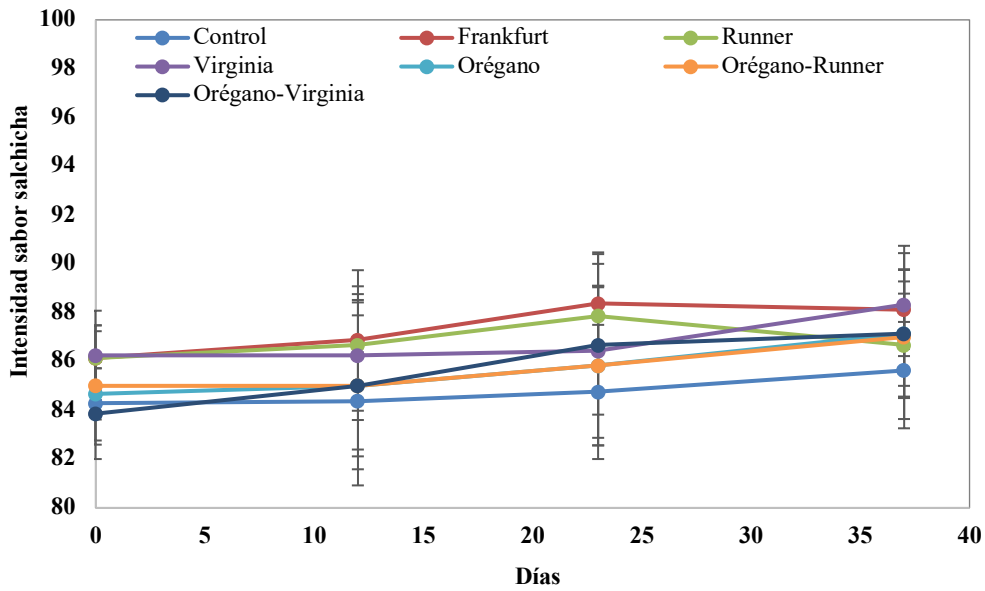
Otros autores estudiaron el agregado de diferentes aditivos naturales con el fin de disminuir el uso de nitritos en embutidos (Deda et al., 2007; Eyiler y Oztan, 2011; Feng et al., 2016). Deda et al. (2007) obtuvieron buenos resultados al reemplazar nitrito de sodio por pasta de tomate, encontrando que las salchichas con niveles reducidos de nitrito de sodio (50 y 100 mg/kg) y con 12% de pasta de tomate tuvieron intensidad mayor de color rojo, sin efecto negativo en la calidad del producto. Eyiler & Oztan (2011) informaron que la adición de tomate en polvo en salchichas provocó un incremento de las intensidades de color interno y externo, mejorando la aceptabilidad del producto por parte de los consumidores. Feng et al. (2016) encontraron que al agregar un 5% de vino tinto en salchichas tipo frankfurt se incrementó el valor  $a^*$  (parámetro rojo-verde del espacio de color CIELAB), las propiedades de textura (cohesividad y elasticidad), mientras que disminuyeron las oxidaciones de lípidos y proteínas de los productos finales. Además, el jugo de apio en polvo mostró los mismos efectos que los agentes de curado convencionales (nitrito) sobre las propiedades de las salchichas.



**Figura 4.7.** Medias y errores estándar de intensidad de color ( $a^*$ ,  $n = 3$ ) evaluado en las muestras de salchichas durante el almacenaje a 4 °C.



**Figura 4.8.** Medias y errores estándar de intensidad de sabor orégano ( $n = 3$ ) evaluado en las muestras de salchichas durante el almacenaje a 4 °C.



**Figura 4.9.** Medias y errores estándar de intensidad de sabor salchicha ( $n = 3$ ) evaluado en las muestras de salchichas durante el almacenaje a 4 °C.



## CONCLUSIONES

Los resultados logrados en este apartado indican que los extractos de ambos tegumentos de maní (Runner y Virginia) evidencian que tienen poder antimicrobiano y antioxidante y pueden ser considerados como potenciales aditivos para ser utilizados como conservantes de alimentos.

Los productos elaborados (salchichas tipo Frankfurt) resultaron con un bajo contenido de lípidos, con predominio de los ácidos grasos insaturados (principalmente ácidos oleico y [linoleico](#)).

Los resultados de las pruebas afectivas en las salchichas con diferentes aditivos (comerciales y naturales) indican que los consumidores prefieren un producto con un tratamiento con aditivos comerciales (nitros y nitritos, entre otros), sin embargo, los tratamientos con los compuestos naturales también muestran una buena aceptabilidad.

Según los resultados del análisis sensorial descriptivo realizado por jueces entrenados, los atributos de apariencia (color, uniformidad y puntos oscuros) son los más afectados en los tratamientos sin aditivos comerciales y con los compuestos naturales. El atributo sabor a orégano tiene mayor intensidad en tratamientos con el agregado del aceite esencial orégano. En general, el sabor y la textura que caracterizan a las salchichas no se alteran sustancialmente cuando se usa aceite esencial de orégano y extractos de tegumento de maní como aditivo conservante.

La adición de compuestos naturales como extracto polifenólico de tegumento de maní Runner y Virginia en salchichas tiene un efecto positivo en la prevención del producto contra el deterioro químico y microbiológico durante el almacenamiento. En general, la combinación de ambos aditivos naturales, orégano y extractos de tegumento de maní (Runner o Virginia) muestra mejores propiedades conservantes que las salchichas que se preparan con la formulación comercial.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES GENERALES

Los estudios realizados permitieron identificar y cuantificar los compuestos fenólicos de extractos obtenidos del tegumento de dos variedades de maní, Runner y Virginia como así también examinar su poder antioxidante. Se aportó información sobre las propiedades conservantes de los extractos polifenólicos del tegumento de ambas variedades de maní al ser aplicados en salchichas tipo Frankfurt, evaluando los efectos sobre sus parámetros químicos, microbiológicos y sensoriales durante un estudio de almacenamiento.

De la experiencia obtenida en esta tesis se pueden resumir las siguientes conclusiones:

- ◆ El tegumento de maní de la variedad Runner contiene mayor proporción de cenizas y lípidos, y menor porcentaje de hidratos de carbono que el de la Virginia.
- ◆ El tegumento de maní de la variedad Virginia posee superiores rendimientos de extracción, contenidos de fenoles y flavonoides totales y mayores cantidades de compuestos polifenólicos como procianidinas, ácido coutárico, entre otros, que el tegumento de maní de la variedad Runner.
- ◆ Los compuestos polifenólicos predominantes encontrados en los extractos de ambos tegumentossón: ácido cis-/trans-coutárico, dímero de procianidina tipo A y ácido malonil cafeoil quínico.
- ◆ Los extractos polifenólicos de los tegumentos de maní de ambas variedades estudiadas (Runner y Virginia) muestran actividad antioxidante analizadas bajo diferentes técnicas *in vitro*. El extracto de tegumento de maní de la variedad Virginia presenta mayor actividad antioxidante medida por su capacidad secuestrante de radical DPPH y por el ensayo ABTS, pero menor actividad secuestrante de radicales hidroxilo, cuando se la compara con el extracto del tegumento de maní de la variedad Runner.
- ◆ Ambos extractos muestran efecto antioxidante en aceite de girasol (método Rancimat) con valores similares obtenido mediante el uso del antioxidante sintético BHT.

- ♦ Mayores contenidos de polifenoles se relacionan con mejores propiedades antioxidantes medidas por ABTS, DPPH y en Rancimat, mientras que mayores contenidos en flavonoides se relacionan con mejores propiedades antioxidantes sobre aceite de girasol.

De los resultados del ensayo de los extractos polifenólicos de los tegumentos de maní en asociación con aceite esencial de orégano aplicados a salchichas tipo Frankfurt, se puede concluir que:

- ♦ La adición de estos productos naturales (polifenoles del tegumento de maní en combinación con el aceite esencial de orégano) tiene efectos positivos en la prevención del deterioro químico y microbiológico del producto durante el almacenamiento

- ♦ La combinación de los extractos de maní con el aceite esencial de orégano muestra mejores propiedades conservantes que los conservantes comerciales sintéticos como nitritos y nitratos.

- ♦ Los compuestos naturales (polifenoles del tegumento del maní) provocan cambios leves en la apariencia del producto final (color) sin ser rechazados por los consumidores que califican este atributo con buen puntaje de aceptabilidad, aunque dan un mayor valor de preferencia a las salchichas comerciales aditivadas con nitrito y nitratos. Las salchichas tipo Frankfurt con aditivos naturales (polifenoles del tegumento de maní y aceite esencial de orégano) no se diferencian del producto comercial en cuanto a atributos sensoriales como sabor salchicha, gustos básicos, factores de sensación y textura.

- ♦ El efecto protector de los compuestos naturales (extracto polifenólico del tegumento de maní) contra el desarrollo microbiano y oxidación lipídica es comparable al encontrado en las salchichas tipo Frankfurt elaboradas con conservantes comerciales sintéticos, resultando más efectiva cuando se combina con aceite esencial de orégano.

Los resultados sugieren que ambos extractos de tegumento de maní, Runner y Virginia, en combinación con aceite esencial de orégano, poseen propiedades conservantes y pueden ser utilizados para reemplazar a los aditivos comerciales en este tipo de producto y probablemente en otros alimentos similares. Las salchichas pueden ser un vehículo para incorporar este tipo de compuestos naturales que le aportan efectos conservantes al producto, evitando así el uso de aditivos comerciales sintéticos que son potencialmente tóxicos o

cancerígenos, resultando muy atractivos para los consumidores, que cada vez se vuelcan más hacia el consumo de alimentos naturales y saludables.

Actualmente crece la exigencia hacia una producción agrícola e industrial sustentable que no dañe ni afecte el medio ambiente. Por tanto, el uso del tegumento de maní, residuo del procesamiento industrial del blanchado, como materia prima para la elaboración de aditivos alimentarios naturales constituye un aporte valioso.

## **Publicaciones de los resultados de la tesis:**

### **Publicación en revista científica:**

Barrionuevo MG; Monje E; Enrico M; Ryan L; Asensio CM; Nepote V; Grosso NR. 2020. Incorporation of polyphenolic peanut skin extracts and oregano essential oil into frankfurter-type sausage: effects on properties and shelf life. *AgriScientia* (ISSN: 03276244, e-ISSN: 1668298X), 37: 41-51. DOI: 10.31047/1668.298x.v37.n1.25427

### **Publicaciones en congresos:**

Barrionuevo MG, Enrico M, Larrauri M, Ryan L, Monje E, Gayol MF, Grosso NR, Nepote V. 2015. Estabilidad química, microbiológica y sensorial de salchichas tipo Frankfurt elaboradas con antioxidantes naturales provenientes del tegumento de maní. XV CYTAL (Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos), 3-5/11/2015. Buenos Aires, Argentina. Publicado en CD/libro de resúmenes: ID 403.

Barrionuevo MG, Grosso NR, Olmedo RH, Nepote V. 2015. Chemical composition and antioxidant activity of peanut skin extracts obtained from virginia and runner varieties. IFT 2015, Chicago, USA, July 11-14, 2015.

Barrionuevo MG, Enrico M, Ryan L, Monje E, Grosso NR, Nepote V. 2015. Estabilidad química, microbiológica y sensorial de salchichas tipo Frankfurt elaboradas con antioxidantes naturales provenientes del tegumento de maní. I Jornada del ICTA, Vincular para crecer. 6/11/2015. FCEFYN-UNC.

## **Proyectos de investigación que financiaron la tesis:**

- 2020-2023. Desarrollo de películas comestibles a partir de subproductos de la industria aceitera con incorporación de antioxidantes naturales para la conservación de alimentos. PICT 2018, Tipo D, Plan Argentina Innovadora 2020. Res. 401/2019. Directora: Nepote V.
- 2018-2021. Extractos polifenólicos de subproductos de la industria aceitera y otros compuestos naturales como conservantes de las propiedades químicas, microbiológicas y sensoriales de alimentos. SECYT-UNC. Consolidar 2. Res. 411/18, 99/19. Directora: Nepote V. Co-directora: Ryan L.
- 2018-2020. Desarrollo de nanoencapsulados con compuestos bio-activos de origen vegetal con actividad antioxidante y antimicrobiana para su incorporación en alimentos. PICT2017, FONCYT. Código: PICT-2017-2134. Director: NR Grosso.
- 2018-2019. Utilización de subproductos de la producción e industrialización del maní para la conservación de las propiedades químicas, microbiológicas y sensoriales de alimentos. SECYT-UNC. Programa. Director: Grosso NR. Co-Directora: Nepote V.
- 2018-2019. Desarrollo de micro y nano encapsulados y emulsiones de compuestos bio-activos de origen natural como conservantes de alimentos y con el agregado de suplementos nutricionales (omega 3: EPA y DHA). PRIMAR-SECYT-UNC. Código: 32520170100036CB. Res. 152/18. Director: NR Grosso. Co-directora: Nepote V.
- 2016-2017. Utilización de productos naturales para el control de microorganismos y como antioxidantes en productos agroalimentarios. Programa SECYT-UNC. Res. 313/16 y 113/17. Directora: Nepote V.
- 2016-2017. Evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de polifenoles del tegumento de maní y otros compuestos naturales como conservante de alimentos. SECYT-UNC. Res. 313/16 y 113/17. Cat. A. Directora: Nepote V.

### **Futuras líneas de investigación:**

A partir de los resultados obtenidos en esta tesis se observó un importante potencial de los extractos polifenólicos provenientes de subproductos de la industria del maní para

diversas aplicaciones, principalmente orientadas a incrementar la calidad nutricional y la vida útil de alimentos cárnicos. Así surgieron nuevas líneas de investigación relacionadas al estudio y aplicaciones de compuestos polifenólicos provenientes no solo del tegumento de maní, sino también de otros tegumentos como el de soja y de garbanzo. En líneas más recientes, también se está trabajando en el desarrollo de micro y nano-encapsulados de estos compuestos bioactivos, y su aplicación en películas y coberturas comestibles para optimizar la conservación de alimentos sin afectar negativamente sus características sensoriales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aaby, K., S. Mazur, A. Nes, and G. Skrede. 2012. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry* 132 (1): 86–97.
- Ackermann, B. 2014. Outlook del Cluster Manisero Argentino. En: [fundacionmani.org.ar/descargas/El-sector-manisero.pdf](http://fundacionmani.org.ar/descargas/El-sector-manisero.pdf). Consultado: 06/05/14.
- Agregán, R., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Dominguez, R., Carballo, J. & Franco, D. (2017). Assessment of the antioxidant activity of *Bifurcaria bifurcata* aqueous extract on canola oil. Effect of extract concentration on the oxidation stability and volatile compound generation during oil storage. *Food Research International*, 99, 1095–1102. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.029>
- Ahmad, S. R., Gokulakrishnan, P., Giriprasad, R. & Yattoo, M. A. (2015). Fruit-based Natural Antioxidants in Meat and Meat Products: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(11), 1503–1513. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.701674>
- Alasalvar, C. & Bolling, B. W. (2015). Review of nut phytochemicals, fat-soluble bioactives, antioxidant components and health effects. In *British Journal of Nutrition* (Vol. 113, Issue S2, pp. S68–S78). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/S0007114514003729>
- Álvarez, D., Delles, R. M., Xiong, Y. L., Castillo, M., Payne, F. A. & Laencina, J. (2011). Influence of canola-olive oils, rice bran and walnut on functionality and emulsion stability of frankfurters. *LWT - Food Science and Technology*, 44(6), 1435–1442.
- Amiot M.J., Tacchini M., Aubert S., Nicolas J. 1992. Phenolic composition and browning susceptibility various apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science*. 57: 958–962. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.006>
- Anastasiadi, M., Pratsinis, H., Kletsas, D., Skaltsounis, A. L. & Haroutounian, S. A. (2012). Grape stem extracts: Polyphenolic content and assessment of their in vitro antioxidant

- properties. *LWT - Food Science and Technology*, 48(2), 316–322.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.006>
- ANMAT (2014) *Análisis Microbiológico de los Alimentos. Metodología analítica oficial*  
Recuperado de <https://www.anmat.gov.ar/documentos>.
- Anwar, F., Latif, S. & Ashraf, M. (2006). Analytical characterization of hemp (*Cannabis sativa*) seed oil from different agro-ecological zones of Pakistan. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(4), 323–329. <https://doi.org/10.1007/s11746-006-1207-x>
- AOAC. 2010. Official methods of analysis of the AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.
- Arenas, E. H. & Trinidad, T. P. (2017). Fate of polyphenols in pili (*Canarium ovatum* Engl.) pomace after in vitro simulated digestion. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(1), 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.11.002>
- Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez, M. & Ventanas, J. (2012). *Aditivos* 63 *eurocarne*. 63–73.  
[http://www.eurocarne.com/daal/a1/boletin\\_imagenes/a2/20705.pdf](http://www.eurocarne.com/daal/a1/boletin_imagenes/a2/20705.pdf)
- Arriaza Lozano, A. (2019). *Reformulación de salchichas tipo Frankfurt . Influencia en sus propiedades físico-químicas , organolépticas y aceptabilidad Introducción Salchichas tipo Frankfurt en la dieta. 2002–2018*. <https://doi.org/10.19230/jonnpr.2878>
- Asensio, Claudia M., Grosso, N. R. & Juliani, H. R. (2015). Quality characters, chemical composition and biological activities of oregano (*Origanum* spp.) Essential oils from Central and Southern Argentina. *Industrial Crops and Products*, 63, 203–213.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.056>
- Asensio, Claudia M., Nepote, V. & Grosso, N. R. (2011). Chemical Stability of Extra-Virgin Olive Oil Added with Oregano Essential Oil. *Journal of Food Science*, 76(7).  
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02332.x>
- Asensio, Claudia M., Nepote, V. & Grosso, N. R. (2013). Consumers' acceptance and



- quality stability of olive oil flavoured with essential oils of different oregano species. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(11), 2417–2428. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12233>
- Asensio, Claudia Mariana, Quiroga, P. R., Al-Gburi, A., Huang, Q. & Grosso, N. R. (2020). Rheological Behavior, Antimicrobial and Quorum Sensing Inhibition Study of an Argentinean Oregano Essential Oil Nanoemulsion. *Frontiers in Nutrition*, 7(October), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.569913>
- Asnaashari, M., Tajik, R. & Khodaparast, M.H.H. (2015). Antioxidant activity of raspberry (*Rubus fruticosus*) leaves extract and its effect on oxidative stability of sunflower oil. *J Food Sci Technol* 52, 5180–5187. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1564-7>
- Ayo, J., Carballo, J., Serrano, J., Olmedilla-Alonso, B., Ruiz-Capillas, C. & Jiménez-Colmenero, F. (2007). Effect of total replacement of pork backfat with walnut on the nutritional profile of frankfurters. *Meat Science*, 77(2), 173–181.
- Baldessari, J. 2010. Use of variability sources in INTA's peanut breeding program. V International Legumes Conference. Buenos Aires, Argentina, 8-14/8/2010. Pág. 50. Soporte electrónico. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.02.026>
- Ballard T.S. 2008. Optimizing the Extraction of Phenolic Antioxidant Compounds from Peanut Skins. Tesis Doctoral. Blacksburg, Virginia. Estados Unidos. 156 pp.
- Ballard, T. S., Mallikarjunan, P., Zhou, K. & O'Keefe, S. (2010). Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry*, 120(4), 1185–1192. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.063>
- Bansode, R. R., P. Randolph, S. Hurley, and M. Ahmedna. 2012. Evaluation of hypolipidemic effects of peanut skin-derived polyphenols in rats on Western-diet. *Food Chemistry* 135 (3):1659–66.
- Bansode, R. R., P. Randolph, M. Ahmedna, S. Hurley, T. Hanner, S. A. S. Baxter, T. A. Johnston, M. Su, B. M. Holmes, J. Yu, and L. L. Williams. 2014. Bioavailability of polyphenols from peanut skin extract associated with plasma lipid lowering function. *Food Chemistry* 148 :24–9.

- Barcia, M. T., Pertuzatti, P. B., Gómez-Alonso, S., Godoy, H. T. & Hermosín-Gutiérrez, I. (2014). Phenolic composition of grape and winemaking by-products of Brazilian hybrid cultivars BRS Violeta and BRS Lorena. *Food Chemistry*, 159, 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.163>
- Barrionuevo, M. G., Monje, E., Enrico, M., Ryan, L., Asensio, C. M., Nepote, V. & Grosso, N. R. (2020). Incorporation of polyphenolic peanut skin extracts and oregano essential oil into frankfurter-type sausage: Effects on properties and shelf life. *AgriScientia*, 37(1), 41–51. <https://doi.org/10.31047/1668.298x.v37.n1.25427>
- Belitz, H. D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4th edn). Springer, Berlin.
- Benzo, M. T., Zogbi, A., Zurbriggen, C., Sequeira, G., Dalla Santina, R., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J. A., Lopez-Santoveña, F. & Rosmini, M. R. (2009). Efecto del Picado sobre el Color de Pastas Utilizadas en la Elaboración de Embutidos Crudo-Curados. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 8(1), 37–48. <https://doi.org/10.14409/favecv.v8i1.1478>
- Betz, M., Steiner, B., Schantz, M., Oidtmann, J., Mäder, K., Richling, E. & Kulozik, U. (2012). Antioxidant capacity of bilberry extract microencapsulated in whey protein hydrogels. *Food Research International*, 47(1), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.01.010>
- Bisignano, C., Filocamo, A., Faulks, R. M. & Mandalari, G. (2013). In vitro antimicrobial activity of pistachio (*Pistacia vera* L.) polyphenols. *FEMS Microbiology Letters*, 341(1), 62–67. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12091>
- Blengino, C. 2014. Análisis Foda de las exportaciones de maní. En: [www.alimentosargentinos.gov.ar/](http://www.alimentosargentinos.gov.ar/) contenido/sectores/foda/FODA\_MANI.pdf. Consultado: 06/05/14.
- Bodoira, R., Rossi, Y., Montenegro, M., Maestri, D. & Velez, A. (2017). Extraction of antioxidant polyphenolic compounds from peanut skin using water-ethanol at high pressure and temperature conditions. *Journal of Supercritical Fluids*, 128(May), 57–

65. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.05.011>

- Bolton, G.E. and T.H. Sanders. 2002. Effect of Roasting Oil Composition on the Stability of Roasted High-Oleic Peanuts. *JAOCS* 79(1): 129–132.
- Braddock, J.C.; Sims, C.A. and S.F. O’Keefe. 1995. Flavor and oxidative stability of roasted high-oleic acid peanuts. *J. Food Sci.* 60(3): 489–493.
- Braugher, J. M., Duncan, L. A. & Chase, R. L. (1995). The involvement of iron in lipid peroxidation. Importance of ferric to ferrous ratios in initiation. *Journal of Biological Chemistry*, 261(22), 10282–10289. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)67521-0](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)67521-0)
- Bursal, E. & Köksal, E. (2011). Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). *Food Research International*, 44(7), 2217–2221. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.001>
- Busatta, C., Mossi, A. J., Rodrigues, M. R. A., Cansian, R. L. & De Oliveira, J. V. (2007). Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(4), 610–616. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000400006>
- CAA. 2014. Capítulo XVIII, Aditivos alimentarios. Código Alimentario Argentino. ANMAT, Ministerio de Salud, Argentina. Publicado en internet, disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\\_alimentos\\_caa.asp](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp)
- Código Alimentario Argentino (CAA). (2019). *Capítulo VI: Artículos 247 al 519 - Alimentos Cárneos y Afines*. Argentina: ANMAT, Ministerio de Salud. Retrieved from: <https://www.argentina.gob.ar/anmat/codigoalimentario>
- Čanadanović-Brunet, J., Tumbas Šaponjac, V., Stajčić, S., Četković, G., Čanadanović, V., Čebović, T. & Vulić, J. (2019). Polyphenolic composition, antiradical and hepatoprotective activities of bilberry and blackberry pomace extracts. *Journal of Berry Research*, 9(2), 349–362. <https://doi.org/10.3233/JBR-180362>
- Cárdenas Baquero, G. D., Arrazola Paternina, G. & Villalba Cadavid, M. (2016). Frutas tropicales: fuente de compuestos bioactivos naturales en la industria de alimentos.

*Ingenium Revista de La Facultad de Ingeniería*, 17(33), 29.  
<https://doi.org/10.21500/01247492.2152>

Carocho, M. & Ferreira, I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51(1), 15–25.  
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>

Carrillo Bernal, A. L. & Tobito Herrera, I. S. (2019). Desarrollo y elaboración de una salchicha tipo frankfurt para la empresa san marcos carnes y embutidos. *Universidad de La Salle*, 70. <https://ciencia.lasalle.edu.co/zootecnia/361%0AThis>

Castromonte, M., Wacyk, J. & Valenzuela, C. (2020). Encapsulation of antioxidant extracts from agroindustrial by-products: A review. *Revista Chilena de Nutricion*, 47(5), 836–847. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182020000500836>

Chalé, F. H., Ancona, D. B. & Campos, M. R. S. (2014). Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad; péptidos biológicamente activos. *Nutricion Hospitalaria*, 29(1), 10–20.  
<https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.1.6990>

Chang, J. Ch., Lai Y., Djoko, B., Wu, P., Liu, C., Liu, Y., Chiou, Y. (2006) Biosynthesis Enhancement and Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Arachidin-1, Arachidin-3, and Isopentadienylresveratrol. *Journal Agricultural Food Chemistry* 54, 10281-10287. <https://doi.org/10.1021/jf0620766>

Charles D.J. 2013. Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Springe. New York - Estados Unidos. 589 pp.

Chaves-López, C., Martín-Sánchez, M., Fuentes-Zaragoza, E., Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas, E. & Pérez Alvarez, J. A. (2012). Role of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil as a surface fungus inhibitor on fermented sausages: Evaluation of its effect on microbial and physicochemical characteristics. *Journal of Food Protection*, 75(1), 104–111. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-184>

- Cheng, J.-C., L.-S. Kan, J.-T. Chen, L.-G. Chen, H.-C. Lu, S.-M. Lin, S.-H. Wang, K.-H. Yang, and R. Y.-Y. Chiou. 2009. Detection of cyanidin in different-colored peanut testae and identification of peanut cyanidin 3-sambubioside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (19):8805–11.
- Chen, H. J., Inbaraj, B. S. & Chen, B. H. (2012). Determination of phenolic acids and flavonoids in *Taraxacum formosanum* kitam by liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with a post-column derivatization technique. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(1), 260–285. <https://doi.org/10.3390/ijms13010260>
- Chen, L., Yan, F., Chen, W., Zhao, L., Zhang, J., Lu, Q. & Liu, R. (2018). Procyanidin from peanut skin induces antiproliferative effect in human prostate carcinoma cells DU145. *Chemico-Biological Interactions*, 288(December 2017), 12–23. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.04.008>
- Chinprahast, N., Tungsomboon, T. & Nagao, P. (2016). Antioxidant activities of Thai pigmented rice cultivars and application in sunflower oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(1), 46–53. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12952>
- Choe, J. H., Kim, H. Y., Lee, J. M., Kim, Y. J. & Kim, C. J. (2013). Quality of frankfurter-type sausages with added pig skin and wheat fiber mixture as fat replacers. *Meat Science*, 93(4), 849–854. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.054>
- Chukwumah, Y., L. T. Walker, and M. Verghese. 2009. Peanut skin color: A biomarker for total polyphenolic content and antioxidative capacities of peanut cultivars. *International Journal of Molecular Sciences* 10 (11):4941–52.
- Cierach, M., Modzelewska-Kapituła, M. & Szaciło, K. (2009). The influence of carrageenan on the properties of low-fat frankfurters. *Meat Science*, 82(3), 295–299. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.01.025>
- Cittadini, M. C., Martín, D., Gallo, S., Fuente, G., Bodoira, R., Martínez, M. & Maestri, D. (2020). Evaluation of hazelnut and walnut oil chemical traits from conventional cultivars and native genetic resources in a non-traditional crop environment from Argentina. *European Food Research and Technology*, 246(4), 833–843.

<https://doi.org/10.1007/s00217-020-03453-8>

Collins, J. L., and A. R. Post. 1981. Peanut hull flour as a potential source of dietary fiber. *Journal of Food Science* 46 (2):445–8.

Consejo Oleícola Internacional (COI) (2019). *Method of analysis: Spectrophotometric investigation in the ultraviolet Document COI/T 20/Doc n° 19/Rev 5*. Madrid: International Olive Oil Council. Retrieved from: <https://www.internationaloliveoil.org/wp-content/uploads/2019/11/Method-COI-T.20-Doc.-No-19-Rev.-5-2019-2.pdf>

Constanza, K. E., B. L. White, J. P. Davis, T. H. Sanders, and L. L. Dean. 2012. Value-added processing of peanut skins: antioxidant capacity, total phenolics, and procyanidin content of spray-dried extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60 (43): 10776–83.

Coronado H., M., Vega Y León, S., Gutiérrez T., R., Marcela, V. F. & Radilla V., C. (2015). Antioxidants: Present perspective for the human health. *Revista Chilena de Nutricion*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>

Costa de Camargo, A., de Souza Vieira, T. M. F., Regitano-D’Arce, M. A. B., Calori-Domingues, M. A. & Canniatti-Brazaca, S. G. (2012). Gamma radiation effects on peanut skin antioxidants. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3), 3073–3084. <https://doi.org/10.3390/ijms13033073>

Costa de Camargo, A., Regitano-d’Arce, M. A. B., Gallo, C. R. & Shahidi, F. (2015). Gamma-irradiation induced changes in microbiological status, phenolic profile and antioxidant activity of peanut skin. *Journal of Functional Foods*, 12, 129–143. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.034>

Costa de Camargo, A., Regitano-d’Arce, M. A. B., Rasera, G. B., Canniatti-Brazaca, S. G., do Prado-Silva, L., Alvarenga, V. O., Sant’Ana, A. S. & Shahidi, F. (2017a). Phenolic acids and flavonoids of peanut by-products: Antioxidant capacity and antimicrobial effects. *Food Chemistry*, 237, 538–544. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.046>

- Costa de Camargo, A., Regitano-d'Arce, M. A. B. & Shahidi, F. (2017b). Phenolic Profile of Peanut By-products: Antioxidant Potential and Inhibition of Alpha-Glucosidase and Lipase Activities. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94(7), 959–971. <https://doi.org/10.1007/s11746-017-2996-9>
- Costa De Camargo, A., Vidal, C. M. M., Canniatti-Brazaca, S. G. & Shahidi, F. (2014). Fortification of cookies with peanut skins: Effects on the composition, polyphenols, antioxidant properties, and sensory quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(46), 11228–11235. <https://doi.org/10.1021/jf503625p>
- Côté J., Caillet S., Doyon G., Dussault D., Sylvain J.-F., Lacroix M. 2011. Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts. *Food Control*. 22: 1413–1418.
- D'Angelo G, Ferrari B, Calzada J. 2021. Informativo semanal. Un nuevo unicornio: el maní argentino. 03/09/2021. Bolsa de Comercio de Rosario, Santa Fe, Argentina. <https://www.bcr.com.ar/es/print/pdf/node/87901>, consultado: 09/04/2022.
- De Corato, U., De Bari, I., Viola, E. & Pugliese, M. (2018). Assessing the main opportunities of integrated biorefining from agro-bioenergy co/by-products and agroindustrial residues into high-value added products associated to some emerging markets: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 88(February), 326–346. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.02.041>
- Dean, L. L., C. M. Klevorn, and B. J. Hess. 2016. Minimizing the negative flavor attributes and evaluating consumer acceptance of chocolate fortified with peanut skin extracts. *Journal of Food Science* 81 (11):S2824–S2830. doi: 10.1111/1750-3841.13533.
- Deda, M. S., Bloukas, J. G. & Fista, G. A. (2007). Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Science*, 76(3), 501–508. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.004>
- Delgado-Ospina, J., Martuscelli, M., Grande-Tovar, C. D., Lucas-González, R., Molina-Hernandez, J. B., Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., Pérez-álvarez, J. Á. & Chaves-López, C. (2021). Cacao pod husk flour as an ingredient for reformulating frankfurters: Effects on quality properties. *Foods*, 10(6).

<https://doi.org/10.3390/foods10061243>

- Delgado Adámez, J., Gamero Samino, E., Valdés Sánchez, E. & González-Gómez, D. (2012). In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Control*, 24(1–2), 136–141. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.09.016>
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M. and C.W. R. 2013. InfoStat, versión 2013. Grupo InfoStat. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2017). InfoStat versión 2018. Córdoba, Argentina: Grupo Info-Stat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
- Driss, F. 1990. Rôle des lipides dans l'alimentation: le cas de l'huile de palme. *Oléagineux*, 45(8-9): 379-385.
- do Valle Calomeni, A., de Souza, V. B., Tulini, F. L., Thomazini, M., Ostroschi, L. C., de Alencar, S. M., Massarioli, A. P., de Carvalho Balieiro, J. C., de Carvalho, R. A. & Favaro-Trindade, C. S. (2017). Characterization of antioxidant and antimicrobial properties of spray-dried extracts from peanut skins. *Food and Bioproducts Processing*, 105, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.08.001>
- Dudek, M. K., Gliński, V. B., Davey, M. H., Sliva, D., Kaźmierski, S. & Gliński, J. A. (2017). Trimeric and Tetrameric A-Type Procyanidins from Peanut Skins. *Journal of Natural Products*, 80(2), 415–426. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00946>
- Dwivedi, S.L.; S.N. Nigam; R. Jambunathan; K.L. Sahrwat; G.V.S. Nagabhushanam y K. Raghunath. 1993. Effect of genotypes and environments on oil content and oil quality parameters and their correlation in peanut (*Arachis hypogaea* L). *Peanut Sci.*,20: 84-89.
- Dzinic, N., Ivic, M., Branislav, S., Jokanovic, M., Tomovic, V., Okanovic, D. & Raljic, J. P. (2015). Some Quality Parameters of Dry Fermented Sausages (Čajna kobasica). *Procedia Food Science*, 5, 77–80. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.019>



- Eyiler, E. & Oztan, A. (2011). Production of frankfurters with tomato powder as a natural additive. *LWT - Food Science and Technology*, 44(1), 307–311. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.07.004>
- Falowo, A. B., Fayemi, P. O. & Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.022>
- Fasseas, M. K., Mountzouris, K. C., Tarantilis, P. A., Polissiou, M. & Zervas, G. (2008). Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chemistry*, 106(3), 1188–1194. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.060>
- FDA, United States (2017). *Bacteriological Analytical Manual*. Retrieved from: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm>
- Feiner, G. (2006). Predictive microbiology for meat products. *Meat Products Handbook*, 616–628. <https://doi.org/10.1533/9781845691721.3.616>
- Feng, X., Sebranek, J. G., Lee, H. Y. & Ahn, D. U. (2016). Effects of adding red wine on the physicochemical properties and sensory characteristics of uncured frankfurter-type sausage. *Meat Science*, 121, 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.027>
- Fennema O.R. 2008. Food Chemistry, 3rd. Fennema, O. R. (ed.). Marcel Dekker, Inc., New York, 1069 pp.
- Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S. & de Melo, M. P. (2016). Effects of oregano extract on oxidative, microbiological and sensory stability of sheep burgers packed in modified atmosphere. *Food Control*, 63, 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.027>
- Fernandez, E.M.; G.A. Cerioni; O. Giayetto; C. Silva; E. Bonadeo e I. Moreno. 2001. Calcium and drought stress on seed quality: Germination and fatty acid. New Milenium International Groundnut Workshop. Quindao – China, 04-07/09/01, p. 101.
- Fernandez EM, Giayetto O. 2017. El cultivo del maní en Córdoba. 2 Edición. Universidad Nacional de Rio Cuarto. Córdoba. Argentina.

- Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Pugine, S. M. P., Lima, C. G., Lorenzo, J. M. & de Melo, M. P. (2017). Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract. *Food Chemistry*, 233, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.100>
- Francisco, M. L. d. L. & Resurreccion, A. V. A. (2009). Development of a reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) procedure for the simultaneous determination of phenolic compounds in peanut skin extracts. *Food Chemistry*.
- Francisco, M. L., and A. V. Resurreccion. 2012. Antioxidant capacity and sensory profiles of peanut skin infusions. *Lebensmittel- Wissenschaft & Technologie* 47 (1):189–98.
- Gao, T., Bi, H. & Lu, J. (2010). Structure elucidation and antioxidant activity of a novel  $\alpha$ -(1→3),(1→4)-D-glucan from *Aconitum kusnezoffii* Reichb . *International journal of biological macromolecules*, 46, 85–90117(2), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.110>
- George, S. M., Park, Y., Leitzmann, M. F., Freedman, N. D., Dowling, E. C., Reedy, J., Schatzkin, A., Hollenbeck, A. & Subar, A. F. (2009). Fruit and vegetable intake and risk of cancer: A prospective cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89(1), 347–353. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26722>
- Gómez, M. A. (2013). Elaboración de productos cárnicos. Obtenido de <http://productoscarnicosantonia.blogspot.com/2013/03/elaboracion-de-productos-carnicos.html>
- Gould, G. W. 1996. Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *Journal of Food Protection* 59 (13):82–6.
- Grajales Herrera, A. M. & Huertas, Zipasuca, Katherine, I. (2011). *Ciencia Unisalle Evaluación física , química y sensorial de salchichas tipo Frankfurt sustituyendo parcialmente almidón de papa ( Solanum tuberosum ) como extendedor por harina de arracacha ( Arracacha xanthorrhiza )*.
- Grasso, S., Pintado, T., Pérez-Jiménez, J., Ruiz-Capillas, C. & Herrero, A. M. (2020). Potential of a sunflower seed by-product as animal fat replacer in healthier frankfurters.

*Foods*, 9(4), 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods9040445>

- Grosso, N.R.; A. Lamarque; D.M. Maestri; J.A. Zygadlo y C.A. Guzmán. 1994a. Fatty acid variation of runner peanut (*Arachis hypogaea* L.) among geographic localities from Córdoba (Argentina). *JOACS*,71(5): 541-542.
- Grosso, A. L., Asensio, C. M., Grosso, N. R. & Nepote, V. (2017). Sensory Quality Preservation of Coated Walnuts. *Journal of Food Science*, 82(1), 185–193. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13570>
- Grosso, A. L., Asensio, C. M., Nepote, V. & Grosso, N. R. (2018). Antioxidant Activity Displayed by Phenolic Compounds Obtained from Walnut Oil Cake used for Walnut Oil Preservation. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 95(11), 1409–1419. <https://doi.org/10.1002/aocs.12145>
- Grosso, A. L., Riveros, C., Asensio, C. M., Grosso, N. R. & Nepote, V. (2020). Improving walnuts' preservation by using walnut phenolic extracts as natural antioxidants through a walnut protein-based edible coating. *Journal of Food Science*, 85(10), 3043–3051. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15395>
- Gu, L., M. A. Kelm, J. F. Hammerstone, G. Beecher, J. Holden, D. Haytowitz, S. Gebhardt, and R. L. Prior. 2004. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *The Journal of Nutrition* 134 (3):613–7.
- Hathorn, C. S., and T. H. Sanders. 2012. Flavor and antioxidant capacity of peanut paste and peanut butter supplemented with peanut skins. *Journal of Food Science* 77 (11):S407–S11. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02953.x.
- Hill, G. M., P. R. Utley, and G. L. Newton. 1986. Digestibility and utilization of ammonia-treated and urea-supplemented peanut skin diets fed to cattle. *Journal of Animal Science* 63 (3):705–14.
- Herrmann, S. S., Granby, K. & Duedahl-Olesen, L. (2015). Formation and mitigation of N-nitrosamines in nitrite preserved cooked sausages. *Food Chemistry*, 174, 516–526. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.101>

- Holman, R.T.; S.B. Johnson y T.F. Hatch. 1993. A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 36: 617-623.
- Horita, C. N., Farías-Campomanes, A. M., Barbosa, T. S., Esmerino, E. A., da Cruz, A. G., Bolini, H. M. A., Meireles, M. A. A. & Pollonio, M. A. R. (2016). The antimicrobial, antioxidant and sensory properties of garlic and its derivatives in Brazilian low-sodium frankfurters along shelf-life. *Food Research International*, 84, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.02.006>
- Hollmann F., Arends I.W.C.E., Buehler K., Schallmeyer A., Bühler B. 2011. Enzyme-mediated oxidations for the chemist. *Green Chemistry*. 13: 226-265.
- Huang, S. C., G. C. Yen, L. W. Chang, W. J. Yen, and P. D. Duh. 2003. Identification of an antioxidant, ethyl protocatechuate, in peanut seed testa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (8): 2380–3.
- International Organization for Standardization (ISO). (1987). *General guidance for enumeration of yeasts and moulds, Colony count technique at 25°C (Method 7954)*. Retrieved from: <https://www.iso.org/standard/14931.html>
- Isanga, J., and G. N. Zhang. 2007. Biologically active components and nutraceuticals in peanuts and related products. *Food Reviews International* 23 (2):123–40.
- Isaza Maya, C., Lorena, Y., Molina, R., Alonso, D., Vargas, L. & Humberto, J. (2012). *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 65(1), 6541–6552. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179924340024>
- Isaza Maya, Y. L., Restrepo Molina, D. A. & López Vargas, J. H. (2013). Artículo Original Oxidación lipídica y antioxidantes. *Journal of Engineering and Technology*, 2, 50–66.
- Isleib, T.G.; Holbrook, C.C. and D.W. Gorbet. 2001. Use of Plant Introductions in Peanut Cultivar Development. *Peanut Sci.* 28(2): 96-113.)
- Jawad, M., Schoop, R., Suter, A., Klein, P. & Eccles, R. (2013). *Perfil de eficacia y seguridad de Echinacea purpurea en la prevención de episodios de resfriado común:*

*Estudio clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. 13(2), 125–135.*  
<https://doi.org/10.1002/jsfa>

Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Pintado, T. & Solas, M. T. (2010). Technological and sensory characteristics of reduced/low-fat, low-salt frankfurters as affected by the addition of konjac and seaweed. *Meat Science*, 84(3), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.09.002>

Kang, Z. L., Wang, T. teng, Li, Y. ping, Li, K. & Ma, H. jun. (2020). Effect of sodium alginate on physical-chemical, protein conformation and sensory of low-fat frankfurters. *Meat Science*, 162(December 2019).  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.108043>

Keller ME. 2009. Maní. Cadenas alimentarias. Dirección de Industria Alimentaria y Agroindustrias [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/html/46/46\\_08\\_Maní.htm](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/html/46/46_08_Maní.htm), consultado: 09/04/2022

Knauft, D.A.; Norden, A.J. and D.W. Gorbet. 1987. Peanut. En: Fehr, W.W. (ed.). Principles of cultivar development. Tomo 2, Cap. 10. McMillan Publishing Company. EE.UU. Pág. 346-384.

Knauf, D.A.; K.M. Moore y D.W. Gorbet. 1993. Further studies on inheritance of fatty acid composition in peanut. *Peanut Sci.*, 20: 70-76.

Kuang, Q., Y. Yu, R. Attree, and B. Xu. 2017. A comparative study on anthocyanin, saponin, and oil profiles of black and red seed coat peanut (*Arachis hypogaea*) grown in China. *International Journal of Food Properties* 20(Suppl 1):S131–S40.  
<https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1291676>

Larrauri, M. (2016). *Estudio De La Actividad Antioxidante Y Antimicrobiana De Polifenoles Obtenidos Del Tegumento De Maní*. Disertación doctoral no publicada. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Larrauri, Mariana, Barrionuevo, M. G., Riveros, C., Mestrallet, M. G., Zunino, M. P., Zygadlo, J. A., Grosso, N. R. & Nepote, V. (2013). Effect of peanut skin extract on chemical stability and sensory properties of salami during storage. *Journal of the*

- Science of Food and Agriculture*, 93(7), 1751–1757. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5965>
- Larrauri, Mariana, Demaría, M. G., Ryan, L. C., Asensio, C. M., Grosso, N. R. & Nepote, V. (2016). Chemical and Sensory Quality Preservation in Coated Almonds with the Addition of Antioxidants. *Journal of Food Science*, 81(1), S208–S215. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13164>
- Larrauri, Mariana, Zunino, M. P., Zygodlo, J. A., Grosso, N. R. & Nepote, V. (2016). Chemical characterization and antioxidant properties of fractions separated from extract of peanut skin derived from different industrial processes. *Industrial Crops and Products*, 94, 964–971. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.066>
- Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food Principles and Practices*, 2nd ed. (D. R. (ed. ). Heldman (ed.); Springer S).
- Lawless H.T. and Heymann H. 2010. Sensory Evaluation of Food Principles and Practices, 2nd ed. Heldman, D. R. (ed.). Springer Science & Business Media., 587 pp.
- Lawless L.J.R. and Civille G. V. 2013. Developing Lexicons: A review. *Journal of Sensory Studies* 28: 270–281.
- Levy, J., R. R. Boyer, A. P. Neilson, S. F. O’Keefe, H. S. S. Chu, R. C. Williams, M. R. Dorenkott, and K. M. Goodrich. 2017. Evaluation of peanut skin and grape seed extracts to inhibit growth of foodborne pathogens. *Food Science & Nutrition* 5 (6):1130–8. doi: 10.1002/fsn3.503.
- Lewis, W. E., G. K. Harris, T. H. Sanders, B. L. White, and L. L. Dean. 2013. Antioxidant and anti-inflammatory effects of peanut skin extracts. *Food and Nutrition Sciences* 04 (08):22–32.
- Lingua, M. S., Fabani, M. P., Wunderlin, D. A. & Baroni, M. V. (2016). From grape to wine: Changes in phenolic composition and its influence on antioxidant activity. *Food Chemistry*, 208, 228–238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.009>
- Lingua, M. S., Theumer, M. G., Kruzynski, P., Wunderlin, D. A. & Baroni, M. V. (2019). Bioaccessibility of polyphenols and antioxidant properties of the white grape by

- simulated digestion and Caco-2 cell assays: Comparative study with its winemaking product. *Food Research International*, 122(January), 496–505. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.05.022>
- López, Y.; O.D. Smith; S.A. Senseman y W.L. Rooney. 2001. Genetic factors influencing height oleic acid content in Spanish market-type peanut cultivars. *Crop Sci.* 41: 51-56.
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Sant'Ana, A. S., Carvalho, R. B., Barba, F. J., Toldrá, F., Mora, L. & Trindade, M. A. (2018). Main characteristics of peanut skin and its role for the preservation of meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 77(July 2017), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.007>
- Lou, H., H. Yuan, B. Ma, D. Ren, M. Ji, and S. Oka. 2004. Polyphenols from peanut skins and their free radical-scavenging effects. *Phytochemistry* 65 (16):2391–9.
- Lou, H., Y. Yamazaki, T. Sasaki, M. Uchida, H. Tanaka, and S. Oka. 1999. A-type proanthocyanidins from peanut skin. *Phytochemistry* 51 (2):297–308.
- Lugo, E. B. (2008). Nitritos y Nitratos: Su uso, control y alternativas en embutidos cárnicos. *Nacameh*, 2(2), 160–187. <http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>
- Luximon-Ramma A., Bahorun T., Crozier A., Zbarsky V., Datla K.P., Dexter D.T., Aruoma E.I. 2005. Characterization of the antioxidant functions of flavonoids and proanthocyanidins in Mauritian black teas. *Food Research International*. 38: 357–367.
- Ma, Y., Kosińska-Cagnazzo, A., Kerr, W. L., Amarowicz, R., Swanson, R. B. & Pegg, R. B. (2014). Separation and characterization of phenolic compounds from dry-blanched peanut skins by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1356, 64–81. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.06.027>
- Makau, J. N., K. Mohammed, W. M.M.D, and N. Nishida. 2018. Antiviral activity of peanut (*Arachis hypogaea* L.) skin extract against human influenza viruses. *Journal of Medicinal Food* 21(8): 777–84. Doi: 10.1089/jmf.2017.4121.
- Martin, J. G. P., Porto, E., Corrêa, C. B., Alencar, S. M. De, Gloria, E. M. Da, Ribeiro, I. S.

- & Cabral, L. M. D. A. (2012). Antimicrobial potential and chemical composition of agro-industrial wastes. *Journal of Natural Products*, 5, 27–36.
- Martínez, M. L., Penci, M. C., Ixtaina, V., Ribotta, P. D. & Maestri, D. (2013). Effect of natural and synthetic antioxidants on the oxidative stability of walnut oil under different storage conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 51(1), 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.021>
- Martinez Luque L, Pen C, Durando P, Larrauri M. 2019. Utilización de tegumento de Maní como suplemento alimentario en dietas de vacas lecheras. XXXIV Jornada Nacional de Maní, Gral.Cabrera, Córdoba, Argentina. <https://inta.gob.ar/documentos/utilizacion-de-tegumento-de-mani-como-suplemento-alimentario-en-dietas-de-vacas-lecheras>
- Matovelle, D. (2016). Optimización del uso de la harina de quinua (*Chenopodium quinoa*) como sustituyente parcial de proteína en la elaboración del chorizo ahumado. Dirección: <http://dspace.uca.edu.ec/bitstream/123456789/23733/1/Tesis.pdf>. Actualización.
- Meilgaard, M., Civille, G. & Car, T. (2006). *Sensory Evaluation Techniques* (P. CRC (ed.); Boca Raton).
- Méndez-Zamora, G., García-Macías, J. A., Santellano-Estrada, E., Chávez-Martínez, A., Durán-Meléndez, L. A., Silva-Vázquez, R. & Quintero-Ramos, A. (2015). Fat reduction in the formulation of frankfurter sausages using inulin and pectin. *Food Science and Technology*, 35(1), 25–31. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6417>
- Meng, W., Shi, J., Zhang, X., Lian, H., Wang, Q. & Peng, Y. (2020). Effects of peanut shell and skin extracts on the antioxidant ability, physical and structure properties of starch-chitosan active packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 137–146. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.235>
- Mexis, S. F., Badeka, A. V. & Kontominas, M. G. (2009). Quality evaluation of raw ground almond kernels (*Prunus dulcis*): effect of active and modified atmosphere packaging, container oxygen barrier and storage conditions. *Innovat Food Sci Emerg Technol*, 10, 580–589.



- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(December 2003), 211–219. <https://doi.org/10.1287/isre.6.2.144>
- Montañez Quiroga, C. & Perez, I. (2007). ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DE UNA SALCHICHA TIPO FRANKFURT CON SUSTITUCIÓN DE HARINA DE TRIGO POR HARINA de QUINUA DESAPONIFICADA (*Chenopodium Quinoa*, Wild) CATALINA. *Ingeniería de Alimentos*, 149.
- Mozingo, R.W.; O’Keefe, S.F.; Sanders, T.H. and K.W. Hendrix. 2004. Improving shelf life of roasted and salted inshell peanuts using high oleic fatty acid chemistry. *Peanut Sci.* 31(1): 40-45.
- Müller, S., y Ardoíno, M. (3 de Noviembre de 2018). Procesamiento de carnes y embutidos. Elaboración, estandarización, control de calidad. Obtenido de [http://www.pasqualinonet.com.ar/PDF/carnes\\_all.pdf](http://www.pasqualinonet.com.ar/PDF/carnes_all.pdf)
- Munekata, P. E. S., Paseto Fernandes, R. de P., de Melo, M. P., Trindade, M. A. & Lorenzo, J. M. (2016). Influence of peanut skin extract on shelf-life of sheep patties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(7), 586–596. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.05.002>
- Muñoz-Arrieta, R., Esquivel-Alvarado, D., Alfaro-Viquez, E., Alvarez-Valverde, V., Krueger, C. G. & Reed, J. D. (2021). Nutritional and bioactive composition of Spanish, Valencia, and Virginia type peanut skins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 98(January). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103816>
- Nepote, V., Grosso, N. R. & Guzman, C. A. (2002). *Nepote 2002 Grasas y Aceites Antioxidantes.pdf* (pp. 391–395).
- Nepote V. 2003. Purificación y caracterización de compuestos antioxidantes del tegumento de maní argentino. Desarrollo del proceso de obtención a nivel laboratorio y piloto. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. 240 pp.
- Nepote V., Grosso N.R., Guzman C. 2004a. Radical scavenging activity of extracts of Argentine peanut skins (*Arachis Hipogaea*) in relation to its trans-resveratrol content.

- The Journal of the Argentine Chemical Society. 92: 41–49.
- Nepote V., Mestrallet M.G., Grosso N.R., 2004b. Natural antioxidant effect from peanut skin in honey-roasted peanuts. *Journal of Food Science*. 69(7): 295–300.
- Nepote V., Grosso N.R., Guzman C. 2005. Optimization of extraction of phenolic antioxidant from peanut skins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85: 33–38.
- Nepote V, Mestrallet MG, Grosso NR. 2006. Oxidative stability in fried-salted peanuts elaborated with high-oleic and regular peanuts from Argentina. *International Journal Food Science and Technology*. 41(8): 900-909.
- Nieto, G., Castillo, M., Xiong, Y. L., Álvarez, D., Payne, F. A. & Garrido, M. D. (2009). Antioxidant and emulsifying properties of alcalase-hydrolyzed potato proteins in meat emulsions with different fat concentrations. *Meat Science*, 83(1), 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.03.005>
- Norden, A.J.; Gorbet, D.W.; Knauff, D.A. and C.T. Young. 1987. Variability in oil quality among peanut genotypes in the Florida breeding program. *Peanut Sci*. 14(1): 7-11.
- Ofuya, Z.M. y V. Akhidue. 2005. The Role of Pulses in Human Nutrition: A Review. *J. Appl. Sci. Environ. Manag.*, 9(3): 99-104.
- O’Keefe, S.; Wiley, V. and D. Knauff. 1993. Comparison of oxidative stability of high- and normal-oleic peanut oils. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 70(5): 489-492.
- Oldoni, T. L. C., Melo, P. S., Massarioli, A. P., Moreno, I. A. M., Bezerra, R. M. N., Rosalen, P. L., Da Silva, G. V. J., Nascimento, A. M. & Alencar, S. M. (2016). Bioassay-guided isolation of proanthocyanidins with antioxidant activity from peanut (*Arachis hypogaea*) skin by combination of chromatography techniques. *Food Chemistry*, 192, 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.004>
- Opinion, S. (2012). Statement on the safety assessment of the exposure to butylated hydroxyanisole E 320 (BHA) by applying a new exposure assessment methodology. *EFSA Journal*, 10(7), 1–16. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2759>

- Pateiro, M., Lorenzo, J. M., Amado, I. R. & Franco, D. (2014). Effect of addition of green tea, chestnut and grape extract on the shelf-life of pig liver pâté. *Food Chemistry*, 147, 386–394. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.153>
- Peng, M., E. Bitsko, and D. Biswas. 2015. Functional properties of peanut fractions on the growth of probiotics and foodborne bacterial pathogens. *Journal of Food Science* 80 (3):M635–41. doi: 10.1111/1750-3841.12785.
- Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L. & Bravo, J. A. (2017). [Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos]. Phenolic Compounds in Food. *Revista Boliviana De Química*, 31, 68–81. <https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf>
- Pinelo, M., Arnous, A. & Meyer, A. S. (2006). Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release. *Trends in Food Science and Technology*, 17(11), 579–590. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.05.003>
- Pintado, T., Muñoz-González, I., Salvador, M., Ruiz-Capillas, C. & Herrero, A. M. (2021). Phenolic compounds in emulsion gel-based delivery systems applied as animal fat replacers in frankfurters: Physico-chemical, structural and microbiological approach. *Food Chemistry*, 340(February 2020), 128095. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128095>
- Pinzón-Zárate, L. X., Hleap-Zapata, J. I. & Ordóñez-Santos, L. E. (2015). Análisis de los parámetros de color en salchichas frankfurt adicionadas con extracto oleoso de residuos de chontaduro (*Bactris Gasipaes*). *Informacion Tecnologica*, 26(5), 45–54. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500007>
- Pizzolitto RP, Dambolena JS, Zunino MP, Larrauri M, Grosso NR, Nepote V, Dalcerob AM, Zygadlo JA. 2013. Activity of natural compounds from peanut skins on *Fusarium verticillioides* growth and fumonisin B1 production. *Industrial Crops and Products* 47: 286– 290.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M. (2017). *Antioxidantes de los alimentos* (E. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge CB1 6 AH (ed.)).

- Ponce-Fernández, N. E., Polloreña-López, G., Rosas-Domínguez, C., López-Peñuelas, V. M. & Osuna-Izaguirre, S. C. (2020). Adición de garbanzos (*Cicer arietinum* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum*) deshidratado en la capacidad antioxidante y vida de anaquel de salchichas tipo Frankfurt. *Agrociencia*, 54(3), 337–351. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v54i3.1910>
- Prakash, B., Kedia, A., Mishra, P. K. & Dubey, N. K. (2015). Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities - Potentials and challenges. *Food Control*, 47, 381–391. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.023>
- Pramparo, M.; M. Martinello; P. Martino; M. Mattea; M. Ibáñez y E. Fernandez. 2001. Composición de ácidos grasos en genotipos de maní. Conferencia Lipidex SudAmérica 2001. 19-21/03/01. Buenos Aires. Libro de Resúmenes. p.31.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4290–4302.
- Quiñones, M., Miguel, M. & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 76–89.
- Quiroga, P. R., Asensio, C. M. & Nepote, V. (2015). Antioxidant effects of the monoterpenes carvacrol, thymol and sabinene hydrate on chemical and sensory stability of roasted sunflower seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(3), 471–479. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6744>
- Quiroga, P. R., Grosso, N. R., Lante, A., Lomolino, G., Zygadlo, J. A. & Nepote, V. (2013). Chemical composition, antioxidant activity and anti-lipase activity of *Origanum vulgare* and *Lippia turbinata* essential oils. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(3), 642–649. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12011>
- Quiroga, P. R., Nepote, V. & Baumgartner, M. T. (2019). Contribution of organic acids to  $\alpha$ -terpinene antioxidant activity. *Food Chemistry*, 277(October 2018), 267–272.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.100>

- Quiroga, P. R., Riveros, C. G., Zygadlo, J. A., Grosso, N. R. & Nepote, V. (2011). Antioxidant activity of essential oil of oregano species from Argentina in relation to their chemical composition. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(12), 2648–2655. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02796.x>
- Ravishankar, D., Rajora, A. K., Greco, F. & Osborn, H. M. I. (2013). Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(12), 2821–2831. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.10.004>
- Reed, K. A. 2009. Identification of phenolic compounds from peanut skin using HPLC-MSn. PhD diss. Blacksburg, VA: Virginia Polytechnic Inst. and State Univ.
- Renaud, S.; M. De Lorgeril; J. Delaye; J. Guidollet; F. Jacquard; N. Mamelle; J.L. Marti; I. Manjaud; P. Salen y O. Toubol. 1995. Cretan Mediterranean diet for prevention of coronary heart diseases. *Am. J. Clin. Nutr.*, 61: 1360s-1367s.
- Renaud, S. C., Guéguen, R., Conard, P., Lanzmann-Petithory, D., Orgogozo, J. M. & Henry, O. (2004). Moderate wine drinkers have lower hypertension-related mortality: A prospective cohort study in French men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(3), 621–625. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.3.621>
- Riveros, C. G., Mestrallet, M. G., Gayol, M. F., Quiroga, P. R., Nepote, V. & Grosso, N. R. (2010). Effect of storage on chemical and sensory profiles of peanut pastes prepared with high-oleic and normal peanuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2694–2699. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4142>
- Rodriguez, R. (2012). Fundamentos para la producción de derivados cárnicos. Editorial Univ. Lasalle
- Rodriguez-Garcia, I., Silva-Espinoza, B. A., Ortega-Ramirez, L. A., Leyva, J. M., Siddiqui, M. W., Cruz-Valenzuela, M. R., Gonzalez-Aguilar, G. A. & Ayala-Zavala, J. F. (2016). Oregano Essential Oil as an Antimicrobial and Antioxidant Additive in Food Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(10), 1717–1727.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2013.800832>

- Ross, L.F. y C.S. Kvien. 1989. The effect of drought stress on peanut seed composition. I. Soluble carbohydrates, tartaric acid and phenolics. *Oléagineux*, 44(6): 295-301.
- Saito, C., S. Asano, C. Kato, S. Kobayashi, A. Musha, H. Kuribayashi, S. Moriguchi, Y. Seto, T. Kawashima, M. Kobayashi., et al. 2016. Nutritional values and antioxidative activities of whole peanuts and peanut skins for ruminant feeds. *Journal of Animal Science* 87 (1): 54–60. doi: 10.1111/asj.12405.
- Sánchez-Vioque, R., Rodríguez-Conde, M. F., Reina-Ureña, J. V., Escolano-Tercero, M. A., Herraiz-Peñalver, D. & Santana-Méridas, O. (2012). In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.). *Industrial Crops and Products*, 39(1), 149–153. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.02.028>
- Sanders, T.H.; H.E. Pattee; J.R. Vercellotti y K.L. Bett. 1995. Advances in peanut flavour quality. En: Pattee, H.E. y H.T. Stalker. *Advances in peanut science*. APRES. Cap. 16. p: 528-553.
- Santacruz, S., Cárdena, G. & Mero, V. (2020). Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia. *Compuestos Fenólicos y Aceite de Semillas de Naranja y Maracuyá. Revista de La Facultad de Agronomía de La Universidad Del Zulia*, 37: 51-68.
- Sarnoski, P. J., Johnson, J. V., Reed, K. A., Tanko, J. M. & O’Keefe, S. F. (2012). Separation and characterisation of proanthocyanidins in Virginia type peanut skins by LC-MSn. *Food Chemistry*, 131(3), 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.081>
- Shahidi, F. & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>
- Shem-Tov, Y., H. Badani, A. Segev, I. Hedvat, S. H. Galili, and R. Hovav. 2012. Determination of total polyphenol, flavonoid and anthocyanin contents and antioxidant capacities of skins from peanut (*Arachis hypogaea*) lines with different skin colors. *Journal of Food Biochemistry* 36 (3):301–8.

- Shimizu-Ibuka, A., H. Udagawa, K. Kobayashi-Hattori, K. Mura, C. Tokue, T. Takita, and S. Arai. 2009. Hypocholesterolemic effect of peanut skin and its fractions: A case record of rats fed on a highcholesterol diet. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 73 (1): 205–8.
- SISA (Sistema de Información Simplificado Agrícola). 2020. Ministerio de Agricultura, ganadería y pesca Argentina, [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/inase\\_sisa\\_if\\_man19\\_20.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/inase_sisa_if_man19_20.pdf), consultado: 09/04/2022.
- Sobolev, V. S., and R. J. Cole. 1999. Trans-resveratrol content in commercial peanuts and peanut products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47 (4):1435–9.
- Sobolev, V. S., and R. J. Cole. 2004. Note on utilization of peanut seed testa. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84 (1):105–11.
- Solymosi, K., Latruffe, N., Morant-Manceau, A. & Schoefs, B. (2015). Food colour additives of natural origin. In *Colour Additives for Foods and Beverages*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-011-8.00001-5>
- Su, L., Yin, J. J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J. & Yu, L. (Lucy). (2007). Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry*, 100(3), 990–997. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.058>
- Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L. & Zhang, Y. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 49(10), 2689–2696. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.07.042>
- Tamura, T., N. Inoue, A. Shimizu-Ibuka, M. Tadaishi, T. Takita, S. Arai, and K. Mura. 2012. Serum cholesterol reduction by feeding a high cholesterol diet containing a lower-molecular-weight polyphenol fraction from peanut skin. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 76 (4):834–7.
- Tajkarimi, M. M., S. A. Ibrahim, and D. O. Cliver. 2010. Antimicrobial herb and spice

- compounds in food. *Food Control* 21 (9):1199–218.
- Toomer, O. T. 2017. Nutritional chemistry of the peanut (*Arachis hypogaea*). *Crit Rev Food Sci. Nutr.* 29 :1–12. [https://doi: 10.1080/10408398.2017.1339015](https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1339015).
- Toomer, O. T. 2018. A comprehensive review of the value-added uses of peanut (*Arachis hypogaea*) skins and by-products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–10.
- Tsujita, T., T. Shintani, and H. Sato. 2014. Preparation and characterization of peanut seed skin polyphenols. *Food Chemistry* 151 :15–20.
- Valencia Avilés, E., Figueroa, I. I., Sosa Martínez, E., Bartolomé Camacho, M. C., Martínez Flores, H. E. & García Pérez, M. E. (2017). *Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas*. 15–29.
- Valentão, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M. & Bastos, M. L. (2002). Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4989–4993. <https://doi.org/10.1021/jf020225o>
- Valenzuela V., C. & Pérez M., P. (2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárneos. In *Revista Chilena de Nutricion* (Vol. 43, Issue 2, pp. 188–195). Sociedad Chilena de Nutricion Bromatologia y Toxilologica. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000200012>
- Valle Calomeni, A. D., V. B. de Souza, F. L. Tulini, M. Thomazini, L. V. Ostroschi, S. M. de Alencar, A. P. Massarioli, J. C. de Carvalho Balieiro, R. A. de Carvalho, and C. S. Favaro-Trindade. 2017. Characterization of antioxidant and antimicrobial properties of spray-dried extracts from peanut skins. *Food and Bioproducts Processing* 105 :215–23.
- Vandamme, J., Nikiforov, A., Dujardin, K., Leys, C., De Cooman, L. & Van Durme, J. (2015). Critical evaluation of non-thermal plasma as an innovative accelerated lipid oxidation technique in fish oil. *Food Research International*, 72, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.037>



- Vinardell, M. P., Ugartondo, V. & Mitjans, M. (2008). Potential applications of antioxidant lignins from different sources. *Industrial Crops and Products*, 27(2), 220–223. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.07.011>
- Viola, P. y M. Audisio. 1987. El aceite de oliva y la salud. Consejo Oleícola Internacional. Madrid. 36 p.
- Wang, J., Yuan, X., Jin, Z., Tian, Y. & Song, H. (2007). Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chemistry*, 104(1), 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.035>
- West, J. W., G. M. Hill, and P. R. Utley. 1993. Peanut skins as a feed ingredient for lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76 (2): 590–9.
- Worthington, R.E. y R.O. Hammons. 1977. Variability in fatty acid composition among *Arachis* genotypes: a potential source of product improvement. *J.Amer Oil Chemis. Soc.*, 54:105A-108A.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J. & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940–949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>
- Woodroof J. G. 1983. Peanuts, Production, Processing, Products. 3th Edition. Avi Publishing Company, Inc. U.S.A.
- Xia, W. X., P. Zhao, J. B. Wang, Z. J. Li, and N. A. Lee. 2017. Antimicrobial activities of polyphenol extract of peanut skins. *Advances in Biological Sciences Research* 4 :217–22.
- Xiao, J., Muzashvili, T. S. & Georgiev, M. I. (2014). Advances in the biotechnological glycosylation of valuable flavonoids. *Biotechnology Advances*, 32(6), 1145–1156. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.04.006>
- Yadav, D., Yogesh, K. & Aswani, A. (2014). Antioxidant activity of Peanut (*Arachis Hypogaea* L.) Skin Extract: Application in Soybean and Mustard Oil. *International Journal of Food Processing Technology*, 1(2), 26–31. <https://doi.org/10.15379/2408->

- Yamaguchi, F., Saito, M., Ariga, T., Yoshimura, Y. & Nakazawa, H. (2000). Free radical scavenging activity and antiulcer activity of garcinol from *Garcinia indica* fruit rind. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2320–2325. <https://doi.org/10.1021/jf990908c>
- Yang, T., Fang, L., Nopo-Olazabal, C., Condori, J., Nopo-Olazabal, L., Balmaceda, C., Medina-Bolivar, F. (2015). Enhanced Production of Resveratrol, Piceatannol, Arachidin-1, and Arachidin-3 in Hairy Root Cultures of Peanut Co-treated with Methyl Jasmonate and Cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 3942–3950. <https://doi.org/10.1021/jf5050266>
- Yen, W. J., L. W. Chang, and P. D. Duh. 2005. Antioxidant activity of peanut seed testa and its antioxidative component, ethyl protocatechuate. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 38 (3):193–200.
- Yonekura, L., Martins, C. A., Sampaio, G. R., Monteiro, M. P., César, L. A. M. H., Mioto, B. M., Mori, C. S., Mendes, T. M. N., Ribeiro, M. L., Arçari, D. P. & Da Silva Torres, E. A. F. (2016). Bioavailability of catechins from guaraná (: *Paullinia cupana*) and its effect on antioxidant enzymes and other oxidative stress markers in healthy human subjects. *Food and Function*, 7(7), 2970–2978. <https://doi.org/10.1039/c6fo00513f>
- Young, N. D., Sanders, T. H., Drake, M. A., Osborne, J. & Civille, G. V. (2005). Descriptive analysis and US consumer acceptability of peanuts from different origins. *Food Quality and Preference*, 16(1), 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2003.12.006>
- Yu, J., Ahmedna, M. & Goktepe, I. (2005). Effects of processing methods and extraction solvents on concentration and antioxidant activity of peanut skin phenolics. *Food Chemistry*, 90(1–2), 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.048>
- Yu, J., Ahmedna, M. & Goktepe, I. (2010). Potential of peanut skin phenolic extract as antioxidative and antibacterial agent in cooked and raw ground beef. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(7), 1337–1344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02241.x>

- Yu, J., Ahmedna, M., Goktepe, I. & Dai, J. (2006). Peanut skin procyanidins: Composition and antioxidant activities as affected by processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(4), 364–371. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.08.003>
- Yu, M., Liu, H., Shi, A., Liu, L. & Wang, Q. (2016). Preparation of resveratrol-enriched and poor allergic protein peanut sprout from ultrasound treated peanut seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 28, 334–340. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.08.008>
- Yuanyuan, M. (2014). *The phenolics of peanut skins and their impact in peanut butter formulations*. University Athens, Georgia.
- Zeb, A. (2015). Chemistry and liquid chromatography methods for the analyses of primary oxidation products of triacylglycerols. *Free Radical Research*, 49(5), 549–564. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1022540>
- Zhang, H. & Tsao, R. (2016). Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. *Current Opinion in Food Science*, 8, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.02.002>
- Zhao, X., J. Chen, and F. Du. 2012. Potential use of peanut by-products in food processing: a review. *Journal of Food Science and Technology* 49 (5):521–9.