



Programa de Doctorado en
Recursos y Tecnologías
Agrarias, Agroambientales y
Alimentarias

Universidad Miguel
Hernández de Elche



Programa de Doctorado en
Ciencia de Alimentos

Universidad Nacional
Agraria la Molina

- 2025 -

Tesis Doctoral

**CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Tagetes elliptica* Sm.
(CHINCHO) Y SU APLICACIÓN EN LA
INDUSTRIA ALIMENTARIA**

Francis Gladys Cerrón Mercado

Director de la tesis

Dr. D. José Ángel Pérez Álvarez

Codirectora de la tesis

Dra. Dña. Bettit Karim Salvá Ruíz



La presente Tesis Doctoral, titulada “**CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes elliptica* Sm. (CHINCHO) Y SU APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**”, se presenta bajo la modalidad de tesis por compendio de las siguientes publicaciones:

Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil Obtained from Chincho (*Tagetes elliptica* Sm) Leaves Grown in the Peruvian Andes.
<https://doi.org/10.3390/foods12040894>

Effect of Gelled Emulsions Elaborated with Soybean Oil, Maca (*Lepidium meyenii*) Flour, and Chincho (*T. elliptica* Sm.) Essential Oil upon Animal Fat Substitution in Beef Burgers, <https://doi.org/10.3390/foods11152198>



El Dr. D. **José Ángel Pérez Álvarez**, Dr. Ingeniero Agrónomo y Catedrático de Universidad, del Departamento de Tecnología Agroalimentaria de la Universidad Miguel Hernández.

El Dra. Dña. **Bettit Karim Salvá Ruíz**, Dra. Ingeniero en Industrias Alimentarias y Catedrático de Universidad, del Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

INFORMA/N:

Que Dña. **Francis Gladys Cerrón Mercado** ha realizado bajo nuestra supervisión el trabajo titulado “**Caracterización del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm. (chincho) y su aplicación en la Industria Alimentaria**” conforme a los términos y condiciones definidos en su Plan de Investigación y de acuerdo al Código de Buenas Prácticas de la Universidad Miguel Hernández de Elche, cumpliendo los objetivos previstos de forma satisfactoria para su defensa pública como tesis doctoral.

Lo que firmamos a los efectos oportunos,

Director de la tesis

Dr. D. José Ángel Pérez Álvarez

Codirectora de la tesis

Dra. Dña. Bettit Karim Salvá Ruíz

Dra. Dña. Juana Fernández López, Catedrática de Universidad y Coordinadora del Programa de Doctorado en Recursos y Tecnologías Agrarias, Agroambientales y Alimentarias (ReTos-AAA) de la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH).

HAGO CONSTAR:

Que la Tesis Doctoral trabajo titulada “**Caracterización del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm. (chincho) y su aplicación en la Industria Alimentaria**” de la que es autora graduada en Ingeniería y Tecnología de Alimentos, **Dña. Francis Gladys Cerrón Mercado**, ha sido realizado bajo la dirección del **Dr. José Ángel Pérez Álvarez** y la codirección de la **Dra. Bettit Karim Salvá Ruíz**, actuando como tutor de la misma el Dr. Joaquín Julián Pastor, considero que la Tesis es conforme, en cuanto a forma y contenido, a los requerimientos del Programa de Doctorado ReTos-AAA siendo por tanto apta para su exposición y defensa pública.

Y para que conste a los efectos oportunos firmo la presente

Dra. Dña. Juana Fernández López
Coordinadora del Programa de Doctorado (ReTos-AAA)



Esta Tesis Doctoral ha sido realizada dentro del programa de Becas Doctorales entre la Universidad Nacional Agraria la Molina-UNALM otorgada por el proyecto Concytec-Banco Mundial (Convenio de Adjudicación de Fondos **Nº 02-2018-FONDECYT-BM**), a través de su unidad ejecutora, Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (Fondecyt) y el apoyo financiero del proyecto CONCYTEC Banco Mundial a través de su unidad ejecutora FONDECYT (**Contrato Nº 70-2018-Fondecyt-BM-IADT-AV**). Además, la parte experimental en España ha sido gracias al apoyo de la **Cátedra Palmeral d' Elx** (Universidad Miguel Hernández de Elche) y a la financiación por parte del proyecto **Valorización integral de recursos agroalimentarios tradicionales de la Comunitat Valenciana. Desarrollo de nuevos productos de uso agrícola y alimentario a partir del dátil ilicitano (AGROALNEXT/2022/059)**. Ministerio de Ciencia e Innovación, Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia. Financiado por la Unión Europea, Fondos NextGeneration y la Generaliat Valenciana.



Financiado por la
Unión Europea
NextGenerationEU



GOBIERNO
DE ESPAÑA
MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES



Plan de Recuperación,
Transformación y Resiliencia



GVANEXT
Plan Next Generation
a la Comunitat Valenciana

Conselleria d'Educació,
Universitats i Ocupació

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas las personas quienes me apoyaron para culminar mi Tesis Doctoral, en este largo camino lleno de retos y nuevos aprendizajes. Esta investigación es el resultado de un sueño y una meta que se cumplió gracias a mi motivación más grande que es mi familia y a las personas con las que he tenido el placer de conocerlas durante mi formación profesional.

A Dios por cuidarme, por guiar mi camino y darme siempre mucha fuerza y fortaleza.

A la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM) – Programa Doctoral de Ciencia de Alimentos - EPG-UNALM por la Beca de estudios financiada por el proyecto CONCYTEC Banco Mundial “Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología e Innovación Tecnológica” 8682-PE, a través de su unidad ejecutora ProCiencia.

Al convenio específico de Cooperación Interinstitucional Doble doctorado internacional entre la Universidad Nacional Agraria la Molina-UNALM y la Universidad Miguel Hernández de Elche-UMH-España. Por darme la oportunidad de obtener el título de doble doctorado de ambas universidades y cumplir una de mis metas propuestas como profesional.

Agradezco al Proyecto de Investigación Aplicada y Desarrollo Tecnológico 2018- 01 E041-2018-01-BM por el financiamiento de mi tesis y permitirme contribuir con el estudio del aceite esencial de la *Tagetes elliptica* Sm.

Mis más sinceros agradecimientos al Dr. José Ángel Pérez Álvarez por darme la oportunidad de trabajar con su grupo de investigación IPOA (Industrialización de Productos de Origen Animal), en la UMH, que fue la experiencia más gratificante de mi tesis doctoral, por todas sus enseñanzas que me han ayudado en mi formación y a ser una mejor profesional, por sus experiencias compartidas, anécdotas y sus sabios consejos. Por su sabia experiencia como persona e investigador, queda en mi una gran admiración y un ejemplo a seguir. Y por todo su apoyo incondicional en todo momento sin importar el día y la hora.

Mi eterno agradecimiento a mi asesora de tesis Dra. Bettit Salvá Ruíz por su apoyo incondicional en todo momento, sobre todo en mis momentos más difíciles, donde me sentía caer, gracias por su confianza, por sus palabras de fuerza y motivación, por sus enseñanzas, por sus experiencias compartidas y por ser gran ejemplo como mujer y profesional. Quedo muy agradecida por darme la oportunidad de trabajar con



su proyecto de investigación desde un inicio, dándome alternativas de poder lograr en concluir esta tesis doctoral.

Al Dr. Manuel Viuda por todas sus enseñanzas en el laboratorio, por todas sus ideas compartidas, por contribuir en la realización de mi investigación, por esa confianza y alegría durante mi estadía en el IPOA.

A la Dra. Carmen Botella, por su cariño, por su ánimo, por sus enseñanzas compartidas, por todo su apoyo incondicional, por ser una persona de confianza quien me ayudo desde el primer momento en España.

A la Dra. Juana Fernández por todo su apoyo incondicional, por darme las herramientas para mi investigación en el IPOA, por ser ejemplo y una motivación para mí como persona.

A la Dra. Estrella por todo su apoyo y sus consejos durante mi estadía en España.

Quiero dedicar esta tesis a mi querida madre , quien confió en mi desde siempre. Fue la persona quien me motivo y fue con sus palabras de aliento que empezó esta historia. Hoy ya no estas a mi lado mamita linda, pero sé que te hubiera gustado ver este momento. Gracias por todo y como siempre me decías “Querer es Poder”, hoy me haces mucha falta, pero seguiré adelante recordando por siempre todas tus enseñanzas y siendo fuerte y valiente como tú lo eras. Un beso hasta el cielo mi amada madre Mamita Gladis .

Agradezco a mi esposo Percy por su apoyo infinito siempre y por confiar en mí, a mi padre Ernesto, a mis hermanos José Luis y Galax y a todo mis familiares suegros, cuñados, tíos, primos y sobrinos quienes me han apoyado siempre dando mucho cariño a mi hijita Valery en los momentos en que no estaba a su lado.



A mi querida familia

Valery por su comprensión, fuerza y valentía

Leonardo por ser mi luz y mi alegría

Percy por todo tu amor y apoyo incondicional

Los amo ❤️

Un científico en su laboratorio no es solo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas.”

(1867 – 1934)

Marie Curie

4.1.5. ESQUEMA EXPERIMENTAL.....	42
4.1.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	42
4.2. EMULSIONES GELIFICADAS CON ACEITE ESENCIAL DE <i>Tagetes elliptica</i> Sm. CHINCHO EN HAMBURGUESAS SALUDABLES	45
4.2.1. MATERIAS PRIMAS.....	45
4.2.2. PREPARACIÓN DE EMULSIONES GELIFICADAS (EG) DE ACEITE EN AGUA	45
4.2.3. FORMULACIÓN Y PROCESAMIENTO DE HAMBURGUESAS CON EMULSIONES GELIFICADAS (EG)	46
4.2.4. COMPOSICIÓN PROXIMAL	48
4.2.5. PERFIL LIPÍDICO E ÍNDICES DE SALUD	49
4.2.5.1. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS.....	49
4.2.5.2. ÍNDICES DE SALUD	49
4.2.6. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS.....	50
4.2.6.1. PARÁMETROS DE COLOR, pH Y ACTIVIDAD DEL AGUA	50
4.2.7. ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA.....	51
4.2.8. PROPIEDADES TECNOLÓGICAS DURANTE EL COCINADO	51
4.2.9. ESTABILIDAD OXIDATIVA	51
4.2.10. ANÁLISIS SENSORIAL.....	52
4.2.11. ESQUEMA EXPERIMENTAL	52
4.2.12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	52
4.3. ACEITE ESENCIAL DE CHINCHO EN CHOCOLATERÍA.....	54
4.3.1. MATERIAS PRIMAS.....	54
4.3.2. FORMULACIÓN Y PREPARACIÓN DE TRUFAS DE CHOCOLATE.....	54
4.3.3. COMPOSICIÓN PROXIMAL	55
4.3.4. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS.....	55
4.3.4.1. COLOR.....	55
4.3.4.2. pH	55
4.3.4.3. Aw.....	55
4.3.4.4. ESQUEMA EXPERIMENTAL.....	56
4.3.4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	56
5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
5.1. ACEITE ESENCIAL DE <i>Tagetes elliptica</i> Sm. (CHINCHO)	59
5.1.1. EXTRACCIÓN Y RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL DE CHINCHO (I) HOJAS Y (II) MEZCLA DE HOJAS Y TALLOS	59
5.1.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE CHINCHO	60
5.1.2.1. CAPACIDAD DE ELIMINACIÓN DE RADICALES LIBRES DEL DPPH	60

5.1.2.2. ENSAYO DE ELIMINACIÓN DE RADICALES 2, 20-AAZINO-BIS (ÁCIDO 3-ETILBENZTIAZOLINA-6-SULFÓNICO) (ABTS)	62
5.1.2.3. CAPACIDAD QUELANTE DE IONES FERROSOS (FIC)	64
5.1.2.4. PODER ANTIOXIDANTE FÉRRICO REDUCTOR (FRAP)	66
5.1.2.5. ENSAYO RANCIMAT.....	68
5.1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA POR GC-MS DEL ACEITE ESENCIAL DE CHINCHO.....	68
5.1.4. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE <i>Tagetes elliptica</i> Sm.....	70
5.2. INCORPORACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Tagetes elliptica</i> Sm. CHINCHO EN EMULSIONES GELIFICADAS DE HAMBURGUESAS SALUDABLES.....	71
5.2.1. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE HAMBURGUESAS.....	71
5.2.2. PERFIL LIPÍDICO E ÍNDICES DE SALUD.....	75
5.2.2.1. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS.....	75
5.2.2.2. ÍNDICES DE SALUD.....	79
5.2.3. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO.....	81
5.2.4. PERFIL DE TEXTURA Y PROPIEDADES DE COCINADO.....	84
5.2.5. ESTABILIDAD OXIDATIVA.....	88
5.2.6. ANÁLISIS SENSORIAL.....	90
5.3. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LAS TRUFAS DE CHOCOLATE.....	93
5.3.1. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LAS TRUFAS DE CHOCOLATE.....	95
6. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS.....	99
6.1. CONCLUSIONES.....	100
6.2. CONCLUSIONS.....	102
7. BIBLIOGRAFÍA.....	105
8.PUBLICACIONES.....	124

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividad antioxidante del género <i>Tagetes</i> de diferentes especies.....	21
Tabla 2. Principales hierbas aromáticas de otras especies y géneros y la actividad antioxidante del aceite esencial correspondiente.....	22
Tabla 3. Extracto y aceite esencial del género <i>Tagetes</i> y <i>Tagetes elliptica</i> Sm. y su efecto antimicrobiano.....	25
Tabla 4. Emulsiones gelificadas (EG) y su aplicación en alimentos.....	27
Tabla 5. Aplicación de emulsiones gelificadas en diversos productos cárnicos.....	32
Tabla 6. Composición de las emulsiones gelificadas de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho.....	46
Tabla 7. Formulación de hamburguesas de res con y sin emulsiones gelificadas de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho utilizadas como sustitutos parciales de la grasa animal.....	48
Tabla 8. Formulación de trufas de chocolate adicionadas con aceite esencial de chincho (<i>Tagetes elliptica</i> Sm.) y ron de caña.....	55
Tabla 9. Rendimiento de aceite esencial de chincho (<i>Tagetes elliptica</i> Sm.) de (i) hojas y (ii) mezcla de hojas con tallo.....	59
Tabla 10. Composición química del aceite esencial de chincho (<i>Tagetes elliptica</i> Sm.).....	69
Tabla 11. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de chincho (<i>Tagetes elliptica</i> Sm.).....	71
Tabla 12. Efecto de la sustitución parcial del tocino de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho sobre la composición química (%) de hamburguesas de res crudas y cocidas.....	73
Tabla 13. Efecto de la sustitución parcial de tocino de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho sobre el perfil de ácidos grasos de hamburguesas de res cruda.....	77
Tabla 14. Efecto de la sustitución parcial de tocino de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho en el perfil de ácidos grasos de hamburguesas de res cocidas.....	78
Tabla 15. Índices de salud de hamburguesas cocidas de res reformuladas con emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho utilizadas como sustitutos de la grasa dorsal de cerdo.....	81
Tabla 16. Efecto de la sustitución parcial de grasa dorsal de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho sobre los parámetros de color, pH y Aw de hamburguesa de res cruda y cocida.....	84

Tabla 17. Efecto de la sustitución parcial del tocino dorsal de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho sobre las características de cocción de hamburguesas de res.	88
Tabla 18. Efecto de la adición de harina de maca, harina de dátil, aceite esencial de chincho y ron en la composición química (%) de trufas de chocolate.....	95
Tabla 19. Efecto de la adición de nuevos ingredientes (harina de maca, harina de dátil, aceite esencial de chincho y ron) en los parámetros de color, pH y Aw en trufas de chocolate	98



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de partes utilizadas en plantas aromáticas.....	11
Figura 2. Composición química de <i>Tagetes elliptica</i> Sm.....	13
Figura 3. Propiedades de <i>Tagetes elliptica</i> Sm.....	14
Figura 4. Técnicas y equipos de destilación de aceite esencial: (a) Destilador al vapor, b) Hidrodestilación.....	16
Figura 5. Aplicación y uso de aceites esenciales.....	17
Figura 6. Estructuras químicas de los principales componentes de los aceites esenciales derivados de las plantas aromáticas.....	18
Figura 7. Estructura química de los principales compuestos encontrados en plantas aromáticas de la familia Tagetes.....	19
Figura 8. Mecanismos de actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.....	23
Figura 9. Representación gráfica de la emulsión gelificada.....	26
Figura 10. Porcentaje de diferentes estrategias convencionales y nuevas estrategias para sustituir grasas saturadas.....	28
Figura 11. Lugar de recolección de la planta aromática <i>Tagetes elliptica</i> Sm.....	37
Figura 12. Partes de la planta de la extracción del aceite esencial de <i>Tagetes elliptica</i> Sm.....	38
Figura 13. Extracción del aceite esencial de <i>Tagetes elliptica</i> Sm.....	39
Figura 14. Esquema experimental de la ETAPA I – Caracterización del aceite esencial de la <i>Tagetes elliptica</i> Sm.....	44
Figura 15. Formulación de hamburguesas de carne de res.....	47
Figura 16. Esquema experimental de la ETAPA II-Elaboración de hamburguesas de res.....	53
Figura 17. Esquema experimental de la ETAPA III – Formulación y preparación de trufas de chocolate.....	57
Figura 18. Rendimiento de aceite esencial de chincho de hojas y mezcla de hojas con tallo.....	60
Figura 19. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la <i>Tagetes elliptica</i> Sm., (b) controles positivos y (c) CI ₅₀ de toda las muestras medida por el método DPPH.....	62
Figura 20. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la <i>Tagetes elliptica</i> Sm., (b) controles positivos y (c) CI ₅₀ de toda las muestras medida por el método ABTS.....	64
Figura 21. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la <i>Tagetes elliptica</i> Sm. y (b) controles positivos mediante el ensayo FIC.....	65
Figura 22. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la <i>Tagetes elliptica</i> Sm. y (b) controles positivos mediante el ensayo FRAP.....	67
Figura 23. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la <i>Tagetes elliptica</i> Sm. y (b) controles positivos mediante el ensayo RANCIMAT.....	68
Figura 24. Composición química y tiempos de retención de los principales compuestos	

presentes en el aceite esencial de <i>Tagetes elliptica</i> Sm.....	70
Figura 25. Hamburguesas de carne de res crudas y cocidas.....	72
Figura 26. Efecto del perfil de textura-elasticidad en hamburguesas de res con la sustitución parcial de la grasa dorsal de cerdo por una emulsión gelificada (harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho).	85
Figura 27. Efecto de la sustitución parcial de grasa dorsal de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho sobre los parámetros texturales de hamburguesa de res.	86
Figura 28. Efecto de la sustitución parcial de grasa dorsal de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho sobre los valores de TBARs de hamburguesa de res cocida.	90
Figura 29. Resultados de las propiedades sensoriales de las hamburguesas cocidas.	92
Figura 30. Sistema modelo de trufas de chocolate y dátil fresco ilicitano	93



LISTA DE SÍMBOLOS

T	Tagetes
AE	Aceite esencial
AEC	Aceite esencial de chincho
AA	Ácido ascórbico
TCA	Acido tricloroacético (TCA)
Trolox	Ácido 6-hidroxy-2,5,7,8-tetrametillcroman-2-carboxilico
DPPH	2.2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato
PI ₅₀	Porcentaje de inhibición
A	Absorbancia
ABTS	2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenztiazolina-6-sulfónico)
EDTA	Ácido etilendiamino-tetra-acético
FRAP	Poder antioxidante reductor férrico
FIC	Capacidad quelante de iones ferrosos
PI	Periodo de inducción
CI ₅₀	Concentración inhibitoria para una eliminación del 50%
AAI	Índice de actividad antioxidante
DMSO	Dimetilsulfóxido
BHT	Butilhidroxitolueno
EG	Emulsión gelificada
CG-EM	Cromatografía de gases-espectrometría de masas
HM	Harina de maca peruana orgánica
AS	Aceite de soya
TC	Tocino de cerdo
HC	Hamburguesa control
HSM	Hamburguesa aceite de soja y maca
HSMC	Hamburguesa aceite de soja, maca y aceite de chincho
FAME	Ésteres metílicos de ácidos grasos
FID	Detector de ionización de llama

AGS	Ácidos grasos saturados
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
IA	Índice aterogénico
IT	Índice trombogénico
h/H	Hipocolesterolémico/hipercolesterolémico
TBARs	Ácido 2-tiobarbitúrico
MDA	Malonaldehído
CMI	Concentración mínima inhibitoria
NaOH	Hidróxido de sodio
CRA	Capacidad de retención de agua





CAPÍTULO 1

ESTRUCTURA DE LA TESIS

1. ESTRUCTURA DE LA TESIS

Para la realización de la presente Tesis Doctoral se ha seguido una metodología por compendio de publicaciones científicas, que consta de 2 publicaciones (Q1). Por lo tanto, su estructura sigue la Normativa de estudios de doctorado de la Universidad Miguel Hernández de Elche para la presentación de “Tesis por compendio de publicaciones”.

PUBLICACIÓN 1

Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil Obtained from Chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) Leaves Grown in the Peruvian Andes.

Autores	Cerrón-Mercado, F.; Perez-Alvarez, J.A.; Nolazco-Cama, D.; Salva-Ruíz, B.; Tellez-Monzon, L.; Fernández-López, J.; Viuda-Martos, M.
Revista	<i>Foods</i>
DOI	https://doi.org/10.3390/foods12040894
Editorial	MDPI
Fecha de publicación	20 de febrero del 2023
Categoría JCR	Food Science and Technology
Categoría de cuartil	Q1
Rango	64/389
Factor de impacto	4.7

PUBLICACIÓN 2

Effect of Gelled Emulsions Elaborated with Soybean Oil, Maca (*Lepidium meyenii*) Flour, and Chincho (*T. elliptica* Sm.) Essential Oil upon Animal Fat Substitution in Beef Burgers

Autores	Cerrón-Mercado, F.; Botella-Martínez, C.M.; Salvá-Ruíz, B.K.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvarez, J.A.; Viuda-Martos, M.
Revista	Foods
DOI	https://doi.org/10.3390/foods11152198
Editorial	MDPI
Fecha de publicación	24 de Julio del 2022
Categoría JCR	Food Science and Technology
Categoría de cuartil	Q1
Rango	78/359
Factor de impacto	4.6

La estructura de la Tesis Doctoral consta de 8 capítulos:

Capítulo 1. Resumen/Abstract

En este primer capítulo se presenta un resumen donde se detallan objetivos y los resultados más relevantes, tanto en inglés como en castellano de la memoria de la Tesis Doctoral.

Capítulo 2. Introducción

En el capítulo de la introducción se incluye una revisión bibliográfica de las plantas aromáticas y los aceites esenciales y su posible aplicación como aditivos naturales en la industria alimentaria. Se incluye una revisión de la composición química, las propiedades antioxidantes y antibacterianas de los aceites esenciales. También se incluye la incorporación de los aceites esenciales en emulsiones gelificadas para la elaboración de

productos cárnicos más saludables y su aplicación en productos de chocolatería.

Capítulo 3. Objetivos

En el tercer capítulo se describen el objetivo general y los objetivos específicos de la investigación.

Capítulo 4. Materiales y Métodos

En el cuarto capítulo se presenta un resumen de los materiales y métodos utilizados para poder entender los distintos procesos de elaboración que se han llevado a cabo y las determinaciones analíticas practicadas.

Capítulo 5. Resultados y Discusión

En el quinto capítulo se recoge un resumen global de los resultados más relevantes obtenidos en los diferentes estudios realizados. Este capítulo se divide en 3 apartados, el primero sobre la composición química y caracterización del aceite esencial de chincho y el segundo y tercer capítulo sobre la aplicación del aceite esencial en la Industria Alimentaria.

Capítulo 6. Conclusiones

En el sexto capítulo se presentan las conclusiones de todos los estudios que forman parte de la presente memoria de Tesis Doctoral.

Capítulo 7. Referencias

En este capítulo corresponde a toda la bibliografía consultada para la redacción de la Tesis Doctoral.

Capítulo 8. Publicaciones

En el último capítulo de la presente Tesis Doctoral se incluyen las publicaciones que componen la base de la misma.

El primer artículo publicado en la revista *Foods* se estudió la composición química mediante cromatografía de gases (CG-EM), propiedades antioxidantes mediante los ensayos (DPPH y ABTS), el poder antioxidante reductor férrico (FRAP), la actividad quelante del ion ferroso (FIC), la prueba de Rancimat; y la actividad antibacteriana frente a tres cepas como son: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella infantis* del aceite esencial de las hojas de la *Tagetes elliptica* Sm.

1. **Cerrón-Mercado, F.;** Perez-Alvarez, J.A.; Nolzco-Cama, D.; Salva-Ruíz, B.; Tellez-Monzon, L.; Fernández-López, J.; Viuda-Martos, M. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil Obtained from Chincho (*Tagetes elliptica* Sm) Leaves Grown in the Peruvian Andes. *Foods* 2023, 12, 894. <https://doi.org/10.3390/foods12040894>

El segundo artículo publicado en la revista *Foods* se centra en la incorporación del aceite esencial de la *Tagetes elliptica* Sm. con aceite de soja y harina de maca (*Lepidium meyenii*) en una emulsión gelificada para la elaboración de hamburguesas de res más saludables. En este trabajo se analizó el perfil de lípidos, los índices de salud, la composición proximal, las propiedades fisicoquímicas (color CIELAB, pH y perfil de textura), las propiedades de cocinado, la estabilidad oxidativa y el análisis sensorial.

2. **Cerrón-Mercado, F.;** Botella-Martínez, C.M.; Salvá-Ruíz, B.K.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvarez, J.A.; Viuda-Martos, M. Effect of Gelled Emulsions Elaborated with Soybean Oil, Maca (*Lepidium meyenii*) Flour, and Chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) Essential Oil upon Animal Fat Substitution in Beef Burgers. *Foods* 2022, 11, 2198. <https://doi.org/10.3390/foods11152198>



RESUMEN

RESUMEN

El uso de plantas aromáticas hoy en día es muy utilizado debido a su sabor y aroma, además en los últimos años su uso se ha incrementado debido a su actividad antioxidante y antibacteriana, los cuales pueden ser utilizado para la innovación de nuevos alimentos. La presente investigación doctoral tuvo como objetivos: caracterizar e identificar los compuestos en el aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm. (Chincho) y evaluar su incorporación en la innovación de nuevos productos de la industria alimentaria (Hamburguesa y trufas de chocolate). Se determinó que el aceite de las hojas y la mezcla de las hojas con tallo presentaron actividad antioxidante para los ensayos (ABTS, DPPH, FRAP, FIC y RANCIMAT). Se identificaron 27 compuestos en el AEC, siendo el componente mayoritario la cis-tagetenona 37.27 %. Y evidenció actividad antibacteriana contra: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella infantis* y *Escherichia coli*.

En las hamburguesas de res la sustitución de EG proporcionó un perfil de lípidos más saludable, además aumentó el contenido de humedad y disminuyó el contenido de grasa y proteína; la dureza, pérdidas por cocinado disminuyeron con la adición de EG y los niveles de oxidación de lípidos se vieron afectados significativamente por la sustitución de EG. En las trufas de chocolate la adición de harina de maca, harina de dátil, AEC y ron de caña incrementó el contenido de humedad, proteína y cenizas en las formulaciones; por el contrario, disminuyó el contenido de grasa frente al control. Se observó un incremento del valor de Luminosidad (L^*), mientras que las diferencias de color encontradas para las muestras sustituidas por los nuevos ingredientes no fueron apreciadas por el ojo humano ($\Delta E^* < 3$).

En conclusión, el AEC mostró una actividad antioxidante y antibacteriana, la sustitución de tocino de cerdo por EG con AEC puede considerarse como una estrategia efectiva para producir hamburguesas de res más saludables; y la adición de nuevos ingredientes como: la harina de maca, harina de dátil y AEC en productos de chocolatería es un prototipo tecnológicamente viable para la innovación de nuevos alimentos. Por lo tanto, estos resultados demuestran que el aceite esencial de chincho podría ser utilizado como nuevos ingredientes en la industria alimentaria y gastronómica.

ABSTRACT

Aromatic plants are widely used today for their flavor and aroma, and in recent years their use have increased due to their antioxidant and antibacterial activity, which can be used in new food products development and/or innovation. The aim of this work was to characterize and to identify the main potential bioactive compounds current in the *Tagetes elliptica* Sm. (Chincho) essential oil and to evaluate their use in the new food products innovation for the Food industry (burgers and chocolate truffles). For this purpose, leaves and a mixture of stem and leaves were used. It was found that the essential oil from the leaves and the mixture of leaves with the stem showed antioxidant activity for the assays (ABTS, DPPH, FRAP, FIC and RANCIMAT). Twenty-seven compounds were identified in the CEO (Chincho essential oil), the major component being cis-tagetenone 37.27%. And antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella infantis* and *Escherichia coli*.

In beef patties, using EG (gelled emulsions) as fat replacer, resulted in a healthier lipid profile, increased moisture content and decreased fat and protein content; toughness, cooking losses decreased with the addition of EG and lipid oxidation levels were significantly affected by EG addition. In chocolate truffles, the addition of maca flour, date flour, CEO and sugarcane rum increased the moisture, protein and ash content of the formulations, while decreasing the fat content compared to the control. An increase in lightness (L^*) was observed, while the colour differences observed in the samples substituted by the new ingredients were not perceptible to human vision ($\Delta E^* < 3$).

In conclusion, CEO showed antioxidant and antibacterial activity, the substitution of EG for pork bacon with chincho essential oil can be considered an effective strategy to produce healthier beef patties, and the addition of new ingredients such as maca flour, date flour and CEO, to chocolate products is a technologically viable way to innovate new foods. Therefore, these results demonstrate that CEO could be used as a new ingredient in the food and gastronomy industries.



CAPÍTULO 2.

INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. PLANTAS AROMÁTICAS

Las plantas aromáticas en las últimas décadas han sido más cultivado y utilizado en diferentes sectores industriales como el sector agrícola, perfumería, cosméticos y procesamiento de alimentos (Guerberoff et al., 2025; Lahyaoui et al., 2025). Además, investigaciones recientes informan sobre su uso como plantas medicinales, en el cual mencionan que pueden ser utilizadas para tratar diversas dolencias como trastornos gastrointestinales, enfermedades cardiovasculares y son consideradas como propiedades terapéuticas propios de cada planta (López et al., 2025; Lahyaoui et al., 2025).

Debido al contenido de aceites esenciales el estudio y la investigación de las plantas aromáticas hoy en día se han incrementado y existe un gran interés debido al contenido de compuestos fenólicos para su uso en la industria alimentaria (Skendi et al., 2022). Estos compuestos fenólicos, que son principalmente metabolitos secundarios que se encuentran en todo el reino vegetal, se valoran con mayor frecuencia por sus fuertes cualidades antioxidantes y la creciente relación de sus características que promueven la salud en los últimos años (Iruoghene et al., 2025).

Entre las principales plantas aromáticas más representativas se encuentran las familias Apiaceae, Fabaceae y Lamiaceae (Lahyaoui et al., 2025). En esta última se encuentran el orégano (*Origanum vulgare* L.), tomillo (*Thymus vulgaris* L.), salvia (*Salvia officinalis* L.), romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y Asteraceae (*Tagetes* spp.) (Lahyaoui et al., 2025; Mishra et al., 2022; Bakkali et al., 2008). El uso de las especies provenientes de las plantas en la alimentación es muy importante, debido a que se utilizan como colorantes y conservantes por contener compuestos bioactivos como terpenos, flavonoides y antocianinas; por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Debido a eso estas especies son una alternativa natural de los aditivos naturales por aditivos sintéticos (De La Torre et al., 2017).

La concentración de un determinado compuesto fenólico puede variar de un órgano

a otro dentro de la misma planta (Rawat et al., 2023). Entre ellos las hojas es la parte más utilizada de la planta (Figura 1).

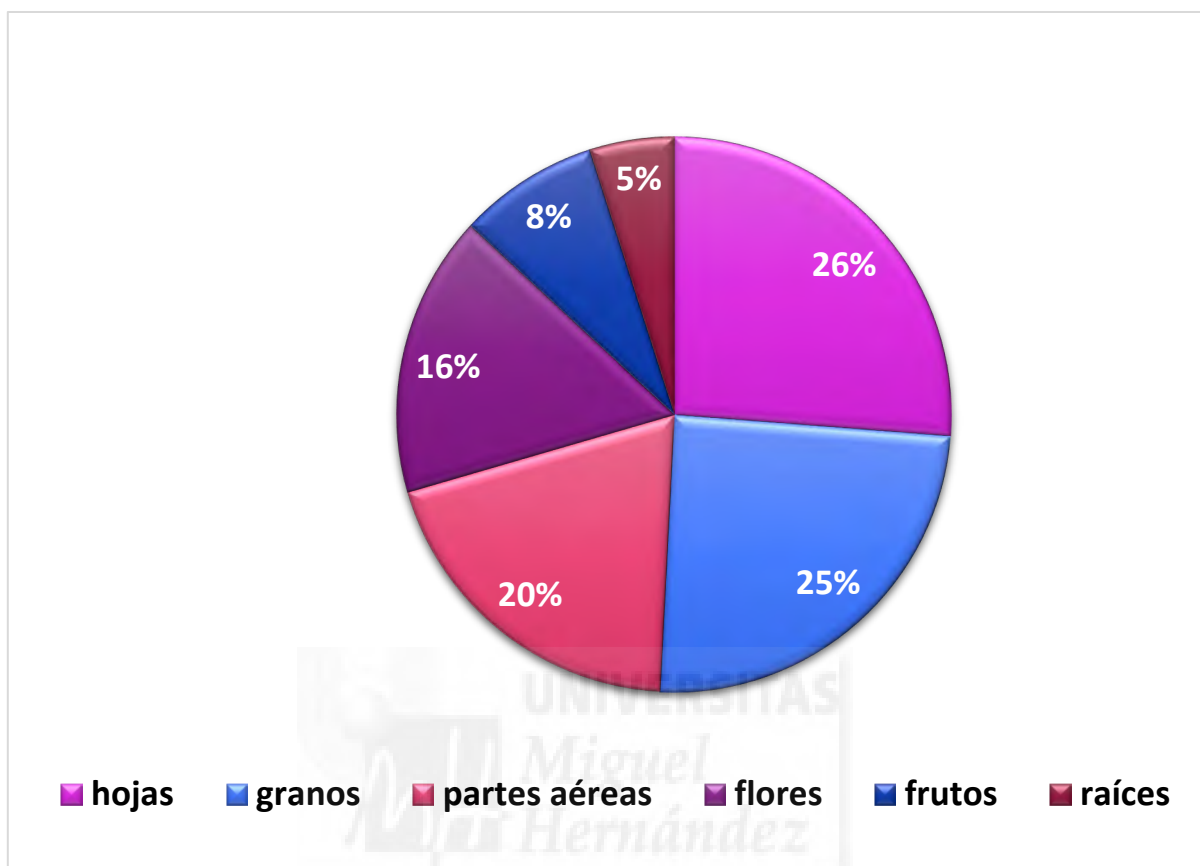


Figura 1. Distribución de partes utilizadas en plantas aromáticas.

(Fuente: Adaptado de Lahyaoui *et al.*, (2025)).

2.1.1. *Tagetes elliptica* Sm.

Este es una flor herbácea anual del género *Tagetes* generalmente conocido como caléndulas, plantas silvestres que pertenece a la familia Astereceae y son cultivadas en las regiones central y sur de América (Lokerman et al., 2003). El género *tagetes* comprende la familia más grande con más de 23000 de plantas vasculares (Mishra et al., 2022; Cornelio y Wcliffe, 2016) y se adaptan a vivir desde el nivel del mar hasta las mayores altitudes (Beltrán, 2016). Este, además ha sido muy estudiado por el contenido de compuestos naturales de tiofeno (metabolitos secundarios) que poseen propiedades biológicas como actividades antibacterianas, antioxidantes, antivirales y

anticancerígenas (Huaraca et al., 2022; De Oliveira et al., 2019; Saani et al., 2018; Ibrahim et al., 2017).

Por otro lado, el género *Tagetes* ha incrementado su demanda masiva en el mercado actual, debido a la rápida utilización de sus aceites esenciales en las industrias de perfumería y saborizantes (Guerberoff et al., 2025; Mishra et al., 2022). También se ha utilizado en medicina popular, como hojas y partes florales en infusión por sus propiedades antiinflamatorias y digestivas (Hammond et al., 1998) y en estudios recientes se ha demostrado que el género *Tagetes* serviría como tratamiento para enfermedades asociadas con la inflamación (Das et al., 2025).

De igual forma podría ser utilizado como colorante natural por el contenido de carotenoides (Mishra et al., 2022; Šivel et al., 2014; Khalil et al., 2012). Por otro lado, sirve como analgésico para tratar diversas dolencias y aliviar el dolor (González et al., 2014). Las especies más conocidas y estudiadas del género *Tagetes* son *Tagetes erecta*, *Tagetes minuta*, *Tagetes pusilla*, *Tagetes lucida*, *Tagetes filifolia*, *Tagetes patula* y *Tagetes terniflora*; entre ellas la especie botánica en estudio, *Tagetes elliptica* Sm. (De Oliveira et al., 2019).

En específico la especie *Tagetes elliptica* Sm. es cultivada casi en todo el Perú entre los 1000 a 4500 msnm, en las provincias de Ayacucho, Junín, Ancash y en los climas templados de las regiones Amazónica y Lima; además, es muy conocida en Centro y Sudamérica (Beltrán, 2016). Conocida como "chinchu", "chinchu" o "chikchimpa", siendo utilizada por su aroma característico, consumida desde hace muchos años por su especial aditivo culinario (Natividad et al., 2009). Debido a sus propiedades son utilizadas tradicionalmente en el Perú en la preparación de diversos potajes, asados, y en platos típicos peruanos como la "pachamanca" (plato típico peruano, cuyo proceso de cocción es por contacto con piedras calientes enterradas a 30-50 cm de profundidad) (Díaz, 2014).

Las hojas de la planta aromática *Tagetes elliptica* Sm. son fuente de metabolitos secundarios (Figura 2), monoterpenos 61 por ciento y antioxidantes que pueden ser

utilizados como conservantes de alimentos (Huaraca et al., 2022). Además, han sido utilizadas como medicina natural en infusión contra dolores estomacales, dolores intestinales y como digestivo (De La Cruz et al., 2007). Por otro lado, sus aceites esenciales son reconocidos por ser ricos en componentes aromáticos que a menudo contienen tagetonas, dihidrotagetona y tagetenonas (Salehi et al., 2018), β -mirceno, cis/trans-epoximirceno y trans-tagetenona (Ruiz et al., 2021; Huaraca et al., 2022; Carhuapoma, 2017).



Figura 2. Composición química de *Tagetes elliptica* Sm.

(Fuente: Adaptado de Huaraca et al., (2022)).

La tagetona y la ocimenona fueron las más abundantes respectivamente (Pichette et al., 2005, Marotti et al., 2004) y β -ocimeno, dihidrotagetona, tagetona, tagetenona exactamente en *Tagetes minuta* ha sido la más estudiada (Walia et al., 2020; De Oliveira et al., 2019). Además, el contenido de su composición química, concentración de compuestos y condiciones ambientales la *Tagetes elliptica* Sm. desempeña un papel importante en la industria y presenta diversas aplicaciones debido a sus propiedades (Figura 3).



Figura 3. Propiedades de *Tagetes elliptica* Sm.

Fuente: López et al. (2025); Ruiz et al. (2021); Yalta et al. (2019); Díaz et al. (2014); De La Cruz et al. (2007)

De esta manera, el aceite esencial de la *Tagetes elliptica* Sm. podría otorgar a los productos cárnicos propiedades antioxidantes, antimicrobianas y compuestos aromáticos (Salehi et al., 2018). Pero actualmente, la composición del aceite esencial de la especie *Tagetes elliptica* Sm., su actividad antioxidante y antibacteriana, carece de estudios recientes, cuenta con pocos reportes bibliográficos y no es muy conocida por la comunidad científica y los consumidores (Stefanaki et al., 2021; Marotti et al., 2004; Salehi et al., 2018).

2.1.2. Aceites esenciales provenientes de plantas aromáticas

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios considerados extractos naturales provenientes de plantas aromáticas, estos compuestos bioactivos son extraídos de flores, hojas, tallos y frutos y están compuestos por mezclas volátiles como los terpenos, lípidos, aldehídos y otros compuestos (Nieto, 2017). Por otro lado, estudios mencionan que compuestos bioactivos están influenciados por varios factores bióticos y

abióticos que además influyen en el rendimiento y que los terpenos son el compuesto principal de los aceites (Aqeel et al., 2023).

Estos aceites esenciales son extraídos por diversos métodos como la destilación al vapor (arrastre al vapor), la extracción con solventes, la extracción con CO₂, extracción de fluidos supercríticos, extracción asistida por microondas, la maceración, la extracción por presión en frío y la hidrodestilación (Ortiz et al., 2022; Sharma et al., 2021). El alambique es el equipo de destilación más utilizado en extracciones “caseras” por destilación al vapor (Figura 4a). En este método se ponen en contacto el vapor de agua generado por el calentamiento del agua y las plantas aromáticas. El calor suministrado por el vapor favorece la evaporación de los componentes de bajo punto de ebullición, principalmente aceites esenciales, presentes en la materia vegetal y éstos se condensan y recolectan (Kant et al., 2022), tal y como se aprecia en la figura 4a.

Por otro lado, la extracción por hidrodestilación consiste en que las plantas aromáticas se sumergen completamente en agua y se transfiere el aparato de destilación seguido del calentamiento, ésta es la más utilizada a escala de laboratorio (Figura 4b) (Sundar et al., 2023; Ortiz et al., 2022). Por otro lado, algunos autores mencionan que los métodos tradicionales de extracción de aceite son de bajo costo y menor tiempo de extracción frente a los métodos no convencionales (Kant et al., 2022).

Los principales países productores de aceites esenciales son: Brasil, India, China e Indonesia, mientras los principales países consumidores son Estados Unidos 40 por ciento, la Unión Europea 30 por ciento y Japón 7 por ciento (Aqeel et al., 2023). Entre los aceites de mayor producción son el aceite de albahaca y aceite de menta; además, Estados Unidos es el mayor exportador e importador de aceite esencial de plantas herbáceas (Kant et al., 2022). Los aceites esenciales han recibido una atención considerable por su uso en la agricultura, cuidado personal, en las industrias de salud y alimentación (Aqeel et al., 2023). En la industria alimentaria se utiliza como conservantes naturales por su actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica (Bravaniramya et al., 2019; Khorshidian et al., 2018), aumentando la calidad, seguridad alimentaria; además de dar sabor (Li et al., 2022) tiene gran influencia en el aumento de la vida útil de los alimentos (Rout et al., 2022).

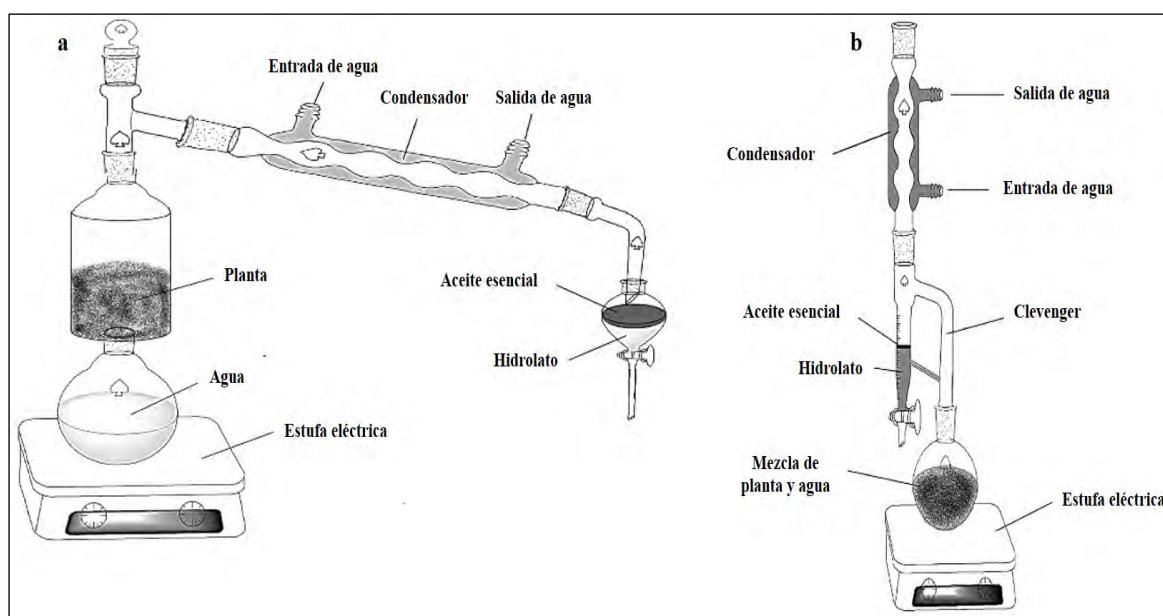


Figura 4. Técnicas y equipos de destilación de aceite esencial: (a) Destilador al vapor, b) Hidrodestilación.

Fuente: Adaptado de Ortiz et al. (2022)

Las investigaciones han señalado que los aceites esenciales de diversas plantas aromáticas contienen antioxidantes naturales, que pueden sustituir los antioxidantes sintéticos (Figura 5), como el butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y ácido ascórbico (AA) (Viuda et al., 2010). Además, tiene potencial para su aplicación a escala industrial debido a que es estable frente a temperaturas moderadas (Guerberoff et al., 2025).

Además, los aceites del género *Tagetes* pueden utilizarse en sustitución de los antioxidantes sintéticos para la conservación de alimentos (Singh et al., 2015), debido a su actividad antiinflamatoria y analgésica que tienen efectos paliativos contra diversas enfermedades (Riaz et al., 2020; Panmei, et al., 2019; Salehi et al., 2018). En vista de estas cualidades, el aceite esencial de estas plantas aromáticas es utilizado como aditivo natural en alimentos (Salehi et al., 2018; Giarratana et al., 2017) y es una alternativa para la conservación de alimentos debido a su actividad antimicrobiana (Bhavaniramya et al., 2019).

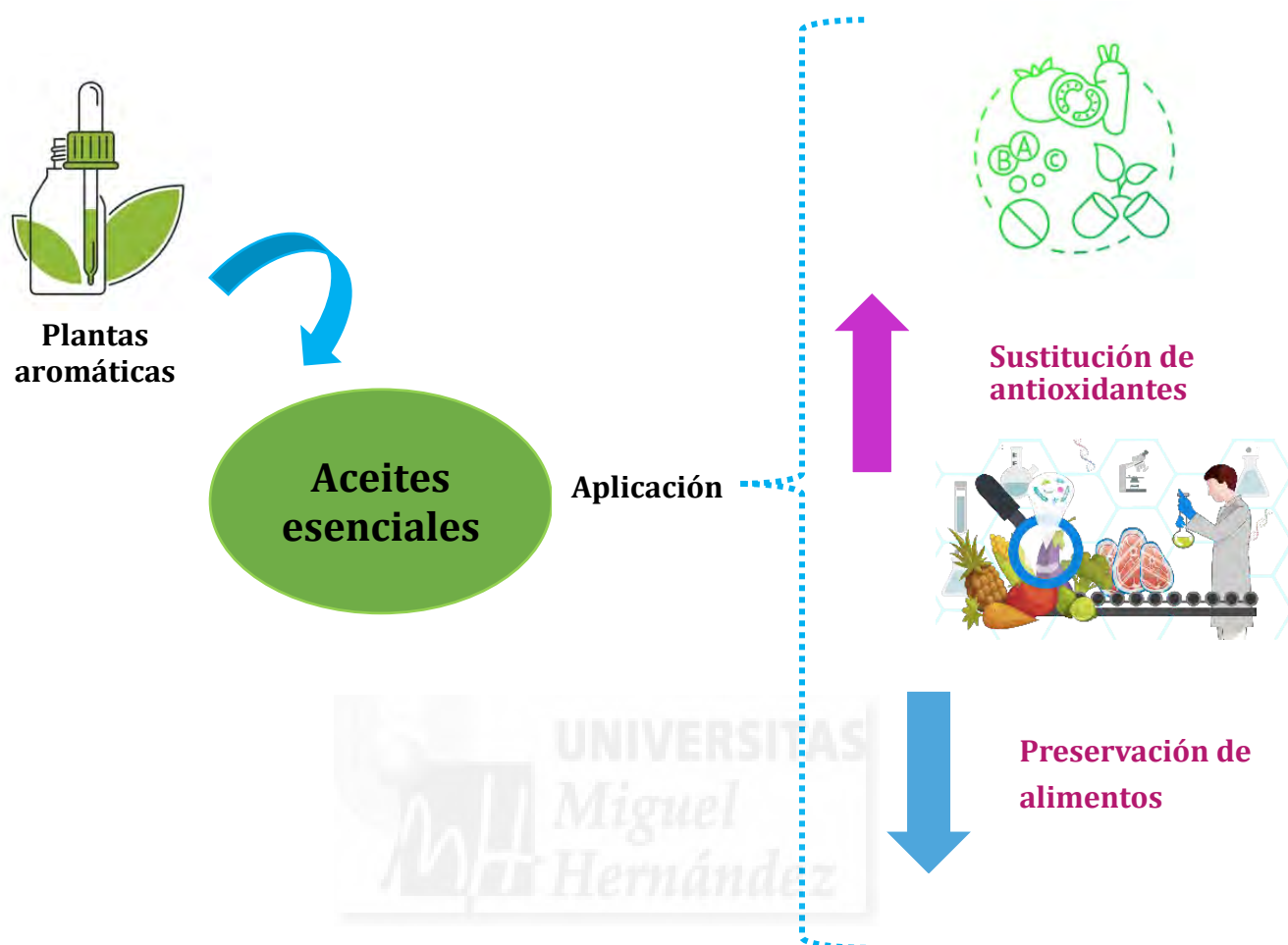


Figura 5. Aplicación y uso de aceites esenciales.

2.1.3. Composición química de aceites esenciales

En la Figura 6, se observa los componentes mayoritarios de los aceites esenciales provenientes de hierbas aromáticas. La composición química de estos comprenden principalmente cuatro grupos principales: Terpenos (son los compuestos más abundantes entre ellos el monoterpeno y sesquiterpenos son los terpenos dominantes que se encuentra en los aceites esenciales de las plantas); Fenilpropanoides (el eugenol y el cinamaldehído, son quienes le dan sabor y olor a las plantas); Compuestos de cadena lineal (el alcohol de hoja (3(Z)-hexen-1-ol) representa un ejemplo de esta clase) y Grupos misceláneos (entre ellos el disulfuro de dialilo y el indol) (Lammari et al., 2021).

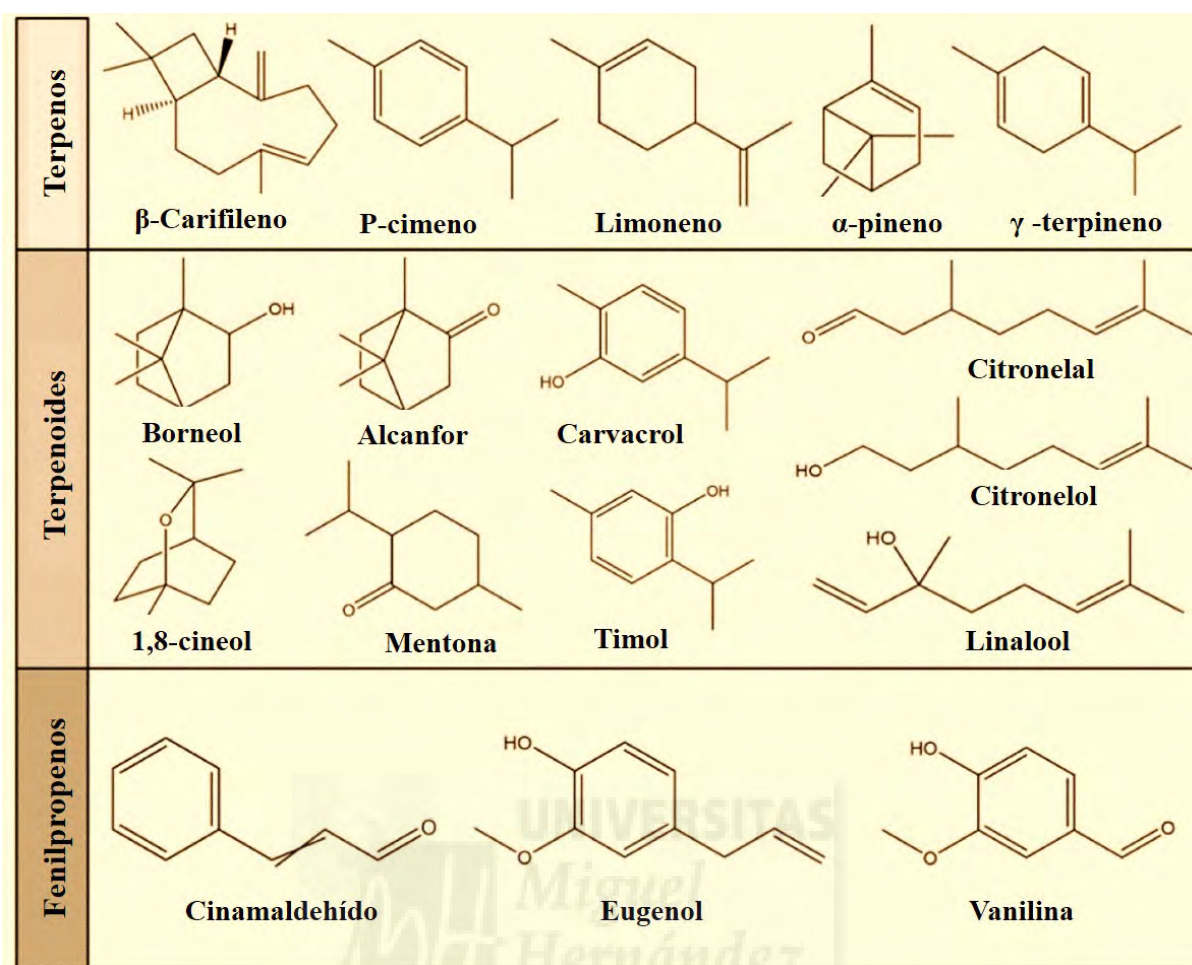


Figura 6. Estructuras químicas de los principales componentes de los aceites esenciales derivados de las plantas aromáticas.

Fuente: Adaptado de Zhang et al. (2022)

Los terpenos están formados por moléculas de isopreno y pueden ser monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, tetraterpenos y politerpenos; los monoterpenos pueden modificar su estructura para formar otros compuestos como los terpenoides que son los responsables de la actividad antibacteriana (Dutra da Silva et al., 2022).

La identificación y cuantificación de los compuestos de cada aceite esencial es muy importante debido a que permite estudiar la actividad antimicrobiana de los constituyentes individuales, siendo uno de los métodos más utilizados la cromatografía de gases acoplada al espectrómetro de masas (Bakkali et al., 2008). Los aceites del género *Tagetes*, en concreto, son ricos en quercetina, ocimeno, limoneno, terpineno, mirceno, tagetonas, dihidrotagetona y tagetenonas (Kashyap et al., 2022; Salehi et al., 2018)

(Figura 7). Además, otros estudios informan de que los principales constituyentes del aceite de *Tagetes* son las ocimenonas (Z) y (E), junto con la piperitona, la piperitenona, el limoneno, la tagetona y el cariofileno (Cornelio y Wcliffe, 2016).

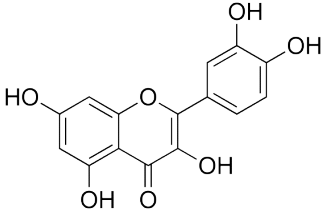
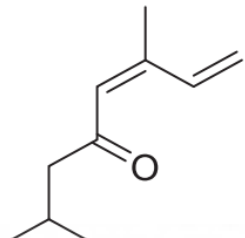
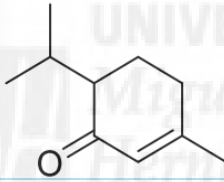
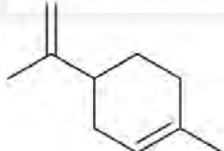
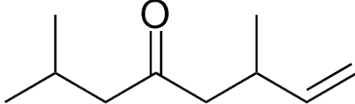
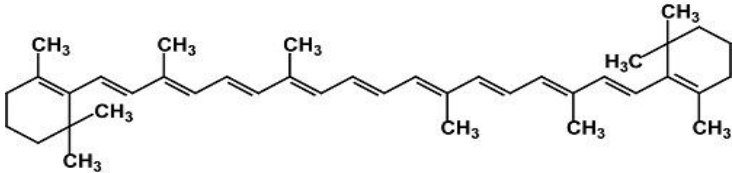
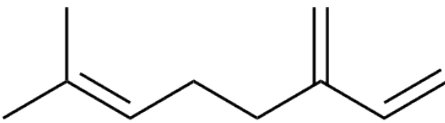
Número	Estructura	Nombre del compuesto
1		Quercetina
2		(E) - Tagetona
3		Piperitenona
4		Limoneno
5		Dihidrotagetona
6		Caroteno
7		Mirceno

Figura 7. Estructura química de los principales compuestos encontrados en plantas aromáticas de la familia *Tagetes*.

Fuente: López et al. (2025); Kashyap et al. (2022); Ruiz et al. (2021); Salehi et al. (2018)

Se han estudiado los aceites esenciales de algunas especies del género *Tagetes* entre ellas *Tagetes minuta*, *Tagetes patula* y *Tagetes erecta* las cuales presentan actividad antioxidante y antimicrobiana, la cual es utilizada en los alimentos como colorante, siendo su principal compuesto los monoterpenos de la clase terpenoide (Singh et al., 2015).

2.1.4. Propiedades antioxidantes de aceites esenciales

Los aceites esenciales provenientes de las plantas aromáticas han evidenciado actividad antioxidante debido a su composición química entre ellos el carvacrol, timol, citronelal y eugenol (Teixeira et al., 2012). Estos contienen compuestos orgánicos que tienen dobles enlaces de carbono conjugados que donan un átomo de hidrógeno a los radicales que son responsables de la cadena oxidativa (Nieto, 2017). Además, los constituyentes químicos aislados tienen la propiedad de prevenir la oxidación de lípidos (da Trindade et al., 2021).

Bouزيد et al., (2023) demostraron que los aceites esenciales provenientes de plantas aromáticas de las familias Asteraceae y Lamiaceae tenían un alto contenido de fenoles totales (hasta 35.01 mg GAE/g MS), flavonoides (hasta 54.38 mg GAE/g MS) y valores de capacidad antioxidante por DPPH (hasta 35.02 ± 0.17 mg AAE/g MS) y FRAP (hasta 774.85 ± 0.88 μ mol TE/g MS), los cuales son fuentes de antioxidantes naturales. Y otros estudios evidencian la actividad antioxidante de otras especies de la *Tagetes* (Tabla 1).

Existe evidencia de que otras plantas conocidas del género *Tagetes*, incluida la *Tagetes minuta*, contienen compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes (Walia et al., 2020; Ibrahim et al., 2017). *Tagetes multiflora* tiene varias sustancias volátiles, como los terpenos entre los principales, el β -ocimeno, la dihidrotagetenona, la (Z) tagetona y el limoleno (Walia et al., 2020; Kumar et al., 2014; Pichette et al., 2005), que contribuyen a sus características especiales de sabor y olor, *Tagetes erecta* se ha utilizado como agente colorante y suplemento nutricional (Kashyap et al., 2022) y también se

utiliza como antioxidante natural en los alimentos (Huang et al., 2022). Los ensayos de actividad antioxidante tienen variabilidad de acuerdo a la composición de metabolitos secundarios en las diferentes partes de las plantas aromáticas (Tabla 2).

Tabla 1. Actividad antioxidante del género *Tagetes* de diferentes especies.

<i>Nombre científico</i>	*Parte de la planta	Ensayo	Concentración	Valor	Ref.
<i>Tagetes minuta</i>	Flores	DPPH ABTS	10-3000 µg/ mL 1-200 µg/mL	PI ₅₀ : 1272.00 ± 107.30 µg/mL. PI ₅₀ : 102.70 ± 15.28 µg/mL.	De Oliveira et al., 2019
<i>Tagetes erecta</i>	Flores	DPPH	20-100 µg/mL	PI ₅₀ : 77.302 µg/mL.	Das et al., 2025
<i>Tagetes palula</i>	Flores (naranja)	ABTS	12.5 -75 µg/ mL	PI ₅₀ : 8.77 ± 0.73 µg/mL.	De Oliveira et al., 2019

2.1.5. Propiedades antimicrobianas de aceites esenciales

Los aceites esenciales son activos contra muchos microorganismos debido a los compuestos fenólicos; por otro lado, el principal mecanismo de la actividad antibacteriana que es la desnaturalización proteica (Nieto, 2017) de las membranas microbianas. La presencia de la función carbonilo de los terpenoides incrementa la actividad antibacteriana; además los terpenos son los compuestos con mayor actividad antimicrobiana con un 56.8 por ciento seguido de los polifenoles con un 32.4 por ciento (Salehi et al., 2018). Estos mecanismos de acción están basados en el aumento de la permeabilidad y en la ruptura de la membrana plasmática bacteriana, los monoterpenos como el timol, el carvacrol, el eugenol, la carvona, el cinamaldehído y el limoneno son considerados significativamente activos con alta actividad antimicrobiana (Álvarez et al., 2021; Khorshidian et al., 2018).

Tabla 2. Principales hierbas aromáticas de otras especies y géneros y la actividad antioxidante del aceite esencial correspondiente.

Nombre científico	*Parte de la planta	Ensayo	Concentración	Valor	Ref.
<i>Mentha suaveolens</i> , <i>Salvia officinalis</i> , <i>Origanum majorana</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i>	Hojas	DPPH	0.04 g/L	PI ₅₀ : 0.78 ± 0.05 mg/mL PI ₅₀ : 2.12 ± 0.03 mg/mL PI ₅₀ : 3.67 ± 0.07 mg/mL PI ₅₀ : 4.82 ± 0.12 mg/mL	Ed-Dra et al., 2020
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Hojas	DPPH	2.5 - 200 µL	PI ₅₀ : 28.08 ± 1.97 µL/mL	Mikre et al., 2007
<i>Pelargonium graveolens</i>	Hojas	DPPH	75 µg/mL	PI ₅₀ : 20 µg/mL	Mnif et al., 2011
<i>Nyctanthes arbortristis</i>	Hojas	DPPH	2 - 50 µg/mL	PI ₅₀ : 26.74 µg/mL	Kaur and Kaushal, 2020
<i>Ruta chalepensis</i> L	Flores	DPPH FIC	5-100 µg/mL	PI ₅₀ : 35.27 µg/mL EC ₅₀ : 20110 µg/mL)	Althaher et al., 2020
<i>Thymus vulgaris</i> L. <i>Origanum vulgare</i> L. <i>Salvia officinalis</i> L. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	H, T, F F H y F PE	FIC	5-50 g/L	EC ₅₀ : 17.32 g/L EC ₅₀ : 59.35 g/L EC ₅₀ : 7.16 g/L EC ₅₀ : 4.76 g/L	Viuda et al., 2010
<i>Thymus vulgaris</i> L. <i>Origanum vulgare</i> L. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	H, T, F F H y F PE	Ranci mat	5-50 g/L	IAA: 1.59 IAA: 1.67 IAA: 1.07 IAA: 1.05	Viuda et al., 2010
<i>Coreopsis tinctoria</i> Nutt	Flores	DPPH ABTS FRAP	0.03-0.5 mg/mL	PI ₅₀ :0.45±0.05 mg/mL PI ₅₀ : 9.51±0.91 mg/mL TEAC: 0.097±0.001 mmol/g	An et al., 2018
<i>Tagetes erecta</i>	Flores	DPPH		PI ₅₀ : 0.0716 mg/mL	Saani et al., 2018

*Parte de la planta: Hojas (H), Tallos (T), Flores (F) y Planta entera (PE); PI₅₀: Porcentaje de inhibición. Concentración (g/L) para una inhibición del 50 por ciento; TEAC: Capacidad antioxidante equivalente a Trolox; EC₅₀: Concentración (g/L) para un efecto quelante del 50 por ciento; IAA: Índice de actividad antioxidante.

Debido a su composición los aceites esenciales se están convirtiendo en posibles alternativas de antibióticos por su origen natural, baja toxicidad y ausencia de residuos (Al-Maqtari et al., 2022). Las lamilaceas son una de las familias más importantes con efecto antimicrobiano, entre ellos se encuentran el tomillo, el orégano y el romero que han sido muy utilizados en la industria alimentaria (Viuda et al., 2010). La mayoría de los estudios indican que la mayor característica del aceite esencial del romero, es su actividad antibacteriana (Zhong et al., 2021). Además, los aceites esenciales presentan diversos mecanismos de actividad antimicrobiana, éstos se pueden apreciar en la figura 8.

La estructura celular de las bacterias Gram negativas es más compleja, por eso son más resistentes a la actividad antibacteriana de los aceites esenciales que las bacterias Gram positivas (Khorshidian et al., 2018). En todas las bacterias, los aceites esenciales se mueven a través de las membranas celulares, ocasionando cambios en la estructura de la pared celular, debido a su actividad antimicrobiana que modifica su permeabilidad y resulta en la liberación de constituyentes, provocando la muerte celular (Behbahani et al., 2019).



Figura 8. Mecanismos de actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.

Fuente: Adaptado de Khorshidian et al. (2018)

La pared celular de las bacterias Gram positivas consta de peptidoglicano 90-95 por ciento junto con ácido teicoico y proteínas unidas a él, además la mayor parte de los aceites esenciales son hidrófobos, interactúan con la membrana celular y la atraviesan fácilmente hasta el citoplasma (Khorshidian et al., 2018). Por otro lado, la estructura de la pared celular en las bacterias Gram-negativas es más compleja y consta de una monocapa de peptidoglicano rodeada por una membrana externa que consta de proteínas y lipopolisacáridos (LPS) (Álvarez et al., 2021; Khorshidian et al., 2018).

Las plantas de la familia Astereaceae han sido relacionadas con efectos antimicrobiano. Asimismo, otros estudios del género tagetes han informado (Saani et al., 2018) que la actividad antibacteriana del extracto metanólico de la flor de la *Tagetes erecta* es significativo también contra la bacteria Gram-positivo (*Staphylococcus aureus*) y contra otras bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*).

Asimismo, la *Tagetes elliptica* ha demostrado tener actividad antibacteriana que depende de sus componentes principales en sus extractos (aceite esencial, extracto metanólico y extracto etanólico) para inhibir algunos microorganismos (Tabla 3).

Tabla 3. Extracto y aceite esencial del género *Tagetes* y *Tagetes elliptica* Sm. y su efecto antimicrobiano.

Bacteria de inhibición	Solvente/aceite con máxima inhibición	Concentración mínima inhibitoria (CMI)	Referencias
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Salmonella Typhi</i>	Aceite esencial	1.25 µL/mL 2.5 µL/mL	Vargas, 2013
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Aceite esencial	< 9.76 x 10 ⁻⁴ , 0.125, 0.5, < 9.76 x 10 ⁻⁴ , < 9.76 x 10 ⁻⁴ (µL/mL)	Segovia et al., 2010
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Extracto etanólico	-	Díaz, 2014
<i>Staphylococcus aureus</i> , y <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Aceite esencial	0.3125 µL/mL 5 µL/mL	Ruiz et al., 2021
<i>Escherichia coli</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	Extracto metanólico	-	Saani et al., 2018

2.2. EMULSIONES GELIFICADAS EN ALIMENTOS

2.2.1. Emulsión gelificada

Las emulsiones gelificadas (EG) son mezclas de dos líquidos inmiscibles estabilizados por emulsionantes (Kothuri et al., 2025). Para obtener emulsiones estables, se permite agregar agentes gelificantes o espesantes a las emulsiones para formar geles de emulsión. Como emulsionantes de emulsión, las proteínas y los polisacáridos también podrían actuar como estabilizadores para aumentar la viscosidad o agentes espesantes para generar geles de emulsión estables (Guo et al., 2023) (Figura 9).

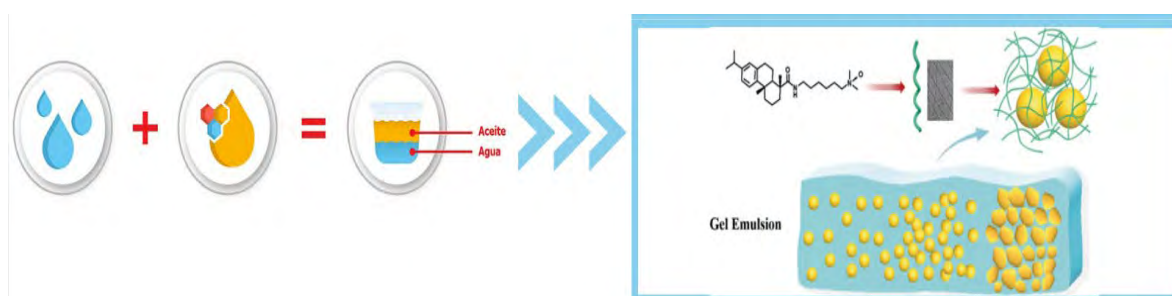


Figura 9. Representación gráfica de la emulsión gelificada

Este se ha convertido en una estrategia muy novedosa para reemplazar la grasa saturada, principalmente de origen animal, con materias primas más saludables y en los últimos años se ha realizado un incremento en las investigaciones sobre una emulsión comestible como sustitutos de grasa animal en los alimentos (Hashemi et al., 2023) (Tabla 4); la EG son materiales sólidos blandos con una macro y microestructura, con características híbridas, por un lado similar a la de un gel y por otro con propiedades texturales de un sólido (Guo et al., 2023).

El desarrollo de emulsión gelificada (EG) son generados por procedimientos de gelificación que puede asegurar propiedades nutricionales beneficiosas para la salud y podría reducir las enfermedades cardiovasculares dentro de una dieta balanceada (Kothuri et al., 2025; Guo et al., 2023; Djuricic et al., 2021; Herrero et al., 2021), sin la pérdida de características tecnológicas y propiedades sensoriales, haciendo que este tipo de productos sean muy apreciados por los consumidores (Rabadán et al., 2021; Herrero et al., 2021).

Algunos autores han obtenido resultados prometedores para EG utilizando varios aceites vegetales con perfiles lipídicos saludables, como aceite de chia, ajonjolí, maíz, palta, soja y maní con agentes gelificantes como almidón de maíz, makgeolli, goma de albahaca, gelatina, harina de dátil y harina de amaranto (Botella et al., 2022; Essa et al., 2022; Barros et al., 2021, Ren et al., 2022; Chang et al., 2017; Yun et al., 2013), todos estos se han utilizado con éxito en productos cárnicos bajos en grasa.

Tabla 4. Emulsiones gelificadas (EG) y su aplicación en alimentos.

Tipos de recursos	Tipos de gel de emulsión	Funciones de la proteína	Producto	Referencias
Harina de linaza, coco y avena	Gel de emulsión fabricado utilizando un agente gelificante de fraguado en frío	Valor nutricional, perfil lipídico saludable, modificación de textura, etc.	Salchichas de carne de origen vegetal	Corrêa et al., 2023
Harina de castañas, goma gellan, aceite de chía	Gel de emulsión	Se mejoraron las características de cocción y el perfil de ácidos grasos	Hamburguesa de cerdo	Lucas-González et al., 2020
Harinas de cereales, fibras dietéticas y proteínas	Gel de emulsión	Mejoran el perfil de ácidos grasos con beneficios saludables	Productos cárnicos	Guo et al., 2023
Aceite de açaí y goma guar	Gel de emulsión	Mejora la calidad nutricional al aumentar los niveles de ácidos grasos insaturados y reduce los ácidos grasos saturados	Hamburguesa de carne de cabra	Guo et al., 2025

La formación de geles es la nueva estrategia para convertir los aceites de origen vegetal ricos en ácidos grasos insaturados en sistemas tipo sólido que se ha recomendado como sustitutos de grasas saturadas de origen animal (Kothuri et al., 2025; Guo et al., 2023). Por otro lado, los oleogeles son aceites líquidos convertidos en sistemas semisólidos con propiedades viscoelásticas y naturaleza hidrofóbica por organogelación, son comestibles y proporcionan nuevos métodos para obtener aceites vegetales sólidos similares a grasas y perfiles de ácidos grasos más saludables en la industria alimentaria (Guo et al., 2023) (Figura 10).

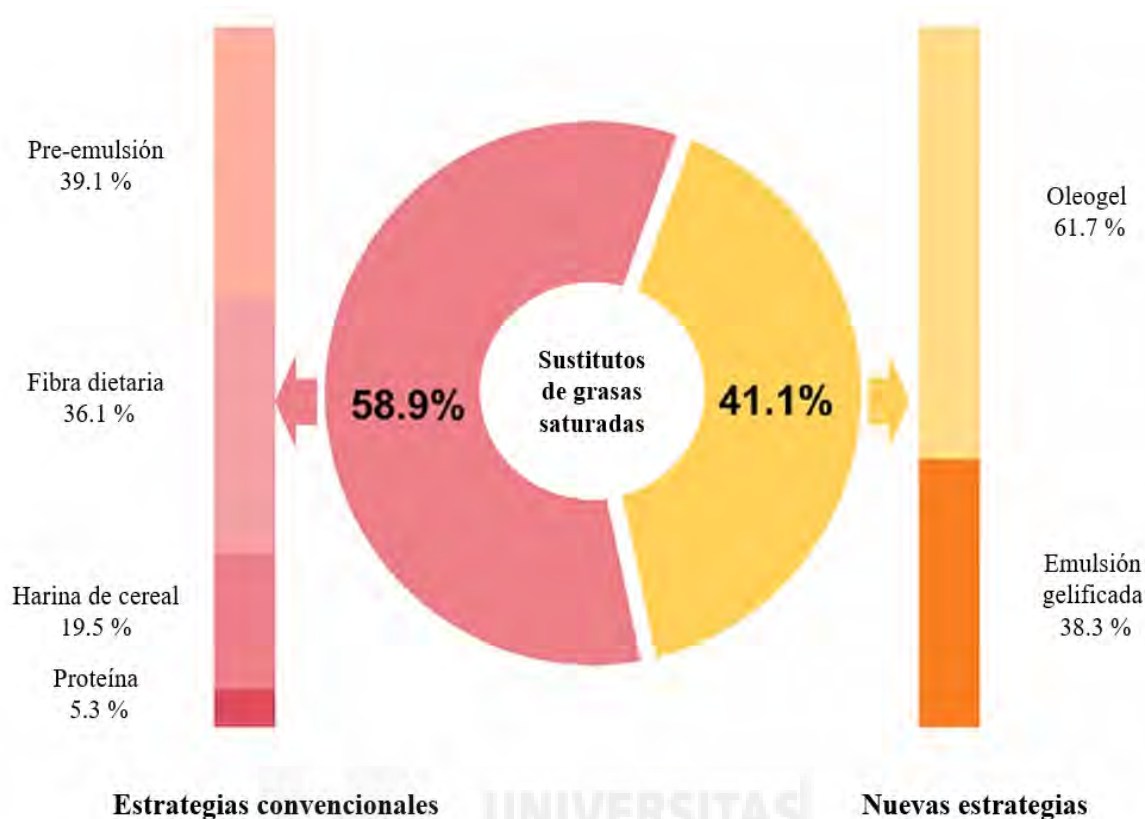


Figura 10. Porcentaje de diferentes estrategias convencionales y nuevas estrategias para sustituir grasas saturadas.

Fuente: Adaptado de Guo et al. (2023)

2.2.2. Modificación del perfil lipídico de productos cárnicos

Hoy en día la industria ganadera contribuye, en parte, al deterioro del medio ambiente y del clima, por tal motivo, es muy importante contribuir de forma que se pueda reducir su impacto, además de desarrollar productos cárnicos más nutritivos y saludables, al gusto del consumidor. La grasa animal, entre otras propiedades, es muy importante ya que contribuye al sabor de los productos cárnicos, pero un consumo excesivo, es una “amenaza” potencial, para la salud humana por el contenido de ácidos grasos saturados (Guo et al., 2023); además, el consumo excesivo de las grasas saturadas puede derivar en distintas patologías como la obesidad, enfermedades cardiovasculares además de contribuir a padecer distintos tipos de cáncer (Botella et al., 2024).

El desarrollo de productos cárnicos saludables a través de la sustitución de las grasas saturadas de origen animal, por emulsiones gelificadas y oleogeles obtenidas con harinas de cereales, fibras dietéticas, proteínas y preemulsiones se han aplicado ampliamente como sustitutos de la grasa animal por sus texturas de grasas sólidas, ácidos grasos insaturados ricos y beneficios más saludables (Zeng et al., 2021).

Uno de los aspectos más importantes cuando se utilizan EG es mejorar el perfil lipídico, pero su uso podría cambiar las características sensoriales y las cualidades tecnológicas de este tipo de productos (Guo et al., 2023; Kumar et al., 2019). Por lo tanto, es muy importante reformular este tipo de productos sin perder características importantes para los consumidores y las industrias (Herrero et al., 2021; Botella et al., 2022, Barros et al., 2021). La sustitución de grasas animales y el desarrollo de nuevos productos cárnicos saludables presenta una dieta alternativa saludable y sostenible basada en las tradicionales hamburguesas de carne (Roobad et al., 2021).

Por otro lado, los desarrolladores de productos cárnicos más saludables deben tener en cuenta que los EG elaborados con aceites poliinsaturados son susceptibles a la oxidación de lípidos, aportando con ello, características no del gusto del consumidor, "atípicas" como rancidez, sabores desagradables y decoloraciones, entre otras (Domínguez et al., 2019). Para evitar estos aspectos negativos, los aceites esenciales podrían ser una excelente alternativa para evitar la oxidación de lípidos en el desarrollo de productos cárnicos saludables (Fusaro et al., 2022).

Además, los aceites esenciales están clasificados como "generalmente reconocidos como seguros o GRAS" por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), lo que los convierte en posibles sustitutos de los conservantes sintéticos utilizados en la industria alimentaria. La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales refuerza el potencial de la aplicación como ingredientes naturales en los sistemas alimentarios como productos cárnicos (Dutra et al., 2022).

Por otro lado, la investigación sobre los aceites comestibles se ha incrementado en los últimos años y se menciona que los geles de emulsión tienen la capacidad de mejorar

la capacidad antioxidante debido a que bloquea el movimiento de la fase oleosa líquida lo cual dificulta la oxidación del aceite y por ser un sistema bifásico mejora aún más la estabilidad oxidativa debido a los antioxidantes (Hashemi et al., 2023).

Los productos cárnicos hoy en día son uno de los productos más demandados por la población; sin embargo, éstos están relacionados con hábitos poco saludables por su alto contenido en ácidos grasos saturados. Por tal motivo, sería muy importante incorporar nuevos ingredientes y en conjunto con los aceites esenciales elaborar alimentos más saludables. Estos ácidos grasos están relacionados con el riesgo de enfermedades crónicas, cancerígenas y degenerativas (Vahmani et al., 2020; Niforou et al., 2022; Kumar et al., 2019); además, varios estudios han demostrado que los consumidores están dispuestos a consumir productos cárnicos saludables nuevos o reformulados (Sogari et al., 2022; Rabadán et al., 2021).

Asimismo, la aplicación de aceites esenciales en la elaboración de productos cárnicos es tecnológicamente viable debido a que podría aplicarse de diversas formas: como emulsiones gelificadas elaboradas con aceites poliinsaturados como el de nuez, almendra, chía, cáñamo, soja, girasol, que son más saludables que las grasas animales que podrían disminuir el contenido de ácidos grasos, en la sustitución de los tejidos grasos (grasa dorsal, manteca, etc.) (Herrero et al., 2021; Carvalho et al., 2021, Barros et al., 2021), en conjunto con los aceites esenciales exóticos que realcen el sabor y eviten la oxidación de lípidos (De la Cruz et al., 2014).

2.2.3. Propiedades tecno-funcionales de harinas y aceites

La harina de cereales o los almidones como polímeros de carbohidratos de origen vegetal, mejora la capacidad de retención de agua y aceite, reduce el contenido de grasa, proporciona factores de salud y fortalece la estabilidad de la emulsión; además, proporcionan una buena estabilidad de la emulsión y propiedades texturales, incluida la masticabilidad y la dureza, debido a las propiedades de hinchamiento y espesamiento inducidas por el calor en los productos cárnicos.

La harina de maca (*Lepidium meyenii*) tiene efectos beneficiosos para la salud debido a su contenido de compuestos bioactivos, incluidos glucosinolatos y flavonoides (Carvalho et al., 2021). Desde un punto de vista tecnológico, el contenido de almidón de la maca como producto del proceso de fraccionamiento podría utilizarse como emulsionante y estabilizador para dar a los alimentos la textura y consistencia deseadas (Zhang et al., 2017).

También, los antioxidantes derivados de la maca podrían usarse para evitar que los alimentos ricos en lípidos se vuelvan rancios y para controlar el oscurecimiento enzimático de los productos frescos (Wang et al., 2019). Los aceites vegetales (soja, maíz, maní, linaza y otros) son ricos en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) y tienen un valor nutricional superior al de las grasas animales. Asimismo, los aceites vegetales de soja destacan por su alto contenido proteico, que han sido utilizadas como aditivos en la incorporación de productos cárnicos para cumplir la función de la carne y la grasa (Kang et al., 2022).

En consecuencia, aplicarlos en productos cárnicos mediante la emulsificación de aceites vegetales es una medida muy adecuada para mejorar el perfil lipídico (Guo et al., 2023). El aceite de soja (*Glycine max*) es un aceite mundialmente conocido por su contenido en tocoferoles y ácidos grasos poliinsaturados, entre otros compuestos bioactivos (Fisk et al., 2011). Los ácidos grasos poliinsaturados más importantes que se encuentran en el aceite de soja/soya son los ácidos linolénico y linoleico, mientras que el ácido oleico es el principal ácido graso monoinsaturado (Olagunju et al., 2022).

2.2.4. Aplicaciones de emulsiones gelificadas en productos cárnicos

Las emulsiones gelificadas a partir de polisacáridos presentan una buena retención de aceite, aspecto muy importante en la elaboración de muchos productos cárnicos, y por ello, se ha demostrado su eficiencia y aptitud tecnológica para su aplicación como sustitutos de grasa saturadas en los alimentos (Hashemi et al., 2023). La aplicación de las EG en diversos productos cárnicos ha demostrado no solo su viabilidad tecnológica (con ligeras modificaciones en el proceso de elaboración) si no también, en los parámetros de color, textura y reducción de grasa (Tabla 5).

Tabla 5. Aplicación de emulsiones gelificadas en diversos productos cárnicos.

Producto	Materiales	Efectos	Referencias
Salchicha de cerdo	Proteína de guisante y quitosano	menor pérdida de cocción y oxidación de grasas, respuesta viscoelástica y efectos positivos de la emulsión sobre el estado aparente, el color, el sabor y la textura de las salchichas	Li et al., 2023
Hamburguesas de carne de res	Aceite de girasol y almidón modificado	Redujo la grasa, estabilidad del color y buena aceptabilidad sensorial	Hashemi et al., 2023
Salchichas vienasas	Harina de soja	Aumento del contenido de proteína, mejor rendimiento de cocción y mejor textura Mantiene la calidad y propiedades organolépticas, mejora el perfil de ácidos grasos y es tecnológicamente viable	Kang et al., 2022
Mortadela tipo Bolonia	Aceite de soja/cera de salvado de arroz	Reducir el contenido de grasa en un 70 %; reducir la cantidad de ácidos grasos n-6 y aumentar la cantidad de ácidos grasos n-3 de cadena larga	Tarté et al., 2020
Empanada de carne	Aceite de soja y Cartagenina		Alejandre et al., 2017

2.3. INCORPORACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL EN CHOCOLATERÍA

2.3.1. Importancia de nuevos productos en chocolatería

El consumo de chocolate obtenido de los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) ha reflejado un crecimiento progresivo, pero en los últimos años se ha desplazado su interés hacia su composición nutricional, debido al contenido de flavonoides con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias y en la innovación de nuevos productos que también ha

facilitado el crecimiento del mercado del cacao y el chocolate (Fortune Business Insights, 2022). Los productos de chocolatería y confitería tienen una gran demanda por la población, pero estos compuestos tienen un alto contenido de grasas y azúcares, por eso la industria alimentaria busca la sustitución de algunos ingredientes lo cual puede resultar con productos con una mayor aceptación sensorial, beneficioso para la salud y producidos de una forma sostenible (Fernandes, et al., 2024).

Los aceites esenciales se usan para dar sabor a los alimentos, además debido a sus efectos antioxidantes y antimicrobianos son usados en la industria alimentaria (Li et al., 2022). El aceite esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) podría usarse como un “aceite tropical exótico” y aportar un sabor diferente, en la elaboración de productos de bollería y confitería a base de chocolate. Un estudio ha evidenciado la relación de preferencia por parte del consumidor entre el consumo de bebidas (vino, café y ron) y el chocolate que oscilan los valores entre 30 y 70% de sólidos de cacao (Donadini et al., 2012), es por ello, que el ron podría ser un ingrediente adicional en la innovación de un nuevo producto preferido para el consumidor. Igualmente, la harina de maca ha sido usada en varios alimentos debido a sus componentes bioactivos y en la preparación de productos dulces para proporcionar textura, consistencia y untuosidad (Vilpoux et al., 2019).

Asimismo; la harina de dátil es considerado como nuevo alimento funcional (Echegaray et al., 2023; Muñoz-Bas et al., 2025) por el contenido de compuestos bioactivos que atribuyen propiedades beneficiosas para la salud (Al-Alawi et al., 2017), podría ser una alternativa de innovación de nuevos productos “más saludables” para el sector de la bollería y de la confitería.



CAPÍTULO 3.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar e identificar los compuestos químicos del aceite esencial del chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) y evaluar su incorporación en la innovación de nuevos productos de la industria alimentaria.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1. Evaluar la composición química, actividad antioxidante y antibacteriana presente en el aceite esencial del chincho (*Tagetes elliptica* Sm.).

3.2.2. Determinar el efecto de la sustitución parcial del tocino de cerdo por emulsiones gelificadas elaboradas con harina de maca (*Lepidium meyenii*), aceite de soya (*Glycine max*) y aceite esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) sobre la composición química, propiedades fisicoquímicas, oxidación lipídica y análisis sensorial de hamburguesas de res.

3.2.3. Comprobar la viabilidad tecnológica del uso del aceite esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) y del ron de caña, sobre un prototipo de trufa de chocolate y dátil fresco ilicitano (Cv. Confitera);

3.2.4. Analizar el efecto de estos ingredientes y la harina de maca (HM) sobre la composición química, parámetros de color y propiedades fisicoquímicas de un sistema modelo de trufas de chocolate.



UNIVERSITAS
Miguel
Bernandez

CAPÍTULO 4.

MATERIALES Y MÉTODOS

4. MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se muestra las tres secciones de la investigación doctoral, la primera parte consistió en caracterizar el aceite esencial de chincho, la segunda y tercera fase en la aplicación en un producto cárnico (hamburguesa) y un producto de chocolatería (trufa).

4.1. CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE CHINCHO (*Tagetes elliptica* Sm.)

4.1.1. Material vegetal

En la provincia de Chupaca, región Junín-Perú (3263 msnm), se recolectaron manualmente las plantas del género *Tagetes*, específicamente de la especie *Tagetes elliptica* Sm. (Figura 11).

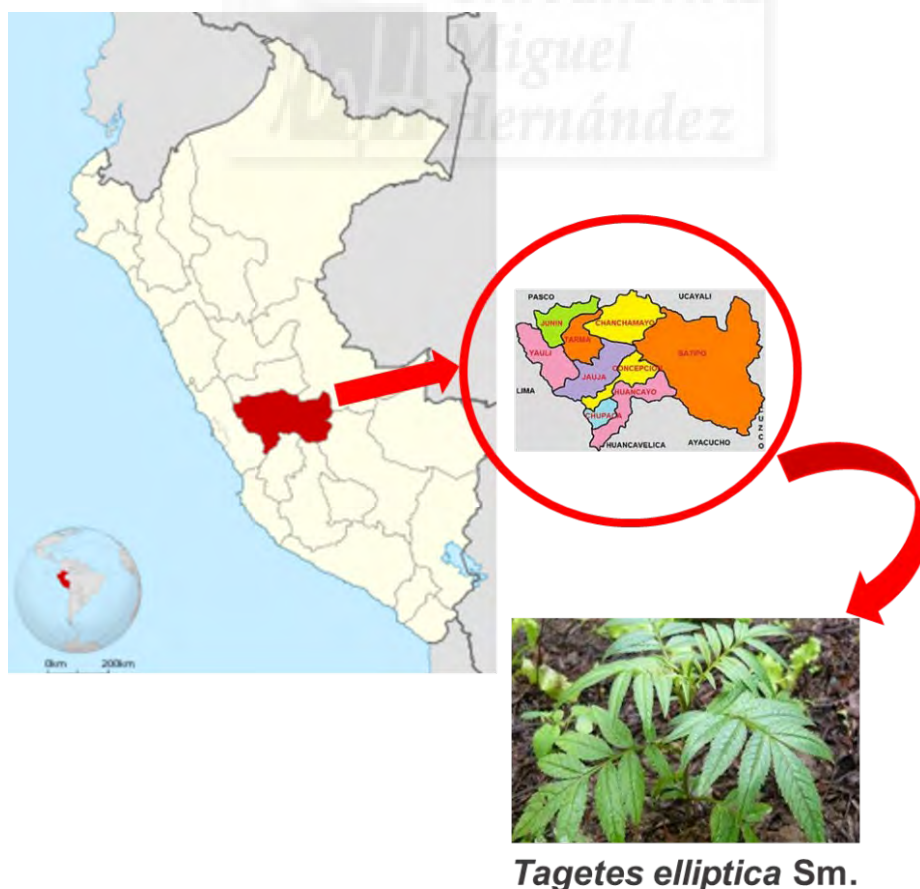


Figura 11. Lugar de recolección de la planta aromática *Tagetes elliptica* Sm.

La extracción del aceite esencial de chicho (AEC), se realizó (1) en las hojas y (2) en la mezcla de las hojas con tallo (Figura 12), en la Universidad Nacional del Centro del Perú (UNCP), obtenidas por método de arrastre con vapor de agua, los 5 Kg de hojas frescas se colocaron en un alambique de 10 L y luego se introdujo vapor vivo saturado de 2.5 L de agua hirviendo por debajo de la carga.



Figura 12. Partes de la planta de la extracción del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm.

La destilación con vapor de agua (Figura 13), se realizó en un tiempo de hora y media aproximadamente, para evitar cualquier posible rastro de agua en la extracción del aceite esencial se adicionó sulfato de sodio anhidro (Sigma-Aldrich. Bush. Suiza), luego fue almacenado a 4°C hasta su uso. El rendimiento del AEC (%) fue calculado de acuerdo a la ecuación (1):

$$\text{Rendimiento del AEC (\%)} = \frac{\text{masa de AE obtenido (g)}}{\text{masa de materia (g)}} \times 100 \dots \dots (1)$$

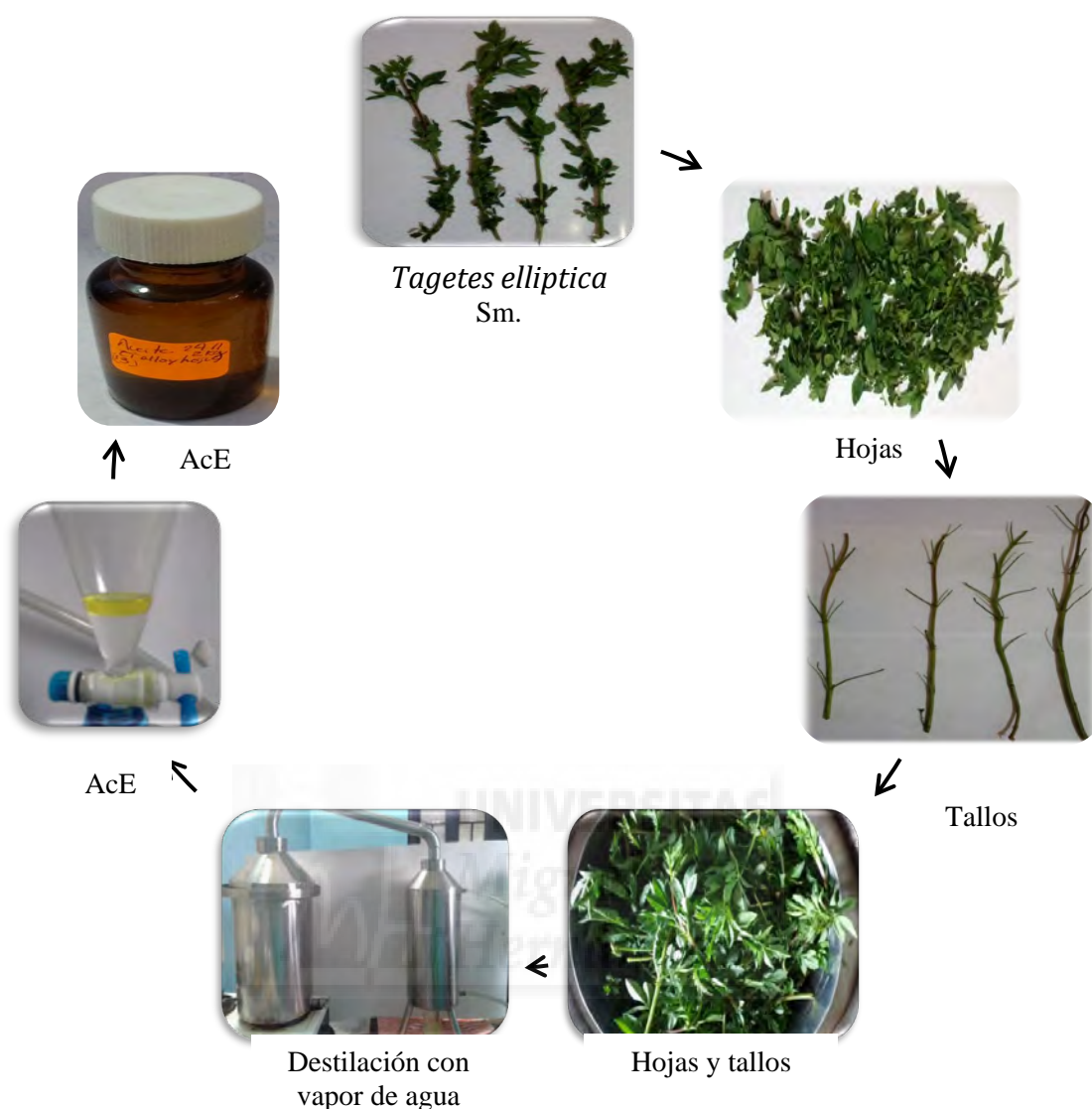


Figura 13. Extracción del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm.

4.1.2. Actividad antioxidante del chincho (*Tagetes elliptica* Sm.)

El potencial antioxidante del aceite esencial de chincho se realizó: (1) hojas y (2) en la mezcla de las hojas con tallo. Para determinar los métodos DPPH, ABTS FRAP y FIC, se utilizó un espectrofotómetro HP 8451 ((Hewlett Packard, Cambridge, Reino Unido). Este se desarrolló en el laboratorio de Industrialización de Productos de Origen Animal IPOA de la Universidad Miguel Hernández (UMH) – España.

4.1.2.1. Actividad de inhibición de radicales libres DPPH

La actividad de barrido de radicales libres DPPH se determinó por el método

Brand et al. (1995) con una pequeña modificación. Las mediciones de absorbancia se registraron a 517 nm se determinó después de 30 min. El control se determinó con la absorbancia del radical DPPH que no contiene antioxidantes. El valor PI_{50} (concentración de aceite esencial necesaria para eliminar el 50 % de los radicales libres DPPH) se determinó a partir de la curva de calibración de la actividad de eliminación de radicales libres en % frente a las concentraciones de extracto de aceite. Se realizaron tres réplicas de las mediciones y luego se calculó el promedio. El porcentaje de inhibición (PI) se calculó con la ecuación (2).

$$\% \text{ Inhibición (PI)} = \frac{(A_c - A_m)}{A_c} \times 100 \dots (2)$$

Dónde:

A_c = Absorbancia de control, A_m =Absorbancia de la muestra. La concentración inhibitoria máxima media para eliminar el 50 % de los radicales libres de DPPH (CI_{50}), se calculó gráficamente con el porcentaje de inhibición (PI) frente a la concentración de AEC.

4.1.2.2. Ensayo de inhibición de radicales 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)

El método descrito por Olajuyibe et al. (2011) con modificaciones menores fue usado para la determinación de la actividad de barrido ABTS. La absorbancia de las muestras se registró a 734 nm. Se determinó el porcentaje de inhibición y la CI_{50} del radical ABTS. El CI_{50} y el PI se determinó utilizando la misma ecuación (2).

4.1.2.3. Poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

La capacidad del extracto de aceite ensayado para reducir los iones férricos se evaluó mediante el método desarrollado por Oyaizu et al. (1986) con pequeñas modificaciones. La absorbancia de la mezcla se midió a 700 nm frente al blanco (sustituyendo la muestra por agua) luego se dejó reposar la solución durante 30 min. La FRAC de una muestra se estima en términos de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) en milimoles de Trolox/L. Se realizaron tres réplicas de las mediciones y luego se calculó el promedio.

4.1.2.4. Capacidad quelante de iones ferrosos (FIC)

El ensayo FIC se llevó a cabo según el método de Singh y Rajini (2004) con algunas modificaciones. La actividad quelante de iones ferrosos se realizó a diferentes concentraciones (5–100 mg/mL) del AEC, la absorbancia de la mezcla se midió utilizando un espectrofotómetro HP 8451, a 652 nm. Para determinar la actividad antioxidante, se realizó una curva patrón con EDTA, a diferentes concentraciones (0.005-0.01 mg/mL), y se aplicó una regresión lineal para la obtención de la ecuación de calibrado. El Efecto quelante (EC_{50}) se determinó con un gráfico entre la concentración de AEC y el (PI) en el sistema de reacción con la ecuación (3).

$$(\%)Efecto\ que\ lante = \frac{(1-A\ muestra)}{A\ blanco} \times 100 \dots (3)$$

Dónde: A_m = Absorbancia de la muestra y A_b = absorbancia de la muestra de control.

4.1.2.5. Ensayo Rancimat

La actividad antioxidante del aceite esencial de chincho se determinó utilizando el método Rancimat 743 (Methrohm. Suiza). El índice de actividad antioxidante (IAA) se calculó a partir de los periodos de inducción con la ecuación 4.

$$IAA = \frac{\text{periodo de inducción de la manteca de cerco con antioxidante}}{\text{periodo de inducción de la manteca de cerdo pura}} \dots (4)$$

Dónde: IAA = Índice de actividad antioxidante (mayor a 1 indica la inhibición de la oxidación lipídica). Cuanto mayor sea el valor mejor será la actividad antioxidante (Lalas et al., 2003).

4.1.3. Identificación de los componentes del aceite por cromatografía de gases GC-MS

Los componentes del aceite esencial de las hojas del chincho, se identificaron comparando sus espectros de cromatografía de gases con el equipo Agilent Technologies 7890 acoplado a un espectrofotómetro de masas Agilent Technologies 5975C. La muestra de aceite se diluyo con 1 L de diclorometano de grado cromatografía de gases. Se conectó una columna DB-5ms (60 m x 250 μ m, 0.25 μ m de espesor de

película) interconectada con un detector de masas cuadripolar. Se identificaron los componentes químicos con otros datos de masas espectrales evidenciados por Adams (2017). Las muestras se analizaron por triplicado.

4.1.4. Actividad antimicrobiana

4.1.4.1. Método de difusión en pocillos de agar

La actividad antibacteriana de los aceites esenciales de las hojas del chincho se evaluó mediante el método de difusión en pocillos de agar con pequeñas modificaciones Tepe et al. (2005) y se probaron tres cepas las cuales fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923TM, *Escherichia coli* ATCC 25922TM y *Salmonella infantis*. El inóculo bacteriano (100 μ L de 10^7 UFC/mL) se extendió de manera homogénea en una placa Petri de agar Mueller Hinton, luego se hicieron orificios asépticamente de 6 mm de diámetro en la superficie de agar y de cada muestra de AEC se añadieron 40 μ L a cada pocillo. Se utilizó un control positivo DMSO y las placas se incubaron durante 24 h a 37 °C. Enseguida se midieron las zonas de inhibición en mm de cada uno de los microorganismos, las cuales fueron debidamente registradas. Las pruebas fueron realizadas por triplicado.

4.1.5. Esquema experimental

El esquema experimental de la Etapa I se muestra en la Figura 14.

4.1.6. Análisis estadístico

La totalidad de los análisis se realizaron con el programa informático SPSS® IBM® Statistics 22.0.0.0. (International Business Machines Corp. Armonk. Nueva York. EE.UU.). Para el análisis estadístico los datos de la media y la desviación estándar se usaron los métodos convencionales con tres replicas. Para el análisis de la actividad antioxidante y actividad antibacteriana se analizaron mediante el procedimiento univariante GML (General Lineal Model). Para determinar en qué variables de los factores se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias se utilizó la prueba *post hoc* de Tukey ($p < 0.05$). La actividad antioxidante se analizó mediante la prueba ANOVA con un factor (concentración: 100, 80, 50, 20, 10 y 5 g/L).

Para la actividad antibacteriana se aplicó un ANOVA con el factor volumen de aceite en la concentración (40, 20, 10 y 5 μ L).



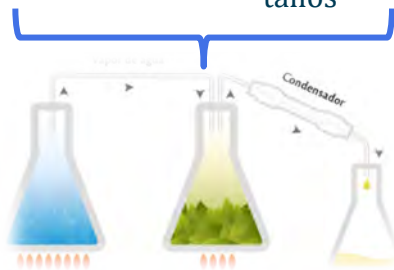
ETAPA I

MATERIAS PRIMAS



Hojas

Hojas y tallos



Extracción de aceite

TRATAMIENTOS

T₁: AEC Hojas



MÉTODOS ANÁLÍTICOS

T₂: AEC (Mezcla de hojas y tallos)



MÉTODOS ANÁLÍTICOS

Actividad antioxidante:

- DPPH
- ABTS
- FRAP
- FIC
- Rancimat

Composición química

Actividad antimicrobiana

Actividad antioxidante:

- DPPH
- ABTS
- FRAP
- FIC
- Rancimat

Figura 14. Esquema experimental de la ETAPA I – Caracterización del aceite esencial de la *Tagetes elliptica* Sm.

4.2. EMULSIONES GELIFICADAS CON ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes elliptica* Sm. CHINCHO EN HAMBURGUESAS SALUDABLES

4.2.1. Materias primas

En el presente estudio, realizado en la Planta Piloto del grupo de Innovación en Productos Alimentarios (IPOA) del El Instituto de Investigación e Innovación Agroalimentario y Agroambiental (CIAGRO-UMH) de la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH) – España, se prepararon diferentes emulsiones gelificadas con los siguientes ingredientes: harina de maca peruana orgánica (HM) (proteína 11.9%, carbohidratos 61.5%, grasa 0.7% y fibra dietética 15.1%), así como aceite de soya (AS) (48.22% ácido linoleico, ácido oleico al 30.26%, ácido palmítico al 11.07% y ácido linolénico al 5.36%) que se compraron en un supermercado local (Orihuela, España). La carne de res (72.30 % humedad, 1.85 % grasa, 24.96 % proteína y 0.87 % ceniza) y tocino dorsal de cerdo (11.20 % humedad, 75.60 % lípidos, 12.43 % proteína y 0.77 % ceniza) fueron adquiridos a un proveedor local de carnicería (Orihuela, España). Se consiguió el aceite esencial de chincho cómo se menciona en la sección 4.1.1. La gelatina de origen animal (cerdo) con 180^º Bloom se obtuvo de Sosa Ingredientes SL (Barcelona, España).

4.2.2. Preparación de emulsión gelificada (EG) de aceite en agua

Las emulsiones gelificadas se prepararon con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho según Botella-Martínez et al. (2021). Se formularon cuatro emulsiones gelificadas (EG₁, EG₂, EG₃ y EG₄) y su composición se describe en la Tabla 6. Las EG obtenidas se mantuvieron a 4 °C hasta la elaboración de las hamburguesas.

Tabla 6. Composición de las emulsiones gelificadas de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho.

Muestras	Formulaciones (%)				
	Agua	Gel instantáneo	Harina Maca	Aceite de soja	AEC
EG₁	40	5	15	40	0
EG₂	40	5	15	39.75	0.25
EG₃	40	5	15	39.5	0.5
EG₄	40	5	15	39	1

*EG₁: tocino de cerdo (TC) sustituido con harina de maca y aceite de soja; EG₂: TC sustituido con harina de maca, aceite de soja y 0.25% de aceite esencial de chincho; EG₃: TC sustituido con harina de maca, aceite de soja y 0.5% de aceite esencial de chincho; EG₄: TC sustituido con harina de maca, aceite de soja y 1.0% de aceite esencial de chincho.

4.2.3. Formulación y procesamiento de hamburguesas con emulsiones gelificadas (EG)

Se prepararon cinco formulaciones de hamburguesas de carne de res reemplazando parcialmente la grasa animal por emulsiones gelificadas preparadas con aceite de soja, harina de maca y aceite esencial de chincho (Figura 15).



Figura 15. Formulación de hamburguesas de carne de res

*HC: hamburguesa de control con una fórmula tradicional (20% de grasa de cerdo); HSM: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMCC0.25: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho, HSMC0.5: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho.

Se prepararon un total de 90 hamburguesas (18 hamburguesas por cada tratamiento), cada hamburguesa tuvo un peso aproximado de 29.5 ± 0.05 g. Para la hamburguesa de control (HC) se elaboró de manera tradicional y para los otros cuatro tratamientos se reemplazó el tocino dorsal de cerdo por una emulsión gelificada (EG₁, EG₂, EG₃ y EG₄) como se indica en la Tabla 7.

Para la elaboración de las hamburguesas las muestras se moldearon con equipos tipo industrial para obtener muestras de aproximadamente 0.90 ± 0.05 cm de espesor y 6.3 ± 0.29 cm de diámetro. Las hamburguesas se envasaron en bolsas de polietileno y se almacenó a 4 °C hasta su análisis. Se cocinaron en plancha seis hamburguesas de cada formulación a una temperatura interna de 71 °C. Tomada en el centro geométrico de cada hamburguesa a través de un termómetro tipo hipodérmico (Modelo HVP-2-21-V2-TG-48-OCT-M Omega. Stanford. CT. EE. UU.), aproximadamente por un tiempo de 2.5 min por lado.

Tabla 7. Formulación de hamburguesas de res con y sin emulsiones gelificadas de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho utilizadas como sustitutos parciales de la grasa animal.

	Tratamiento (%)				
	HC	HSM	HSMC0.25	HSMC0.5	HSMC1.0
Carne de					
ternera	80	80	80	80	80
Grasa de cerdo	20	10	10	10	10
EG ₁	0	10	0	0	0
EG ₂	0	0	10	0	0
EG ₃	0	0	0	10	0
EG ₄	0	0	0	0	10
Agua	5	5	5	5	5
Sal	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Cebolla					
deshidratada	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Ajo					
deshidratado	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Pimienta negra	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Perejil	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

TC: grasa dorsal de cerdo; EG: emulsión gelificada. Los tratamientos representan hamburguesas formuladas con. *HC: hamburguesa de control con una fórmula tradicional (20% de grasa de cerdo); HSM: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMCC0.25: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho, HSMC0.5: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho.

4.2.4. Composición proximal

Los contenidos de humedad, proteína (utilizando N × 6.25 como factor de conversión), grasa y ceniza se determinaron de acuerdo con los métodos oficiales de la AOAC (2000).

4.2.5. Perfil lipídico e índices de salud

4.2.5.1. Perfil de ácidos grasos

Para analizar el perfil de ácidos grasos se obtuvo grasa de hamburguesa a partir de 5 g de muestra (hamburguesa cruda y cocida) según la metodología de Folch et al. (1957); luego la fase lipídica se transmetiló siguiendo el método y las condiciones descritas por Golay y Moulin (2016). Los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) se separaron y cuantificaron utilizando un cromatógrafo de gases (Hewlett-Packard 6890) con detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar Suprewax 280 (30 m, 0.25 μm de espesor de película, 0.25 mm de d.i.; Tecknokroma Barcelona, España), se llevó a cabo según las condiciones cromatográficas descritas por Pellegrini et al. (2018) y expresando la concentración como g/100 g de grasa.

4.2.5.2. Índices de salud

Para evaluar la calidad nutricional de las hamburguesas se calcularon los índices de salud de las hamburguesas de res. Se obtuvo el contenido de grasa total y la composición de la grasa, medidos como contenido total de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA), y la relación de ácidos grasos n-3 y n-6, la relación PUFA y SFA. De la misma manera, las relaciones n-6/n-3 y PUFA/SFA y, el índice aterogénico (AI), el índice trombogénico (TI) y el hipocolesterolémico/hipercolesterolémico (h/H). Los cálculos se realizaron de acuerdo a las ecuaciones (5) - (7), respectivamente, desarrolladas por Ulbricht y Southgate (1991).

$$IA = \frac{C12:0+(4xC14:0)+C16:0}{\Sigma \text{ MUFA}+\Sigma \text{ n-6}+\Sigma \text{ n-3}} \quad (5)$$

$$IT = \frac{C14:0+C16:0+C18:0}{(0.5 \times \Sigma \text{ MUFA})+(0.5x \Sigma \text{ n-6})+(3x \Sigma \text{ n-3})+\left(\frac{\Sigma \text{ n-3}}{\Sigma \text{ n-6}}\right)} \quad (6)$$

$$\frac{h}{H} = \frac{C18:1n-9+C18:1n-7+\Sigma \text{ PUFA}}{C14:0+C16:0} \quad (7)$$

4.2.6. Análisis fisicoquímicos

4.2.6.1. Parámetros de color, pH y actividad del agua

Para las mediciones de color de las hamburguesas crudas y cocidas se utilizó el colorímetro Minolta CM-700 (Minolta Camera Co., Osaka, Japón) usando el modo SCI y un cristal de baja reflectancia colocado en la superficie de la muestra. Con el espacio de color CIELAB (D_{65} como iluminante y observador estándar 10°) y las coordenadas de color L^* (luminosidad), a^* (color rojo/verde) y b^* (amarillo/azul). Se aplicaron tanto las directrices de American Meat Science Association (AMSA) para la evaluación del color (AMSA, 2012) como las de Sánchez et al., (2011). Previo a las mediciones, el equipo fue calibrado siguiendo las recomendaciones del equipo (calibrar valores de placa de $L^* = 97.14$, $a^* = 0.14$ y $b^* = 2.40$). Para la determinación del color en cada experimento se tomaron seis puntos al azar de cada muestra. Las magnitudes psicofísicas tonalidad (H^*) y croma (C^*) en hamburguesas crudas y cocidas también se calcularon utilizando las ecuaciones (8) y (9), respectivamente.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (8)$$

$$H^* = \arctang\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (9)$$

Las diferencias de color total (ΔE^*) entre la muestra de control y de cada muestra reformulada se calcularon con la Ecuación (10).

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_s^* - L_c^*)^2 + (a_s^* - a_c^*)^2 + (b_s^* - b_c^*)^2} \quad (10)$$

donde s: muestra, y c: hamburguesa de res de control.

Las ecuaciones (8) -(9) se obtuvieron según Cassens et al. (1995). La actividad del agua se determinó en hamburguesas crudas con un higrómetro electrolítico (Novasina TH-500, Novasina, Pfaeffikon, Suiza) a 22°C . El pH de las muestras se midió con un medidor de pH portátil digital usando una sonda de penetración en diferentes sitios de las hamburguesas crudas y cocidas utilizando un medidor de pH Crison modelo 510, (Barcelona, España).

4.2.7. Análisis de perfil de textura

El análisis del perfil de textura (TPA) se realizó en seis réplicas en hamburguesas cocidas. Las pruebas se realizaron en un analizador de textura TA-XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Inglaterra). Se obtuvieron muestras cúbicas de (2 × 2 × 2 cm) para muestras frescas y cocidas, respectivamente. Las muestras se comprimieron al 75 % de su altura original con una sonda cilíndrica de 10 cm de diámetro a una carga de compresión de 25 kg con una velocidad constante de 1 mm/s a 15-20 °C. Se calcularon los siguientes parámetros: dureza (N), elasticidad, cohesión y masticabilidad (N) (Claus, 1995).

4.2.8. Propiedades tecnológicas durante el cocinado

Las propiedades tecnológicas durante el cocinado, se determinaron utilizando la metodología descrita por Botella et al. (2017) donde tres muestras de hamburguesas para cada tratamiento. Se pesaron hamburguesas de cada lote a temperatura ambiente y se midieron sus diámetros; estos procedimientos se repitieron después del cocinado. La reducción de diámetro, el aumento de grosor y pérdida por cocción se calcularon de acuerdo con las Ecuaciones (12) -(14).

$$(\%) \text{Encogimiento} = \frac{(\text{diámetro crudo} - \text{diámetro cocido})}{(\text{diámetro crudo})} \times 100 \quad (12)$$

$$(\%) \text{Aumento de grosor} = \frac{(\text{grosor cocido} - \text{grosor crudo})}{(\text{grosor cocido})} \times 100 \quad (13)$$

$$(\%) \text{Pérdida de cocción} = \frac{(\text{peso crudo} - \text{peso cocido})}{(\text{peso crudo})} \times 100 \quad (14)$$

4.2.9. Estabilidad Oxidativa

La evaluación de la estabilidad lipídica se realizó en hamburguesas crudas y cocidas mediante la medición de sustancias reactivas al ácido 2- Tiobarbitúrico (TBARs) siguiendo el método propuesto por Rosmini et al. (1996). El valor de TBARs se calculó a partir de una curva estándar de malonaldehído (MDA) expresada como mg de MDA/kg de muestra.

4.2.10. Análisis sensorial

El análisis sensorial se realizó siguiendo la metodología por Botella et al. (2022). Un total de 15 panelistas no entrenados entre estudiantes y miembros del personal de la Universidad Miguel Hernández (Orihuela, España), 6 hombres y 9 mujeres de entre 18 y 59 años, que no habían recibido formación en el análisis sensorial de hamburguesas. Se realizó una prueba de aceptación de los atributos evaluados en hamburguesas cocinadas en plancha a temperatura ambiente y cortadas en trozos de aproximadamente 2 cm x 2 cm. Las muestras se sirvieron a los panelistas en platos de plástico codificados con tres dígitos aleatorios. Al principio de las sesiones se proporcionó agua mineral (a temperatura ambiente) y pan tostado para limpiar el paladar y eliminar los sabores residuales. Cada panelista evaluó todas las fórmulas en orden aleatorio y se le pidió que asignara un valor numérico entre 1 y 9 a los atributos de: aspecto general, color, sabor, dureza, jugosidad y sabor general de las hamburguesas de ternera, donde el panelista representaba el valor de preferencia (1 = la muestra no le gustaba nada y 9 = la muestra le gustaba mucho) (Anexo 1).

4.2.11. Esquema experimental

En la Figura 16 se muestra el esquema experimental de la Etapa II.

4.2.12. Análisis estadístico

Los datos experimentales se expresaron como media \pm desviación estándar de tres mediciones repetidas por muestra (cinco tratamientos). El análisis estadístico de la composición química, propiedades fisicoquímicas y de cocción fue determinada mediante análisis de varianza de una vía (ANOVA). La estabilidad oxidativa se analizó con una prueba ANOVA de dos vías con dos factores: tratamiento térmico (dos niveles: crudo o cocido) y tratamientos (cinco niveles: HC, HSM, HSMC0.25, HSMC0.5 y HSMC1.0). Para las comparaciones de medias se aplicó la prueba *post hoc* de Tukey con una significancia estadística a un nivel de ($p < 0.05$). En todos los análisis estadísticos se utilizó el software SPSS® IBM® Statistics 22.0.0.0. (International Business Machines Corp., Armonk, Nueva York, NY, EE. UU.).

ETAPA II

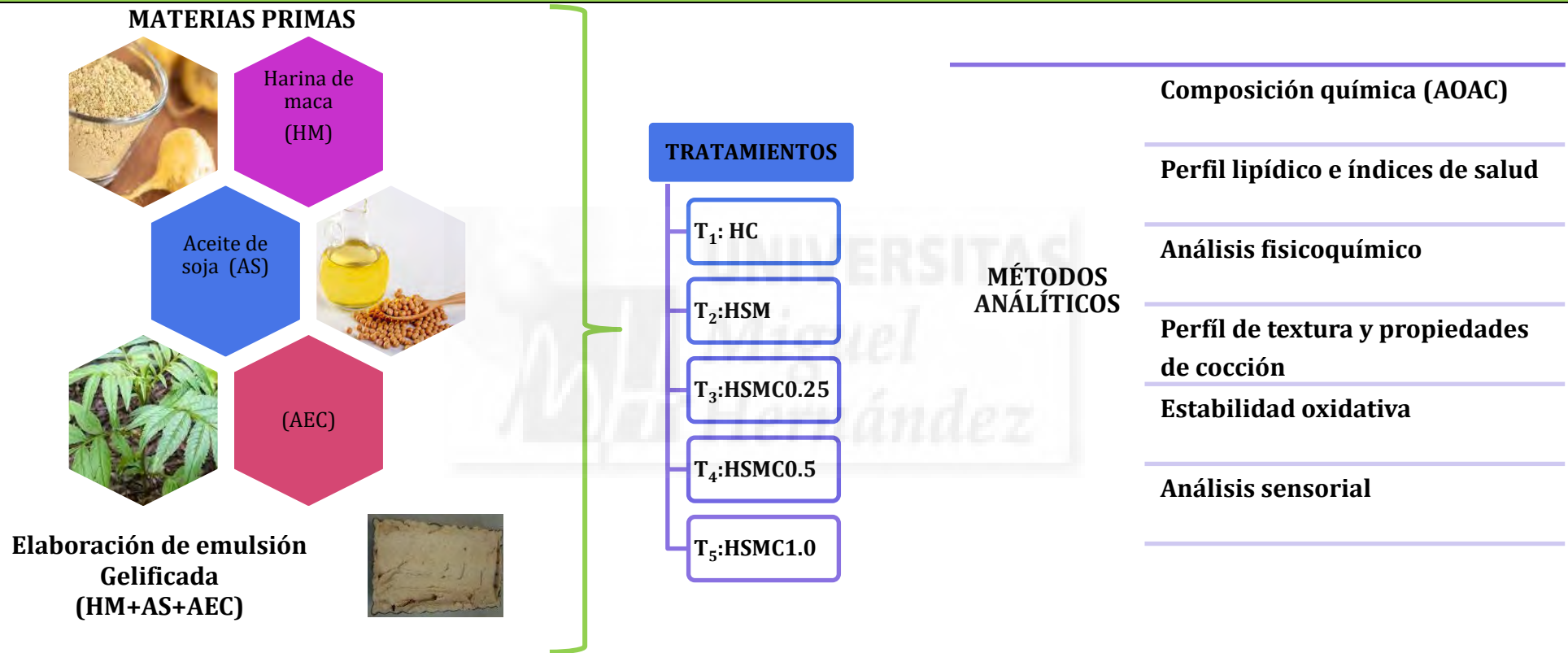


Figura 16. Esquema experimental de la ETAPA II-Elaboración de hamburguesas de res.

4.3. ACEITE ESENCIAL DE CHINCHO EN CHOCOLATERÍA

4.3.1. Materias primas

Como materias primas se utilizaron los siguientes ingredientes: chocolate de 52 % de cacao puro para fundir (la tableta de chocolate se almacenó a 8°C durante las pruebas), nata líquida (35 % Materia Grasa), cacao puro en polvo, harina de maca y ron de caña; todos los ingredientes fueron comprados en un supermercado local (Orihuela, España). El aceite esencial (AEC), se extrajo por el método de destilación directa al vapor de hojas de chincho como indica en el apartado 3.1.1 y la harina de dátil se pudo obtener a través de la valorización de los co-productos de la industria de dátil y a partir de trabajos desarrollados por Muñoz-Bas et al. (2022). Los dátiles en estado de maduración Routab/Tamar) fueron adquiridos en un proveedor local (Todo Palmera, Elche, España) y las características de los mismos fueron comprobados por el personal de la Cátedra Palmeral d'Elx y del Proyecto VALORACV (Programa AGROALNEXT 059/2022).

4.3.2. Formulación y preparación de trufas de chocolate

Se prepararon cuatro formulaciones de trufas de chocolate. Para la formulación control (C) se utilizó la fórmula tradicional, mientras que para las otras tres formulaciones se adicionó el aceite esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) y ron, tal y como se indica en la Tabla 8.

Para cada formulación se elaboró un total de 15 unidades de trufas, con un total de 60 unidades y un peso aproximado de 5.4 ± 0.04 g por cada una. La preparación consistió en fundir la barra de chocolate en baño María a 40° C por un tiempo aproximado de 8 min., luego se añadió la nata, harina de maca, harina de dátil y todos los ingredientes fueron mezclándose; también se adicionó el aceite de esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) junto con el ron. Por último, se adicionó el cacao desgrasado, en polvo, al finalizar para favorecer la formación de las trufas de chocolate y que éstas, puedan absorber el exceso de humedad externa. Éstas fueron envasadas en bolsas y almacenadas a 4°C para su posterior análisis.

Tabla 8. Formulación de trufas de chocolate adicionadas con aceite esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) y ron de caña.

	Formulaciones (%)			
	Control	F ₁	F ₂	F ₃
Cacao en barra	64.36	56.86	56.22	55.23
Nata líquida	27.58	24.37	24.09	23.67
Cacao en polvo	7.13	6.99	6.02	5.70
Ron de caña	0.00	8.93	8.83	8.68
Harina de maca (HM)	0.00	2.03	4.02	5.92
Harina de dátil (HD)	0.92	0.81	0.80	0.79
AEC	0.00	0.02	0.02	0.02

C: control (cacao en barra, nata líquida, cacao en polvo y harina de dátil); T₁: (C+2.5% HM + AEC + ron); T₂: (C+5% HM + AEC + ron); T₃: (C+7.5% HM + AEC + ron).

4.3.3. Composición proximal

Se determinó el contenido de humedad, proteína (utilizando $N \times 6,25$ como factor de conversión), grasa y ceniza; el análisis se llevó a cabo con los procedimientos descritos en el Apartado 4.2.4.

4.3.4. Análisis fisicoquímicos

4.3.4.1. Color

El color de las trufas de chocolate se evaluó siguiendo los métodos de los apartados 4.2.6.1.

4.3.4.2. pH

El pH de las trufas de chocolate se determinó con un medidor de pH portátil digital usando una sonda de penetración en diferentes sitios de las trufas utilizando un medidor de pH Crison modelo 510 (Barcelona, España).

4.3.4.3. Aw

La actividad de agua de las trufas de chocolate se evaluó usando un higrómetro

electrolítico (Novasina TH-500, Novasina, Pfaeffikon, Suiza) a una temperatura de 22 °C.

4.3.4.4. Esquema experimental

El esquema experimental de la Etapa III se muestra en la Figura 17.

4.3.4.5. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS (IBM) Statistics 22.0.0.0. (International Business Machines Corp., Armonk, Nueva York, NY, EE. UU.). Para analizar y comparar las diferentes formulaciones se utilizó ANOVA unidireccional, seguido de la prueba *post hoc* de Tukey para comparar las medias y determinar con ello, si se presentaban diferencias significativas. Los resultados se consideraron con niveles de significación con un valor $p < 0.05$. Y los análisis se realizaron por triplicado.



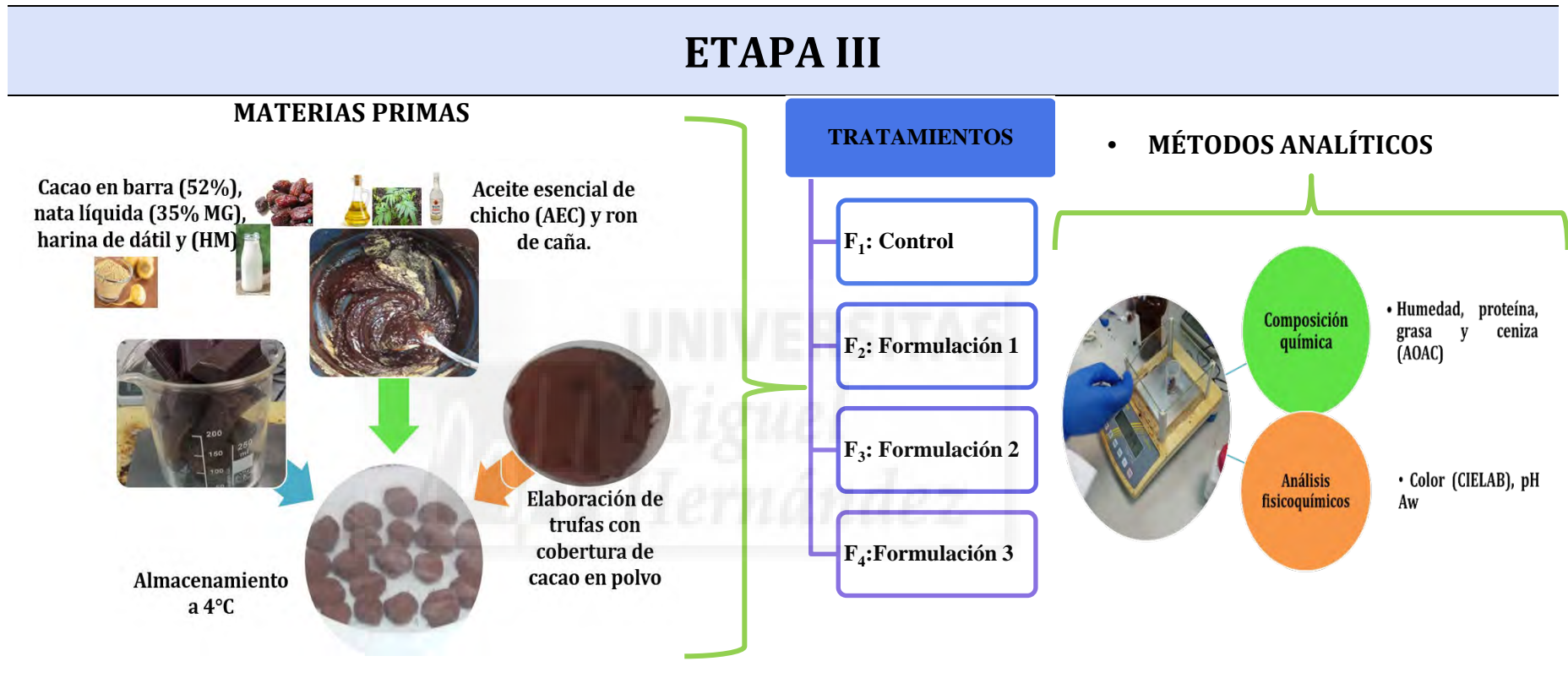


Figura 17. Esquema experimental de la ETAPA III – Formulación y preparación de trufas de chocolate.



CAPÍTULO 5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se muestra los resultados más resaltantes de la investigación. Los cuales se presentan en tres secciones.

5.1. ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes elliptica* Sm (CHINCHO)

5.1.1. Extracción y rendimiento del aceite esencial de chincho (i) hojas y (ii) mezcla de hojas y tallos

Un total de 13720 g de hojas y 2000 g de hojas con tallo fueron destiladas con el propósito de aislar el aceite esencial, el cual era de color amarillo claro brillante con olor intenso y agradable (Tabla 9). El rendimiento del aceite esencial registrado de hojas fue de $(2.23 \pm 0.02 \%$ p/p) y de las hojas con tallo fue de $(0.15 \pm 0.01 \%$ p/p), este difiere en las hojas y hojas con tallo debido a las variaciones fisiológicas de la planta (Moghaddam et al., 2021; De La Torre et al., 2017) (Figura 18). Por otro lado, Lahyaoui et al. (2025) menciona que en la actualidad la parte más utilizada de la planta son las hojas secas (70 %), seguido de las hojas frescas (39 %), como fue el caso en este estudio, además; el uso de cada parte de la planta se debe al conocimiento tradicional de cada región. En nuestro estudio es favorable el uso de esta planta debido a la abundancia en el territorio nacional. Por otro lado, la cantidad y calidad del aceite dependerá de la biosíntesis (Aqeel et al., 2023).

Tabla 9. Rendimiento de aceite esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm) de (i) hojas y (ii) mezcla de hojas con tallo.

	Peso hojas (g)	Aceite (ml)	Densidad (g/ml)	Masa (g)	Rendimiento	% n
Hojas	13720	34.93	0.8842	30.89	0.0023	0.23 ± 0.02
Tallo y hojas	2000	3.4	0.8842	3.01	0.0015	0.15 ± 0.01

*n: Rendimiento

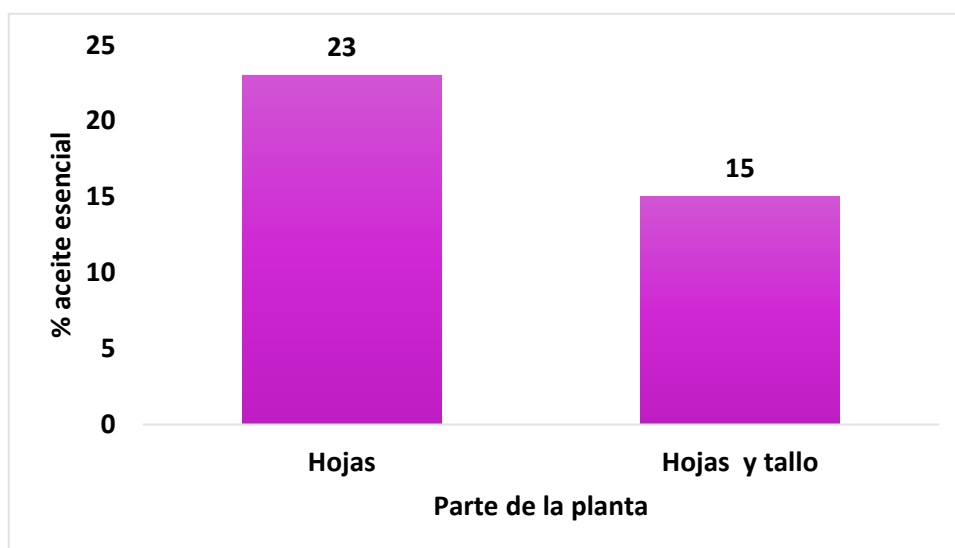


Figura 18. Rendimiento de aceite esencial de chincho de hojas y mezcla de hojas con tallo.

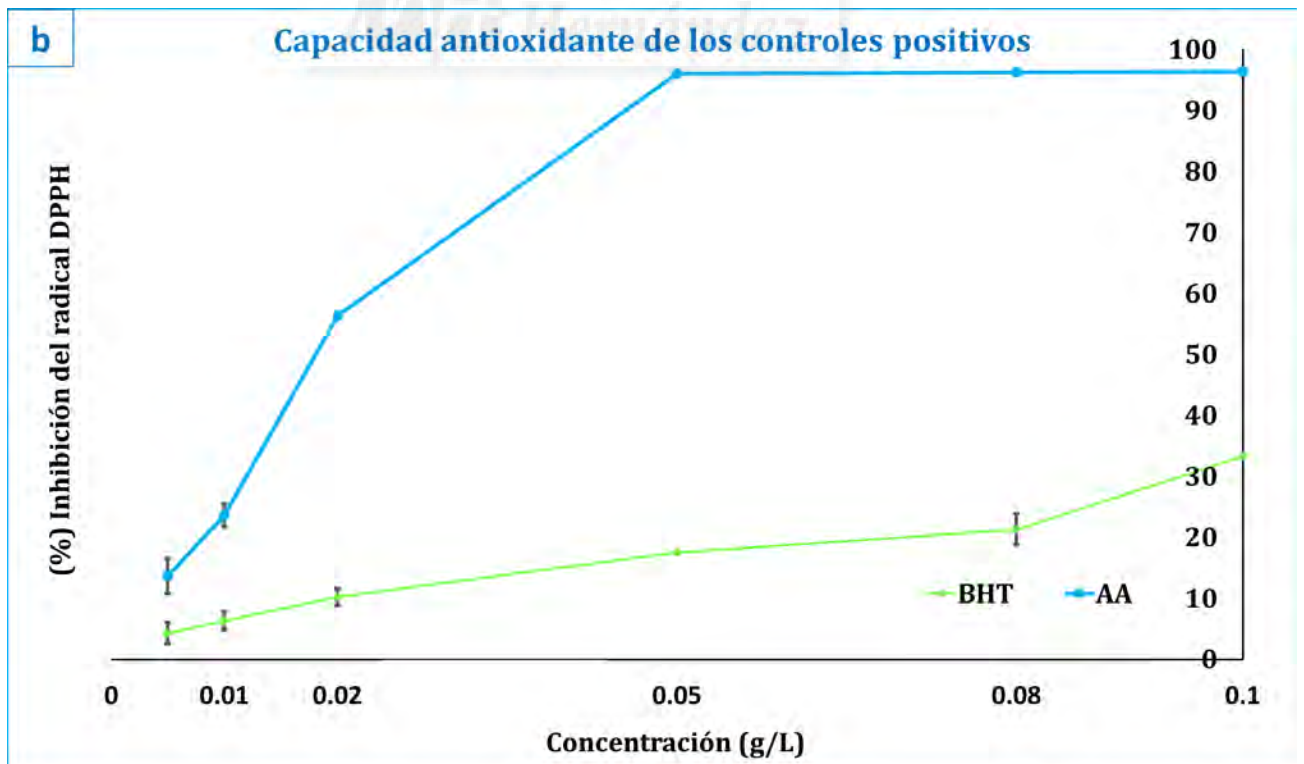
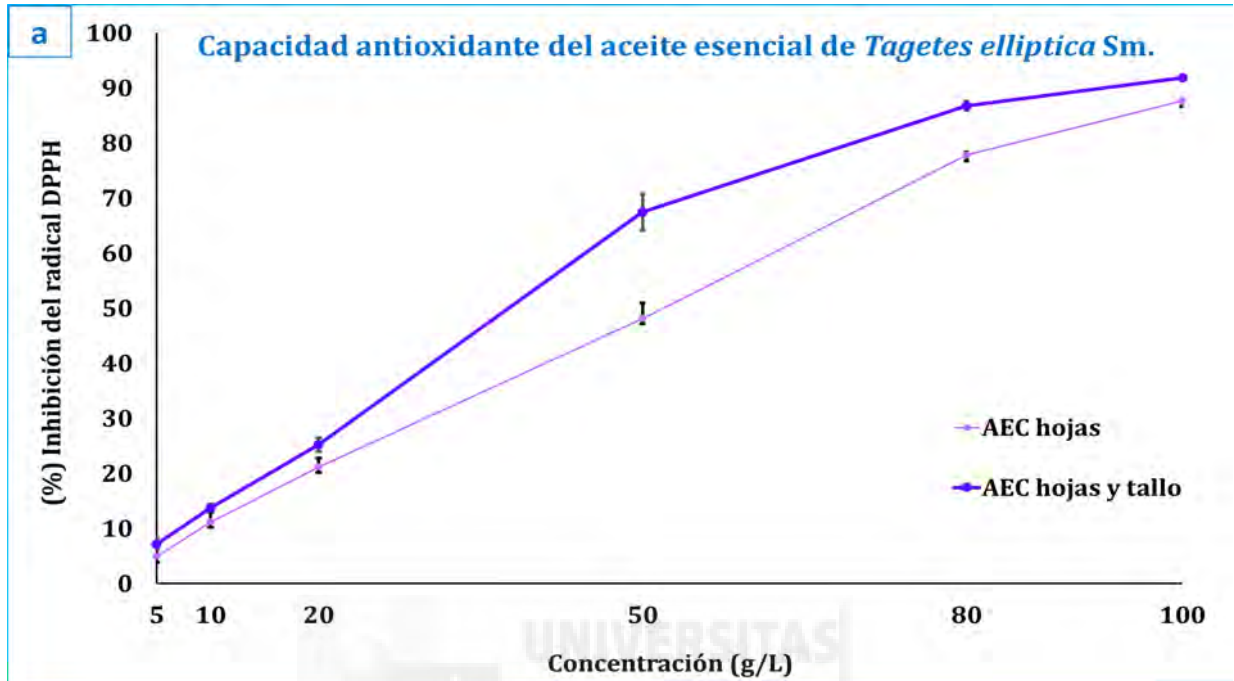
5.1.2. Actividad antioxidante del aceite esencial de hojas de chincho

5.1.2.1. Capacidad de eliminación de radicales libres del DPPH

Para determinar la capacidad antioxidante de eliminación de radicales libres por el método de DPPH, se tuvo que hacer diluciones para compararlos con los controles de BHT y AA, los controles se diluyeron 1.000 veces la concentración inicial. La actividad antioxidante en el aceite esencial de chincho de las hojas y de la mezcla de las hojas con tallo (Figura 19a) redujeron el radical libre lo que indica que eliminaron los radicales DPPH a diferentes concentraciones (5-100g/L) y sus controles positivos (Figura 19b) (BHT y AA). Entre las muestras de aceite de chincho el porcentaje de inhibición ($p < 0.05$) del radical DPPH presento valores de 87.63 % (hojas), 91.86% (mezcla de hojas con tallo) y en los controles positivos, BHT y ácido ascórbico (33.21 % y 96.33 %) a una concentración de 100 g/L.

Por otro lado, se determinó el CI_{50} (Figura 19c) contra DPPH del aceite esencial de chincho con valores de 53.37 g/L (hojas) y 45.57 g/L (hojas con tallo); estos valores fueron superiores a los descritos por Ruiz et al., (2011) en la misma especie de *Tagetes elliptica*. Sin embargo, la actividad de eliminación de radicales libres en el aceite esencial de chincho fue menor que los reportados por los controles como BHT

y ácido ascórbico contra DPPH que evidencio valores de 0.17 g/L y 0.02 g/L; respectivamente (EL BHT y ácido ascórbico tuvieron que diluirse 1.000 veces la concentración inicial).



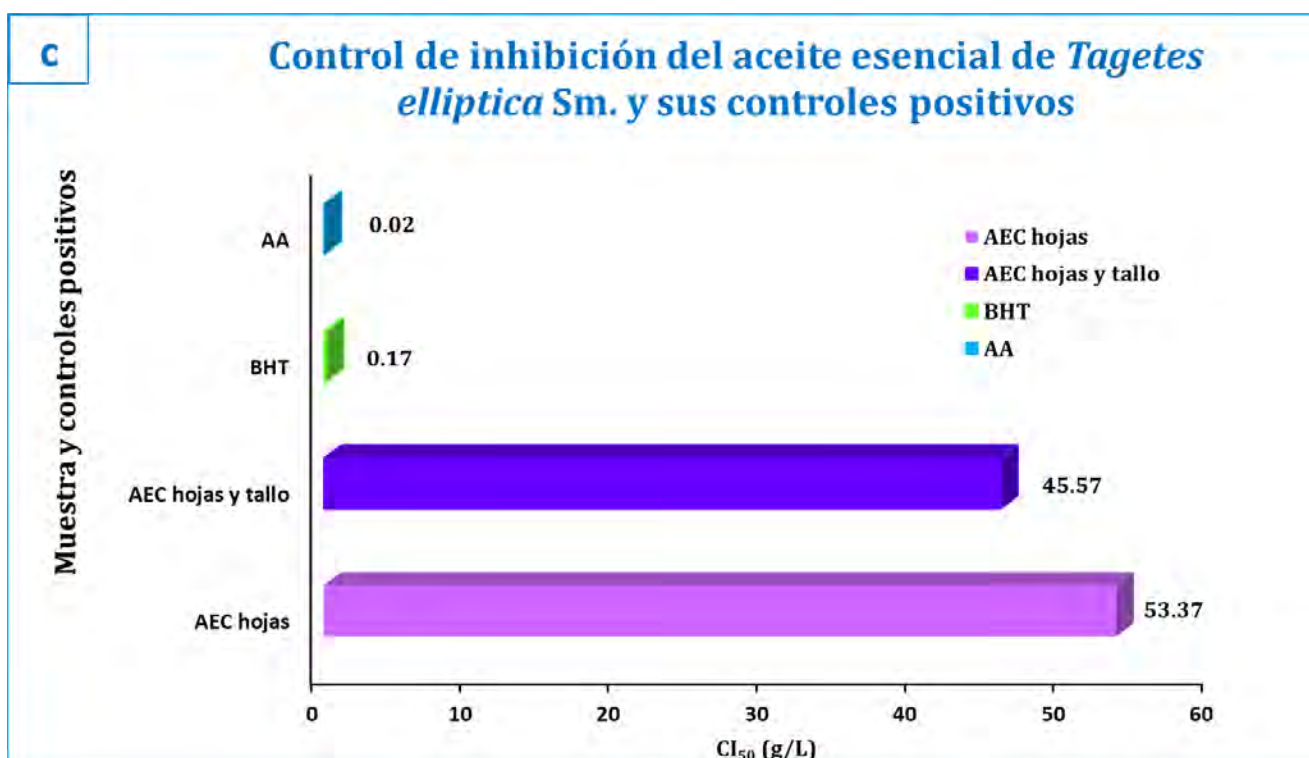


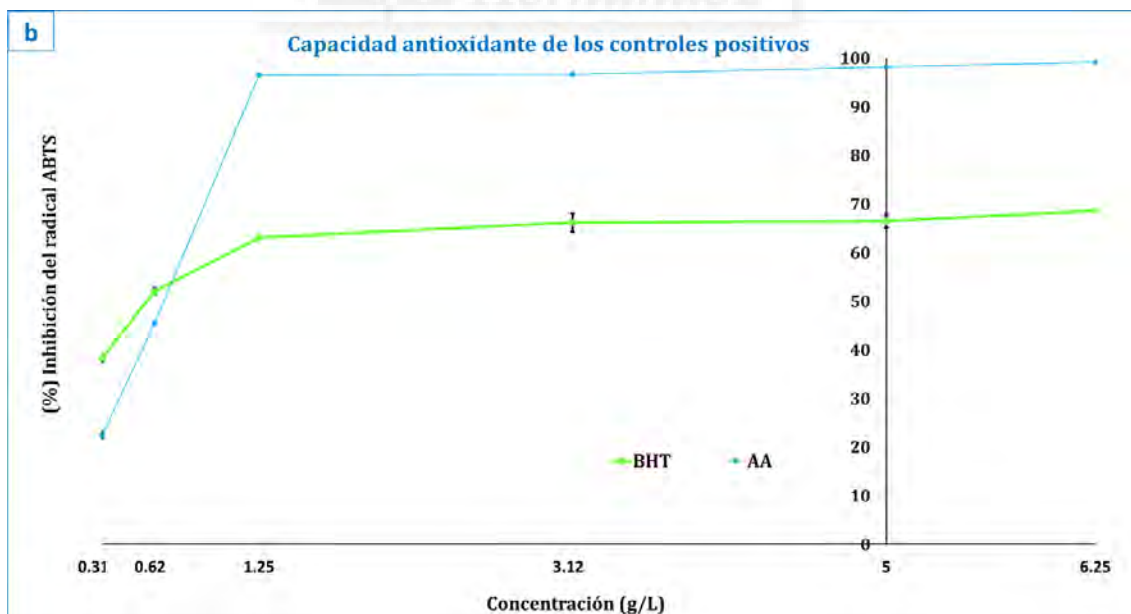
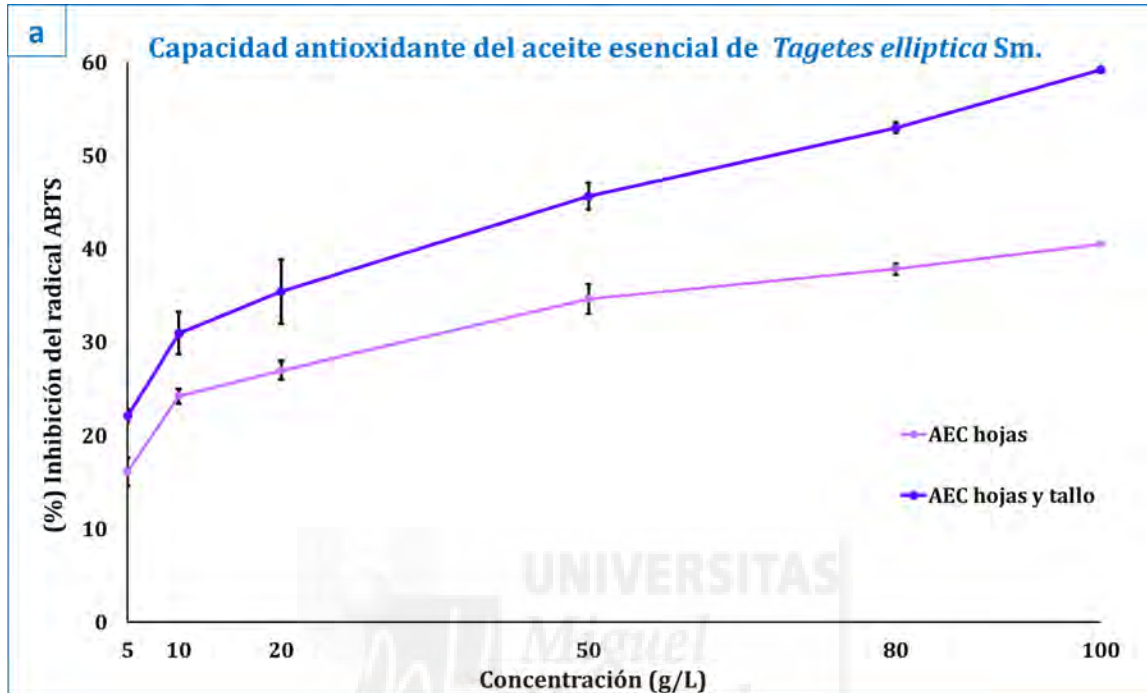
Figura 19. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la *Tagetes elliptica* Sm., (b) controles positivos y (c) CI₅₀ de toda las muestras medida por el método DPPH.

Cada valor se expresó como media \pm DE, n=3. Los valores seguidos de la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) según la prueba de rangos múltiples de Tukey. * CI₅₀ significa concentración (g/L) para una inhibición del 50%. *BHT: Butilhidroxitolueno, *AA: Ácido ascórbico.

5.1.2.2. Ensayo de eliminación de radicales 2, 20-Aazino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS)

En la Figura 20, se enumera la actividad de eliminación de los radicales ABTS del aceite esencial de chincho y los controles positivos (BHT y ácido ascórbico). En los aceites esenciales se evidenció ($p < 0.05$) una actividad significativa de barrido de radicales libres ABTS en el aceite esencial de chincho en las hojas (40.49 %) que fue menor que en la mezcla de las hojas con tallo (59.24 %) (Figura 20a) y en los controles positivos, BHT y ácido ascórbico (68.61 %) y (99.18 %) (Figura 20b), a una concentración de 100 g/L; respectivamente. Además, en los aceites esenciales de chincho se determinó actividad de barrido de radicales ABTS del CI₅₀ (Figura 20c) con valores de 134.39 ± 2.16 g/L (hojas) y 69.05 ± 1.62 g/L (hojas con tallo), estos resultados fueron superiores a los descritos por Huarac-Aparco et al., (2022). Sin

embargo, la actividad de eliminación de radicales libres en el aceite esencial de chincho fue menor que los reportados por los controles como BHT y ácido ascórbico contra ABTS que evidencian valores de 0.62 ± 0.07 g/L y 0.59 ± 0.02 g/L; respectivamente.



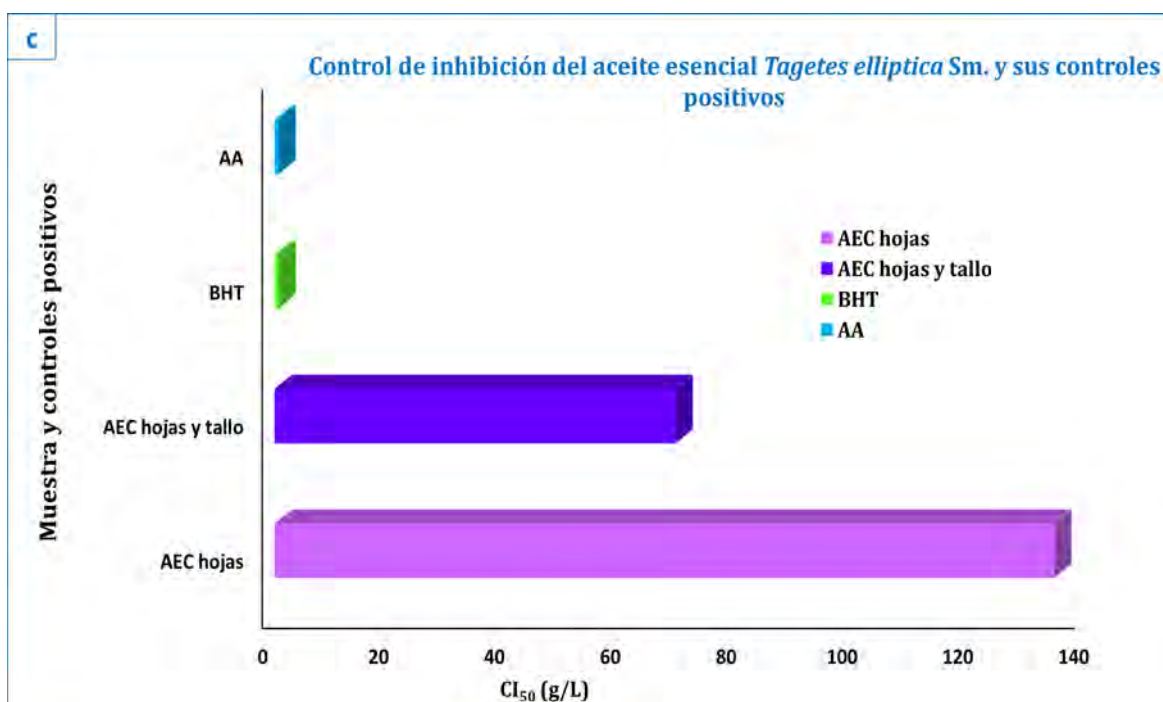


Figura 20. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la *Tagetes elliptica* Sm., (b) controles positivos y (c) CI₅₀ de toda las muestras medida por el método ABTS.

Cada valor se expresó como media \pm DE, n=3. Los valores seguidos de la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) según la prueba de rangos múltiples de Tukey. * CI₅₀ significa concentración (g/L) para una inhibición del 50%. *BHT: Butilhidroxitolueno, *AA: Ácido ascórbico.

El BHT y ácido ascórbico tuvieron que diluirse 1.000 veces la concentración inicial. La capacidad de barrido de radicales ABTS del aceite esencial de chincho de hojas y de la mezcla de hojas con tallo presentó el siguiente orden descendente: BHT > AA > AEC con diferencias significativas ($p < 0.05$).

5.1.2.3. Capacidad quelante de iones ferrosos (FIC)

Los resultados incluidos en la Figura 21, mostraron que en el método mediante el ensayo de quelación de hierro ferroso EDTA, control positivo, fue necesario diluir 250 veces en referencia a las diluciones de ABTS y DPPH como estudios evidenciados por An et al. (2018). Los aceites esenciales de chincho exhibió el poder antioxidante en el ensayo de quelación de iones ferrosos en las hojas y en la mezcla de las hojas con tallo (Figura 21a), con valores de $(40.88 \pm 0.98 \%)$ y $(39.53 \pm 1.54 \%)$ a una concentración de 25 (g/L); mientras que el control positivo EDTA (Figura 21b) alcanzó altos niveles de quelación de iones ferrosos a mayor concentración (0.10 g/L)

con un porcentaje de inhibición ($80.22 \pm 1.82 \%$).

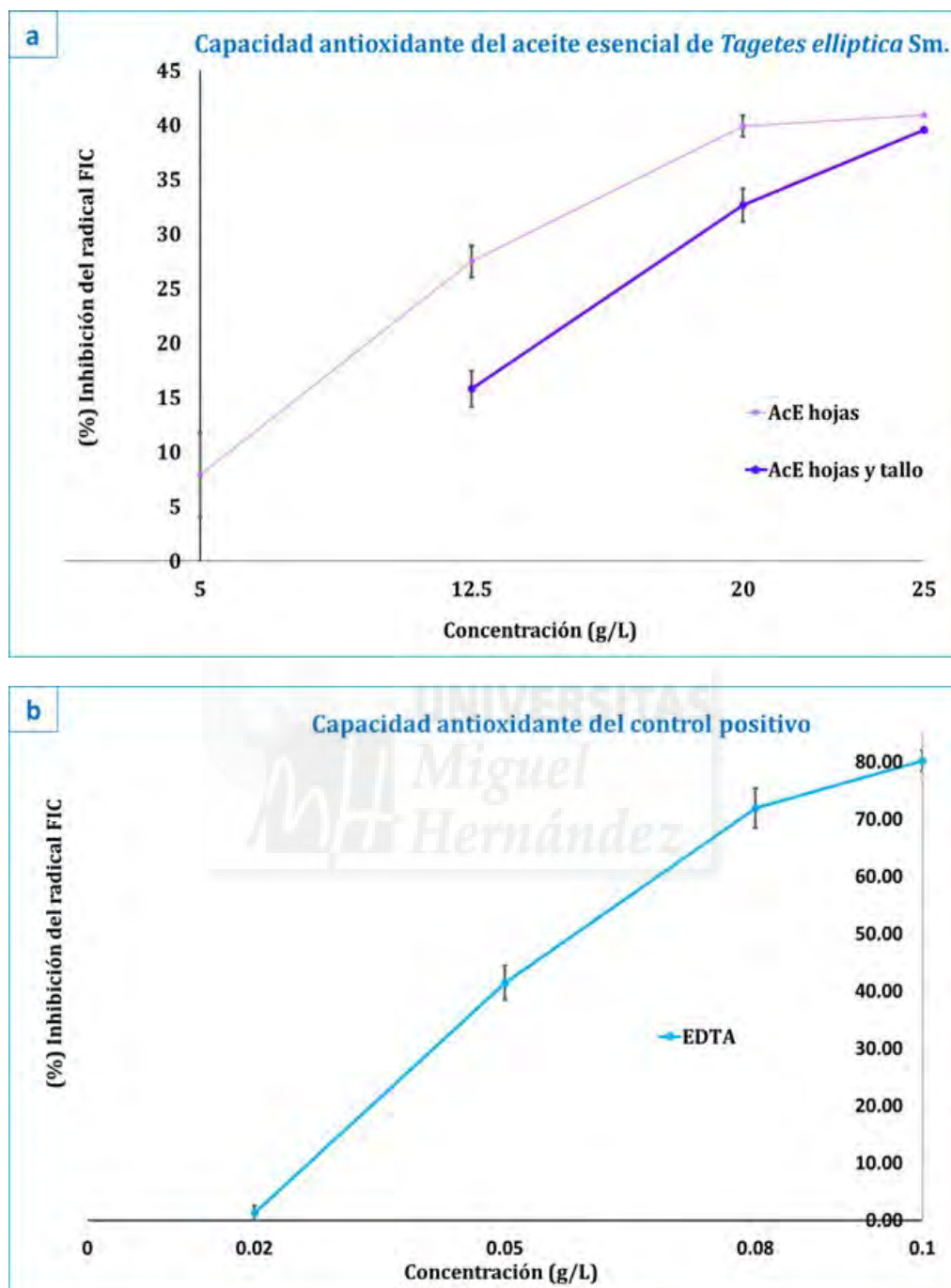


Figura 21. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la *Tagetes elliptica* Sm. y (b) controles positivos mediante el ensayo FIC.

Cada valor se expresó como media \pm DE, n=3. Los valores seguidos de la misma letra dentro de la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) según la prueba de rangos múltiples de Tukey. *EC₅₀ significa concentración (g/L) para un efecto quelante del 50%.

Por otro lado, se determinó el EC_{50} (g/L), con valores de 25.72 ± 0.80 g/L (hojas) y 27.73 ± 0.62 g/L (hojas con tallo). Sin embargo, la actividad de eliminación de radicales libres en el aceite esencial de chincho fue menor que los reportados por el control EDTA que evidencio valores de 0.06 ± 0.00 g/L.

5.1.2.4. Poder antioxidante férrico reductor (FRAP)

El ensayo FRAP sirve para determinar la actividad reductora férrica de las muestras de alimentos frente a las consecuencias oxidativas de las especies reactivas del oxígeno (Müller et al., 2010). Los poderes reductores del aceite esencial de chincho se observan en la Figura 22. El aceite esencial proveniente de las hojas (8.73 m mol/L Trolox) mostraron el mayor poder reductor seguido del control positivo BHT (7.97 ± 0.21 m mol/L Trolox) y el aceite esencial de la mezcla de hojas y tallos (7.97 ± 0.21 m mol/L Trolox) (Figura 22a).

Para el caso del otro control positivo ácido ascórbico (Figura 22b) se diluyeron 5 veces la concentración inicial y evidenció valores de (0.67 ± 0.05 m mol/L Trolox) quien mostró la actividad antioxidante más fuerte seguido del aceite esencial de las hojas y aceite esencial de la mezcla de hojas y tallo.

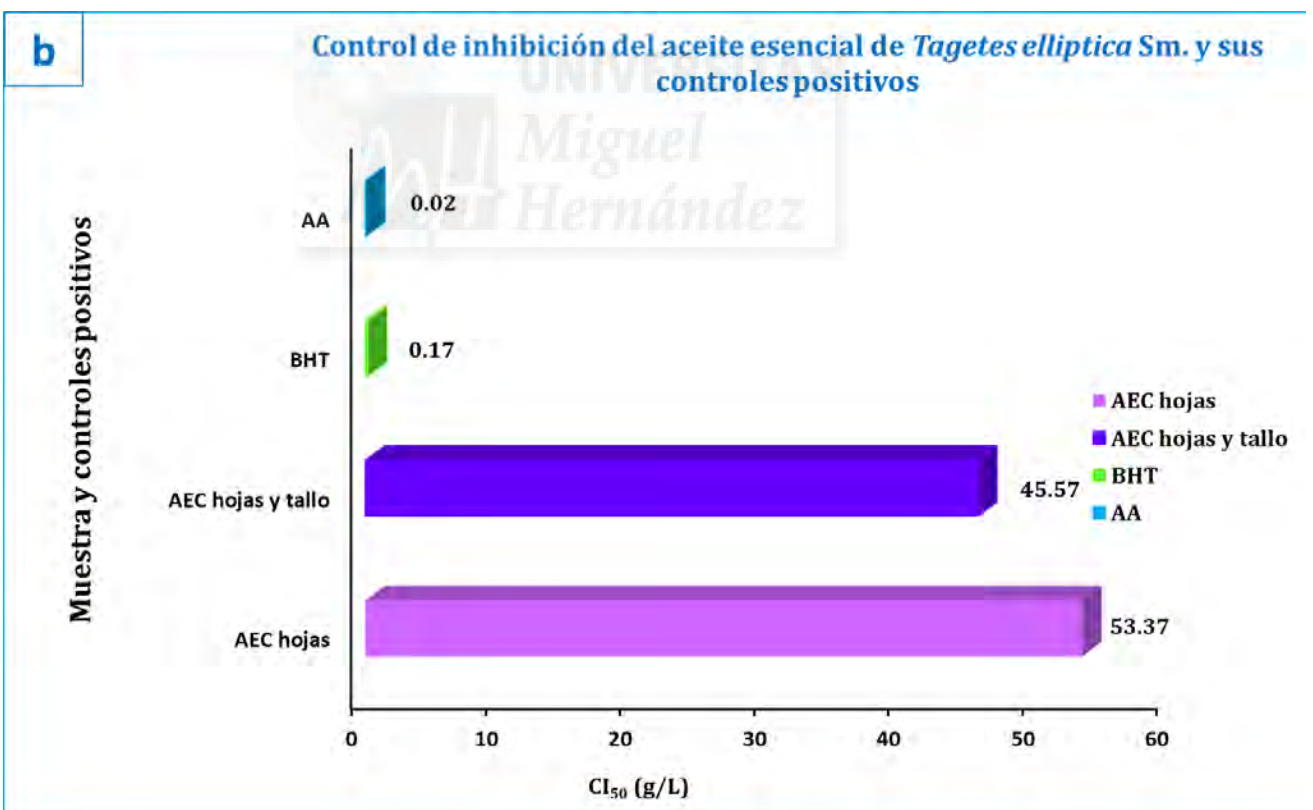
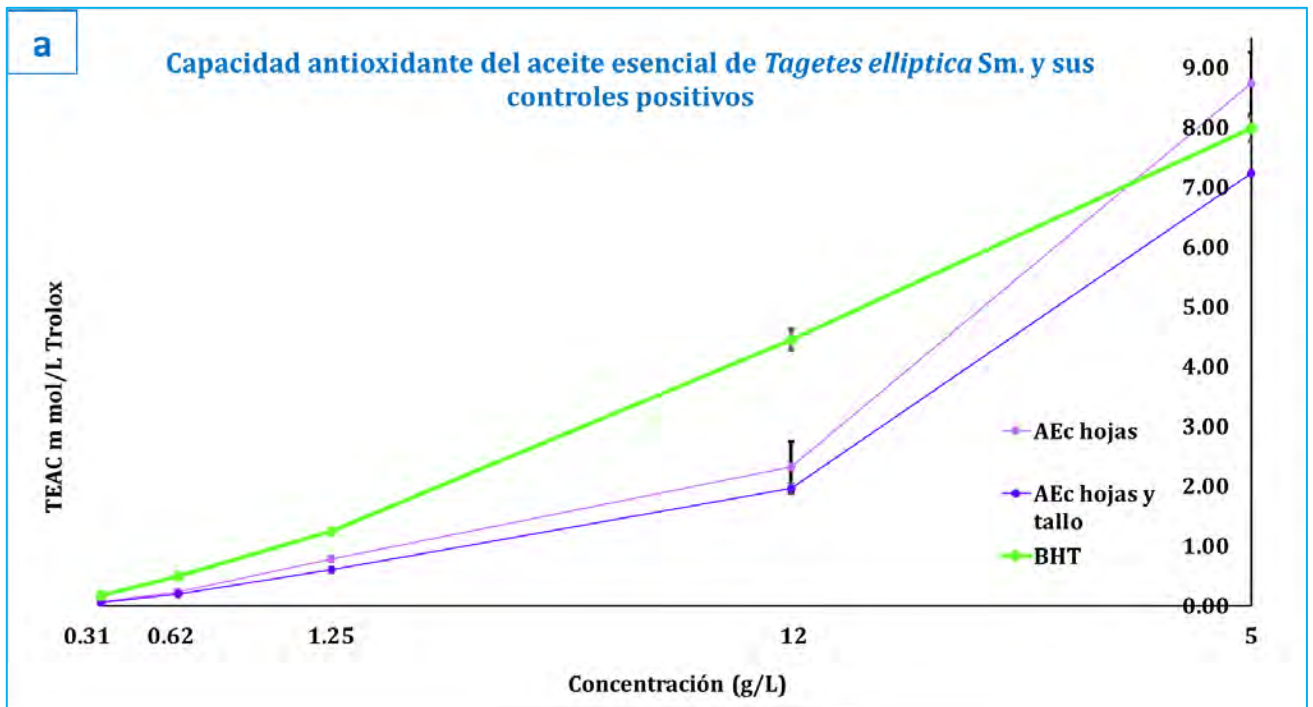


Figura 22. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la *Tagetes elliptica* Sm. y (b) controles positivos mediante el ensayo FRAP.

5.1.2.5. Ensayo Rancimat

El ensayo Rancimat permite determinar los tiempos de inducción, en los aceites esenciales de chincho en las hojas (0.84 ± 0.03) y de la mezcla de hojas con tallos (0.93 ± 0.03) tienen el índice de actividad antioxidante (IAA) muy similares a una concentración de (100g/L), lo que puede ser una alternativa valiosa en la industria como agente antioxidante frente a otras especies. Se evidenció que el IAA de la muestra del aceite esencial de la mezcla de las hojas con tallo tiene mayor poder antioxidante que el aceite esencial de las hojas, y que ambas son prooxidantes a concentraciones mayores de 50 g/L, estos resultados concuerdan con los descritos por Kong et al., (2022) y Poma et al., (2018) (Figura 23).

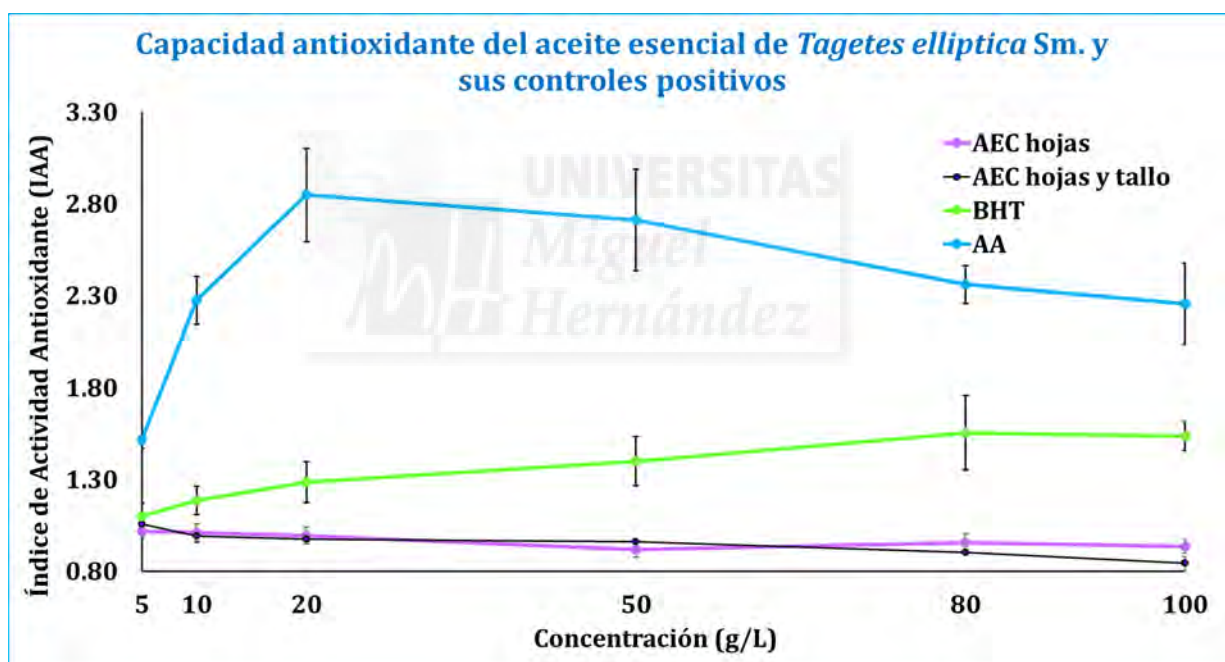


Figura 23. Capacidad antioxidante de los (a) AE de la *Tagetes elliptica* Sm. y (b) controles positivos mediante el ensayo RANCIMAT.

5.1.3. Composición química por GC-MS del aceite esencial de chincho.

En la Tabla 10, se muestra la composición química del aceite esencial de chincho, determinada por GC-MS del aceite esencial solo de las hojas de chincho. Se consideró evaluar la composición química solo del aceite esencial de chincho de las hojas por tener un mayor rendimiento, frente al aceite esencial de la mezcla de las

hojas con tallo. Se identificaron 27 compuestos en el aceite esencial de chincho (hojas), de los cuales el compuesto mayoritario fue la tagetenona (56.11 %).

Tabla 10. Composición química del aceite esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm.).

No	Componentes	T _r ^a	Área (%)
1	α -Pino	13.28	0.66 ± 0.01
2	β -Mirreno	14.53	0.87 ± 0.02
3	β -Pino	14.91	0.62 ± 0.02
4	α -Felandreno	15.62	1.71 ± 0.04
5	β -trans-Ocimeno	16.40	4.66 ± 0.11
6	β -Felandreno	16.46	0.22 ± 0.01
7	Eucaliptol	16.51	0.47 ± 0.01
8	Dihidrotagetona**	16.98	14.38 ± 0.21
9	β -Linalool	18.48	0.45 ± 0.01
10	Desconocido (C ₁₀ H ₁₄ O)	18.88	0.50 ± 0.01
11	Desconocido (C ₈ H ₁₆ O)	18.97	3.62 ± 0.04
12	Desconocido (C ₈ H ₁₆)	19.35	0.85 ± 0.00
13	(Z) trans-Tagetona	19.91	5.15 ± 0.00
14	(E) cis-Tagetona	20.11	3.42 ± 0.06
15	Desconocido (C ₈ H ₁₀ O ₂)	20.35	0.59 ± 0.07
16	α -Terpineol	21.61	0.19 ± 0.01
17	Decanal	21.72	0.98 ± 0.01
18	Desconocido (C ₁₀ H ₁₄ O)	21.86	0.97 ± 0.07
19	(E) cis-Tagetenone**	22.64	37.27 ± 0.24
20	(Z) trans-Tagetenone**	22.84	18.84 ± 0.29
21	Desconocido (C ₁₀ H ₁₄ O)	23.28	0.40 ± 0.01
22	6-Isopropenil-3-metil-2-ciclohexen-1-ona	23.82	0.40 ± 0.00
23	β -Cariofileno	28.10	0.97 ± 0.00
24	Germacreno D	29.71	0.45 ± 0.01
25	Biclogermacreno	30.10	0.46 ± 0.00
26	Elemol	31.42	0.36 ± 0.00
27	Germacreno D-4-ol	32.37	0.54 ± 0.02

**Mayor componente; T_R^a: Tiempo de retención (min.)

Los otros compuestos reportados fueron dihidrotagetona (14.38%), tagetona (8.57%), ocimeno (4.66%) identificados en el aceite de las hojas, que son compuestos biosintetizados por las plantas del género *Tagetes* (*Tagetes elliptica* Sm.) y son también una mezcla de compuestos terpénicos. Estos estudios son similares a lo investigado en la especie *Tagetes minuta* por Hartwig de Oliverira et al (2018) y Omer et al., (2017). En la Figura 24 se observa los principales compuestos del AE de *Tagetes elliptica* Sm.

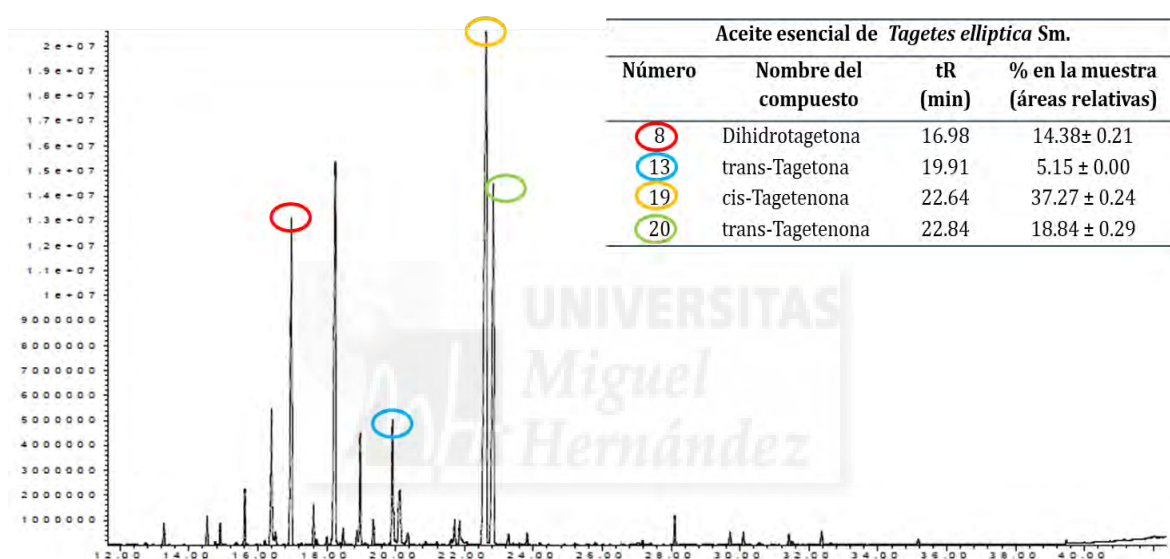


Figura 24. Composición química y tiempos de retención de los principales compuestos presentes en el aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm.

5.1.4. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de hojas de *Tagetes elliptica* Sm.

El método de difusión en pocillos de agar se analizó en las hojas del aceite esencial de chincho, considerando también el mayor rendimiento de aceite, demostró que posee actividad antimicrobiana (Tabla 11), lo que se evidencia en las marcadas zonas de inhibición que mostraron los microorganismos estudiados. Los resultados de la actividad antimicrobiana mostraron que las especies Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) tenían mejor actividad y fueron marcadamente sensibles al

aceite esencial, con zonas de inhibición de (19.67 mm) y (14.30 mm), respectivamente. De manera similar Safar et al., (2020) estudio el aceite esencial de la *Tagetes palula* quien tuvo actividad antibacteriana contra las cepas bacterianas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Mientras que los halos obtenidos para las bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* y *Salmonella infantis*) fueron mucho más bajos o el valor de (12.63 mm) y (13.00 mm), lo que indica una mayor resistencia del microorganismo puede establecerse contra *Staphylococcus aureus* < *Salmonella infantis* < *Escherichia coli*. Estos resultados permiten considerar que este aceite esencial de chincho es más efectivo contra los organismos Gram positivos en comparación con los Gram negativos.

Tabla 11. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de chincho (*Tagetes elliptica* Sm.).

AEC (ZI) ^a	Microorganismos		
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923TM	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922TM	<i>Salmonella infantis</i>
5 µL	14.30±1.13 ^a	10.00±1.00 ^a	10.63±0.55 ^a
10 µL	15.57±1.07 ^{a, b}	10.87±0.85 ^{a, b}	11.23±0.61 ^{a, b}
20 µL	17.33±1.16 ^{b, c}	11.19±1.20 ^{a, b}	12.33±0.58 ^{a, b}
40 µL	19.67±0.57 ^c	12.63±0.56 ^c	13.00±1.00 ^b

ZIa, diámetro de la zona de inhibición (mm) excluido el diámetro del pozo (6 mm). Todos los valores de esta tabla representan la media ± DE (n=3). El control negativo (DMSO) no mostró ninguna actividad

5.2. INCORPORACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Tagetes elliptica* Sm. CHINCHO EN EMULSIONES GELIFICADAS DE HAMBURGUESAS SALUDABLES

5.2.1. Composición proximal de hamburguesas

En la Figura 25, se puede observar las cinco formulaciones de las hamburguesas de res crudas y cocidas adicionadas con emulsiones gelificadas con y sin aceite esencial de chincho.

Los resultados de la composición química de HC y la sustitución del 50% de grasa de cerdo por las emulsiones gelificadas en HSM, HSMC0.25, HSMC0.5 y HSMC1.0, muestran en la Tabla 12, que el contenido de humedad aumentó en las hamburguesas crudas y cocidas sustituidas por la emulsión gelificada; la HC evidenció diferencias significativas con las reformulaciones ($p < 0.05$).

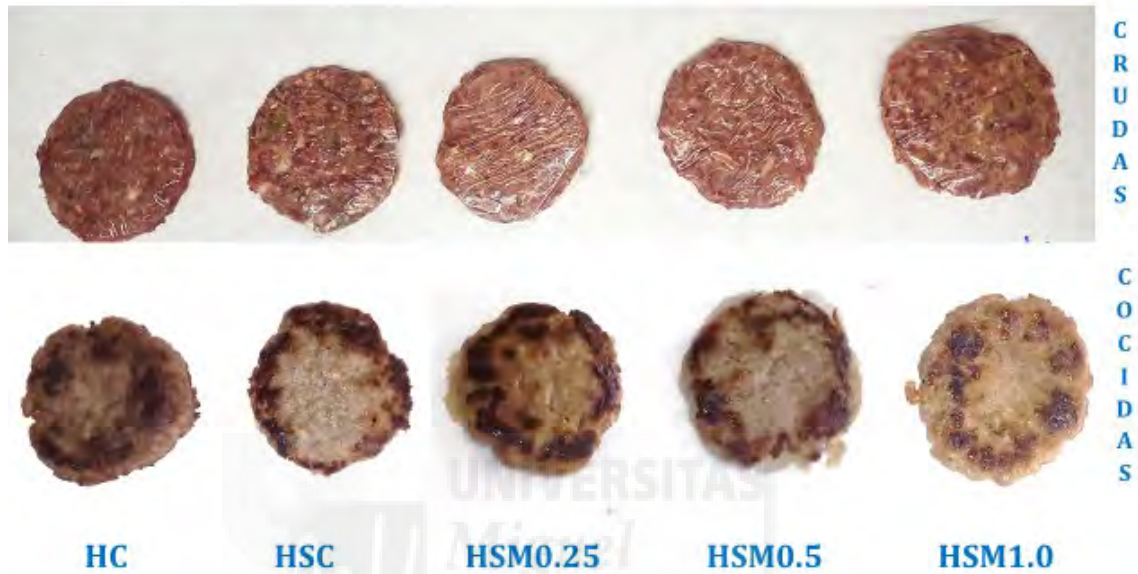


Figura 25. Hamburguesas de carne de res crudas y cocidas.

* HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho.

Los mayores valores obtenidos en el contenido de humedad podrían deberse al agua utilizada para elaborar las emulsiones gelificadas.

Tabla 12. Efecto de la sustitución parcial del tocino de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho sobre la composición química (%) de hamburguesas de res crudas y cocidas.

Tratamientos*					
	Crudo				
	HC	HSM	HSMC0.25	HSMC0.5	HSMC1.0
Humedad	63.03 ± 0.61 ^a	65.96 ± 0.39 ^b	66.01 ± 0.18 ^b	66.09 ± 0.44 ^b	65.80 ± 0.40 ^a
Proteína	19.67 ± 0.58 ^c	18.17 ± 0.00 ^{a,b}	18.86 ± 0.12 ^{b,c}	17.91 ± 0.47 ^a	18.14 ± 0.09 ^{a,b}
Grasa	12.26 ± 0.05 ^c	7.16 ± 0.15 ^a	8.36 ± 0.20 ^b	7.90 ± 0.62 ^{a,b}	7.67 ± 0.19 ^{a,b}
Ceniza	2.35 ± 0.07 ^{a,b}	2.46 ± 0.09 ^b	2.33 ± 0.03 ^{a,b}	2.36 ± 0.07 ^{a,b}	2.25 ± 0.07 ^a
	Cocido				
Humedad	53.69 ± 0.39 ^a	55.56 ± 0.15 ^{b,c}	56.79 ± 0.27 ^c	55.13 ± 0.84 ^{a,b,c}	54.56 ± 1.02 ^{a,b}
Proteína	27.52 ± 0.03 ^c	25.16 ± 0.45 ^b	24.42 ± 0.10 ^a	24.64 ± 0.07 ^{a,b}	25.10 ± 0.16 ^b
Grasa	12.97 ± 0.17 ^b	12.05 ± 0.27 ^a	12.18 ± 0.32 ^{a,b}	12.76 ± 0.05 ^{a,b}	12.06 ± 0.49 ^a
Ceniza	2.94 ± 0.05 ^{a,b}	3.00 ± 0.02 ^b	2.81 ± 0.12 ^{a,b}	2.87 ± 0.05 ^{a,b}	2.74 ± 0.09 ^a

(a - c) Letras iguales en la misma fila indican que no hay una diferencia significativa según la prueba post-hoc HSD de Tukey ($p > 0.05$). TC: tocino dorsal de cerdo; EG: emulsión gelificada; * HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por GE₁ con harina de maca y aceite de soya; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho.

Estos resultados concuerdan con los informados por Kothuri et al. (2025); Botella-Martínez et al. (2022) y Lucas et al. (2020) cuando se emplean emulsiones gelificadas en sustitución de grasas en productos cárnicos aumenta el contenido de humedad. En referencia al contenido de proteína de las muestras crudas, el HC mostró el valor más alto el más alto de 19.67 % (Crudas) y 27.52% (cocidas) ($p < 0.05$), pero no se reflejaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las muestras

donde se utilizaron las emulsiones gelificadas como sustituto de grasa.

La misma tendencia se observó en las muestras cocinadas, donde HC tuvo los valores de proteína más altos ($p < 0.05$). Esta reducción en el contenido de proteína puede deberse a que en la emulsión gelificada el contenido de proteína proviene de la maca (11.9%). Así, por cada 100 g de emulsión, solo se aportan 1.7 g de proteína, mientras que el tocino dorsal aporta 12.19 g de proteína por 100 g, estos resultados son similares a los reportados por Carvalho et al. (2020) en el cual se observó una disminución de las proteínas al sustituir grasa animal por una EG.

Respecto al contenido de cenizas en hamburguesas crudas, no hay diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre HC y muestras con grasa dorsal de cerdo parcialmente reemplazada por emulsiones gelificadas. Entre las diferentes muestras analizadas, HC mostró un mayor contenido de grasa 12.26 % (crudas) y 12.97 % (cocidas) en comparación con las hamburguesas parcialmente sustituidas con la emulsión gelificada (HSM, HSMC0.25, HSMC0.5 y HSMC1.0), lo que llevó a una disminución del contenido de grasa en un 41.59 % y un 7.09 % para la muestra HSM versus el control HC en las hamburguesas crudas y cocidas, respectivamente. Esta disminución del contenido de grasa fue similar a la reportada en la literatura científica analizando la sustitución de grasa animal por una emulsión gelificada (Botella et al., 2022; Barros et al., 2021; Foggiaro et al., 2022; De Carvalho, et al., 2020; Heck et al., 2019).

Además, Alejandre et al., (2017) logró una reducción de grasa hasta del 70 % sustituyendo una emulsión gelificada de 3 % carragenato y 1 % aceite de algas por grasa animal y tuvo buena aceptación sensorial por parte de los consumidores. En las hamburguesas cocidas de HSM0.25, HSMC0.5 y HSMC1.0 tuvieron menor ($p < 0.05$) contenido de cenizas que HC y HSM, sin diferencias estadísticas entre ellas ($p > 0.05$). Estos resultados concuerdan con otros estudios en el cual reemplazan geles de emulsión como sustitutos de proteínas y grasas animales en productos similares a la carne en el cual las propiedades nutricionales son mejoradas en comparación con los productos tradicionales.

5.2.2. Perfil lipídico e índices de salud

5.2.2.1. Perfil de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos de las hamburguesas de carne cruda y cocida se muestra en la Tabla 13 y la Tabla 14. En la Tabla 13 se muestra los resultados de las hamburguesas crudas, los principales ácidos grasos saturados encontrados en todas las muestras analizadas fueron ácido palmítico (16:0) y ácido esteárico (18:0).

Sin embargo, se evidenciaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre HC, que presentó los valores más altos para estos ácidos grasos, y muestras donde se reemplazó la grasa dorsal de cerdo por emulsiones gelificadas. Así, para el ácido palmítico se obtuvo una reducción entre 14.07% y 16.84% con respecto a HC, mientras que para el ácido esteárico la reducción con respecto a HC varió entre 16.90% y 20.05%. La reducción de ácidos grasos saturados cuando se utilizan emulsiones gelificadas elaboradas con aceites más saludables como sustituto de grasas en productos cárnicos está bien descrita en la literatura (Botella et al., 2022; Botella et al., 2021; de Carvalho et al., 2020). El aceite de soja tiene un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en su composición (49.24%), seguido de los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) (29.44%). Estos contenidos, al incorporarse a la emulsión gelificada, modifican la composición de las hamburguesas de res.

Se encontró que los mayores contenidos de AGPI en hamburguesas crudas y cocidas fueron el ácido palmitoleico (C16: 1) y el ácido oleico (C18: 1), pero estos se redujeron significativamente ($p < 0.05$) con la sustitución parcial de la emulsión gelificada en todas las hamburguesas, formulaciones en comparación con el control. En este sentido, en cuanto a los ácidos grasos monoinsaturados, principalmente el ácido oleico (C18:1 (n-9)), la grasa animal que fue sustituida por una emulsión gelificada elaborada con aceite de soja, produce una reducción ($p < 0.05$) del contenido de ácido graso con respecto a HC.

El ácido linoleico (C18:2 n-6) fue el AGPI más abundante en las hamburguesas crudas, la emulsión gelificada que fue la sustitución parcial del (50%) de la grasa dorsal de cerdo, incrementó el contenido de ácido linoleico ($p < 0.05$) en todas las formulaciones. Además, todas las formulaciones tenían un contenido significativamente mayor de ácido α -linolénico (C18:3 n-3) ($p < 0.05$) en comparación con el control en hamburguesas crudas y cocidas. Estos resultados están de acuerdo con los informados por Selani et al. (2016) quienes analizaron los efectos de los subproductos de la piña y el aceite de canola utilizados como sustitutos de grasas en el perfil de ácidos grasos. además, mostraron que en las muestras donde se reemplazó la grasa dorsal por la emulsión de aceite de canola o subproductos de aceite de canola y piña, se mejoró el perfil de ácidos grasos (mayor contenido de AGMI, AGPI y menor contenido de AGS) con respecto al muestra control. De manera similar, Szpicer et al. (2019) mencionaron que en hamburguesas de res donde el sebo fue reemplazado parcialmente por aceite de canola o una mezcla de aceite de canola y β -glucano, el contenido de ácidos oleico, linoleico y linolénico aumentó con respecto a las muestras de control.

Para las hamburguesas de res cocidas (Tabla 14), la tendencia es muy similar a las muestras crudas. Algunas pequeñas diferencias en los valores, y por tanto en la significación estadística de las muestras cocinadas con respecto a las muestras crudas, pueden atribuirse a la pérdida de grasa y agua durante la cocción. Las hamburguesas con grasa dorsal de cerdo (50%) sustituida por emulsión gelificada (HSM, HSMC0.25, HSMC0.5, HSMC1.0) se pueden declarar “altas en ácidos grasos omega-3”, ya que tienen al menos 0.6 g de Ácido α -linolénico por 100 g de producto (European Parliament, 2006).

Por otro lado, Alejandro et al. (2023) reportaron que la sustitución de una emulsión gelificada por grasa animal en hamburguesas aumento el contenido de EPA+DHA mientras que los ácidos grasos insaturados y la relación omega-6/omega-3 se redujeron, lo cual es importante para la salud. Uno de los factores que pueden influir en mejorar el perfil de ácidos grasos puede ser el aceite de soja que se adicione

en la emulsión gelificada, tal como indican otros estudios similares (Tarté et al., 2020).

Tabla 13. Efecto de la sustitución parcial de tocino de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho sobre el perfil de ácidos grasos de hamburguesas de res cruda.

Ácidos grasos (g /100 g del total de ácidos grasos)	Crudo				
	Tratamiento				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
C10:0	0.07 ± 0.00 ^c	0.06 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.00 ^{a,b}	0.05 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.01 ^{a,b}
C12:0	0.08 ± 0.00 ^c	0.06 ± 0.00 ^b	0.06 ± 0.00 ^{a,b}	0.06 ± 0.0 ^a	0.06 ± 0.00 ^{a,b}
C14:0	1.5 ± 0.04 ^b	1.17 ± 0.09 ^a	1.13 ± 0.03 ^a	1.14 ± 0.11 ^a	1.14 ± 0.01 ^a
C14:1	0.04 ± 0.03 ^a	0.05 ± 0.02 ^a	0.10 ± 0.12 ^a	0.08 ± 0.11 ^a	0.06 ± 0.01 ^a
C15:0	0.08 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.03 ^a	0.08 ± 0.00 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.00 ^a
C16:0	23.88 ± 0.00 ^b	20.52 ± 0.48 ^a	19.95 ± 0.27 ^a	19.86 ± 0.80 ^a	19.93 ± 0.12 ^a
C16:1	2.38 ± 0.06 ^b	1.88 ± 0.10 ^a	1.76 ± 0.03 ^a	1.75 ± 0.11 ^a	1.80 ± 0.02 ^a
C17:0	0.42 ± 0.02 ^b	0.34 ± 0.01 ^a	0.34 ± 0.00 ^a	0.36 ± 0.03 ^a	0.35 ± 0.01 ^a
C17:1	0.41 ± 0.00 ^c	0.32 ± 0.01 ^{a,b}	0.31 ± 0.01 ^a	0.33 ± 0.02 ^{a,b}	0.33 ± 0.01 ^b
C18:0	11.42 ± 0.13 ^b	9.49 ± 0.36 ^a	9.13 ± 0.24 ^a	9.31 ± 0.52 ^a	9.20 ± 0.19 ^a
C18:1 Cis	48.68 ± 0.20 ^d	43.12 ± 0.01 ^c	41.80 ± 0.16 ^a	41.42 ± 0.58 ^a	42.46 ± 0.41 ^b
C18:1 Trans	2.58 ± 0.07 ^d	2.29 ± 0.03 ^c	2.21 ± 0.02 ^{a,b}	2.15 ± 0.02 ^a	2.25 ± 0.03 ^{b,c}
C18:2 (n-6)	6.20 ± 0.10 ^a	16.95 ± 0.89 ^b	19.63 ± 0.29 ^c	19.96 ± 1.85 ^c	18.61 ± 0.09 ^{b,c}
C18:3 (n-3)	0.32 ± 0.00 ^a	1.60 ± 0.07 ^b	1.92 ± 0.01 ^c	1.95 ± 0.19 ^c	1.79 ± 0.01 ^c
C18:3 (n-6)	0.17 ± 0.00 ^a	0.23 ± 0.00 ^b	0.24 ± 0.01 ^c	0.25 ± 0.01 ^c	0.24 ± 0.00 ^c
C20:0	1.19 ± 0.01 ^d	0.90 ± 0.02 ^c	0.80 ± 0.02 ^a	0.79 ± 0.00 ^a	0.86 ± 0.02 ^b
C20:1	0.34 ± 0.00 ^b	0.23 ± 0.02 ^a	0.21 ± 0.03 ^a	0.22 ± 0.00 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
C20:3 (n-8)	0.15 ± 0.12 ^a	0.34 ± 0.03 ^b	0.18 ± 0.03 ^a	0.18 ± 0.10 ^a	0.37 ± 0.04 ^b
C20:3 (n-11)	0.04 ± 0.03 ^{a,b}	0.18 ± 0.08 ^c	0.04 ± 0.01 ^{a,b}	0.02 ± 0.02 ^a	0.14 ± 0.09 ^{b,c}
C24:1	0.05 ± 0.05 ^a	0.18 ± 0.03 ^b	0.09 ± 0.09 ^{a,b}	0.04 ± 0.04 ^a	0.05 ± 0.04 ^a
ΣSFA	38.65 ± 0.19 ^b	32.60 ± 0.95 ^a	31.53 ± 0.51 ^a	31.65 ± 1.48 ^a	31.67 ± 0.30 ^a
ΣMUFA	54.42 ± 0.29 ^d	47.89 ± 0.12 ^c	46.40 ± 0.03 ^{a,b}	45.95 ± 0.73 ^a	47.14 ± 0.48 ^{b,c}
ΣPUFA	6.88 ± 0.05 ^a	19.31 ± 1.01 ^b	22.01 ± 0.34 ^c	22.36 ± 2.17 ^c	21.14 ± 0.22 ^{b,c}
Σn-3	0.32 ± 0.00 ^s	1.60 ± 0.07 ^b	1.92 ± 0.01 ^c	1.95 ± 0.19 ^c	1.79 ± 0.01 ^c
Σn-6	6.37 ± 0.10 ^a	17.18 ± 0.89 ^b	19.88 ± 0.29 ^c	20.21 ± 1.86 ^c	18.85 ± 0.10 ^{b,c}

Los resultados se expresan en g/100 g. Los datos se presentan como media ± desviación estándar. (a–d) Para cada parámetro, los resultados seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba post-hoc HSD de Tukey ($p > 0.05$). Una letra minúscula se refiere a la comparación del mismo ácido graso o parámetros entre las

diferentes muestras crudas. TC: tocino dorsal de cerdo; EG: emulsión gelificada.*HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituida por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho. AGS = ácidos grasos saturados; AGMI = ácidos grasos monoinsaturados; AGPI = ácidos grasos poliinsaturados; n-6 = omega-6; n-3 = omega-3.

Tabla 14. Efecto de la sustitución parcial de tocino de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho en el perfil de ácidos grasos de hamburguesas de res cocidas.

Ácidos grasos (g /100 g del total de ácidos grasos)	Cocido				
	Tratamiento*				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
C10:0	0.08 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a
C12:0	0.08 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.06 ± 0.00 ^a
C14:0	1.48 ± 0.02 ^d	1.01 ± 0.01 ^a	1.07 ± 0.00 ^b	1.12 ± 0.00 ^c	1.13 ± 0.02 ^c
C14:1	0.06 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.02 ^a	0.08 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.01 ^a
C15:0	0.09 ± 0.00 ^b	0.04 ± 0.04 ^a	0.09 ± 0.00 ^b	0.09 ± 0.00 ^b	0.09 ± 0.00 ^b
C16:0	23.68 ± 0.03 ^c	19.20 ± 0.10 ^a	19.42 ± 0.03 ^a	19.70 ± 0.13 ^b	19.70 ± 0.24 ^b
C16:1	2.41 ± 0.02 ^c	1.68 ± 0.00 ^a	1.69 ± 0.00 ^a	1.75 ± 0.03 ^b	1.76 ± 0.03 ^b
C17:0	0.43 ± 0.00 ^d	0.33 ± 0.00 ^a	0.34 ± 0.00 ^b	0.36 ± 0.01 ^c	0.36 ± 0.00 ^c
C17:1	0.42 ± 0.00 ^d	0.31 ± 0.00 ^b	0.30 ± 0.00 ^a	0.33 ± 0.00 ^c	0.33 ± 0.00 ^c
C18:0	11.86 ± 0.08 ^c	9.03 ± 0.02 ^a	9.25 ± 0.03 ^{a,b}	9.36 ± 0.13 ^b	9.35 ± 0.23 ^b
C18:1 Cis	47.92 ± 0.02 ^b	40.70 ± 0.15 ^a	40.44 ± 0.02 ^a	41.00 ± 0.50 ^a	40.97 ± 0.46 ^a
C18:1 Trans	2.57 ± 0.08 ^b	2.18 ± 0.03 ^a	2.14 ± 0.02 ^a	2.17 ± 0.01 ^a	2.13 ± 0.06 ^a
C18:2 (n-6)	6.46 ± 0.04 ^a	21.50 ± 0.06 ^c	21.48 ± 0.15 ^c	20.37 ± 0.75 ^b	20.33 ± 0.88 ^b
C18:3 (n-3)	0.30 ± 0.01 ^a	2.05 ± 0.02 ^c	2.06 ± 0.02 ^c	1.91 ± 0.07 ^b	1.92 ± 0.11 ^b
C18:3 (n-6)	0.17 ± 0.00 ^a	0.26 ± 0.00 ^c	0.26 ± 0.00 ^c	0.24 ± 0.01 ^b	0.25 ± 0.00 ^b
C20:0	1.14 ± 0.02 ^c	0.76 ± 0.00 ^b	0.71 ± 0.00 ^a	0.75 ± 0.03 ^b	0.76 ± 0.02 ^b
C20:1	0.33 ± 0.01 ^b	0.21 ± 0.05 ^{a,b}	0.14 ± 0.15 ^a	0.14 ± 0.11 ^a	0.20 ± 0.01 ^{a,b}
C20:3 (n-8)	0.37 ± 0.01 ^a	0.42 ± 0.00 ^b	0.36 ± 0.01 ^a	0.44 ± 0.01 ^b	0.45 ± 0.03 ^b
C20:3 (n-11)	0.08 ± 0.04 ^b	0.03 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^a
C24:1	0.06 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.10 ^a	0.07 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.07 ^a	0.07 ± 0.07 ^a
ΣSFA	38.84 ± 0.04 ^d	30.48 ± 0.08 ^a	30.97 ± 0.00 ^b	31.48 ± 0.27 ^c	31.49 ± 0.47 ^c
ΣMUFA	53.71 ± 0.04 ^b	45.15 ± 0.10 ^a	44.78 ± 0.18 ^a	45.46 ± 0.63 ^a	45.47 ± 0.55 ^a
ΣPUFA	7.39 ± 0.10 ^a	24.26 ± 0.08 ^c	24.17 ± 0.17 ^c	22.99 ± 0.83 ^b	22.97 ± 0.96 ^b
Σn-3	0.30 ± 0.01 ^a	2.05 ± 0.02 ^c	2.06 ± 0.02 ^c	1.91 ± 0.07 ^b	1.92 ± 0.11 ^b
Σn-6	6.63 ± 0.04 ^a	21.76 ± 0.06 ^c	21.73 ± 0.15 ^c	20.61 ± 0.75 ^b	20.58 ± 0.88 ^b

Los resultados se expresan en g/100 g. Los datos se presentan como media ± desviación estándar. (a–d) Para cada parámetro, los resultados seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes según la prueba post-hoc HSD

de Tukey ($p > 0.05$). Una letra minúscula se refiere a la comparación del mismo ácido graso o parámetros entre las diferentes muestras cocidas. TC: tocino dorsal de cerdo; EG: emulsión gelificada *HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituida por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho. AGS = ácidos grasos saturados; AGPI = ácidos grasos monoinsaturados; AGPI = ácidos grasos poliinsaturados; n-6 = omega-6; n-3 = omega-3.

5.2.2.2. Índices de salud

En la tabla 15 se pueden observar los resultados obtenidos para los índices de salud de las hamburguesas cocidas, se observa que la sustitución por emulsión gelificada en las formulaciones (HSM, HSMC0.25, HSMC0.5 y HSMC1.0) aumenta el contenido de ácidos omega-3 con respecto al control (HC), lo que disminuye la relación de n-6/n-3 ($p < 0.05$), sin embargo, los valores son más altos en todas las formulaciones. Este hecho puede deberse al bajo contenido de ácidos omega-3 en el aceite de soja, como se muestra en la Tabla 13 y en varios estudios (Olagunju et al., 2022). Sin embargo, el contenido de omega-6 aumentó en las formulaciones sustituidas con emulsión gelificada, lo cual es beneficioso porque reemplaza los ácidos grasos saturados (Panda et al., 2022).

La formulación HC mostró una relación AGPI/AGS de 0.19 en las hamburguesas cocidas. Sin embargo, los valores de esta relación aumentaron significativamente ($p < 0.05$) al sustituir el tocino dorsal de cerdo por la emulsión gelificada. Así, la formulación de HSM mostró un valor de 0.80, mientras que las muestras de HSMC0,25; HSMC0.5 y HSMC1.0 tenían valores que oscilaban entre 0.73 y 0.78. Además, hubo un aumento considerable en la relación AGPI/AGS de la muestra control (HC) a la muestra (HSM) de la hamburguesa sustituido con el 10% de la grasa dorsal por una emulsión gelificada (harina de maca y aceite de soja) con valores de 0.19 a 0.80. Por otro lado, se evidenció una disminución en los índices de aterogenicidad (30.61 %) y trombogenicidad (37.81 %) de la muestra control (HC) con respecto a la hamburguesa (HSM) sustituido con el 10% de la grasa dorsal por una emulsión gelificada (harina de maca y aceite de soja).

Y con respecto a la relación h/H hubo un aumento del 37.11 % en de la muestra

control (HC) con la muestra (HSMC0.5) de la hamburguesa sustituido con el 10% de la grasa dorsal por una emulsión gelificada (harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho). Este resultado es considerablemente beneficioso porque una relación AGPI/AGS inferior a 0.45 puede aumentar la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Panda et al., 2022; Wood et al., 2004). El uso de emulsión gelificada para reemplazar la grasa animal en varios productos cárnicos es una gran estrategia para mejorar varios índices nutricionales, incluidas las proporciones n-6/n-3 y AGPI/AGS, como lo han informado varios autores (Botella et al., 2022; Barros et al., 2021; de Carvalho et al., 2020; Szpicer et al., 2019). La sustitución parcial del tocino dorsal de cerdo resultó en una disminución ($p < 0.05$) de los índices de aterogenicidad (IA) y trombogenicidad (IT); en todas las formulaciones se encontraron valores menores a 1, lo que indica que las formulaciones contribuyen a reducir el riesgo y la gravedad de las enfermedades (Djuricic et al., 2021). Además, los valores más altos de IA y IT (> 1.0) son perjudiciales para la salud humana (Ouraji et al., 2009). La relación h/H, por otro lado, debe aumentarse.

En la Tabla 15 se muestran las formulaciones con la sustitución de tocino dorsal de cerdo, que presentan relaciones h/H aumentadas en comparación con el control HC ($p < 0.05$). Estos resultados concuerdan con lo mencionado por las Guías alimentarias para estadounidenses 2015- 2020, en el cual indican que un padrón de una alimentación saludable, indica el consumo de alimentos con menor contenido de grasas saturadas y mayor contenido de grasas insaturadas.

Tabla 15. Índices de salud de hamburguesas cocidas de res reformuladas con emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho utilizadas como sustitutos de la grasa dorsal de cerdo.

Índices		Tratamiento*				
		BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
Cocción	n-6/n-3	21.83 ± 0.32 ^b	10.63 ± 0.06 ^a	10.53 ± 0.01 ^a	10.79 ± 0.01 ^a	10.73 ± 0.15 ^a
	PUFA/SFA	0.19 ± 0.00 ^a	0.80 ± 0.00 ^c	0.78 ± 0.01 ^c	0.73 ± 0.03 ^b	0.73 ± 0.04 ^b
	AI	0.49 ± 0.00 ^d	0.34 ± 0.00 ^a	0.35 ± 0.00 ^b	0.36 ± 0.00 ^c	0.36 ± 0.00 ^c
	TI	1.19 ± 0.00 ^c	0.74 ± 0.00 ^a	0.75 ± 0.00 ^a	0.78 ± 0.01 ^b	0.78 ± 0.02 ^b
	h/H	2.29 ± 0.01 ^b	2.98 ± 0.12 ^a	3.13 ± 0.06 ^a	3.14 ± 0.21 ^a	3.12 ± 0.03 ^a

^(a-c) Letras iguales en la misma fila indican que no hay una diferencia significativa según la prueba post-hoc HSD de Tukey ($p > 0.05$). TC: grasa dorsal de cerdo; EG: emulsión gelificada. * HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho. AGS: ácidos grasos saturados. AGPI: ácidos grasos poliinsaturados. n-3: omega-3; n-6: omega-6; IA: índice aterogénico; IT: índice trombogénico; h/H: índice hipocolesterolémico/hipercolesterolémico.

5.2.3. Análisis Físico-Químico

En la Tabla 16 se muestran los resultados de análisis Físico-Químico. En cuanto a las propiedades de color de las hamburguesas crudas, la adición de emulsiones gelificadas como reemplazantes de grasa incrementó los valores de luminosidad (L*) y amarillez (b*) en todas las muestras ($p < 0.05$) con respecto a HC. No obstante, no se revelaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las formulaciones donde se reemplazó la grasa animal por emulsión gelificada. En los productos cárnicos, un mayor valor de luminosidad se relaciona con un mayor contenido de agua libre superficial, lo que concuerda con los valores de humedad obtenidos. Por otro lado, con respecto a HC, el color rojo (a*) disminuyó en las hamburguesas crudas donde se sustituyó la grasa animal por emulsión gelificada, aunque sin diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

En referencia a las diferencias de color, el uso de la emulsión gelificada como

sustituto de la grasa genera cambios visuales de color que pueden ser observados por el ojo humano ($\Delta E^* > 3$). Estos resultados concuerdan con varios estudios que informan que la modificación o sustitución de ingredientes como la grasa puede afectar los parámetros de color (Botella et al., 2022; Lucas-Gonzalez et al., 2020).

En muestras cocidas, el uso de emulsiones gelificadas tuvo un mayor impacto en las coordenadas de enrojecimiento (a^*) y amarillento (b^*), así como en el parámetro psicofísico croma C^* , ya que se observó un aumento ($p < 0.05$) en los valores obtenidos, observado en todas las muestras sustituidas con emulsión gelificada con respecto a HC. Varios autores han reportado que el uso de emulsiones gelificadas en diversos productos cárnicos puede modificar todos los parámetros de color. Todas estas diferencias pueden deberse a la diferente composición y propiedades fisicoquímicas del aceite, así como a las características de la emulsión y del resto de ingredientes utilizados en la elaboración del producto cárnico (Barros et al., 2021; Lucas-Gonzalez et al., 2020; Foggiaro et al., 2022; Heck et al., 2019). Con respecto a las diferencias de color instrumental entre el control y los demás tratamientos, se observó que estos aumentaron en las hamburguesas cocidas en las que se sustituyó la grasa dorsal de cerdo por la emulsión gelificada, con valores de $\Delta E > 3$, por lo que la diferencia puede ser percibida por los consumidores (Martínez et al., 2001).

Los valores de pH en las hamburguesas crudas oscilaron entre 5.71 y 5.53; la sustitución parcial disminuyó el pH en comparación con el control ($p < 0.05$). Por otra parte, debido al tratamiento térmico de las hamburguesas cocidas, hubo un aumento del pH, con valores que oscilaron entre 5.95 y 5.83; lo cual evidenció las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la hamburguesa control y las hamburguesas sustituidas por la emulsión gelificada.

Estos resultados concuerdan con los informados por Lucas-González et al. (2020) y Kang et al. (2022), quienes sustituyeron carne de pollo por una emulsión gelificada de soja. Además, la sustitución de la grasa animal por varios ingredientes,

como los aceites vegetales, puede afectar los valores de pH de los productos cárnicos reformulados (Foggiaro et al., 2022; Albergamo et al., 2021). En el caso de la A_w en muestras crudas, no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) con la sustitución del tocino dorsal de cerdo por la emulsión gelificada. Todas las muestras alcanzaron valores de humedad intermedia ($A_w < 0.90$). A pesar de ello, se recomienda mantener las muestras en refrigeración dado el carácter perecedero de este tipo de alimentos. El comportamiento de las muestras fue similar a los descritos por varios autores (França et al., 2022; López et al., 2014) en los que se han reformulado con la sustitución parcial o total la grasa saturada, por materias grasas más saludables en forma de oleogeles o emulsiones gelificadas), en este tipo de productos.



Tabla 16. Efecto de la sustitución parcial de grasa dorsal de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho sobre los parámetros de color, pH y Aw de hamburguesa de res cruda y cocida.

	Tratamientos*				
	Crudo				
	HC	HSM	HSMC0.25	HSMC0.5	HSMC1.0
L*	44.35 ± 0.99 ^a	48.52 ± 2.11 ^b	49.28 ± 1.89 ^b	49.82 ± 2.64 ^b	48.22 ± 2.32 ^b
a*	7.62 ± 1.33 ^b	6.82 ± 1.12 ^{a,b}	6.21 ± 0.68 ^a	6.20 ± 1.24 ^a	6.56 ± 1.28 ^{a,b}
b*	13.31 ± 1.44 ^a	14.18 ± 0.75 ^{a,b}	15.58 ± 1.09 ^c	14.82 ± 1.14 ^{b,c}	15.34 ± 1.17 ^{b,c}
C*	15.41 ± 1.36 ^a	15.77 ± 0.90 ^{a,b}	16.79 ± 1.06 ^b	16.11 ± 1.17 ^{a,b}	16.74 ± 0.97 ^b
H*	60.13 ± 5.34 ^a	64.37 ± 3.64 ^{a,b}	68.22 ± 2.48 ^b	67.32 ± 4.35 ^b	66.79 ± 4.90 ^b
ΔE*	-	4.98 ± 2.10 ^a	6.09 ± 1.18 ^a	6.68 ± 3.10 ^a	5.18 ± 1.97 ^a
pH	5.71 ± 0.01 ^c	5.68 ± 0.01 ^c	5.62 ± 0.01 ^b	5.53 ± 0.05 ^a	5.62 ± 0.00 ^b
aw	0.89 ± 0.0 ^a	0.89 ± 0.0 ^a	0.89 ± 0.0 ^a	0.89 ± 0.0 ^a	0.89 ± 0.0 ^a
	Cocido				
	HC	HSM	HSMC0.25	HSMC0.5	HSMC1.0
L*	41.46 ± 5.04 ^a	43.12 ± 6.00 ^a	40.74 ± 4.59 ^a	42.41 ± 4.44 ^a	41.54 ± 4.08 ^a
a*	4.32 ± 1.28 ^a	5.60 ± 1.21 ^b	6.31 ± 1.13 ^b	5.61 ± 1.14 ^b	6.51 ± 0.96 ^b
b*	8.32 ± 3.82 ^a	12.62 ± 2.15 ^b	12.6 ± 2.13 ^b	11.71 ± 2.54 ^b	13.02 ± 1.97 ^b
C*	9.73 ± 3.03 ^a	13.93 ± 1.59 ^b	14.20 ± 1.73 ^b	13.12 ± 2.08 ^b	14.63 ± 1.65 ^b
H	60.12 ± 15.43 ^a	65.36 ± 8.52 ^a	62.86 ± 6.91 ^a	63.42 ± 8.70 ^a	63.03 ± 5.69 ^a
ΔE*	-	8.40 ± 5.50 ^a	8.57 ± 4.54 ^a	7.62 ± 3.28 ^a	8.03 ± 4.20 ^a
pH	5.95 ± 0.03 ^b	5.87 ± 0.02 ^a	5.83 ± 0.03 ^a	5.83 ± 0.02 ^a	5.86 ± 0.04 ^a
aw	-	-	-	-	-

(a - c) Letras iguales en la misma fila indican que no hay una diferencia significativa según la prueba post-hoc HSD de Tukey ($p > 0.05$). TC: tocino dorsal de cerdo; GE: emulsión gelificada; * HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soya; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho.

5.2.4. Perfil de textura y propiedades de cocinado

La Figura 26 y 27 ilustra la influencia de varios tipos de compuestos de emulsión gelificados en el perfil de textura de las hamburguesas de carne cocida. En cuanto a

los valores de dureza, se encontraron diferencias significativas en todos los tratamientos ($p < 0.05$). La formulación HC presentó el mayor valor de dureza; esto puede deberse a que, durante la cocción, la pérdida de agua está relacionada con la generación de dureza, que aparentemente está influenciada por el colágeno y otras proteínas miofibrilares (Hughes et al., 2014).

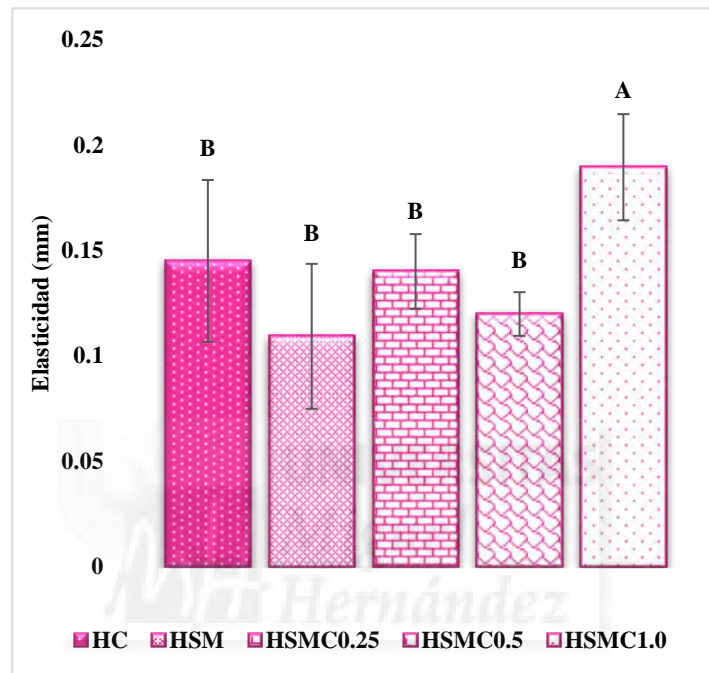


Figura 26. Efecto del perfil de textura-elasticidad en hamburguesas de res con la sustitución parcial de la grasa dorsal de cerdo por una emulsión gelificada (harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho).

TC: tocino dorsal de cerdo; EG: emulsión gelificada HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituida por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho.

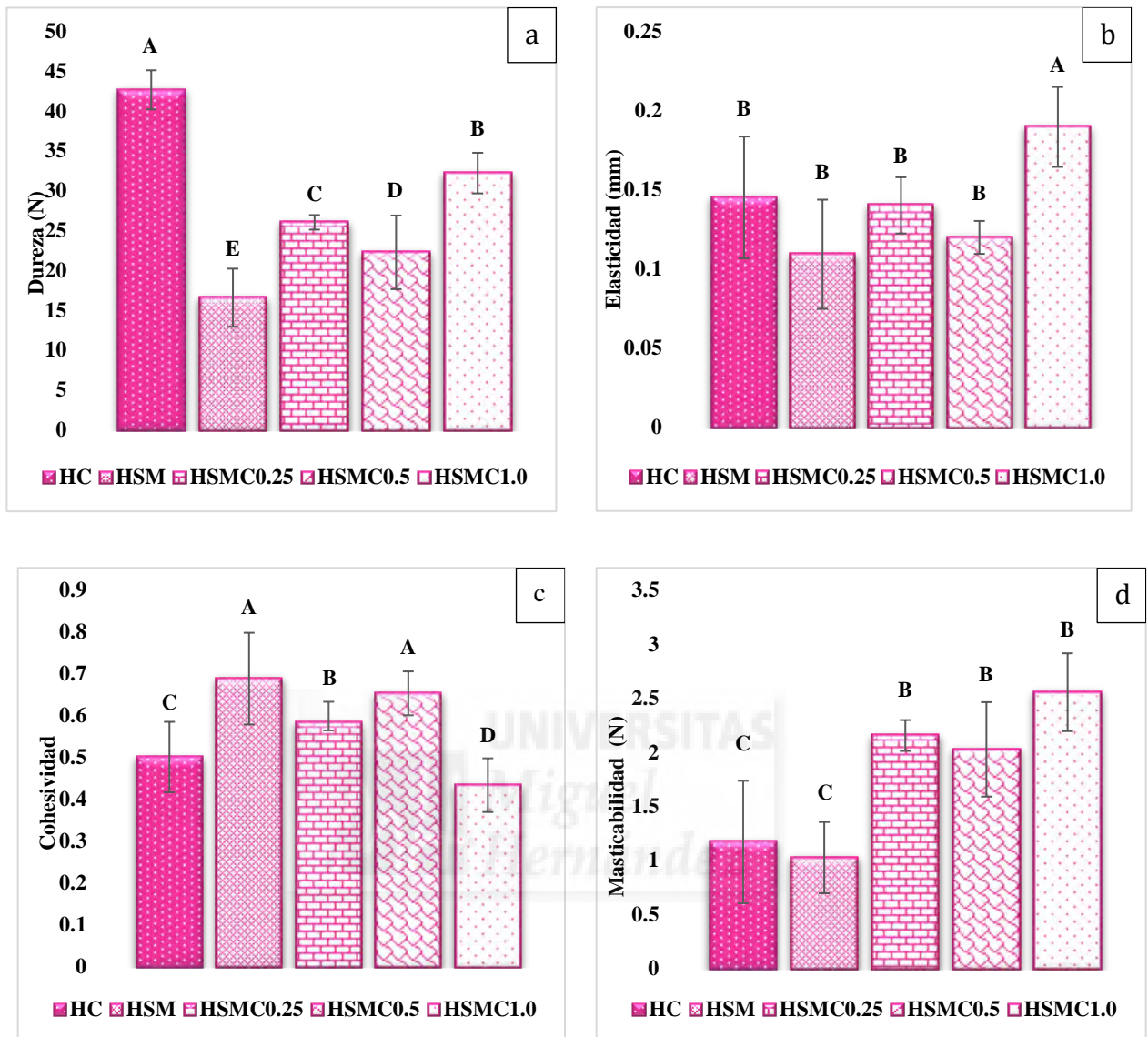


Figura 27. Efecto de la sustitución parcial de grasa dorsal de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho sobre los parámetros texturales de hamburguesa de res.

*(a): dureza; (b): elasticidad; (c): Cohesión; (d): Masticabilidad; (A-D) Letras mayúsculas iguales en las mismas barras indican que no hay diferencia significativa según la prueba post-hoc HSD de Tukey ($p > 0.05$). TC: tocino dorsal de cerdo; EG: emulsión gelificada HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituida por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 1% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho .

En cuanto a la elasticidad (Figura 27), no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) con excepción de la formulación HSMC1.0 ($p < 0.05$); estos datos son similares a los informados por Botella-Martínez et al. (2022), quienes no encontraron diferencias significativas al sustituir la grasa dorsal parcial de cerdo por una emulsión gelificada de harina de amaranto con aceite de chía o cáñamo. Por el contrario, otros estudios muestran que existen diferencias significativas en la elasticidad al reformular hamburguesas con una emulsión gelificada (Barros et al., 2021; de Carvalho et al., 2020). Los valores de elasticidad también pueden deberse a la desnaturalización de las proteínas, lo que contribuye a una mayor elasticidad en los geles (Essa et al., 2022).

La formulación de HSM parcialmente sustituida con harina de maca y aceite de soya mostró el valor más alto de cohesión, pero el valor más bajo de masticabilidad en comparación con las otras formulaciones. Estos valores concuerdan con los descritos por Barros et al. (2021), Foggiaro et al. (2022) y Heck et al. (2019) quienes reportaron que los valores de cohesividad aumentan con la sustitución del tocino dorsal de cerdo por la emulsión gelificada. No obstante, Barros et al. (2021) mencionan que estos resultados no permiten conocer de forma directa qué efecto tiene mayor influencia en el cambio de textura al reformular las hamburguesas.

En cuanto a las propiedades de cocinado (Tabla 17), los resultados obtenidos indican que las formulaciones de hamburguesas de res sustituidas por la emulsión gelificada presentaron menores porcentajes de pérdida por cocción y merma en comparación con el control, sin diferencias significativas ($p > 0.05$), entre las formulaciones a excepción de la formulación HSMC0.25 ($p < 0.05$). Estos resultados son similares a los informados por Heck et al. (2019), en el que se redujeron las pérdidas por cocción hasta en un 60 % con una emulsión gelificada en sustitución del tocino dorsal de cerdo ($p > 0.05$). Igualmente, Foggiaro et al. (2022) y Albergamo et al. (2021) reportaron menores pérdidas por cocción, aunque éstas no fueron significativas al reformular hamburguesas con hojas de albahaca, aceite de tomillo, aceite de pistacho y aceite de algas ($p > 0.05$). Por otro lado, los resultados obtenidos

en este trabajo difieren de los reportados por Botella et al. (2021) y Botella et al. (2022), quienes encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) al reformular hamburguesas de carne con emulsiones gelificadas.

En el caso de la propiedad espesante, las formulaciones sustituidas con la emulsión gelificada mostraron mayor espesamiento en comparación con el control, excepto la muestra HSM ($p < 0.05$), que presentó los valores más bajos, probablemente debido a sus ingredientes. Otros estudios mencionan que el aumento de concentración de proteína imita la capacidad de retención de agua de la muestra cocida, lo que conlleva a los cambios en la pérdida de cocción como la contracción y el grosor del producto cocido (Kothuri et al., 2025).

Tabla 17. Efecto de la sustitución parcial del tocino dorsal de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho sobre las características de cocción de hamburguesas de res.

Parámetros tecnológicos (%)	Tratamientos*				
	HC	HSM	HSMC0.25	HSMC0.5	HSMC1.0
Pérdida por cocción	28.97 ± 2.5 ^b	26.47 ± 0.63 ^{a,b}	23.39 ± 2.22 ^a	27.05 ± 1.41 ^{a,b}	27.46 ± 0.84 ^b
Encogimiento	24.68 ± 2.62 ^b	20.63 ± 2.64 ^{a,b}	18.64 ± 1.35 ^a	19.84 ± 3.09 ^{a,b}	22.09 ± 3.52 ^b
Aumento de grosor	30.30 ± 3.09 ^{b,c}	15.96 ± 2.37 ^a	48.14 ± 3.20 ^d	42.81 ± 2.31 ^{c,d}	31.66 ± 2.35 ^b

5.2.5. Estabilidad Oxidativa

La oxidación de lípidos está relacionada con el deterioro y los malos sabores en los productos cárnicos procesados (Domínguez et al. 2019; Tatiyaborworntam et al. 2022). En las hamburguesas de res cruda y cocida la grasa dorsal de cerdo sustituidos por una emulsión gelificada, mostraron cambios significativos ($p < 0.05$) en el contenido de TBAR (Figura 28). Como era de esperar, el contenido de MDA aumentó después de la cocción ($p < 0.05$), independientemente del tipo de tratamiento.

El contenido de TBAR tuvo valores que oscilaron entre 0.16 y 0.38 mg MDA/kg en hamburguesas crudas, mientras que en hamburguesas cocidas el rango fue de 0.25 a 0.47 mg MDA/kg. Estos resultados concuerdan con los informados por (Heck et al., 2019), en el que los valores de TBAR aumentan significativamente con la sustitución de grasas. Por su parte, Fusaro et al. (2022) evaluaron la estabilidad oxidativa en hamburguesas de Marchigiana tratadas con y sin una mezcla de aceites esenciales (*Rosmarinus officinalis* y *Origanum vulgare* variedad *hirtum*). Estos autores reportaron que los valores de oxidación lipídica fueron mayores (0.55 a 0.43 mg MDA/kg) en hamburguesas sin adición y con adición directa de orégano y aceite esencial de romero.

Como era de esperar, las muestras en las que se reemplazó la grasa por emulsiones gelificadas elaboradas con aceite de soja mostraron mayores valores de oxidación de lípidos tanto en muestras crudas como cocidas en comparación con la muestra de control. Este hecho podría explicarse porque el aceite de soja se asocia con una baja estabilidad oxidativa y rancidez debido a su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (Olagunju et al., 2022).

En todas las formulaciones crudas y cocidas, no se superó el límite de aceptabilidad (2 mg MDA/kg) para la percepción de pérdida de calidad y oxidación de lípidos por parte de los consumidores (Greene y Cumuze, 1982), mientras que la adición de aceite esencial de chincho en HSMC0.25, HSMC0.5 y HSMC1.0 no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) por la adición de concentraciones de aceite. Esto puede deberse a que el aceite esencial de chincho presenta actividad prooxidante en concentraciones de 0.25-1%; este hecho concuerda con los resultados reportados por Taherian et al. (2011), quienes mencionaron que el uso de aceites vegetales en emulsiones es complejo debido a la sensibilidad a la oxidación. Una alternativa es la adición de diversos aceites esenciales con alto contenido en compuestos fenólicos para reducir la oxidación lipídica (Jonušaite et al., 2021). Por otro lado, también se ha demostrado la reducción de la oxidación de lípidos en formulaciones sustituidas con emulsiones gelificadas con el uso de carragenina como

sustituto de grasas (Poyato et al., 2015).

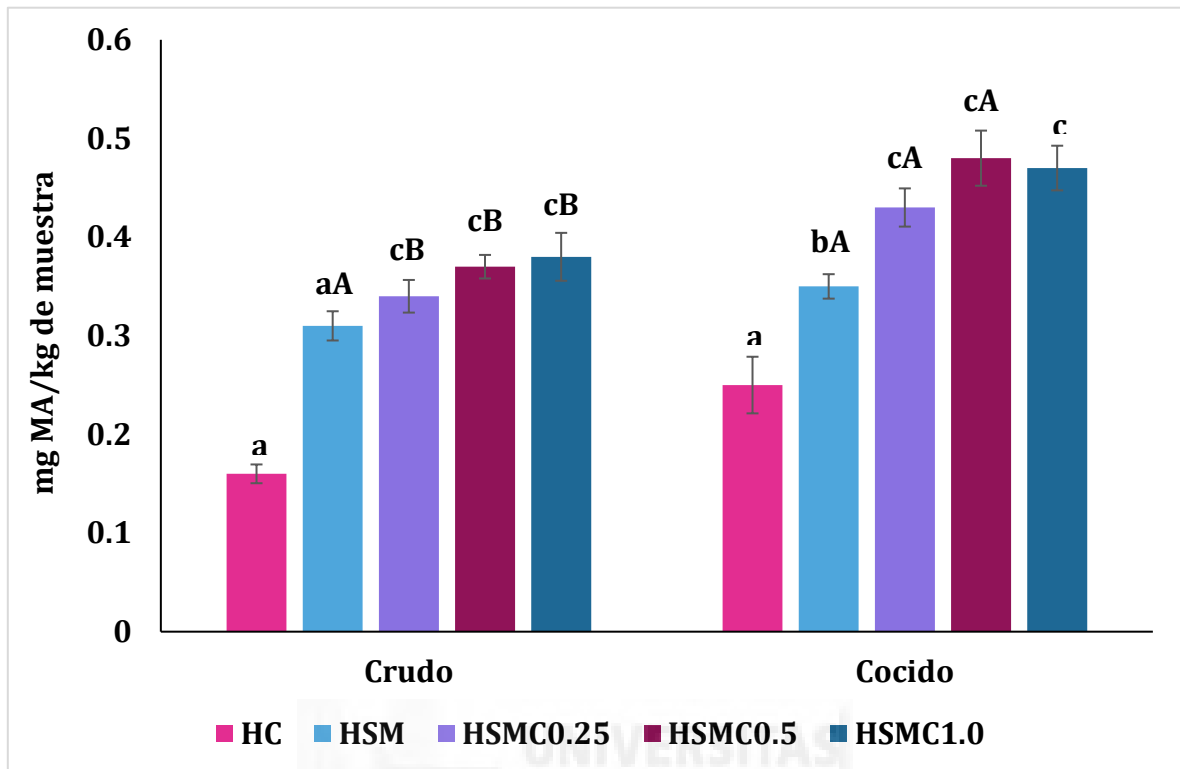


Figura 28. Efecto de la sustitución parcial de grasa dorsal de cerdo por una emulsión gelificada de harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho sobre los valores de TBARS de hamburguesa de res cocida.

*Para cada tratamiento térmico (crudo o cocido), las barras con letras minúsculas diferentes indican la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras (HC, HSM, HSM0.25; HSM0.5 y HSM1.0) según el HSD de Tukey prueba post-hoc. Para cada muestra (HC, HSM, HSM0.25; HSM0.5 y HSM1.0), las barras con letras mayúsculas distintas indican la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos térmicos (crudo o cocido) según la prueba post-hoc HSD de Tukey. TC: tocino dorsal de cerdo; EG: emulsión gelificada *HC: hamburguesa control con fórmula tradicional (20% PB); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho.

5.2.6. Análisis Sensorial

Los resultados del análisis sensorial sobre la preferencia de los consumidores por la calidad de las hamburguesas se muestran en la Figura 29. Los atributos

sensoriales se evaluaron en muestras cocidas y se analizaron estadísticamente. En general, no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) en los atributos de aspecto general, color, aroma, dureza y jugosidad en todas las formulaciones. Con respecto al atributo de sabor global la puntuación más alta ($p < 0.05$) se obtuvo en las formulaciones HC y HSM (7.40 y 7.13), respectivamente sin diferencias estadísticas entre ellas ($p > 0.05$); mientras que la muestra HSMC1.0 con mayor concentración de aceite esencial de chincho tuvo la puntuación más baja (3.80). La muestra de control tuvo una puntuación de aceptabilidad baja para el atributo aspecto general (6.80) y las puntuaciones más altas para jugosidad y sabor global (7.07 y 7.40), respectivamente.

En cuanto al color, las muestras HSMC0.5 y HSMC1.0 obtuvieron la puntuación más alta (6.93 cada una), sin diferencias significativas en todos los tratamientos ($p > 0.05$); estos datos concuerdan con el análisis instrumental que no detectó cambios en los parámetros de color para L^* y h . La muestra HSM presentó la puntuación más alta (7.20) con respecto al atributo de dureza, lo cual no concuerda con el análisis instrumental ya que el análisis de textura evidenció una mayor dureza en la muestra control (HC). En los atributos de aroma, dureza y sabor global, las formulaciones que contenían aceite esencial de chincho (BSMC0.25, BSMC0.5 y BSMC1.0) presentaron las puntuaciones más bajas. Una alternativa para mejorar los atributos sensoriales de las hamburguesas reformuladas sustituyendo la grasa de cerdo por una emulsión gelificada que contenga diversas concentraciones de aceite esencial de chincho sería enmascarar los sabores desagradables mediante microencapsulación (Morsy et al., 2021).

Además, ninguno de los panelistas detectó una nota negativa en las hamburguesas; por otro lado, al iniciar la prueba no se les mencionó que materias primas fueron utilizadas para la elaboración de las hamburguesas, esto puede ser muy importante en la evaluación debido a que estudios demuestran que, si se proporciona esa información, puede afectar en su atractivo sensorial en la innovación de este tipo productos cárnicos (Siegrist et al., 2008). La incorporación de los

ingredientes nuevos como el aceite de soja no afectó organolépticamente a la puntuación de los panelistas. Estos resultados fueron similares a los reportados por Tarté et al. (2020). Por otro lado, Kothuri et al. (2025), mencionan también que el tipo de gel de emulsión utilizado no tuvo impacto perceptible en los atributos sensoriales de hamburguesas y que su uso es positivo para obtener propiedades sensoriales favorables.

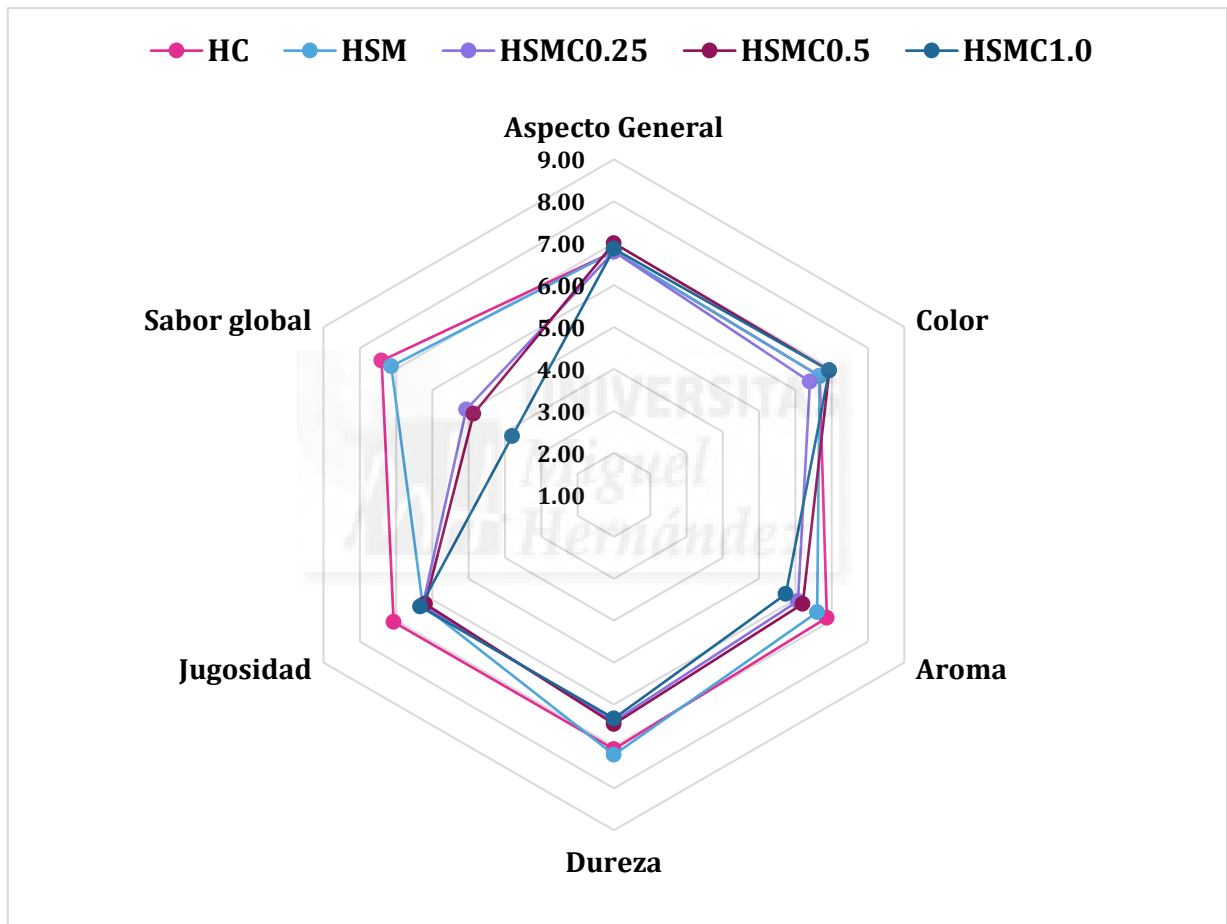


Figura 29. Resultados de las propiedades sensoriales de las hamburguesas cocidas.

TC: Tocino de cerdo; EG: emulsión gelificada. HC: hamburguesa de control con fórmula tradicional (20% TC); HSM: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₁ con harina de maca y aceite de soja; HSMC0.25: hamburguesa con 10% TC y 10% sustituido por EG₂ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC0.5: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₃ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho; HSMC1.0: hamburguesa con 10% de TC y 10% sustituido por EG₄ con harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho.

5.3. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LAS TRUFAS DE CHOCOLATE

En la Figura 30, se presenta las cuatro formulaciones de un sistema modelo de trufas de chocolate y dátil.

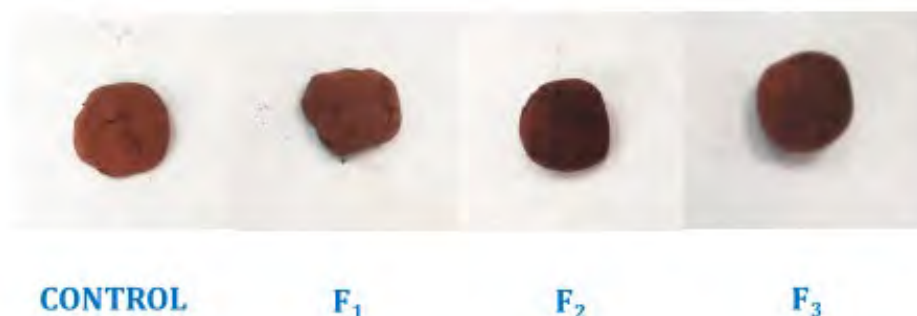


Figura 30. Sistema modelo de trufas de chocolate y dátil fresco ilicitano.

Para el análisis de las trufas de chocolate se elaboró un control y tres formulaciones, cuya composición química se detalla en la Tabla 18. Con respecto a las formulaciones F₁, F₂ y F₃, en las cuales se incorporó el aceite esencial de chincho (AEC) y ron; los resultados constataron que hubo un incremento en el contenido de humedad ($p < 0.05$), proteína ($p > 0.05$) y cenizas ($p > 0.05$). Sin embargo, el contenido de grasa ($p < 0.05$) disminuyó frente al control. Estos resultados pueden estar relacionados con propiedades tecnológicas como la capacidad de retención de agua (CRA) de la maca y que diversos estudios permiten considerar la incorporación de este tipo de harinas en la elaboración de diversos alimentos modificando los procesos tradicionales (Alarcon et al., 2021).

En tal sentido, el agua procedente tanto de la nata como del ron, pueda quedase retenida en la estructura de la harina de maca y por ende en la trufa. Además, se puede observar que la muestra control donde no se adicionó el AEC y ron, presenta el valor más bajo con respecto a la humedad y presenta diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a las otras formulaciones (F₁, F₂ y F₃) independientemente de la

cantidad de harina de maca añadida a cada formulación.

Con respecto al contenido de grasa se puede observar que la formulación control fue el que obtuvo el mayor valor respecto a las otras formulaciones y que se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre todas las formulaciones (control, F₁, F₂ y F₃). Cabe mencionar que las pequeñas diferencias existentes, a escala industrial pudiesen no tener relevancia ya que son inferiores a 10% del valor total, margen de tolerancia que se utiliza a nivel industrial (Sanz, comunicación personal). Por otro lado, la incorporación de nuevos ingredientes como el ron, AEC y la harina de maca modifican la composición química de las trufas de chocolate. Con respecto a este último ingrediente, la harina de maca es considerado un alimento que se consume hoy en día como un alimento de suplemento dietético que podría ser la causa de la disminución del contenido en grasa en las muestras (Mujica et al., 2025).

No obstante, ese comportamiento es similar al descrito por Mujica et al. (2025) en el que un alimento con respecto a la disminución del contenido de grasa el resultado es el esperado, debido a que la formulación inicial se preparó utilizando ingredientes tradicionales; mientras que en las demás formulaciones, se utilizaron ingredientes (harina de maca y harina de dátil) considerados alimentos potencialmente funcionales ya que tienen efectos beneficiosos para la salud, además de cumplir actividades biológicas como antioxidantes, prebióticos y antiinflamatorios.

Con respecto al contenido de cenizas y proteínas la adición de estos ingredientes no afectó al contenido de éstos al no presentar diferencias significativas ($p > 0.05$) entre todas las formulaciones.

Tabla 18. Efecto de la adición de harina de maca, harina de dátíl, aceite esencial de chincho y ron en la composición química (%) de trufas de chocolate.

	Formulaciones (%)			
	Control	F ₁	F ₂	F ₃
Humedad	15.63 ± 0.23 ^a	18.37 ± 0.45 ^b	18.20 ± 0.93 ^b	17.53 ± 0.78 ^b
Proteína	6.20 ± 0.12 ^a	6.41 ± 0.23 ^a	6.51 ± 0.14 ^a	6.51 ± 0.20 ^a
Grasa	33.20 ± 0.08 ^d	31.59 ± 0.16 ^c	30.16 ± 0.16 ^a	30.87 ± 0.04 ^b
Ceniza	1.53 ± 0.17 ^a	1.74 ± 0.19 ^a	1.78 ± 0.25 ^a	1.68 ± 0.14 ^a

C: control (cacao en barra, nata líquida, cacao en polvo y harina de dátíl); F₁: (C+2.5% HM + AEC + ron); F₂: (C+5% HM + AEC + ron); F₃: (C+7.5% HM + AEC + ron).

5.3.1. Análisis fisicoquímico de las trufas de chocolate

En la elaboración de las trufas de chocolate se añadieron nuevos ingredientes como cacao en barra, nata líquida, cacao en polvo, harina de dátíl y ron a las cuales se evaluaron los parámetros de color CIELAB (Tabla 19). En la cual se observa que la coordenada luminosidad (L*) en las formulaciones que se añadieron nuevos ingredientes (F₁, F₂ y F₃), no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$), pero si existieron estas diferencias ($p > 0.05$) con respecto a la muestra control. Este incremento de luminosidad L*, podría estar relacionado tanto con los valores de color de la harina de maca indicando que la adición de las distintas concentraciones en las formulaciones F₁, F₂ y F₃, de harina de maca, aceite esencial de chincho y ron de caña, no afectaron a esta variable de color. Esta coordenada está relacionada, entre otros factores, con la cantidad de agua libre/grasa en superficie y a la ultraestructura formada en la matriz por los distintos ingredientes añadidos (Pérez-Alvarez, 1996).

Por otro lado, se debería de tener en cuenta en los ingredientes añadidos como la harina de dátíl y la harina de maca que presentan un valor elevado de CRA (4.59±0.1 y 3.35±0.0 g agua/g muestra respectivamente). No obstante, la harina de

maca tiene un valor de L^* de 70.05 ± 0.48 ; por tal motivo, este factor del color podrían ser los responsables del incremento de esta coordenada (Gosalbez-Baldo et al., 2022).

Con respecto a los valores de la coordenada rojo/verde (a^*) los resultados no han sido claros ya que no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las formulaciones Control y F_2 , así como F_1 y F_3 , pero sí entre estos dos grupos ($p < 0.05$). Al comparar los valores obtenidos de las distintas formulaciones con las materias primas (chocolate y harina de maca: 5.27 ± 0.28 y 6.52 ± 0.15 , respectivamente) se puede apreciar que se presentó un efecto antagonista (los valores de la coordenada, es inferior que cualquiera de los ingredientes añadidos) en la mezcla de ingredientes (Gosalbez-Baldo et al., 2022).

De acuerdo a los estudios con Pérez-Alvarez (1996) los valores < 1 , no tienen repercusión en lo que el ojo pueda llegar a percibir, aspecto que queda corroborado por las diferencias de color (ΔE^*) obtenidas. Por otro lado, también indica que cuando las diferencias de color son inferiores a 3 (F_1 : 1.59 ± 0.37 ; F_2 : 1.97 ± 0.46 y F_3 : 1.85 ± 0.33), el ojo humano es incapaz de detectar diferencias en el color del producto (Tabla 19); este aspecto también lo corrobora Martínez et al. (2001).

Este mismo comportamiento se aprecia con la coordenada amarillo/azul (b^*), de la muestra control (Tabla 19), donde el chocolate presentó un valor de 3.34 ± 0.4 y la harina de maca 20.63 ± 0.28 . No obstante, en las formulaciones F_1 , F_2 y F_3 , es el cacao en barra, el que parece aportar mayoritariamente el valor de esta coordenada. Pero, desde el punto de vista estadístico, no se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las formulaciones F_1 y F_3 , si encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre éstos y el resto de las formulaciones (Control y F_2).

En cuanto a la saturación del color (C^*) de las muestras, se puede apreciar que presentan un comportamiento similar a la coordenada b^* , esto indica que las modificaciones del contenido en grises del producto dependerán de los cambios que tenga el producto en la coordenada b^* , en otras palabras, el croma (C^*) es b^*

dependiente (Pérez-Alvarez, 1996). Estos resultados podrían estar influenciados por los ingredientes cacao en barra como la harina de maca, aunque no se disponen, en la bibliografía, datos que puedan corroborar este aspecto.

Por otro lado, en los resultados obtenidos para la magnitud psicofísica tono (h^*), se presentó un comportamiento similar a la coordenada L^* en el cual, hubo un incremento de valor (h^*), con la adición de nuevos ingredientes. Además, las formulaciones F_1 , F_2 y F_3 , no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellas, pero si frente a la muestra control ($p > 0.05$). De acuerdo con el Instituto Nacional de Racionalización (1981), los valores del tono quedan comprendidos en el rango de los tonos rojos (Control 30-37.5°) y las formulaciones F_1 , F_2 y F_3 , en el rango de rojo-naranja (37.5-45°).

Con respecto al pH, se puede observar un incremento en las formulaciones añadidas con nuevos ingredientes a excepción de F_2 ; además, no existe un efecto claro tanto por el aumento de la concentración de maca (2.5; 5.0 y 7.5%) y por la adición de AEC y ron de caña para las muestras Control, F_1 y F_2 ya que no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellas, pero si con la formulación F_3 ($p < 0.05$). Esta última formulación presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al control, valor que podría atribuirse en principio, a una mayor concentración de maca (7.5%). Este último aspecto podría no ser muy recomendable desde el punto de vista tecnológico-industrial, ya que podría contribuir a disminuir la vida útil del producto durante su comercialización, al tener un mayor riesgo microbiológico por acción de microorganismos como *Zygosaccharomyces rouxii*, *Bacillus subtilis* y/o *Aspergillus terreus*.

Por último, se analizaron los valores de la actividad de agua (A_w) donde se observa que las formulaciones Control, F_1 y F_2 no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$), tampoco entre las formulaciones F_2 y F_3 ($p > 0.05$). Los resultados obtenidos para todas las formulaciones estudiados (Control, F_1 , F_2 y F_3) son inferiores a 0.900, lo que implica que son alimentos de humedad intermedia y

que no requieren de refrigeración para su conservación y consumo, no obstante, por su composición, se recomienda almacenarlas/conservarlas en refrigeración.

Un aspecto importante que se debe resaltar en este aspecto es que estos prototipos podrían ser muy útiles para la incorporación de probióticos encapsulados y funcionalizar aún más, estos prototipos al ya incluir fibra con propiedades prebióticas como las presentes en el dátil incluido en su formulación. No obstante, se debe tener en cuenta que el valor de pH no es tan bajo que permita actuar la tecnología de barreras (Alabi et al., 2022; Liu et al., 2022) o hurdle technology (pH < 5.5) en la formulación F₃.

Tabla 19. Efecto de la adición de nuevos ingredientes (harina de maca, harina de dátil, aceite esencial de chincho y ron) en los parámetros de color, pH y Aw en trufas de chocolate.

	Formulaciones (%)			
	Control	F ₁	F ₂	F ₃
L*	26.01 ± 1.11 ^a	28.95 ± 0.58 ^b	29.89 ± 0.45 ^b	29.25 ± 0.33 ^b
a*	3.61 ± 0.27 ^a	4.80 ± 0.12 ^b	3.68 ± 0.12 ^a	4.95 ± 0.07 ^b
b*	2.21 ± 0.63 ^a	4.17 ± 0.10 ^c	3.10 ± 0.14 ^b	4.11 ± 0.16 ^c
C*	4.25 ± 0.56 ^a	6.36 ± 0.15 ^c	4.81 ± 0.17 ^b	6.44 ± 0.16 ^c
h*	30.86 ± 5.29 ^a	40.97 ± 0.51 ^b	40.09 ± 0.98 ^b	39.65 ± 0.79 ^b
ΔE*	-	1.59 ± 0.37	1.97 ± 0.46	1.85 ± 0.33
pH	5.37 ± 0.02 ^a	5.40 ± 0.05 ^a	5.28 ± 0.03 ^a	5.63 ± 0.09 ^b
Aw	0.761 ± 0.426 ^b	0.758 ± 0.401 ^b	0.751 ± 0.419 ^{a,b}	0.75 ± 0.43 ^a

L*: luminosidad; a*: coordenada rojo/verde; b*: coordenada amarillo/azul; C*: croma; h*: tono; ΔE*: diferencia de color. C: control (cacao en barra, nata líquida, cacao en polvo y harina de dátil); F₁: (C+2.5% HM + AEC + ron de caña); F₂: (C+5% HM + AEC + ron de caña); F₃: (C+7.5% HM + AEC + ron de caña).



CAPÍTULO 6.

CONCLUSIONES/

CONCLUSIONS

6. 1. CONCLUSIONES

En base a los resultados presentes en la Tesis Doctoral se obtienen las siguientes conclusiones:

1. El aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm. posee capacidad antioxidante moderado similar a otras especies como la *Tagetes minuta* con diferentes mecanismos de acción. Además, evidenció tener propiedades antibacterianas contra bacterias Gram-negativas y Gram-positivas.
2. Se identificaron veintisiete compuestos químicos en el aceite esencial de chincho en el cual los compuestos bioactivos mayoritarios fueron: cis -tagetenona, trans -tagetenona y dihidrotagetona.
3. Debido a estas propiedades el aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm. es una alternativa segura y ecológica a los antioxidantes sintéticos y agentes antimicrobianos en la industria alimentaria.
4. La sustitución del tocino dorsal de cerdo por emulsiones gelificadas que contienen harina de maca, aceite de soya y aceite esencial de chincho (EG), en hamburguesas, redujo el contenido de ácidos grasos saturados (AGS) y aumentó los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) (principalmente ácido linoleico). Además, hubo un aumento considerable en la relación AGPI/AGS de la muestra control (HC) a la muestra (HSM) de la hamburguesa sustituido con el 10% de la grasa dorsal por una emulsión gelificada (harina de maca y aceite de soja) con valores de 0.19 a 0.80.
5. Por otro lado, se evidenció una disminución en los índices de aterogenicidad (30.61 %) y trombogenicidad (37.81 %) de la muestra control (HC) con respecto a la hamburguesa (HSM) sustituido con el 10% de la grasa dorsal por una emulsión gelificada (harina de maca y aceite de soja). Y con respecto a la relación h/H hubo un aumento del 37.11 % en de la muestra control (HC) con la muestra (HSMC0.5) de la hamburguesa sustituido con el 10% de la grasa dorsal por una emulsión gelificada (harina de maca, aceite de soja y aceite esencial de chincho).
6. La adición de emulsión gelificada (EG) en hamburguesas redujo el pH, la cantidad de grasa y proteína, la dureza, las pérdidas por cocción, la contracción y los

cambios de espesor; sin embargo, los niveles de oxidación de lípidos fueron más altos en las hamburguesas cocinadas y se vieron afectados significativamente ($p < 0.05$) por la sustitución de emulsiones gelificadas

7. La sustitución del tocino dorsal de cerdo por la emulsión gelificada (EG) puede considerarse una estrategia efectiva para producir hamburguesas más saludables sin afectar negativamente sus propiedades fisicoquímicas y tecnológicas, sin embargo, las dos últimas reformulaciones de las hamburguesas de res con mayor porcentaje de aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm., tuvieron bajos niveles de aceptabilidad por consumidores españoles, por lo que se aconseja ser cautelosos al incorporar este aceite esencial ya que puede afectar negativamente a sus atributos sensoriales.
8. La adición de distintas concentraciones (2.5, 5.0 y 7.5%) de harina de maca, ron de caña de azúcar (11%), así como de aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm. (0.02%) incrementó el contenido de humedad de los prototipos de trufa y disminuyó el contenido de grasa de todas las formulaciones anteriormente mencionados, no afectando al contenido de proteínas y cenizas de los prototipos ensayados. En relación al color, se detectó un efecto antagonista entre los distintos ingredientes de la formulación de los prototipos ensayados, para la coordenada rojo/verde (a^*), mientras que la saturación de color (C^*) de los distintos prototipos depende de la coordenada amarillo/azul (b^* dependiente). Y las diferencias de color (ΔE^*) fueron imperceptibles para el ojo humano.
9. Desde el punto de vista tecnológico, es viable el uso de harinas de dátil, harina de maca, ron de caña de azúcar y aceite esencial de *Tagetes elliptica* Sm., a las concentraciones estudiadas para la obtención de un prototipo estable a temperatura ambiente; sin embargo, deberían de realizarse al respecto, estudios de vida útil.

6.2. CONCLUSIONS

Based on the results presented in the doctoral thesis, the following conclusions were drawn:

1. *Tagetes elliptica* Sm essential oil has moderate antioxidant capacity similar to other *Tagetes* cultivar (*Tagetes minuta*), with different action mechanisms. It also showed antibacterial properties against Gram-negative and Gram-positive bacteria.
2. Twenty-seven chemical compounds in chincho essential oil were identified, Thus, the main bioactive compounds were: cis-tagetenone, trans-tagetenone, and dihydrotagetenone.
3. Due to these properties, the essential oil of *Tagetes elliptica* Sm. is a safe and environmentally friendly alternative to synthetic antioxidants and antimicrobial agents for the food industry.
4. Replacing pork backfat with maca flour, soybean oil, and tagetes elliptica essential oil (EG) gelled emulsions in hamburgers, reduced the saturated fatty acid (SFA) content and increased polyunsaturated fatty acids (PUFA) (mainly linoleic acid). In addition, there was a considerable increase in the PUFA/SFA ratio from the control sample (HC) to the sample (HSM) of the hamburger with 10% of the backfat replaced by a gelled emulsion (maca flour and soybean oil), with values ranging from 0.19 to 0.80.
5. A decrease in the atherogenicity (30.61%) and thrombogenicity (37.81%) indices of the control sample (HC) compared to the hamburger (HSM) with 10% of the backfat replaced by a gelled emulsion (maca flour and soybean oil) were obtained. The h/H ratio, there was a 37.11% increase in the control sample (HC) with the sample (HSMC0.5) of the hamburger substituted with 10% of the backfat by a gelled emulsion (maca flour, soybean oil, and chincho essential oil).
6. The addition of gelled emulsion (GE) to hamburgers reduced the pH, fat and protein content, hardness, cooking losses, shrinkage, and changes in thickness; however, lipid oxidation levels were higher in cooked hamburgers and were

affected by gelled emulsions substitution.

7. Replacing pork backfat with gel emulsion (GE) can be considered an effective strategy for producing healthier hamburgers without negatively affecting their physicochemical and technological properties. However, the reformulations of beef hamburgers with a higher percentage of *Tagetes elliptica Sm.* essential oil had low levels of acceptability among Spanish consumers, since it may negatively affect their sensory attributes.

8. The addition of different concentrations of maca flour (2.5, 5.0, and 7.5%), sugarcane rum (11%), and *Tagetes elliptica Sm.* essential oil (0.02%) increased the moisture content of the truffle prototypes and decreased the fat content of all the aforementioned formulations, without affecting the protein and ash content of the prototypes tested. In terms of color, an antagonistic effect was detected between the different ingredients in the formulation of the prototypes tested for the red/green coordinate (a^*), while chroma (C^*) of the different prototypes depended on the yellow/blue coordinate (b^* dependent). The color differences (ΔE^*) were imperceptible to the human eye.

9. From a technological point of view, the use of date flour (Confitera cultivar), maca flour, sugarcane rum, and *Tagetes elliptica Sm.* essential oil is feasible at the concentrations studied to obtain a prototype that is stable at room temperature; however, shelf life studies should be conducted.



CAPÍTULO 7.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, R. P. 2017. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online (https://diabloanalytical.com/ms/essential-oil-components-by-gcms/essential_oil_components_ebook.pdf). ed. Texensis Publishing
- Alabi, K.P., Olalusi, A.P., Olaniyan, A.M., Fadeyibi, A., Gabriel, L.O., 2022. Effects of osmotic dehydration pretreatment on freezing characteristics and quality of frozen fruits and vegetables. *Journal of Food Process Engineering*. 45(8): e14037. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14037>
- Alarcón, M. A., Perez-Alvarez, J. A., López-Vargas, J. H., & Pagán-Moreno, M. J. (2021). Techno-Functional Properties of New Andean Ingredients: Maca (*Lepidium meyenii*) and Amaranth (*Amaranthus caudatus*). *Proceedings*, 70(1), 74. https://doi.org/10.3390/foods_2020-07744
- Al-Alawi R., Al-Mashiqri J., Al-Nadabi J., Al-Shihi B., Baqi Y., 2017. Date Palm Tree (*Phoenix dactylifera* L.): Natural Products and Therapeutic Options. *Front. Plant Sci.* 8, 845. <https://doi.10.3389/fpls.2017.00845>
- Al-Maqtari, Q; Rehman, A; Mahdi, A; Al-Ansi, W; Wei, M; Yanyu, Z; Phyto, H. M; Galeboe, O; Yao, W. 2022. Application of essential oils as preservatives in food systems: Challenges and future perspectives – a review. *Phytochemistry Reviews*, 21(4):1209-1246. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09776-y>
- Albergamo, A; Vadalà, R; Metro, D; Nava, V; Bartolomeo, G; Rando, R; Macrì, A; Messina, L; Gualtieri, R; Co-lombo, N. 2021. Physicochemical, Nutritional, Microbiological, and Sensory Qualities of Chicken Burgers Reformulated with Mediterranean Plant Ingredients and Health-Promoting Compounds. *Foods*. 10: 2129. <https://doi.org/10.3390/foods10092129> .
- Alejandre, M.; Passarini, D.; Astiasarán, I.; Ansorena, D. The effect of low-fat beef patties formulated with a low-energy fat analogue enriched in long-chain polyunsaturated fatty acids on lipid oxidation and sensory attributes, *Meat Science*, 134, 2017, Pages 7-13, <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.07.009>
- Althaher, A; Oran, S; Bustanji, Y.K. 2020. Phytochemical Analysis, Invitro Assessment of Antioxidant Properties and Cytotoxic Potential of *Ruta chalepensis* L.

- Essential Oil, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(6): 1409-1421, <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1871078>
- Álvarez, F; Barrajón, E; Herranz, M; Micol, V. 2021. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action, *Phytomedicine*, 90: 153626, <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153626>.
- AMSA. Meat Color Measurement Guidelines; Association. AMS (2012). Champaign, Illinois, USA
- An, L; Sun, Y; Huang, J; Liu, Y; Yuan, H; Zhang, R; Sun, Y. 2018. Chemical Compositions and in vitro Antioxidant Activity of the Essential Oil from *Coreopsis tinctoria* Nutt. Flower, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(4): 876-885. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1510792>
- AOAC, 2000 AOAC (17th edition), Official Methods of Analysis of AOAC International, vol. 1, AOAC International, Gaithersburg, 2000, A. International, Ed.
- Aqeel, U; Aftab, T; Khan, M; Naeem, M. 2023. Regulation of essential oil in aromatic plants under changing environment. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 32: 100441, <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100441>.
- Bakkali, F; Averbeck, S; Averbeck, D; Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils- A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Barros, J.C; Munekata, P.E.S; de Carvalho, F.A.L; Domínguez, R; Trindade, M.A; Pateiro, M; Lorenzo, J.M. 2021. Healthy beef burgers: Effect of animal fat replacement by algal and wheat germ oil emulsions. *Meat Sci.* 173: 108396. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108396>
- Behbahani, B; Noshad, M; Falah. F. 2019. Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy, *Microbial Pathogenesis*, 136: 103716, <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103716>.
- Beltrán, H. 2016. Las Asteráceas (Compositae) del distrito de Laraos (Yauyos, Lima, Perú)/ The Asteraceae (Compositae) from Laraos district (Yauyos, Lima, Perú). *Revista Peruana De Biología*, 23(2): 195-220. <https://doi.org/10.15381/rpb.v23i2.12439>

- Bhavaniramy, S; Vishnupriya, S; Al-Aboody, M. S; Vijayakumar, R; Baskaran, D. 2019. Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*, 2(2): 49-55. <https://doi:10.1016/j.gaost.2019.03.001>.
- Botella, C; Gea, A; Sayas, E; Pérez, J.A. Fernández, J; Viuda, M. 2022. Improving the lipid profile of beef burgers added with chia oil (*Salvia hispanica* L.) or hemp oil (*Cannabis sativa* L.) gelled emulsions as partial animal fat replacers. *LWT-Food Sci. Technol.* 161: 113416. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113416>
- Botella, C; Lucas, R; Lorenzo, J.M; Santos, E.M; Rosmini, M; Sepúlveda, N; Teixeira, A; Sa-yas, E; Pérez, J.A; Fernandez, J; Viuda, M. 2021. Cocoa Coproducts-Based and Walnut Oil Gelled Emulsion as Animal Fat Replacer and Healthy Bioactive Source in Beef Burgers. *Foods*. 10: 2706. <https://doi.org/10.3390/foods10112706>.
- Bouزيد, H; Oubannin, S; Ibourki, M; Bijla, L; Hamdouch, A; Sakar, E; Harhar, H; Majourhat, K; Koubachi, J; Gharby, S. 2023. Comparative evaluation of chemical composition, antioxidant capacity, and some contaminants in six Moroccan medicinal and aromatic plants, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47: 102569, <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102569>
- Brand, W; Cuvelier. M. E; Berset. C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28: 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Carhuapoma M. 2017. Elucidación estructural, actividad Anti-Trypanosoma cruzi y toxicidad aguda del aceite esencial de *T. elliptica* Smith "chinchu". Tesis de maestría, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado - Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú.
- Carvalho, F. A. L; Munekata, P. E. S; Pateiro, M; Campagnol, P. C. B; Domínguez, R; Trindade, M. A; Lorenzo J. M. 2020. Effect of replacing backfat with vegetable oils during the shelf-life of cooked lamb sausages. *LWT-Food Science and Technology*. 122: 109052. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109052>
- Carvalho, F; Fonseca, L; Diogenes, V; Costa, S; Leonardo, L; Colepicolo, P; Ferraz, C; Ribeiro, P. 2021. Combination of a multiplatform metabolite profiling approach and chemometrics as a powerful strategy to identify bioactive metabolites in

- Lepidium meyenii* (Peruvian maca). Food Chem. 364:130453. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130453>.
- Cassens, R.G; Demeyer, D; Eilelembom, G; Honikel, K.O; Johansson, G; Nielsen, T; Renerre, M; RRichard-son, I.; Sakata, R. 1995. Recommendations of reference methods for assessment of meat colour. Proceedings 41st International Congress of Meat Science and Technology, San Antonio, Texas, USA, 86: 410,411.
- Chang, L; Koo, C. 2017. Development of low-fat sausages using basil seed gum (*Ocimum bacilicum* L.) and gelatin as a fat replacer. Inter. J. Food Sci. Technol. 52: 733-740. <https://doi:10.1111/ijfs.13328>
- Claus, J. R. 1995. Methods for the objective measurement of meat product texture. Proceeding of 48th Reciprocal Meat Conference. San Antonio, TX, USA: Reciprocal Meat Conference Proceeding, 96-101.
- Cornelius, W; Wycliffe, W. 2016. Chapter 90 - *T. (T. minuta)* Oils. Editor(s): Victor R. Preedy. Essential Oils in Food Preservation. Flavor and Safety. Academic Press. 791-802. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00090-0>.
- Corrêa, P; da Silva, C; Ferreira, F; Campos Guerra, J. Vegetable-based frankfurter sausage production by different emulsion gels and assessment of physical-chemical, microbiological and nutritional properties, Food Chemistry Advances, 3, 2023, 100354, , <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100354>.
- da Trindade, R.C.S; Xavier, J.K.A.M; Setzer, W.N; Maia, J.G.S; da Silva, J.K.R. 2021. Chemical Diversity and Therapeutic Effects of Essential Oils of Aniba Species from the Amazon: A Review. Plants, 10:1854. <https://doi.org/10.3390/plants10091854>
- De La Cruz, H; Vilcapoma, G; Zevallos, P. 2007. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. Journal of Ethnopharmacology. 111(2): 284-294. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.018>.
- De la Cruz, M. G; Malpartida, S. B; Santiago, H. B; Jullian, V; Bourdy, G. 2014. Hot and cold: medicinal plant uses in Quechua speaking communities in the high Andes (Callejon de Huaylas, Ancash, Peru). J Ethnopharmacol, 155(2): 1093-1117. <https://doi:10.1016/j.jep.2014.06.042>.

- De La Torre, J; Gassara, F; Kouassi, A; Brar, S; Belkacemi, K. 2017. Uso de especias en los alimentos: propiedades y beneficios. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 57(6): 1078-1088. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.858235>
- De Oliveira, D; Abib, P; Giacomini, R; Lenardão, E; Schiedeck, G; Wilhelm, E; Luchese, C; Savegnago, L; Jacob, R. 2019. Antioxidant and antifungal activities of the flowers' essential oil of *T. minuta*, (Z)-tagetone and thiotagetone, *Journal of Essential Oil Research*. *Journal of Essential Oil Research*, 31(2): 160-169. <https://doi.org/10.1080/10412905.2018.1519465>
- Díaz, J. 2014. Estructura química del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *T. elliptica* Sm. "Chincho", actividad antibacteriana y antifúngica en la aplicación de un alimento andino, Tesis para optar el grado académico de Magister en Ciencia de Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioquímica Unidad de posgrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- Djuricic, I; Calder, P.C. 2021. Beneficial Outcomes of Omega-6 and Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids on Human Health: An Update for 2021. *Nutrients*. 13: 2421. <https://doi.org/10.3390/nu13072421>.
- Domínguez, R; Pateiro, M; Gagaoua, M; Barba, F; Zhang, W; Lorenzo, J. A. 2019. Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. *Antioxidants*. 8: 429. <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>.
- Donadini, G; Fumi, M; Lambri, M. The hedonic response to chocolate and beverage pairing: A preliminary study, *Food Research International*, Volume 48, Issue 2, 2012, 703-711, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.009>.
- Dutra da Silva, B; Alves do Rosário, D; Weitz, D; Conte, C. 2022. Essential oil nanoemulsions: Properties, development, and application in meat and meat products, *Trends in Food Science & Technology*, 121:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.026>.
- Echegaray, N; Gullón, B; Pateiro, M; Amarowicz, R; Misihairabgwi, J.M; Lorenzo J.M. 2023. Date Fruit and Its By-products as Promising Source of Bioactive Components: A Review. *Food Reviews International*, 39 (3): 1411 - 1432, <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1934003>
- Essa, R. Y; Elsebaie, E.M. 2022. New fat replacement agent comprised of gelatin and soluble dietary fibers derived from date seed powder in beef burger

- preparation, LWT-Food Sci. Technol. 156: 113051.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113051>
- European Parliament. Regulation 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. Official Journal of the European Union 2006, OJ, L12, 3-8.
- Fernandes, R; Almeida, R; Aguiar, L; Torres, T; Nereide Serafim, N; Gianasi, F; Batista, A; Efraim, P. Chocolates, compounds and spreads: A review on the use of oleogels, hydrogels and hybrid gels to reduce saturated fat content, Food Research International, Volume 178, 2024, 113986,
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.113986>.
- Fisk, I. D; Gray, D.A. 2011. Soybean (Glycine max) Oil Bodies and Their Associated Phytochemicals. J. Food Sci. 76:9. <https://doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02428.x>
- Foggiaro, D; Domínguez, R; Pateiro, M; Cittadini, A; Munekata, P.E.S; Campagnol, P.C.B; Fraqueza, M.J; De Palo, P; Lorenzo, J.M. 2022. Use of Healthy Emulsion Hydrogels to Improve the Quality of Pork Burgers. Foods. 11: 596.
<https://doi.org/10.3390/foods11040596>
- Folch, J; Lees, M; Stanley, G.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-509.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)
- Fortune Business Insights, 2022. Insights. Cocoa and chocolate market size, share & COVID 19 impact analysis by type (cocoa ingredients (butter, liquor, powder) and chocolate (dark, milk, white, and filled)), by application (food and beverage, cosmetics, pharmaceuticals, and others) and regional forecast, 2022-2029. Retrieved from <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/cocoa-and-chocolate-market-100075> (accessed 5 de Sep 2022).
- França, F; Harada-Padermo, S; Frasceto, R; Saldaña, E; Lorenzo, J; Ferreira de Souza, T.; Selani, M. 2022. Umami ingredient from shiitake (Lentinula edodes) by-products as a flavor enhancer in low-salt beef burgers: Effects on physico-chemical and technological properties. LWT. 2022, 154, 112724. ISSN 0023-6438. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112724>.
- Fusaro, I; Cavallini, D; Giammarco, M; Serio, A; Mammi, L.M.E; De Matos Vettori, J; Lanzoni, L; Formigoni, A; Vignola, G. 2022. Effect of Diet and Essential Oils on

- the Fatty Acid Composition, Oxidative Stability and Microbiological Profile of Marchigiana Burgers. *Antioxidants*. 11: 827. <https://doi.org/10.3390/antiox11050827>
- Giarratana, F; Muscolino, D; Ziino, G; Giuffrida, A; Marotta, S. M; Lo Presti, V; Panebianco, A. 2017. Activity of *T. minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil against L3 Anisakis larvae type 1. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 10: 461-465. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.05.005>
- Golay, P.A; Moulin, J. 2012. Determination of labeled fatty acids content in milk products, infant formula, and adult/pediatric nutritional formula by capillary gas chromatography: Collaborative study, Final Action.13. *J. AOAC Int*. 2016, 99, 210–222.
- Gonzales, M; Baldeón, S; Beltrán, H; Julian, V; Bourdy, G. 2014. Hot and cold: Medicinal plant uses in Quechua speaking communities in the high Andes (Callejón de Huaylas, Ancash, Perú). *J. of Ethnopharmacology*, 155: 1093-1117. <https://10.1016/j.jep.2014.06.042>
- Gosalbez-Baldo, M., Cerrón-Mercado, F., Viuda-Martos, M., Botella-Martínez, C., Pérez-Alvarez; J.A. (2022). Desarrollo e innovación de prototipos de trufa de chocolate fusión con dáttil (*Phoenix dactylifera*) cv Bolica y maca (*Lepidium meyenii*). II Congreso en Innovación y Sostenibilidad Agroalimentaria (CUISA). Orihuela. Alicante 15-16 Septiembre 2022
- Greene, B. E., & Cumuze, T. H. Relationship between TBA numbers and inexperienced panelists' assessments of oxi-dized flavor in cooked beef. *J. of Food Science*. 1982, 47, 52–54. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb11025.x>
- Guerberoff, E; Mariani, M; Ponso, C; Juncos, N; Olmedo, R; Antioxidant properties from *Tagete filifolia* essential oil with high estragole + anethole content by analysis of thermal stability and oxidation: chemical, volatile and sensory determinations, *Microchemical Journal*, Volume 208, 2025, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.112393>.
- Guo, J.; Cui, L.; Meng, Z. Oleogels/emulsion gels as novel saturated fat replacers in meat products: A review, *Food Hydrocolloids*, Volume 137, 2023, 108313, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108313>.
- Hammond, G; Fernández, I; Villegas, L; Vaisberg, A. 1998. A survey of traditional medicinal plants from the Callejón de Huaylas, Department of Ancash, Perú.

Journal of Ethnopharmacology. 61(1): 17-30. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00009-9).

Hashemi H, Eskandari MH, Hosseini SMH. A novel strategy for simultaneous reduction of salt and animal fat in burger using a taste contrast system based on double emulsion. *Curr Res Food Sci.* 2023 Nov 19;7:100644. doi: 10.1016/j.crfs.2023.100644. PMID: 38115893; PMCID: PMC10728326.

Heck, R.; Saldaña, R.; Lorenzo, J.; Pereira, L.; Bittencourt, M.; Cichoski, A.; Ragagnin, C.; Wagner, R.; Bastianello, P. Hydrogelled emulsion from chia and linseed oils: A promising strategy to produce low-fat burgers with a healthier lipid profile, *Meat Science.* 2019, 156, 174-182. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.034>

Herrero, A.M; Ruiz-Capillas, C. Novel lipid materials based on gelling procedures as fat analogues in the development of healthier meat products. *Current Opinion in Food Science*, 2021, 39,1,6. doi: 10.1016/j.cofs.2020.12.010.

Huang, X., Gao, W., Yun, X., Qing, Z., Zeng, J. 2022. Effect of Natural Antioxidants from Marigolds (*T. erecta* L.) on the Oxidative Stability of Soybean Oil. *Molecules*, 27(9), 2865. <https://doi.org/10.3390/molecules27092865>

Huaraca, R.; Delgado, M.; Tapia, F. Metabolitos bioactivos y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial extraído de dos especies del género *T.* *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 2022, 50,3. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v50n3.93429>

Hughes, J.M., Oiseth, S.K., Purslow, P.P., Warner, R.D. A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Sci.* 2014, 98, 520-532. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.022>

Ibrahim, S., and Mohamed, G. 2017. Tagetones A and B, new cytotoxic monocyclic diterpenoids from flowers of *T. minuta*. *Chinese Journal of Natural Medicines.* 15, (7), 546-549. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(17\)30081-X](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(17)30081-X).

Iruoghene, G; Nwachukwu, S; Ali, A; Yousif, E; Jikah, A; Zainulabdeen, K; Ekokotu, H; Isoje, E; Igbuku, U; Opiti, R; Akpogheli, P; Owhero, J; Essagah, A. A review on the composition, extraction and applications of phenolic compounds, *Ecological Frontiers*, 45, (1), 2025, <https://doi.org/10.1016/j.ecofro.2024.09.008>.

- Jonušaitė, K.; Venskutonis, P.R.; Martínez, G.B.; Taboada, A.; Nieto, G.; López, A.; Marín, F. Antioxidant and Anti-microbial Effect of Plant Essential Oils and Sambucus nigra Extract in Salmon Burgers. *Foods*. 2021, 10, 776. <https://doi.org/10.3390/foods10040776>
- Kant, R; Kumar, A. Review on essential oil extraction from aromatic and medicinal plants: Techniques, performance and economic analysis, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, Volume 30, 2022, 100829, <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100829>.
- Kashyap, P., Singh, S., Singh, M., Gupta, A., Tandon, S., Shanker, K., Verma, R., Ram Verma, R. 2022. An efficient process for the extraction of lutein and chemical characterization of other organic volatiles from marigold (*T. erecta* L.) flower. *Food Chemistry*. 396, 133647. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133647>.
- Kaur, J. and Kaushal, S. 2020. Chemical Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Harsingar (*Nyctanthes arbortristis*) essential oil, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1759458>
- Khalil, M., Raila, J., Ali, M., Islam, K., Schenk, R., Krause, J., Schweigert, F., Rawel, H. 2012. Stability and bioavailability of lutein ester supplements from *T.* flower prepared under food processing conditions. *Journal of Functional Foods*, 4, 3, 602-610. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.03.006>.
- Khorshidian, N.; Yousefi, M.; Khanniri, E., Mortazavian, A. 2018. Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45, 62-72, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.020>.
- Kong, A.S.-Y.; Maran, S.; Yap, P.S.X.; Lim, S.H.E.; Yang, S.-K.; Cheng, W.-H.; Tan, Y.-H.; Lai, K.-S. Anti- and Pro-oxidant properties of essential oils against antimicrobial resistance. *Antioxidants* 2022, 11, 1819.
- Kothuri, V; Han, J; Keum, D; Kwon, H; Kim, D; Han, S. Utilization of emulsion gels in plant-based meat analog formulations: A review, *Food Hydrocolloids*, Volume 158, 2025, 110499, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110499>.
- Kumar, R.; Sharma, S.; Ramesh, K.; Pathania, V.; Prasad, R. Irradiance stress and plant spacing effect on growth, biomass and quality of wild marigold (*T. minuta* L.) –

- an industrial crop in western Himalaya. *Journal of Essential Investigation petrolera*, 2014, 26, 348-358. <https://doi.org/10.1080/10412905.2014.935497>.
- Kumar, Y. Development of Low-Fat/Reduced-Fat Processed Meat Products using Fat Replacers and Analogues. *Food Reviews International*, 2019, 1–17. <https://doi:10.1080/87559129.2019.1704001>
- Lahyaoui, M; Dakka, N; El Meniyi, N; Sobeh, M; Razi, P; Wen Goh, K; Al-Worafi, Y; Farrukh, M; Bouyahya, A. Ethnobotanical survey of medicinal and aromatic plants used by the population of Settat Province, Morocco, *Heliyon*, 2025, e42323, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e42323>.
- Lalas, S., Dourtoglou. V. Use of rosemary extract in preventing oxidation during deep-fat frying of potato chips. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2003. 80: 579-583. <https://doi.org/10.1007/s11746-003-0741-x>
- Lammari, N.; Louaer, O.; Meniai, A.; Fessi, H.; Elaissari, A. 2021. Plant oils: From chemical composition to encapsulated form use, *International Journal of Pharmaceutics*, 601, 120538, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120538>.
- Li, Y., Erhunmwunsee, F., Liu, M., Yang, K., Zheng, W., Tian, J. 2022. Antimicrobial mechanisms of spice essential oils and application in food industry, *Food Chemistry*, 382, 132312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132312>.
- Loockerman, D., Turner, B., and Jansen, R. (2003). Phylogenetic Relationships within the Tageteae (Asteraceae) Based on Nuclear. Ribosomal ITS and Chloroplast *ndhF* Gene Sequences. *Systematic Botany*. 28(1):191-207. <http://www.jstor.org/stable/3093948>
- López, J.; Fernández, J.; Pérez, J.A.; Viuda, M. Quality characteristics of pork burger added with albedo-fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) co-products. *Meat Science*, 2014, 97, 270-276. ISSN 0309-1740. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.02.010>.
- López-Estrada, D.; Wen-Te Chang; Heinrich, M. From “traditional” to modern medicine: A medical and historical analysis of *Tagetes erecta* L. (*Cempasúchil*), *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, Volume 15, Issue 1, 2025, Pages 6-14, <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2024.08.001>.
- Lucas, R; Roldán, A; Sayas, E; Fernández, J, Pérez, J; Viuda, M. Assessment of emulsion gels formulated with chestnut (*Castanea sativa* M.) flour and chia (*Salvia*

- hispanica* L) oil as partial fat replacers in pork burger formulation. J Sci Food Agric. 2020 Feb;100(3):1265-1273. doi: 10.1002/jsfa.10138.
- Marotti , M.; Piccaglia, R., Biavati, B.; Marotti, I. 2004. Characterization and Yield. Evaluation of Essential Oils from Different *T. Species*, Journal of Essential Oil Research, 16:5, 440-444.
- Martínez, J.A.; Melgosa, M.; Pérez, M.M.; Hita, E.; Negueruela, A.I. Note. Visual and Instrumental Color Evaluation in Red Wines. Food Science & Technology International. 2001, 7, 439-444. <https://doi.org/10.1106/vfat-5ren-1wk2-5jgq>
- Mikre, W., Rohloff, J., Hymete, A. 2007. Volatile Constituents and Antioxidant Activity of Essential Oils Obtained from Important Aromatic Plants of Ethiopia, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 10(6), 465-474. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2007.10643580>
- Mishra, B.; Chandra. M. 2022. Evaluation of phytoremediation potential of aromatic plants: A systematic review. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 31, 100405, <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100405>.
- Mnif, W., Dhifi, W., Jelali, N., Baaziz, H., Hadded, A., Hamdi, N. 2011. Characterization of Leaves Essential oil of Pelargonium graveolens Originating from Tunisia: Chemical Composition, Antioxidant and Biological Activities, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 14:6, 761-769, <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2011.10644001>
- Moghaddam, M.; Pirbalouti, A.G.; Babaei, K.; Farhadi, N. Chemical compositions of essential oil from the aerial parts of Tagetes patula L. and Tagetes erecta L. cultivated in northeastern Iran. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2021, 24, 990-997. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2021.2005691>
- Morsy, M., Elsabagh, R. 2021. Quality parameters and oxidative stability of functional beef burgers fortified with microencapsulated cod liver oil, LWT, Volume 142, 2021, 110959. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110959>
- Mujica, A.; Andrade, N.; Sørensen, M. Chapter 14 - Traditional uses, processes, and markets: the case of maca (*Lepidium meyenii* Walp.), Editor(s): Marney Pascoli Cereda, Olivier François Vilpoux, In Underground Starchy Crops of South American Origin, Traditional Starch Food Products, Academic Press, 4, 2025, 293-311, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90844-3.00006-8>.

- Müller, K. L., Böhm. K. 2010. In vitro antioxidant activity of tocopherols and tocotrienols and comparison of vitamin E concentration and lipophilic antioxidant capacity in human plasma. *Molecular Nutrition and Food Research*, 54, 731-742. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900399>
- Muñoz-Bas, C.; Vedor, R.; Machado, D; Barbosa, J.C.; Gomes A.M.; Pérez-Alvarez J.A.; Fernández-Lopez J. 2025. *In vitro* evaluation of biological properties of high-added value ingredients (date juice and date powder) obtained from date co-products. *Applied Food Research*, 5 (1), art. no. 100685, <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100685>
- Natividad, Á; Cisneros, G; Rojas, R; Matos, A; Ramos R, M. 2009. Componentes antioxidantes del chincho (*T. elliptica* Sm.): vitamina c y Flavonoides. *Investigación Valdizana*, 3(2), 94–99. <https://revistas.unheval.edu.pe/index.php/riv/article/view/641>
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (1997). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. 6th ed. Approved Standard. M2-A6. Wayne. PA
- Nieto, G. (2017). Biological Activities of Three Essential Oils of the Lamiaceae Family. *Medicines*, 4(3), 63. <https://doi.org/10.3390/medicines4030063>
- Niforou, A.; Magriplis, E.; Klinaki, E.; Niforou, K.; Naska. A. On account of trans fatty acids and cardiovascular dis-ease risk – there is still a need to upgrade the knowledge and educate consumers. *Nut. Met and Cardiovascular Dis-eases*. 2022, ISSN 0939-4753. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2022.05.010>.
- Olagunju, I.; Adelakun. S.; Olawoyin. S. The effect of rice bran extract on the quality indices, physicochemical prop-erties and oxidative stability of soybean oil blended with various oils. *Measurement: Food*. 2022, 6, 100032. <https://doi.org/10.1016/j.meafao.2022.100032>.
- Olajuyigbe. OO. Afolayan. AJ Phenolic content and antioxidant property of the bark extracts of *Ziziphus mucronata* Willd. subsp. *mucronata* Willd. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11 . 130 (2011). <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-130>.
- Omer, E.A.; Hendawy, S.F.; Ismail, R.F.; Petretto, G.L.; Rourke, J.P.; Pintore, G. Acclimatization study of *Tagetes lucida* L. in Egypt and the chemical characterization of its essential oils. *Nat. Prod. Res*. 2017, 31, 1509–1517.

- Ortiz, G.; Enrique Melero, E.; Raúl Sánchez, R. 2022. Potential sources and methodologies for the recovery of phenolic compounds from distillation residues of Mediterranean aromatic plants. An approach to the valuation of by-products of the essential oil market – A review, *Industrial Crops and Products*, 175, 114261, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114261>.
- Ouraji, H.; Shabanpur, B.; Kenari, A.A.; Shabani, A.; Nezami, S.; Sudagar, M.; Faghani, S. Total lipid, fatty acid composition and lipid oxidation of Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) fed diets containing different lipid sources. *J. of the Sci. of Food and Agriculture*. 2009, 89, 993 – 997. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3545>.
- Oyaizu. M. Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn. J. Nutr.* 1986. 44. 307-315.
- Panda, C.; Varadharaj, S.; Voruganti. V.S. PUFA, genotypes and risk for cardiovascular disease. *Prostaglandins, Leu-kotrienes and Essential Fatty Acids*. 2022, 176, 102377. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2021.102377>
- Panmei, Robert; Gajurel, P.R.; Singh, B. (2019). Ethnobotany of medicinal plants used by the Zeliangrong ethnic group of Manipur, northeast India. *Journal of Ethnopharmacology*, (), S0378874118328794-. doi:10.1016/j.jep.2019.02.009
- Pellegrini, M.; Lucas-Gonzales, R.; Ricci, A.; Fontecha, J.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J.A.; Viuda-Martos, M. Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Ind. Crop Prod.* 2018, 111, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.006>
- Pérez Alvarez, J.A. 1996. Contribución al estudio objetivo del color en productos cárnicos crudo-curados. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. España.
- Pichette, A; Garneau, F; Collin, G; Jean, F; Gagnon, H; Lopez, J. 2005. Essential Oils from Bolivia. IV. Compositae: *T. aff. maxima* Kuntze and *T. multiflora* H.B.K., *Journal of Essential Oil Research*, 17(1): 27-28, <https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698820>
- Poma, P.; Labbozzetta, M.; Notarbartolo, M.; Bruno, M.; Maggio, A.; Rosselli, S.; Sajeva, M.; Zito, P. Chemical composition, in vitro antitumor and pro-oxidant activities

- of *Glandora rosmarinifolia* (Boraginaceae) essential oil. PLoS ONE 2018, 13, e0196947.
- Poyato, C.; Astiasarán, I.; Barriuso, B.; Ansorena, D. A new polyunsaturated gelled emulsion as replacer of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and sensory acceptability. LWT - Food Science and Technology. 2015, 62, 1069-1075. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.02.004>
- Rabadán, A.; Álvarez-Ortí, M.; Martínez, E.; Pardo-Giménez, A.; Zied, D.C.; Pardo, J.E. Effect of replacing traditional ingredients for oils and flours from nuts and seeds on the characteristics and consumer preferences of lamb meat burgers, LWT-Food Sci. Technol. 2021, 136, 1, 110307. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110307>
- Rawat, A.; Kholiya, S., Chauhan, A.; Kumar, D., Venkatesha, K.T.; Upadhyay, R.K., Padalia, R.C. 2023. Chemical composition of the essential oil from different plant parts of *Zingiber zerumbet* Sm. grown in the foothills of Uttarakhand, Biochemical Systematics and Ecology, 108: 104627, <https://doi.org/10.1016/j.bse.2023.104627>.
- Ren, Y.; Huang, L.; Zhang, Y.; Li, H.; Zhao, D.; Cao, J.; Liu, X. Aplicación de geles de emulsión como sustitutos de grasa en productos cárnicos. Alimentos 2022, 11, 1950. <https://doi.org/10.3390/foods11131950>.
- Riaz, M; Ahmad, R; Rahman, N; Khan, Z; Dou, D; Sechel, G; Manea, R. (2020). Traditional uses, phyto-chemistry and pharmacological activities of *T. patula* L.. Journal of Ethnopharmacology, (), 112718-. doi:10.1016/j.jep.2020.112718 .
- Rosmini, M.R.; Perlo, F.; Perez-Alvarez, J.A.; Pagan-Moreno, M.J.; Gago-Gago, M.A.; Lopez-Santoveña, F.; Aran-da-Catala, V. TBA test by extractive method applied to pate. Meat Sci. 1996, 42, 103-110. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00010-0](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00010-0)
- Rout, S., Tambe, S., Deshmukh, R., Mali, S., Cruz, J., Srivastav, P., Amin, P., Gaikwad, K., Andrade, E., Oliveira, M. 2022. Recent trends in the application of essential oils: The next generation of food preservation and food packaging, Trends in Food Science & Technology, 129, 421-439. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.10.012>.

- Ruiz, C.; Cachay, M.; Domínguez, M.; Velásquez, C.; Espinoza, G.; Ventosilla, P.; Rojas, R. Chemical composition, antioxidant and Mosquito larvicidal activities of essential oils from *Tagetes filifolia*, *Tagetes minuta* and *Tagetes elliptica* from Perú. *Planta Med.* 2011, 77, PE30.
- Ruiz, J.; Salazar, M. Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* y *T. elliptica* Smith. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 2021, 87, 228-241. <https://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v87i3.350>
- Saani, M; Lawrence, R; Lawrence, K. Evaluation of pigments from methanolic extract of *Tagetes erecta* and *Beta vulgaris* as antioxidant and antibacterial agent, *Natural Product Research*, Volume 32, Issue 10, 2018, Pages 208-1211, <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1326037>.
- Safar, A.A.; Ghafoor, A.O.; Dastan, D. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of *Tagetes patula* L. essential oil raised in Erbil, Iraq. *J. Rep. Pharm. Sci.* 2020, 9, 59–67.
- Salehi, B., Valussi, M., Morais-Braga, M. F. B., Carneiro, J. N. P., Leal, A., Coutinho, H. D. M., . . . Sharifi-Rad, J. (2018). *T. spp.* Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. *Molecules*, 23(11). doi:10.3390/molecules23112847
- Sánchez, E.; Fuentes, E.; Navarro, C.; Sayas E.; Sendra E.; Fernández, J.; Pérez, J.A. Effects of tuna pâté thickness and background on CIEL*a*b* color parameters and reflectance spectra. *Food control.* 2011, 22, 1226-1232. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.01.022>
- Segovia, I., Suárez, L., Castro, A., Suárez, S., Ruiz, J. Chemical composition of essential oil from *T. elliptica* Smith “chincho” and antioxidant, antibacterial and antifungal activities. *Ciencia e Investigación Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM*, 2010, 13, 81-86.
- Selani, M.M.; Shirado, G.A.N.; Margiotta, G.B.; Rasera, M.L.; Marabesi, A.C.; Piedade, S.M.S.; Contreras-Castillo, C.J.; Canniatti-Brazaca, S.G. Pineapple by-product and canola oil as partial fat replacers in low-fat beef burger: Effects on oxidative stability, cholesterol content and fatty acid profile. *Meat Sci.* 2016, 115, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.01.002>

- Sharma, S.; Barkauskaite, S.; Jaiswal, A., Jaiswal, S. 2021. Essential oils as additives in active food packaging, *Food Chemistry*, 343, 128403, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128403>.
- Singh, P.; Krishna, A.; Kumar, V.; Krishna, S.; Singh, K.; Gupta M.; and Singh, S. Química y biología de cultivos in-dustriales *T. Species: una revisión*. *J. Essent. Oil Res.* 2015, 28, 1-14. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2015.1076740>
- Singh. N.; Rajini. P.S. 2004. *Food Chem.* 85: 611.
- Šivel, M., Kráčmar, S., Fišera M Klejdus, B., & Kubáň, V. (2014). Lutein content in marigold flower (*T. erecta* L.) concentrates used for production of food supplements. *Czech Journal of Food Sciences*, 2014, 32(6), 521-525. <https://doi.org/10.17221/104/2014-CJFS>
- Skendi, A.; Irakli, M.; Chatzopoulou, P.; Bouloumpasi, E.; Biliaderis.C. 2022. Phenolic extracts from solid wastes of the aromatic plant essential oil industry: Potential uses in food applications. *Food Chemistry Advances*, 1, 100065, <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100065>.
- Sodr'e, L.; Silva, L.; da Silva, N.; de Marins,A.; de Campos, T.; Marcos Antonio ^ Matiucci, Baumgartner, M.; Serpa, F.; de Souza Nunes, G.; Cl'audio Dariva, Raquel Guttierres Gomes, Claudete Regina Alcalde, Diogo Francisco Rossoni, Andresa Carla Feihrmann. *Meat Science*. 2025. 225.109823. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2025.109823>
- Sogari, G.; Li, J.; Qian Wang, Lefebvre, M.; Huang, S.; Mora, C.; Gómez, M.I. Toward a reduced meat diet: University North American students' acceptance of a blended meat-mushroom burger. *Meat Sci.* 2022, 187, 108745. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108745>
- Stefanaki. A.; Andel, T. Chapter 3. Mediterranean aromatic herbs and their culinary use. Stefanaki. A.; Andel. 1rd ed.; *Aromatic Herbs in Food*. Naturalis Biodiversity Center, Leiden, The Netherlands, 2021; pp. 93-121. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822716-9.00003-2>
- Sundar, S.; Parikh, J. 2023. Advances and trends in encapsulation of essential oils, *International Journal of Pharmaceutics*, 635, 122668, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.122668>.
- Szpicier, A.; Onopiuk, A.; Półtorak, A.; Wierzbicka, A. Influence of tallow replacement by oat β -glucan and canola oil on the fatty acid and volatile compound profiles

- of low-fat beef burgers. CYTA-J. Food 2019, 17, 926–936.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1674924>
- Taherian, A.; Britten, M.; Sabik, H.; Fustier, P. Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion. Food Hydrocolloids. 2011, 25, 868-878.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.08.007>
- Tarté, Rodrigo & Paulus, Jona & Acevedo, Nuria & Prusa, Ken & Lee, Show-Ling. (2020). High-oleic and conventional soybean oil oleogels structured with rice bran wax as alternatives to pork fat in mechanically separated chicken-based bologna sausage. LWT- Food Science and Technology. 131. 109659. 10.1016/j.lwt.2020.109659.
- Tatiyaborworntham, N.; Oz, F.; Richards, M.; Wu, H. Paradoxical effects of lipolysis on the lipid oxidation in meat and meat products. Food Chemistry: X. 2022, 14, 100317. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100317>
- Tepe, B.; Daferera, D.; Sokmen, A.; Sokmen, M.; Polissiou, M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chem. 2005, 90, 333–340.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.013>
- Ulbricht, T.L.V.; Southgate, D.A.T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. Lancet, 1991, 338, 985–992. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-m](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-m)
- Vahmani, P.; Ponnampalam, E.N.; Kraft, J.; Mapiye, C.; Bermingham, E.N.; Watkins, P.J.; Proctor, S.D.; Dugan, M.E.R. Bioactivity and health effects of ruminant meat lipids. Invited Review. Meat Sci, 2020, 165, 108114.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108114>
- Viuda, M., Ruiz, Y., Sánchez, E., Fernández, J.; José A. Pérez, J. 2010. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. 25(1), 13–19. <https://doi.org/10.1002/ffj.1951>
- Walia, S., Kumar, R. Wild marigold (*T. minuta* L.) an important industrial aromatic crop: liquid gold from the Himalaya. J. Essent. Oil Res. 2020, 32, 373-393.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1813211>

- Wang, S.; Zhu, Fan. Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem.* 2019, 288, 422-443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.071>
- Wood, J. G.; Rogina, B.; Lavu, S.; Ilowitz, K.; Helfand, S. L.; Tatar, M.; and Sinclair, D. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*, 2004, 430, 686–689. <https://doi.org/10.1038/nature02789>
- Yalta, M. Efecto de aceites esenciales de huacatay (*T. minuta* L.) y mariasacha (*T. elliptica* Sm.) como conservante en la carne de cerdo. Tesis para optar el Título profesional de ingeniería Agroindustrial. Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Chachapoyas-Perú, 2019.
- Yun-Sang, C.; Kwaon-Sik, P.; Hyun-Wook, K.; Ko-Eun, H.; Dong-Heon, S.; Min-Sung, C.; Soo-Yeon, L.; Hyun-Dong, P.; Cheon-Jei, K. Quality characteristics of reduced-fat frankfurters with pork fat replaced by sunflower seed oils and dietary fiber extracted from makgeolli lees, *Meat Science*, 2013, 93, 652-658. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.11.025>
- Zeng, L., Lin, X., Li, P., Liu, F.; Guo, H.; Li, W. 2021. Recent advances of organogels: from fabrications and functions to applications, *Progress in Organic Coatings*, 159, 106417, <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2021.106417>.
- Zhang, H., Li, X., & Kang, H. (2019). Chitosan coatings incorporated with free or nano-encapsulated *Paulownia Tomentosa* essential oil to improve shelf-life of ready-to-cook pork chops. *Lwt*, 116. <https://doi:10.1016/j.lwt.2019.108580>
- Zhang, L., Li, G., Wang, S., Yao, W., & Zhu, F. Physicochemical properties of maca starch. *Food Chem.* 2017, 218, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.123>
- Zhang, L.; Gao, F.; Ge, J.; Li, H.; Xia, F.; Bai, H.; Piao, X.; Shi, L. Potential of Aromatic Plant-Derived Essential Oils for the Control of Foodborne Bacteria and Antibiotic Resistance in Animal Production: A Review. *Antibiotics* 2022, 11, 1673. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111673>
- Zhong, X.; Wang, X.; Zhou, N.; Li, J.; Liu, J.; Yue, J.; Hao, X.; Gan, M.; Lin, P.; Shang, X. 2021. Chemical characterization of the polar antibacterial fraction of the

ethanol extract from *Rosmarinus officinalis*, Food Chemistry, 344, 128674,
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128674>.





CAPÍTULO 8.

PUBLICACIONES

8.1. PUBLICACIÓN 1

Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil Obtained from Chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) Leaves Grown in the Peruvian Andes.

Autores	Cerrón-Mercado, F.; Perez-Alvarez, J.A.; Nolzco-Cama, D.; Salva-Ruíz, B.; Tellez-Monzon, L.; Fernández-López, J.; Viuda-Martos, M.
Revista	<i>Foods</i>
DOI	https://doi.org/10.3390/foods12040894
Editorial	MDPI
Fecha de publicación	20 de febrero del 2023
Categoría JCR	Food Science and Technology
Categoría de cuartil	Q1
Rango	64/389
Factor de impacto	4.7



8.2. PUBLICACIÓN 2

Effect of Gelled Emulsions Elaborated with Soybean Oil, Maca (*Lepidium meyenii*) Flour, and Chincho (*T. elliptica* Sm.) Essential Oil upon Animal Fat Substitution in Beef Burgers

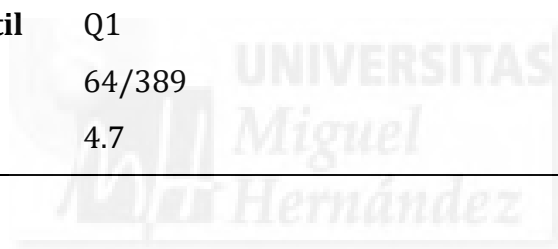
Autores	Cerrón-Mercado, F. ; Botella-Martínez, C.M.; Salvá-Ruíz, B.K.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvarez, J.A.; Viuda-Martos, M.
Revista	Foods
DOI	https://doi.org/10.3390/foods11152198
Editorial	MDPI
Fecha de publicación	24 de Julio del 2022
Categoría JCR	Food Science and Technology
Categoría de cuartil	Q1
Rango	78/359
Factor de impacto	4.6



8.1. PUBLICACIÓN 1

Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil Obtained from Chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) Leaves Grown in the Peruvian Andes.

Autores	Cerrón-Mercado, F.; Perez-Alvarez, J.A.; Nolzco-Cama, D.; Salva-Ruíz, B.; Tellez-Monzon, L.; Fernández-López, J.; Viuda-Martos, M.
Revista	<i>Foods</i>
DOI	https://doi.org/10.3390/foods12040894
Editorial	MDPI
Fecha de publicación	20 de febrero del 2023
Categoría JCR	Food Science and Technology
Categoría de cuartil	Q1
Rango	64/389
Factor de impacto	4.7



Article

Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil Obtained from Chincho (*Tagetes elliptica* Sm) Leaves Grown in the Peruvian Andes

Francis Cerrón-Mercado ^{1,2} , Jose Angel Perez-Alvarez ¹ , Diana Nolzco-Cama ² , Bettit Salva-Ruiz ² , Lena Tellez-Monzon ³, Juana Fernández-López ¹  and Manuel Viuda-Martos ^{1,*} 

¹ IPOA Research Group, Agro-Food Technology Department, Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Miguel Hernández University, 03312 Orihuela, Alicante, Spain

² Departamento de Tecnología de Alimentos y Productos Agropecuarios (TAPA), Universidad Nacional Agraria la Molina, UNALM, Lima 15024, Peru

³ Centro de Investigación en Química, Toxicología y Biotecnología Ambiental del Departamento Académico de Química de la Facultad de Ciencias de la UNALM, Lima 15024, Peru

* Correspondence: mviuda@umh.es; Tel.: +34-966-749-661

Abstract: The chemical composition, antioxidant, and antibacterial properties of the essential oil from the leaves of *Tagetes elliptica* Sm., grown in Peru, were studied. The EO was extracted using steam distillation, and its chemical composition was analyzed using GC-MS, while the antioxidant activity was evaluated using the radical, scavenging capacity (DPPH and ABTS assays), and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays, ferrous ion chelating (FIC) activity, and the Rancimat test. The antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella infantis* was studied using the agar well diffusion method. Twenty-seven compounds were identified in the essential oil, and the major components were *cis*-tagetenone (37.27%), *trans*-tagetenone (18.84%), dihydrotagetone (14.38%), and *trans*-tagetone (5.15%). With regard to antioxidant properties, the IC₅₀ values obtained for the DPPH, ABTS, and FIC assays were 53.37, 46.38, and 22.65 mg/mL, respectively. These values were lower than those obtained for standard butylated hydroxytoluene and ascorbic acid. In the Rancimat test, antioxidant activity was achieved only at high concentration. *T. elliptica* essential oil showed a marked antibacterial activity against all bacterial strains at all concentrations assayed. This study demonstrated that *T. elliptica* essential oil could be considered as an alternative to synthetic antioxidants and antimicrobial agents in the food industry.

Keywords: *Tagetes elliptica* Sm.; antioxidant; antibacterial; essential oil; aromatic plants



Citation: Cerrón-Mercado, F.; Perez-Alvarez, J.A.; Nolzco-Cama, D.; Salva-Ruiz, B.; Tellez-Monzon, L.; Fernández-López, J.; Viuda-Martos, M. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oil Obtained from Chincho (*Tagetes elliptica* Sm) Leaves Grown in the Peruvian Andes. *Foods* **2023**, *12*, 894. <https://doi.org/10.3390/foods12040894>

Academic Editors: Eugenia Gallardo, Jesus Miguel Lopez Rodilla and Tiago Rosado

Received: 2 February 2023

Revised: 14 February 2023

Accepted: 16 February 2023

Published: 20 February 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The consumption of “clean label” foods formulated with natural ingredients has increased in recent years due to the increasing awareness among the population that a healthier lifestyle can improve their health, hence the demand for the food industries to innovate, look for alternatives, and use natural preservatives of plant origin to produce healthy, safe, tasty, and socially accepted foods [1,2]. Accordingly, in the food industry there is a tendency to decrease the use of synthetic additives that could be harmful to health [3]. In this sense, several studies have shown that aromatic herbs and spices, which are an important source of bioactive compounds, might be used as natural preservatives in the development of food additives or natural food ingredients due to their antioxidant and antimicrobial properties [1,4,5]. Additionally, these aromatic herbs and spices provide aroma and flavor to food and enhance the pleasure of eating.

The genus *Tagetes* belongs to the Asteraceae family and is represented by more than 30 species, which are adapted to live from sea level to high altitudes. It is distributed

mainly in the central and southern regions of America and naturalized in many regions of Africa, Asia, and Europe [6]. These plants contain a high number of bioactive compounds, including polyphenolic, carotenoids, and terpenes that have biological properties such as antibacterial, antioxidant, antiviral, and anticancer activities, among others [7–12]. In addition, the leaves and flowers of these plants have been used to prepare infusions in folk medicine, due to their anti-inflammatory and digestive properties, as well as their properties as an analgesic to treat various ailments and relieve pain [13]. Several species of the genus *Tagetes*, including *Tagetes lucida*, *Tagetes minuta*, *Tagetes pusilla*, *Tagetes erecta*, and *Tagetes patula*, are often used as ornamental plants; however, in recent years these plants are being analyzed for their pharmaceutical activities based on their utilization in traditional medicine [14,15]. Another very important species is *Tagetes elliptica* Sm., which is an ornamental and cultivated plant that grows throughout Peru between 1000 and 4500 m above sea level in the Andean regions of Ayacucho, Junín, Ancash, and in the temperate climates of the Amazon and Lima regions. It is also well known in Central and South America [16]. In these regions, *T. elliptica* is known as “chincho”, “chinchu”, or “chikchimpa”, and it is used in traditional gastronomy in the preparation of various stews and roasts due to its characteristic aroma and flavor [17]. Additionally, *T. elliptica* leaves have been used as a natural medicine in infusions against stomach and intestinal pains [7], due to the high content of essential oil [8]. Essential oils are natural and volatile extracts that contain bioactive compounds, besides giving flavor to food [18]. In the food industry, the essential oils are generally utilized as natural preservatives for their antioxidant, antibacterial, and antifungal activity [19], increasing the quality, safety, and shelf life of food [20]. The essential oils from plants of the genus *Tagetes* have a high content in terpenes and sesquiterpenes, including β -ocimene, β -terpinene, myrcene, tagetones, dihydrotagetone, and tagetenones [14]. In addition, other studies report that the main constituents of *Tagetes* spp. essential oil are ocimenones (Z) and (E), along with piperitone, piperitenone, limonene, tagetone, and caryophyllene [21,22].

The scientific literature has revealed the beneficial effects of essential oils obtained from plants of the genus *Tagetes* as an antioxidant and antibacterial, but there are very few published works specifically investigating the bioactive properties of essential oil obtained from *T. elliptica*. Therefore, the objective of this study was to establish the chemical composition as well as the antioxidant and antibacterial activities of the essential oil obtained from the leaves of *Tagetes elliptica* Sm.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material and Essential Oil Extraction

The leaves of *Tagetes elliptica* Sm. (Figure 1A,B) were collected in the province of Chupaca, Junín Region, Peru (3.263 m above sea level; 12°3'42'' S; 75°17'16'' W), and 500 g were hydrodistilled for 3 h using a Clevenger type apparatus to obtain the essential oil (EO). The essential oil (Figure 1C) was dried with anhydrous sodium sulfate (500 mg) and kept in sealed amber glass vials at 4 °C until further analysis.

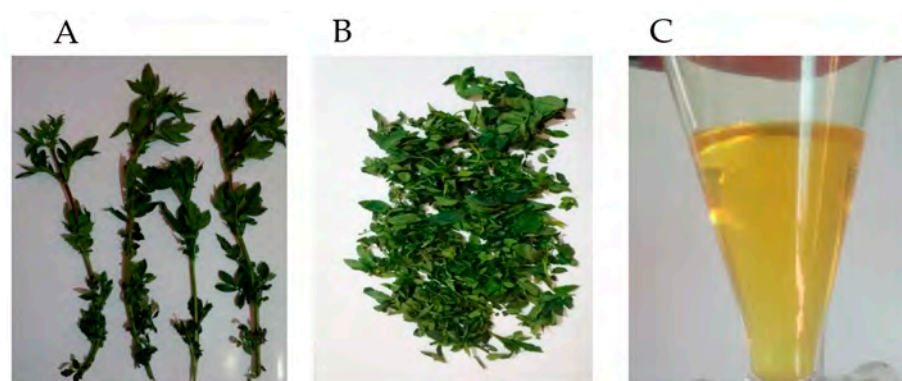


Figure 1. *Tagetes elliptica* (A) Stems and leaves; (B) Leaves; (C) Essential oil.

2.2. Chromatographic Analysis

The chemical composition of *T. elliptica* Sm. essential oil was assessed using Hewlett-Packard 6890 gas chromatography equipment (Agilent, Santa Clara, CA, USA) equipped with a flame ionizer detector (FID) and a DB-5MS column (60 m × 250 µm, 0.25 µm film thickness). The temperature of the injector was 300 °C, whilst the temperature of detector was set at 325 °C. The oven temperature was held at 45 °C for 4 min; increased to 200 °C at 2.5 °C/min and kept for 2 min; then raised to 300 °C at 2.5 °C/min and kept for 5 min using helium as a carrier gas at 1 mL/min. Twenty µL of *T. elliptica* essential oil was diluted with 0.2 mL of GC-grade dichloromethane. One microliter of the diluted oil was then injected using an automatic injector into the system with a split ratio of 1:20. Quantitative data were obtained electronically from FID area data without using correction factors. All tests were performed in triplicate.

The *T. elliptica* essential oil was also analyzed by GC-MS with Hewlett-Packard 5975C GC-MS equipment (Agilent, Santa Clara, CA, USA). The GC-MS equipment was equipped with the same column used in the GC analysis and with the identical temperature conditions following the methodology proposed by Alves-Silva et al. [23]. The compounds were identified using the Kováts Index in reference to n-alkanes (C₈-C₃₂), with the mass spectra of authentic standards as well as with the Wiley spectral library collection.

2.3. Antioxidant Analysis

2.3.1. DPPH Radical Scavenging Method

The 2,2-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity assay was utilized, following the methodology reported by Brand-Williams et al. [24], to determine the antioxidant activity. For that, methanolic solutions of *T. elliptica* essential oil of six different concentrations (5, 10, 20, 50, 80 and 100 mg/mL) were assessed. Butylated hydroxytoluene and ascorbic acid (0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.08 and 0.1 mg/mL) were used as standards for comparison of the antioxidant potential of the essential oil. The inhibition percentage of the DPPH radical was calculated according to Equation (1).

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Absorbance of control sample} - \text{Absorbance of tested sample}}{\text{Absorbance of control sample}} \times 100 \quad (1)$$

Additionally, inhibition (%) was plotted against the essential oil concentration in the reaction system and the concentration of essential oil required to scavenge 50% of DPPH free radicals (IC₅₀ value) was calculated graphically.

2.3.2. ABTS Radical Scavenging Method

The methodology described by Thaipong et al. [25] was used for the determination of 2,2-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) using a radical scavenging assay. The methanolic solutions of *T. elliptica* essential oil, as well as butylated hydroxytoluene and ascorbic acid, were the same as those described in Section 2.3.1. The antioxidant ability of samples was expressed as the inhibition percentage of the ABTS radical cation scavenging activity following Equation (2).

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Absorbance of control sample} - \text{Absorbance of tested sample}}{\text{Absorbance of control sample}} \times 100 \quad (2)$$

The IC₅₀ values were determined from a graph plotting the % inhibition against the sample concentration in the reaction system.

2.3.3. Ferrous Ion Chelating (FIC) Ability

The ferrous ion chelating activity of the different concentrations of (5–100 mg/mL) of *T. elliptica* essential oil was determined following the methodology described by Sudha et al. [26]. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) at different concentrations

(0.005–0.1 mg/mL) was used as a standard for comparison of the antioxidant potential of essential oil. The ferrous ion chelating activity was calculated using Equation (3).

$$\text{chelating effect (\%)} = \frac{(1 - \text{Absorbance of sample})}{\text{Absorbance of blank}} \times 100 \quad (3)$$

The IC₅₀ values were determined from a graph plotting the % inhibition against the sample concentration in the reaction system.

2.3.4. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

The ability to reduce ferric ions of methanolic solutions of *T. elliptica* essential oil at six different concentrations (0.3125, 0.625, 1.25, 3.125, and 5 mg/mL) as well as butylated hydroxytoluene and ascorbic acid (0.0625, 0.125, 0.25, 0.625, and 1 mg/mL) was assessed using the methodology described by Dudonné et al. [27]. The FRAP values were expressed in terms of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) in mM Trolox/L.

2.3.5. Rancimat Assay

The Rancimat test was used to determine the antioxidant ability of *T. elliptica* Sm. essential oil, at different concentrations (5, 10, 20, 50, 80 and 100 mg/mL) against melted pork butter following the method described by Viuda-Martos et al. [28]. Butylated hydroxytoluene and ascorbic acid (0, 10, 20, 50, 80 and 100 mg/mL) were used as standards for comparison to the antioxidant potential of essential oil. The antioxidant activity index (AAI) was determined from the measured induction times, following the methodology described by Forster et al. [29] according to Equation (4).

$$\text{AAI} = \frac{\text{induction period of lard with antioxidant}}{\text{induction period of pure lard}} \quad (4)$$

An antioxidant activity index higher than 1 indicates inhibition of the lipid oxidation; the higher the value, the better the antioxidant activity [30].

2.4. Antibacterial Activity

2.4.1. Microbial Strains

The *T. elliptica* EO was individually tested against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923TM, *Escherichia coli* ATCC 25922TM, and *Salmonella infantis*. The bacterial strains were cultured overnight in nutrient broth at 37 °C until a suspension of 1.0×10^7 CFU/mL was attained.

2.4.2. Agar-Well Diffusion Method

The antibacterial activity of *T. elliptica* EO was assessed using the agar-well diffusion method following the recommendations of Tepe et al. [31]. The bacterial inoculum (100 µL of 10^7 CFU/mL) was spread homogeneously with a sterile Digrafsky loop on a Mueller Hinton agar Petri dish. A hole (6 mm in diameter) was aseptically perforated on the agar surface with a sterile tip, and 40 µL of *T. elliptica* EO was added into the well. After incubation for 24 h at 37 °C, all Petri dishes were observed for any zones of growth inhibition, and the diameters of these zones were measured in millimeters.

2.4.3. Determination of Concentration Effect

The effect of concentration (CE) was analyzed to determine which volume of *T. elliptica* EO showed an inhibiting effect on bacterial growth using the agar-well diffusion method. The same methodology described in Section 2.4.2 was used but adding 20, 10, and 5 mL of *T. elliptica* EO in each well, representing volumes 50%, 25%, and 12.5% less of the initial volume [32].

2.5. Statistical Analysis

All experiments were conducted in triplicate and the data were presented as mean \pm standards deviation of triplicate determinations. The results obtained for antioxidant and antibacterial properties were examined by means of a univariate technique GLM (General Linear Model). For antioxidant and antibacterial activities, an ANOVA was applied and Tukey's post hoc test was used ($p < 0.05$) for the comparison between means. All determinations were analyzed using SPSS[®] Statistics 22.0.0.0. software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

3. Results and Discussion

3.1. Chemical Composition of Essential Oil

The essential oil obtained from the leaves of *T. elliptica* Sm. had a bright light-yellow color with a pleasant odor. The yield of the essential oil recorded on a fresh weight basis was 0.23% (*w/w*). These values were lower than those reported for plants of the genus *Tagetes* cultivated in Iran (0.57 and 0.48% *w/w*) or in the Kingdom of Saudi Arabia (0.84% *w/w*) [33,34]. This variation could be due to several factors including species, part of the part used to obtain the essential oil, or environmental conditions, among others.

In the GC/MS analysis of the *T. elliptica* essential oil, twenty-seven compounds were identified representing 96.8% of the total essential oil (Table 1). The main constituents were *cis*-tagetone (37.27%), *trans*-tagetone (18.84%), dihydrotagetone (14.38%), and *trans*-tagetone (5.15%).

Table 1. Chemical composition of *T. elliptica* essential oil obtained from leaves.

No	Compound	Retention Time	Kovats Index	Area (%)
1	α -pinene	13.28	936	0.66 \pm 0.01
2	β -mircene	14.53	986	0.87 \pm 0.02
3	β -Pinene	14.91	990	0.62 \pm 0.02
4	α -phellandrene	15.62	1005	1.71 \pm 0.04
5	β - <i>trans</i> -ocimene	16.40	1022	4.66 \pm 0.11
6	β -phellandrene	16.46	1029	0.22 \pm 0.01
7	eucalyptol	16.51	1031	0.47 \pm 0.01
8	dihydrotagetone	16.98	1045	14.38 \pm 0.21
9	β -linalool	18.48	1098	0.45 \pm 0.01
10	allo-ocimene	18.88	1131	0.50 \pm 0.01
11	<i>cis</i> -epoxyocimene	18.97	1134	3.62 \pm 0.04
12	<i>trans</i> -epoxyocimene	19.35	1140	0.85 \pm 0.00
13	(<i>Z</i>) <i>trans</i> -tagetone	19.91	1143	5.15 \pm 0.00
14	(<i>E</i>) <i>cis</i> -tagetone	20.11	1146	3.42 \pm 0.06
15	<i>p</i> -cymen-8-ol	20.35	1171	0.59 \pm 0.07
16	α -terpineol	21.61	1187	0.19 \pm 0.01
17	decanal	21.72	1202	0.98 \pm 0.01
18	verbenone	21.86	1214	0.97 \pm 0.07
19	(<i>E</i>) <i>cis</i> -Tagetenone	22.64	1231	37.27 \pm 0.24
20	(<i>Z</i>) <i>trans</i> -Tagetenone	22.84	1250	18.84 \pm 0.29
21	anisole	23.28	1264	0.40 \pm 0.01
22	piperitone	23.82	1281	0.40 \pm 0.00
23	β -caryophyllene	28.10	1436	0.97 \pm 0.00
24	germacrene D	29.71	1491	0.45 \pm 0.01
25	bicyclodermacrene	30.10	1510	0.46 \pm 0.00
26	guaiol	31.42	1598	0.36 \pm 0.00
27	α -cadinol	32.37	1656	0.54 \pm 0.02

To our knowledge, there are no studies in which the chemical composition of *T. elliptica* essential oil has been determined. However, several studies about the chemical composition of essential oils obtained from others *Tagetes* species have been widely reported. In this sense, Kyarimpa et al. [35] analyzed the essential oil obtained from the aerial part of

Tagetes minuta grown in Uganda. These authors reported that the main constituents of this essential oil were *trans*-ocimene (15.90%), I-verbenone (15%), limonene (8.02%), and tagetone (3.56%). In a similar work, Hartwig de Oliveira et al. [9] carried out a study to analyze the chemical composition of *T. minuta* essential oil obtained from flowers cultivated in Brazil. They found that the principal components of this essential oil were (Z)-Tagetone (70.64%), β -ocimene (11.18% *w/w*), and (E)-tagetone (6.24%). Omer et al. [36] investigated the chemical composition of essential oil obtained from *Tagetes lucida* cultivated in Egypt. These authors reported that the main constituents of this essential oil were methyl chavicol (93.18%) and linalool (2%). Gakuubi et al. [37] reported that the most abundant compounds identified in the essential oils obtained from aerial parts at the flowering stage of *T. minuta* cultivated in Kenya were (E)-tagetone, dihydrotagetone, and allo-ocimene. More recently, Moghaddam et al. [33] investigated the chemical composition of the essential oils obtained from leaves and flowers of *Tagetes patula* L. and *Tagetes erecta* L. grown in Iran. The main compounds found in *T. patula* essential oil were β -caryophyllene (24.53%), piperitenone (10.96%), and piperitone (9.66%), whilst the *T. erecta* essential oil was characterized by neophytadiene (17.22%), piperitone (12.52%), and β -caryophyllene (8.7%). Aati et al. [34] reported that the principal components of essential oil from *T. patula* cultivated in the Kingdom of Saudi Arabia were β -caryophyllene (24.1%), 2-undecanone + bornyl acetate (12.2%), and 2-nonanone (9.7%).

The scientific literature shows that the quantitative ratios of the oil components of essential oils obtained from plants of the genus *Tagetes* ssp. depend on several factors, including the species, crop growing location, plant development stage, harvest period, cultivation practices, parts of plant used for oil isolation, and environmental conditions, among others [38].

3.2. Antioxidant Activity of *T. elliptica* Essential Oil

In general terms, the antioxidant properties of essential oils could differ depending on several factors including the chemical profile and the methods assessed. In this research, five methodologies (DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay, FIC assay, and Rancimat test), with different action mechanisms, were used. These methodologies have been widely utilized to estimate the antioxidant capacity of several products. The DPPH assay assesses the ability of phytochemicals to donate hydrogen atoms to the DPPH radical, which causes a color change in the DPPH solution. The greater the color change, the greater the antioxidant capacity, which is represented by a lower IC₅₀ value. Table 2 shows the antioxidant properties of *T. elliptica* essential oil, as well as the butylated hydroxytoluene (BHT) and ascorbic acid (AA) tested with the DPPH radical scavenging assay at different concentrations. As can be seen, a concentration-dependent scavenging activity ($p < 0.05$) was found for *T. elliptica* essential oil, as well as for BHT and AA. However, it is important to highlight that the concentrations tested for the positive controls (BHT and AA) were 1000 times lower than those used for *T. elliptica* essential oil. This fact is reflected in the IC₅₀ values ($p < 0.05$), which were 53.37, 0.17, and 0.02 mg/mL for *T. elliptica* essential oil, BHT, and AA, respectively.

The IC₅₀ values obtained in this work were higher than those reported by Ruiz et al. [39] for the essential oils obtained from aerial parts of *T. elliptica* cultivated in Peru (IC₅₀ = 3.4 mg/mL), as well as for the essential oils of *T. minuta* and *Tagetes filifolia* with IC₅₀ values of 0.8 and 20.2 mg/mL, respectively. In a similar work, Huaraca-Aparco et al. [8] reported that IC₅₀ values of essential oils obtained from *T. elliptica* and *T. minuta* cultivated in Peru analyzed with a DPPH assay were 2.56 and 1.77 mg/mL, respectively. Ali et al. [40] reported that essential oil obtained from the aerial parts of *T. minuta* cultivated in Yemen had an IC₅₀ value of 0.04 mg/mL. Similarly, Kyarimpa et al., [41] reported that the essential oils obtained from aerial parts of *T. minuta* cultivated in Uganda exhibited strong antioxidant activities when measured with a DPPH assay. With regard to the ABTS assay, significant free radical scavenging activity was observed at all concentrations of *T. elliptica* essential oil, and for BHT and AA, as shown in Table 2. This reduction in free radical scavenging

occurs in a concentration-dependent way ($p < 0.05$). The IC_{50} values ($p < 0.05$) calculated with this methodology were 46.38, 0.016, and 0.017 mg/mL for *T. elliptica* essential oil, BHT, and AA, respectively. It is important to highlight that the IC_{50} values achieved with the ABTS assay were less than those obtained with the DPPH assay. These variations between the two methodologies used may be explained by the fact that they have different action mechanisms. As mentioned by Platzer et al. [42], in the ABTS assay the reaction involves e^- transfer and occurs at a much faster speed compared with DPPH radicals, whose reaction could be attributed to the hydrogen donating capacity of several compounds present in *T. elliptica* essential oil. As occurs in the DPPH assay, the IC_{50} values obtained in the ABTS assay for *T. elliptica* essential oil were higher than those reported by Huaraca-Aparco et al. [8], who reported that the IC_{50} values for *T. elliptica* and *T. minuta* essential oils were 41.06 and 21.02 mg/mL. On the other hand, Hartwig de Oliveira et al. [9] reported that the IC_{50} value attained in the ABTS assay for *T. minuta* essential oil obtained from flowers cultivated in Brazil was 0.1 mg/mL.

Table 2. Antioxidant activity of *T. elliptica* essential oil measured by DPPH, ABTS and FIC assays.

DPPH Assay				
<i>T. elliptica</i> essential oil		BHT		AA
Concentration (mg/mL)	% Inhibition of DPPH radical	Concentration (mg/mL)	% Inhibition of DPPH radical	% Inhibition of DPPH radical
5	4.90 ± 2.36 ^a	0.005	4.25 ± 0.18 ^a	13.63 ± 2.78 ^a
10	11.17 ± 2.15 ^b	0.01	6.29 ± 0.79 ^b	23.54 ± 2.83 ^b
20	21.14 ± 1.78 ^c	0.02	10.17 ± 1.52 ^c	56.36 ± 1.85 ^c
50	48.09 ± 1.60 ^d	0.05	17.50 ± 0.40 ^d	96.01 ± 0.17 ^d
80	77.77 ± 2.85 ^e	0.08	21.26 ± 0.21 ^e	96.26 ± 0.23 ^d
100	87.63 ± 0.57 ^f	0.10	33.21 ± 2.59 ^f	96.33 ± 0.13 ^d
* IC_{50} (mg/mL)	53.37 ± 1.43	* IC_{50} (mg/mL)	0.17 ± 0.01	0.02 ± 0.00
ABTS Assay				
<i>T. elliptica</i> essential oil		BHT		AA
Concentration (mg/mL)	% Inhibition of ABTS radical	Concentration (mg/mL)	% Inhibition of ABTS radical	Concentration (mg/mL)
5	8.10 ± 0.85 ^f	0.005	28.26 ± 2.01 ^f	22.55 ± 2.01 ^f
10	12.89 ± 1.51 ^e	0.01	42.05 ± 0.68 ^e	45.51 ± 0.58 ^e
20	24.01 ± 0.81 ^d	0.02	62.03 ± 0.63 ^d	62.25 ± 0.22 ^d
50	48.96 ± 0.97 ^c	0.05	73.18 ± 0.20 ^c	78.89 ± 0.18 ^c
80	68.95 ± 1.59 ^b	0.08	84.48 ± 1.90 ^b	86.17 ± 0.23 ^b
100	86.98 ± 0.58 ^a	0.10	92.91 ± 1.40 ^a	99.18 ± 0.09 ^a
* IC_{50} (mg/mL)	46.38 ± 2.16	* IC_{50} (mg/mL)	0.016 ± 0.00	0.017 ± 0.001
FIC Assay				
<i>T. elliptica</i> essential oil			EDTA	
Concentration (mg/mL)	Chelating effect (%)	Concentration (mg/mL)	Chelating effect (%)	
1.25	—	0.005	—	
2.50	—	0.01	—	
5	—	0.02	—	
12.50	27.48 ± 2.87 ^c	0.05	41.47 ± 2.95 ^c	
20	39.90 ± 1.44 ^b	0.08	71.92 ± 3.46 ^b	
25	58.92 ± 0.98 ^a	0.10	80.22 ± 1.82 ^a	
* IC_{50} (mg/mL)	22.65 ± 0.80	* IC_{50} (mg/mL)	0.06 ± 0.00	

Values are expressed as mean ± SD of three independent experiments. * IC_{50} : concentration of essential oil (mg/mL) for a 50% inhibition. EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid. For the same method, (DPPH, ABTS, and FIC) values followed by the different letter within the same column are significantly different ($p < 0.05$) according to Tukey's Multiple Range Test.

Other mechanism of antioxidant action is the chelation of transition metals. These metals may promote the lipid peroxidation via the generation of initiator species and increasing peroxidation. Thus, the study of the metal ion-chelating properties (Table 2) showed that *T. elliptica* essential oil was capable of chelating Fe^{+2} when high concentrations (12.5–25 mg/mL) were assayed, with statistical differences ($p < 0.05$) between all samples. At low concentrations (1.25–5 mg/mL), no chelating effect was observed. Similarly, at low concentrations (0.005–0.02 mg/mL) of EDTA used as standard, no chelating activity was observed. The IC_{50} values for *T. elliptica* essential oil and positive control EDTA were 22.65 and 0.06 mg/mL, respectively.

The ferric reducing properties of *T. elliptica* essential oil, BHT, and AA were attained utilizing the FRAP methodology as shown in Table 3. As can be seen, the ferric reducing capacity for all samples assayed occurred in a concentration-dependent manner. These results agree with those reported by Hartwig de Oliveira [9], who reported that the essential oil obtained from flowers of *T. minuta* showed a reducing potential in a concentration-dependent manner possibly due to an electron transfer mechanism. Mlala et al., [43] reported that the essential oil obtained from leaves of *T. minuta* cultivated in South Africa had a ferric reducing capacity of 63.56 μg ascorbic acid equivalent/mL of extract.

Table 3. Antioxidant activity of *T. elliptica* essential oil measured by FRAP method.

<i>T. elliptica</i> Essential Oil		BHT		AA
Concentration (mg/mL)	TEAC* mM Trolox/L	Concentration (mg/mL)	TEAC* mM Trolox/L	TEAC* mM Trolox/L
0.3125	0.06 ± 0.01 ^a	0.0625	0.17 ± 0.01 ^a	0.03 ± 0.0 ^a
0.625	0.23 ± 0.02 ^a	0.125	0.49 ± 0.02 ^a	0.07 ± 0.0 ^a
1.25	0.79 ± 0.04 ^a	0.25	1.25 ± 0.05 ^b	0.15 ± 0.01 ^b
3.125	2.32 ± 0.42 ^b	0.625	4.44 ± 0.17 ^c	0.43 ± 0.00 ^c
5	8.73 ± 0.53 ^c	1	7.97 ± 0.21 ^d	0.67 ± 0.05 ^d

TEAC*: Trolox equivalent antioxidant capacity. BHT: Butylated hydroxytoluene, AA: ascorbic acid. Values are expressed as mean ± SD of three independent experiments. Values followed by the different letter within the same column are significantly different ($p < 0.05$) according to Tukey's Multiple Range Test.

Rancimat assay is a cheap and simple methodology that needs low sample volumes and attains reproducible results. Table 4 shows the values obtained for the antioxidant activity index (AAI) of animal fat with *T. elliptica* essential oil added, and with the standard BHT and AA essential oils added. Thus, the longer the induction period of the animal butter added with the essential oil, BHT, or AA standards compared to the control, which is pure butter, the more potent the antioxidant capacity of that compound will be. The AAI decreased in the order AA > BHT > *T. elliptica* Sm. According to this methodology, only concentrations of 5 and 10 mg/L of *T. elliptica* Sm. essential oil displayed antioxidant activity, with AAI values of 1.01 for both concentrations. These values were lower than those obtained for standard compounds (Table 4). It is important to highlight that *T. elliptica* Sm. essential oil showed pro-oxidant effects at concentrations ranging between 20 and 100 mg/mL. The pro-oxidant effect of essential oils is widely described in the scientific literature, as described in the works of Poma et al. [44] and Kong et al. [45].

Table 4. Antioxidant activity of *T. elliptica* essential oil measured by Rancimat test.

Concentration (mg/mL)	Antioxidant Activity Index (AAI)		
	<i>T. elliptica</i> Essential Oil	BHT	AA
5	1.01 ± 0.03 ^a	1.09 ± 0.07 ^b	1.51 ± 0.04 ^c
10	1.01 ± 0.04 ^a	1.18 ± 0.07 ^b	1.59 ± 0.13 ^c
20	0.99 ± 0.04 ^a	1.28 ± 0.11 ^{a,b}	1.84 ± 0.25 ^{b,c}
50	0.91 ± 0.03 ^a	1.40 ± 0.13 ^{a,b}	2.12 ± 0.27 ^{a,b}
80	0.95 ± 0.04 ^a	1.55 ± 0.20 ^a	2.36 ± 0.10 ^a
100	0.93 ± 0.03 ^a	1.58 ± 0.07 ^a	2.49 ± 0.22 ^a

BHT: Butylated hydroxytoluene, AA: ascorbic acid. Values are expressed as mean ± SD of three independent experiments. Values followed by the different letter within the same column are significantly different ($p < 0.05$) according to Tukey's Multiple Range Test.

The results obtained show that the essential oils obtained from aerial parts of *T. elliptica* had a moderated antioxidant activity. These antioxidant properties could be attributed to a high content of acyclic monoterpenes ketones, including *cis*- and *trans*-tagetone and tagetone, found in their composition as well as the synergistic action among several major and minor components [21,46]. However, the mechanism of action by which the compounds present in essential oils exert their antioxidant effect is not yet clearly understood. In this way, several mechanisms have been proposed, principally their redox properties, that play a significant role in absorbing and neutralizing free radicals, quenching singlet oxygen, and decomposing peroxides, as reported Jugreet et al. [47].

3.3. Antibacterial Activity of *T. elliptica* Essential Oil

The agar-well diffusion method was used to analyze the antibacterial activity of *T. elliptica* essential oil against Gram-positive and Gram-negative bacteria as shown in Table 5. These bacterial strains, *S. aureus* and *E. coli*, are considered model pathogenic bacteria for the evaluation of antimicrobial activity of plant extracts [48] while *S. infantis* is a pathogenic bacterium responsible for zoonoses transmissible to humans, with high resistance to antibiotics.

Table 5. Antibacterial activity of *T. elliptica* essential oil using the agar-well diffusion method.

Essential Oil	Volume (μL)	Diameter (Mean and SD) of Inhibition Zone (mm) Including Well Diameter of 6 mm		
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. infantis</i>
<i>T. elliptica</i>	40	19.67 \pm 0.57 ^a	12.63 \pm 0.56 ^a	13.00 \pm 1.00 ^a
	20	17.33 \pm 0.16 ^b	11.19 \pm 1.20 ^{ab}	12.33 \pm 0.58 ^{ab}
	10	15.57 \pm 0.35 ^c	10.87 \pm 0.85 ^b	11.23 \pm 0.61 ^b
	5	14.30 \pm 0.23 ^d	10.00 \pm 1.00 ^b	10.63 \pm 0.55 ^c

Values followed by the same letters within the same column are not significantly different ($p > 0.05$) according to Tukey's multiple range test.

T. elliptica EO showed antibacterial activity against all strains studied. Thus, *Staphylococcus aureus* (Gram-positive) had the highest inhibition halo ($p < 0.05$), while *E. coli* and *S. infantis* showed lower inhibition diameters with no difference ($p > 0.05$) between them. To the best of our knowledge, this is the first work to determine the antibacterial properties of the essential oil obtained from leave of *T. elliptica*. Nevertheless, as occurs with the chemical composition, the antibacterial properties of several other species of the genus *Tagetes* have been widely studied. Thus, Shirazi et al. [49] assessed the antibacterial activity of essential oils obtained from the leaves and flowers of *Tagetes minuta* cultivated in Iran. These authors reported that the minimal inhibitory concentration against *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis* were 150, 165, 67, and 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of *T. minuta* EO, respectively. Similarly, Gakuubi et al. [37] reported that the essential oil of *T. minuta* obtained from the leaves, flowers, and stem (at the flowering stage), with a volume added to the disk of 10 μL , had a very important antibacterial activity against *Pseudomonas savastanoi*, *Xanthomonas axonopodis*, and *Xanthomonas axonopodis* with inhibition halos of 41.83, 26.83, and 26.83 mm, respectively. More recently, Safar et al. [50] reported antibacterial activity of *Tagetes patula* EOs against several bacterial strains, including *Serratia fonticola*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*, with minimum inhibitory concentration values ranging between 0.16 and 0.64 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

The results obtained in this work showed that *T. elliptica* essential oil was more effective against Gram-positive bacteria when compared to Gram-negative. In this sense, several studies on the antibacterial properties of essential oils obtained from plants of the genus *Tagetes*, as well as other plant species, have commonly reported that the Gram-positive bacteria were more susceptible to the effects of EOs in comparison to Gram-negative bacteria [49,51,52] due to the fact that the Gram-negative bacteria have an outer membrane that restricts the diffusion of hydrophobic substances [53]. In view of the huge number of

diverse groups of chemical compounds found in *T. elliptica* essential oil, it is most likely that their antibacterial activity is not attributable to one specific compound. In addition, the mechanism of action of essential oils obtained from plants of the genus *Tagetes* is still unknown. Several studies have reported that the cell membrane is the principal structure of the microorganism which is damaged by the most of chemical compounds found in essential oils [54]. In addition, several chemical compounds found in essential oils may change the successive process of the synthesis of macromolecules, including proteins, polysaccharides, DNA, or RNA, which finally provoke the cell's death [55]. Therefore, Senatore et al. [56] reported that terpenoids such as dihydrotagetones, tagetones, and ocimenones, which were found in *T. elliptica* essential oils, are sufficient to account for the observed antibacterial activities of this essential oil due to the fact that they may provoke several impairments to the cell membrane, including some distorted projections on the cell membrane, and the cell morphology.

The concentration effect of the essential oil from *T. elliptica* on the three bacterial strains studied is shown in Table 5. All the concentrations assayed produced inhibition halos against all bacterial strains. In the case of *S. aureus*, this fact occurs in a concentration-dependent manner ($p < 0.05$). However, in the case of *E. coli* and *S. infantis*, no statistical differences were found between any of the concentrations analyzed.

As mentioned in Ruiz-Navajas et al. [32] it is important to notice that, when the essential oils are utilized as antimicrobial agents, their effectiveness is reduced when these phytochemicals are incorporated into complex matrices such as foods, without forgetting the impact on the organoleptic properties may have. In addition, several questions about toxicity and safety should be taken into consideration.

4. Conclusions

The results obtained in this work demonstrated that *T. elliptica* Sm. essential oil is a good source of important bioactive compounds (*cis*-tagetenone, *trans*-tagetenone, and dihydrotagetone) and possesses a moderate antioxidant capacity with different possible action mechanisms. In the same way, this essential oil has strong antibacterial properties against both Gram-negative and Gram-positive bacteria. However, further studies would be necessary to clarify the compound or compounds responsible for both antioxidant and antibacterial activity.

In any case, in view of these properties, this essential oil could be considered a safe and eco-friendly alternative to synthetic antioxidants and antimicrobial agents in the food industry. Despite the promising results obtained in *in vitro* assays, more detailed studies of the mechanisms of action of *T. elliptica* essential oils would be beneficial to achieve their potential as a natural preservative in the development of food products. This is because, when the essential oils are added to more complex matrices such as food, they tend to reduce both antioxidant and antibacterial properties due to possible interactions between food and essential oil components. This would make it necessary to add higher concentrations to achieve the same effect, which could have undesirable effects on the organoleptic characteristics of the product.

Author Contributions: Conceptualization, M.V.-M. and B.S.-R.; methodology, F.C.-M. and L.T.-M.; formal analysis, D.N.-C.; investigation, F.C.-M.; data curation, B.S.-R. and D.N.-C.; writing—original draft preparation F.C.-M. and L.T.-M.; writing—review and editing, M.V.-M. and J.F.-L. visualization, J.A.P.-A. and J.F.-L.; supervision, J.A.P.-A. and B.S.-R.; funding acquisition, D.N.-C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was financially supported by CONCYTEC for the project: No. 70-2018-Fondecyt-BM-IADTAV. The grant of F.C.-M. was supported by CONCYTEC for the project: No. 02-2018-FONDECYT-BM.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Al-Maqtari, Q.; Rehman, A.; Mahdi, A.; Al-Ansi, W.; Wei, M.; Yanyu, Z.; Phyto, H.M.; Galeboe, O.; Yao, W. Application of essential oils as preservatives in food systems: Challenges and future prospective—A review. *Phytochem. Rev.* **2022**, *21*, 1209–1246. [CrossRef]
2. Kaderides, K.; Kyriakoudi, A.; Mourtzinou, I.; Goula, A. Potential of pomegranate peel extract as a natural additive in foods. *Trends Food Sci. Technol.* **2021**, *115*, 380–390. [CrossRef]
3. Huang, X.; Gao, W.; Yun, X.; Qing, Z.; Zeng, J. Effect of natural antioxidants from marigolds (*Tagetes erecta* L.) on the oxidative stability of soybean oil. *Molecules* **2022**, *27*, 2865. [CrossRef] [PubMed]
4. Demirpolat, A.; Akman, F.; Kazachenko, A.S. An experimental and theoretical study on essential oil of *Aethionema sancakense*: Characterization, Molecular Properties and RDG Analysis. *Molecules* **2022**, *27*, 6129. [CrossRef] [PubMed]
5. Petrović, S.; Ušjak, L.; Milenković, M.; Arsenijević, J.; Drobac, M.; Drndarević, A.; Niketić, M. Thymus dacinus as a new source of antioxidant and antimicrobial metabolites. *J. Funct. Foods* **2017**, *28*, 114–121. [CrossRef]
6. Loockerman, D.; Turner, B.; Jansen, R. Phylogenetic relationships within the *Tageteae* (Asteraceae) Based on Nuclear Ribosomal ITS and chloroplast *ndhF* Gene sequences. *Syst. Bot.* **2003**, *28*, 191–207.
7. De La Cruz, H.; Vilcapoma, G.; Zevallos, P. Ethnobotanical study of medicinal plants used by the Andean people of Canta, Lima, Peru. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *111*, 284–294. [CrossRef]
8. Huaraca-Aparco, R.; Delgado-Laime, M.; Tapia-Tadeo, F. Metabolitos bioactivos y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial extraído de dos especies del género *Tagetes*. *Rev. Colomb. Cienc. Químico Farm.* **2022**, *50*, 3. [CrossRef]
9. Hartwig de Oliveira, D.; Bork Abib, P.; Giacomini, R.X.; Lenardão, E.J.; Schiedeck, G.; Wilhelm, E.A.; Luchese, C.; Savegnago, L.; Guimarães Jacob, R. Antioxidant and antifungal activities of the flowers' essential oil of *Tagetes minuta*, (Z)-tagetone and thiotagetone. *J. Essent. Oil Res.* **2018**, *31*, 160–169. [CrossRef]
10. Saani, M.; Lawrence, R.; Lawrence, K. Evaluation of pigments from methanolic extract of *Tagetes erecta* and *Beta vulgaris* as antioxidant and antibacterial agent. *Nat. Prod. Res.* **2018**, *32*, 1208–1211. [CrossRef]
11. Ibrahim, S.; Abdallah, H.; El-Halawany, A. Naturally occurring thiophenes: Isolation, purification, structural elucidation, and evaluation of bioactivities. *Phytochem. Rev.* **2016**, *15*, 197–220. [CrossRef]
12. Ibrahim, S.; Mohamed, G. Tagetones A and B, new cytotoxic monocyclic diterpenoids from flowers of *Tagetes minuta*. *Chin. J. Nat. Med.* **2017**, *15*, 546–549. [CrossRef] [PubMed]
13. González-Trujano, M.E.; Gutiérrez-Valentino, C.; Hernández-Aramburo, M.Y.; Díaz-Reval, M.I.; Pellicer, F. Identification of some bioactive metabolites and inhibitory receptors in the antinociceptive activity of *Tagetes lucida* Cav. *Life Sci.* **2019**, *231*, 116523. [CrossRef] [PubMed]
14. Salehi, B.; Valussi, M.; Morais-Braga, M.; Carneiro, J.; Leal, A.; Coutinho, H.; Vitalini, S.; Kręgiel, D.; Antolak, H.; Sharifi-Rad, M.; et al. *Tagetes* spp. essential oils and other extracts: Chemical characterization and biological activity. *Molecules* **2018**, *23*, 2847. [CrossRef] [PubMed]
15. Riaz, M.; Ahmad, R.; Rahman, N.; Khan, Z.; Dou, D.; Sechel, G.; Manea, R. Traditional uses, phyto-chemistry and pharmacological activities of *Tagetes patula* L. *J. Ethnopharmacol.* **2020**, *255*, 112718. [CrossRef] [PubMed]
16. Beltrán, H. The Asteraceae (*Compositae*) from Laraos district (Yauyos, Lima, Perú). *Rev. Peru Biol.* **2016**, *23*, 195–220. [CrossRef]
17. Natividad, Á.; Cisneros, G.; Rojas, R.; Matos, A.; Ramos, R.M. Componentes antioxidantes del chincho (*Tagetes elliptica* Sm.): Vitamina C y Flavonoides. *Investig. Valdizana* **2009**, *3*, 94–99. Available online: <https://revistas.unheval.edu.pe/index.php/riv/article/view/641> (accessed on 19 January 2023).
18. Li, Y.; Erhunmwunsee, F.; Liu, M.; Yang, K.; Zheng, W.; Tian, J. Antimicrobial mechanisms of spice essential oils and application in food industry. *Food Chem.* **2022**, *382*, 132312. [CrossRef]
19. Bhavanirama, S.; Vishnupriya, S.; Al-Aboody, M.; Vijayakumar, R.; Baskaran, D. Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain Oil Sci. Technol.* **2019**, *2*, 49–55. [CrossRef]
20. Rout, S.; Tambe, S.; Deshmukh, R.; Mali, S.; Cruz, J.; Srivastav, P.; Amin, P.; Gaikwad, K.; Andrade, E.; Oliveira, M. Recent trends in the application of essential oils: The next generation of food preservation and food packaging. *Trends Food Sci. Technol.* **2022**, *129*, 421–439. [CrossRef]
21. Kashyap, P.K.; Singh, S.; Singh, M.K.; Gupta, A.; Tandon, S.; Shanker, K.; Verma, R.K.; Verma, R.S. An efficient process for the extraction of lutein and chemical characterization of other organic volatiles from marigold (*Tagetes erecta* L.) flower. *Food Chem.* **2022**, *396*, 133647. [CrossRef] [PubMed]
22. Cornelius, W.; Wycliffe, W. Chapter 90-*Tagetes* (*Tagetes minuta*) Oils. In *Essential Oils in Food Preservation. Flavor and Safety*; Victor, R.P., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2016; pp. 791–802. [CrossRef]
23. Alves-Silva, J.M.; Dias dos Santos, S.M.; Pintado, M.E.; Pérez-Álvarez, J.A.; Fernández-López, J.; Viuda-Martos, M. Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal. *Food Control.* **2013**, *32*, 371–378. [CrossRef]
24. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.; Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT Food Sci. Technol.* **1995**, *28*, 25–30. [CrossRef]

25. Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; Hawkins, B.D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.* **2006**, *19*, 669–675. [[CrossRef](#)]
26. Sudha, G.; Priya, M.S.; Shree, R.I.; Vadivukkarasi, S. In vitro free radical scavenging activity of raw Pepino fruit (*Solanum muricatum* Aiton). *Int. J. Curr. Pharm. Res.* **2011**, *3*, 137–140.
27. Dudonné, S.; Vitrac, X.; Coutière, P.; Woillez, M.; Mérillon, J. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 1768–1774. [[CrossRef](#)]
28. Viuda-Martos, M.; Ruiz-Navajas, Y.; Sánchez-Zapata, E.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J.A. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour Fragr. J.* **2010**, *25*, 13–19. [[CrossRef](#)]
29. Forster, A.; Simon, K.; Schmidt, R.; Kaltner, D. What is it about antioxidative characteristics of hops? In Proceedings of the 28th EBC Congress, Budapest, Hungary, 12–17 May 2001.
30. Lalas, L.; Dourtoglou, V. Use of rosemary extract in preventing oxidation during deep-fat frying of potato chips. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2003**, *80*, 579–583. [[CrossRef](#)]
31. Tepe, B.; Daferera, D.; Sokmen, A.; Sokmen, M.; Polissiou, M. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chem.* **2005**, *90*, 333–340. [[CrossRef](#)]
32. Ruiz-Navajas, Y.; Viuda-Martos, M.; Sendra, E.; Perez-Alvarez, J.A.; Fernández-López, J. Chemical characterization and antibacterial activity of *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oils, two *Thymus* endemic species from southeast of Spain. *Food Control.* **2012**, *27*, 294–299. [[CrossRef](#)]
33. Moghaddam, M.; Pirbalouti, A.G.; Babaei, K.; Farhadi, N. Chemical compositions of essential oil from the aerial parts of *Tagetes patula* L. and *Tagetes erecta* L. cultivated in northeastern Iran. *J. Essent. Oil Bear. Plants* **2021**, *24*, 990–997. [[CrossRef](#)]
34. Aati, H.Y.; Emam, M.; Al-Qahtani, J.; Aati, S.; Aati, A.; Wanner, J.; Seif, M.M. Chemical composition of *Tagetes patula* flowers essential oil and hepato-therapeutic effect against carbon tetrachloride-Induced toxicity (In Vivo). *Molecules* **2022**, *27*, 7242. [[CrossRef](#)]
35. Kyarimpa, C.M.; Böhmendorfer, S.; Wasswa, J.; Kiremire, B.T.; Ndiege, I.O.; Kabasa, J.D. Essential oil and composition of *Tagetes minuta* from Uganda. Larvicidal activity on *Anopheles gambiae*. *Ind. Crop. Prod.* **2014**, *62*, 400–404. [[CrossRef](#)]
36. Omer, E.A.; Hendawy, S.F.; Ismail, R.F.; Petretto, G.L.; Rourke, J.P.; Pintore, G. Acclimatization study of *Tagetes lucida* L. in Egypt and the chemical characterization of its essential oils. *Nat. Prod. Res.* **2017**, *31*, 1509–1517. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Gakuubi, M.M.; Wagacha, J.M.; Dossaji, S.F.; Wanzala, W. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Tagetes minuta* (Asteraceae) against selected plant pathogenic bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **2016**, *2016*, 7352509. [[CrossRef](#)]
38. Almeida-Barbosa, L.C.; Andrade-Filomeno, C.; Teixeira, R.R. Chemical variability and biological activities of *Eucalyptus* spp., essential oils. *Molecules* **2016**, *21*, 1671. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Ruiz, C.; Cachay, M.; Domínguez, M.; Velásquez, C.; Espinoza, G.; Ventosilla, P.; Rojas, R. Chemical composition, antioxidant and Mosquito larvicidal activities of essential oils from *Tagetes filifolia*, *Tagetes minuta* and *Tagetes elliptica* from Perú. *Planta Med.* **2011**, *77*, PE30. [[CrossRef](#)]
40. Ali, N.A.; Sharopov, F.S.; Al-Kaf, A.G.; Hill, G.M.; Arnold, N.; Al-Sokari, S.S.; Setzer, W.N.; Wessjohann, L. Composition of essential oil from *Tagetes minuta* and its cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities. *Nat. Prod. Commun.* **2014**, *9*, 265–268. [[CrossRef](#)]
41. Kyarimpa, C.; Omolo, I.N.; Kabasa, J.D.; Nagawa, C.B.; Wasswa, J.; Kikawa, C.R. Evaluation of anti-oxidant properties in essential oil and solvent extracts from *Tagetes minuta*. *Afr. J. Pure Appl. Chem.* **2015**, *9*, 98–104. [[CrossRef](#)]
42. Platzter, M.; Kiese, S.; Herfellner, T.; Schweiggert-Weisz, U.; Miesbauer, O.; Eisner, P. Common trends and differences in antioxidant activity analysis of phenolic substances using single electron transfer based assays. *Molecules* **2021**, *26*, 1244. [[CrossRef](#)]
43. Mlala, S.; Oyedeji, O.O.; Sewani-Rusike, C.R.; Oyedeji, A.O.; Nkeh-Chungag, B.N. Chemical composition and antioxidant activity of *Tagetes minuta* L. in Eastern Cape, South Africa. In *Emerging Trends in Chemical Sciences*; Ramasami, P., Bhowon, M.G., Lallloo, S.J., Kam Wah, H.L., Eds.; Springer Nature: Cham, Switzerland, 2017; pp. 23–36.
44. Poma, P.; Labbozzetta, M.; Notarbartolo, M.; Bruno, M.; Maggio, A.; Rosselli, S.; Sajeve, M.; Zito, P. Chemical composition, in vitro antitumor and pro-oxidant activities of *Glandora rosmarinifolia* (Boraginaceae) essential oil. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0196947. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Kong, A.S.-Y.; Maran, S.; Yap, P.S.X.; Lim, S.H.E.; Yang, S.-K.; Cheng, W.-H.; Tan, Y.-H.; Lai, K.-S. Anti- and Pro-oxidant properties of essential oils against antimicrobial resistance. *Antioxidants* **2022**, *11*, 1819. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Zielińska-Błajet, M.; Feder-Kubis, J. Monoterpenes and their derivatives-recent development in biological and medical applications. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 7078. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Jugreet, B.S.; Suroowan, S.; Rengasamy, R.R.K.; Mahomoodally, M.F. Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends Food Sci. Technol.* **2020**, *101*, 89–105. [[CrossRef](#)]
48. Thielmann, J.; Muranyi, P.; Kazman, P. Screening essential oils for their antimicrobial activities against the foodborne pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Heliyon* **2019**, *5*, e01860. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Shirazi, M.T.; Gholami, H.; Kavooosi, G.; Rowshan, V.; Tafsiry, A. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. *Food Sci. Nutr.* **2014**, *2*, 146–155. [[CrossRef](#)]
50. Safar, A.A.; Ghafoor, A.O.; Dastan, D. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of *Tagetes patula* L. essential oil raised in Erbil, Iraq. *J. Rep. Pharm. Sci.* **2020**, *9*, 59–67. [[CrossRef](#)]

51. Abdoul-Latif, F.M.; Elmi, A.; Merito, A.; Nour, M.; Risler, A.; Ainane, A.; Bignon, J.; Ainane, T. Essential oils of *Tagetes minuta* and *Lavandula coronopifolia* from Djibouti: Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxic activity against various human cancer cell lines. *Int. J. Plant Biol.* **2022**, *13*, 315–329. [[CrossRef](#)]
52. Gourich, A.A.; Bencheikh, N.; Bouhrim, M.; Regragui, M.; Rhafouri, R.; Drioiche, A.; Asbabou, A.; Remok, F.; Mouradi, A.; Addi, M.; et al. Comparative analysis of the chemical composition and antimicrobial activity of four moroccan north middle atlas medicinal plants' essential oils: *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha pulegium* L., *Salvia officinalis* L., and *Thymus zygis* subsp. *gracilis* (Boiss.) R. Morales. *Chemistry* **2022**, *4*, 1775–1788. [[CrossRef](#)]
53. Burt, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *Int. J. Food Microbiol.* **2004**, *94*, 223–253. [[CrossRef](#)]
54. Yap, P.S.X.; Yusoff, K.; Lim, S.-H.E.; Chong, C.-M.; Lai, K.-S. Membrane Disruption Properties of Essential Oils—A Double-Edged Sword? *Processes* **2021**, *9*, 595. [[CrossRef](#)]
55. Xu, J.G.; Liu, T.; Hu, Q.-P.; Cao, X.-M. Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules* **2016**, *21*, 1194. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Senatore, F.; Napolitano, F.; Mohamed, M.A.H.; Harris, P.J.C.; Minkeni, P.N.S.; Henderson, J. Antibacterial activity of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oil with different chemical composition. *Flavour Fragr. J.* **2004**, *19*, 574–578. [[CrossRef](#)]

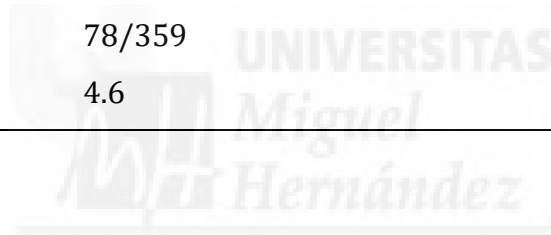
Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



8.2. PUBLICACIÓN 2

Effect of Gelled Emulsions Elaborated with Soybean Oil, Maca (*Lepidium meyenii*) Flour, and Chincho (*T. elliptica* Sm.) Essential Oil upon Animal Fat Substitution in Beef Burgers

Autores	Cerrón-Mercado, F.; Botella-Martínez, C.M.; Salvá-Ruíz, B.K.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvarez, J.A.; Viuda-Martos, M.
Revista	Foods
DOI	https://doi.org/10.3390/foods11152198
Editorial	MDPI
Fecha de publicación	24 de Julio del 2022
Categoría JCR	Food Science and Technology
Categoría de cuartil	Q1
Rango	78/359
Factor de impacto	4.6



Article

Effect of Gelled Emulsions Elaborated with Soybean Oil, Maca (*Lepidium meyenii*) Flour, and Chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) Essential Oil upon Animal Fat Substitution in Beef Burgers

Francis Cerrón-Mercado ^{1,2} , Carmen M. Botella-Martínez ¹ , Bettit K. Salvá-Ruiz ² , Juana Fernández-López ¹ , Jose A. Pérez-Alvarez ¹  and Manuel Viuda-Martos ^{1,*} 

¹ IPOA Research Group, Agro-Food Technology Department, Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Miguel Hernández University, Orihuela, 03312 Alicante, Spain; francis.cerron@goumh.umh.es (F.C.-M.); c.botella@umh.es (C.M.B.-M.); j.fernandez@umh.es (J.F.-L.); ja.perez@umh.es (J.A.P.-A.)

² Departamento de Tecnología de Alimentos y Productos Agropecuarios (TAPA), Universidad Nacional Agraria la Molina, UNALM, Lima 15024, Peru; bsalva@lamolina.edu.pe

* Correspondence: mviuda@umh.es; Tel.: +34-966-749-661



Citation: Cerrón-Mercado, F.; Botella-Martínez, C.M.; Salvá-Ruiz, B.K.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvarez, J.A.; Viuda-Martos, M. Effect of Gelled Emulsions Elaborated with Soybean Oil, Maca (*Lepidium meyenii*) Flour, and Chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) Essential Oil upon Animal Fat Substitution in Beef Burgers. *Foods* **2022**, *11*, 2198. <https://doi.org/10.3390/foods11152198>

Academic Editors: Óscar López-Campos, Nuria Prieto Benavides and Jose Lorenzo Rodriguez

Received: 1 July 2022

Accepted: 21 July 2022

Published: 24 July 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The aim of this study was to analyze the effect of pork backfat (PB) substitution in a meat burger with a gelled emulsion (GE) elaborated with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil (CEO). Lipid profile (gas chromatography—GC), health indices, physicochemical properties (CIELAB color, pH, texture profile—TPA), and cooking and sensory characteristics of meat burgers were analyzed. Five formulations were evaluated: control (BC) (80% beef meat and 20% PB); BSM (10% PB + 10% GE); BSMC0.25 (BSM + 0.25% CEO); BSMC0.5 (BSM + 0.5% CEO), and BSMC1.0 (BSM + 1.0% CEO). GE substitution in meat burgers provided a healthier lipid profile; the amount of SFA was reduced ($p < 0.05$), while PUFA content was significantly increased ($p < 0.05$). Furthermore, the use of GE resulted in healthier PUFA/SFA ratios and lower atherogenic and thrombogenic indices. The addition of GE increased moisture content and decreased fat and protein contents. Color parameters (L^* , b^* , and C^*) decreased after cooking. Hardness ($p < 0.05$), cooking losses, and shrinkage changes decreased with GE addition. Lipid oxidation levels were significantly ($p < 0.05$) affected by GE substitution. Therefore, the substitution of PB by GE can be considered as an effective strategy to produce healthier meat burgers without negatively affecting their physicochemical and technological properties.

Keywords: healthy burgers; gelled emulsion; chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) essential oil; soja oil; fat replacement; fatty acid profile; maca (*Lepidium meyenii*) flour

1. Introduction

Nowadays, meat burgers are one of the most popular products; however, their consumption in excess is related to unhealthy habits due to their high content of saturated fatty acids (SFA). These fatty acids are related to the risk of chronic, carcinogenic, and degenerative diseases [1–3]. COVID-19 provoked an increase in interest in eating healthier foods and meat products were not the exception. Several studies have shown that consumers are willing to consume new or reformulated healthy meat products [4,5]. A feasible alternative to this situation is to replace fatty tissues (belly, lard, etc.) with gelled emulsions (GE). These emulsions are made with polyunsaturated oils such as walnut, almond, chia, hemp, soybean, sunflower, wheat, or algae oils, which are healthier than animal fats. The development of GE generated by gelation procedures can ensure health-enhancing nutritional properties and could reduce cardiovascular diseases within a balanced diet [6,7], without the loss of technological characteristics and sensory properties, making these types of products well appreciated by the consumers [5,8]. Some authors have obtained promising

results for GE using various vegetable oils with healthy lipid profiles, such as the previously aforementioned oils with gelling agents such as starch corn, makgeolli, basil gum, gelatin, date flour, and amaranth flour [9–14]. All of these have been successfully used in low-fat meat products.

In the development of healthy meat products, gelled emulsions are used as fat analogs. One of the most important aspects when GEs are used is to improve the lipid profile, but their use can change the sensory characteristics and the technological qualities of these type of products [3]. Therefore, it is very important to reformulate this type of product without any loss of important characteristics for consumers and industries [8,9,11]. Animal fat substitution and the development of new healthy meat products presents a healthy and sustainable alternative diet based on traditional meat burgers. Thus, the substitution of PB with soybean oil (*Glycine max*) and chincho (*Tagetes elliptica* Sm.) essential oil could be an attractive, nutritious, and ethical alternative to conventional meat burgers.

Maca (*Lepidium meyenii*) flour has beneficial health effects due to its content of bioactive compounds, including glucosinolates and flavonoids [15]. From a technological point of view, the starch content in maca as a product of fractionation processing could be used as an emulsifier and stabilizer to give foods the desired texture and consistency [16]. Furthermore, antioxidants derived from maca could be used to prevent lipid-rich foods from developing rancidity and to control enzymatic browning of fresh produce [17]. Soybean oil is a worldwide and well-known oil for its content of tocopherols and polyunsaturated fatty acids, among other bioactive compounds [18]. The most important polyunsaturated fatty acids found in soybean oil are linolenic and linoleic acids, while oleic acid is the main monounsaturated fatty acid [19]. Thus, due to this composition, soybean oil could be a good lipid source for the elaboration of gelled emulsions to be used as fat replacers. On the other hand, healthy meat product developers must take into account that GEs elaborated with polyunsaturated oils are susceptible to lipid oxidation with unpleasant meat product characteristics such as rancidity, off flavors, and discolorations, among others [20]. To avoid these negative aspects, essential oils could be an excellent alternative to avoid lipid oxidation in healthy meat product development [21]. Several studies have shown that essential oils obtained from plants of the *Tagetes* genus have demonstrated antioxidant and antimicrobial properties [22–24]; for this reason, the use of the essential oil of *Tagetes elliptica* Sm. could be a good option in the formulation of healthy meat burgers rich in polyunsaturated fatty acids. *T. elliptica*, the binomial name of Chincho, is an ethnic aromatic plant cultivated in several regions of Central and South America [25]. It has been used for many years as a species to enhance flavor in meat seasoning [26]. Thus, the essential oil obtained from chincho could give healthy meat burgers antioxidant and antimicrobial properties and aromatic compounds [27]. In this way, the elaboration of meat burgers partially substituted with GEs elaborated with soybean oil, maca flour, and chincho essential oil could be an excellent natural vehicle to improve the lipid profile of meat products, and represent a promising alternative to the gelled emulsions currently used in emulsion-type applications.

The aim of this study was to analyze the effect of partially replacing pork backfat with gelled emulsions elaborated with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil on chemical composition, physicochemical and cooking properties, and lipid oxidation, as well as the sensory analysis of beef burgers.

2. Materials and Methods

2.1. Food Materials

In the present study, different gelled emulsions were prepared with the following ingredients: organic Peruvian maca flour (MF) (protein 11.9%, carbohydrates 61.5%, fat 0.7%, and dietary fiber 15.1%) and soybean oil (SO) (48.22% linoleic acid, 30.26% oleic acid, 11.07% palmitic acid, and 5.36% linolenic acid) were purchased in a local supermarket (Orihuela, Spain). Beef meat (72.30% moisture, 1.85% fat, 24.96% protein, and 0.87% ash) and pork backfat (11.20% moisture, 75.60% lipids, 12.43% protein, and 0.77% ash) were acquired from a local butchery provider (Orihuela, Spain). Chincho essential oil

was obtained by directed steam distillation of chincho leaves collected in the province of Chupaca, Junin Region, Peru (3263 m above sea level). Gelatin of animal origin (pork) with 180 bloom was obtained from Sosa Ingredients S.L. (Barcelona, Spain)

2.2. Preparation of Oil in Water Gelled Emulsions GEs

The gelled emulsions were prepared with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil according to Botella-Martinez et al. [28]. Four gelled emulsion were formulated (GE₁, GE₂, GE₃, and GE₄) and their composition is described in Table 1. The emulsions obtained were kept at 4 °C until the production of the burgers.

Table 1. Composition of maca-soybean oil and chincho essential oil gelled emulsions (GE).

Samples *	Formulations (%)				
	Water	Instant Gel	Maca Flour	Soy Bean Oil	Chincho Essential Oil
GE ₁	40	5	15	40	0
GE ₂	40	5	15	39.75	0.25
GE ₃	40	5	15	39.5	0.5
GE ₄	40	5	15	39	1

* GE₁: pork backfat (PB) substituted with maca flour and soybean oil; GE₂: PB substituted with maca flour, soybean oil, and 0.25% chincho essential oil; GE₃: PB substituted with maca flour, soybean oil, and 0.5% chincho essential oil; GE₄: PB substituted with maca flour, soybean oil, and 1.0% of chincho essential oil.

2.3. Formulation and Processing of Burgers Containing Gelled Emulsions GEs

Five batches of meat burgers were prepared by partially replacing animal fat with gelled emulsions prepared with soybean oil, maca flour and chincho essential oil. A total of 90 burgers (18 burgers for each treatment) with an approximate weight of 29.5 ± 0.05 g each were prepared. The traditional formula was used as a control sample (BC), while for the other four treatments, pork backfat was replaced by a gelled emulsion (GE₁, GE₂, GE₃ and GE₄), as indicated in Table 2. The samples were shaped with industrial-type burger equipment to obtain samples approximately 0.90 ± 0.05 cm thick and 6.3 ± 0.29 cm in diameter. The burgers were packed into bags and stored at 4 °C until further analysis. Six burgers of each formulation were cooked on a griddle to an internal temperature of 71 °C, taken in the geometrical center of each burger through a hypodermic-type thermometer (Model HVP-2-21-V2-TG-48-OCT-M Omega, Stanford, CT, USA) approximately 2.5 min per side.

Table 2. Formulation of beef burgers with and without gelled emulsions (GE) of maca, soybean oil, and chincho essential oil used as partial substitutes for animal fat.

	Treatment * (%)				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
Beef meat	80	80	80	80	80
Pork backfat	20	10	10	10	10
GE ₁	0	10	0	0	0
GE ₂	0	0	10	0	0
GE ₃	0	0	0	10	0
GE ₄	0	0	0	0	10
Water	5	5	5	5	5
Salt	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Onion powder	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Garlic powder	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Black pepper	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Dehydrated parsley	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

PB: pork backfat; GE: gelled emulsion. * BC: control burger with a traditional formula (20% pork backfat); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₁ with maca flour and soybean oil; BSMCC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₂ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil, BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₃ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by EG₄ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil.

2.4. Proximate Composition

Moisture, protein (using N \times 6.25 as conversion factor), fat, and ash contents were determined according to the official methods of the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) [29].

2.5. Lipid Profile and Health Indices

2.5.1. Fatty Acid Profile

To analyze the fatty acids profile, burger fat was obtained from 5 g of sample (raw and cooked burger) according to the methodology of Folch et al. [30]; then, the lipid phase was transmethylated following the method and conditions described by Golay and Moulin [31]. The fatty acid methyl esters (FAMES) were separated and quantified using a gas chromatograph—Hewlett-Packard 6890—with a flame ionization detector (FID) and a Suprewax 280 capillary column (30 m, 0.25 µm film thickness, 0.25 mm i.d.; Tecknokroma Barcelona, Spain), was carried out according to the chromatographic conditions described by Pellegrini et al. [32], and was expressed as g/100 g of fat.

2.5.2. Health Indices

To evaluate the nutritional quality of burgers, the health indices of beef burgers were calculated. Total fat content and fat composition, measured as total saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), and polyunsaturated (PUFA) fatty acids contents, and the n-3 and n-6 fatty acid ratio, the PUFA and SFA ratio were obtained. In the same way, n-6/n-3 and PUFA/SFA ratios and atherogenic index (AI), thrombogenic index (TI), and hypocholesterolemic/hypercholesterolemic (h/H) were calculated following Equations (1)–(3), respectively, using the equations developed by Ulbricht and Southgate [33].

$$AI = \frac{C12 : 0 + (4 \times C14 : 0) + C16 : 0}{\Sigma MUFA + \Sigma n - 6 + \Sigma n - 3} \quad (1)$$

$$TI = \frac{C14 : 0 + C16 : 0 + C18 : 0}{(0.5 \times \Sigma MUFA) + (0.5 \times \Sigma n - 6) + (3 \times \Sigma n - 3) + \left(\frac{\Sigma n - 3}{\Sigma n - 6}\right)} \quad (2)$$

$$\frac{h}{H} = \frac{C18 : 1 n - 9 + C18 : 1 n - 7 + \Sigma PUFA}{C14 : 0 + C16 : 0} \quad (3)$$

2.6. Physicochemical Analysis

2.6.1. Color Parameters, pH, and Water Activity

The color of raw and cooked patties was evaluated using CIELAB color space (D₆₅ as illuminant and 10° as standard observer) and L*a* b* color coordinates (L*, a*, and b* represent lightness, red/green color, and yellow/blue color, respectively). Samples were measured using a Minolta CM-700 (Minolta Camera Co., Osaka, Japan) using SCI mode and a low-reflectance glass placed on the surface of the sample and equipment. AMSA guidelines for color evaluation were applied [34,35]. Before the measurements, the equipment was calibrated following the equipment recommendations (calibrate plate values of L* = 97.14, a* = 0.14 and b* = 2.40). Six random points from each sample were taken for color determination. The psychophysical magnitudes hue (H*) and chroma (C*) in raw and cooked burgers were also calculated using Equations (4) and (5), respectively.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (4)$$

$$H^* = \arctang\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (5)$$

The total color differences (ΔE*) of each reformulated sample with respect to the control burger were calculated with Equation (6).

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_s^* - L_c^*)^2 + (a_s^* - a_c^*)^2 + (b_s^* - b_c^*)^2} \quad (6)$$

where s: sample, and c: control beef burger.

Equations (4)–(6) were obtained according Cassens et al. [36].

Water activity was determined in raw burgers using an electrolytic hygrometer (Novasina TH-500, Novasina, Pfaeffikon, Switzerland) at 22 °C. The pH of the samples was measured with a digital portable pH meter using a penetration probe at different sites of the raw and cooked burgers using a Crison model 510 pH meter, (Barcelona, Spain).

2.6.2. Texture Profile Analysis

Texture profile analysis (TPA) was performed in six replicates in cooked burgers. The tests were performed in a TA-XT2i texture analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, England). Cubic samples of (2 × 2 × 2 cm) were obtained for fresh and cooked samples, respectively. Samples were compressed to 75% of their original height with a cylindrical probe of 10 cm diameter at a compression load of 25 kg with a constant velocity of 1 mm/s at 15–20 °C. The following parameters were calculated: hardness (N), springiness, cohesiveness, chewiness (N), and gumminess [37].

2.7. Cooking Properties

Cooking properties were determined using three burger samples for each treatment. Meat burgers from each batch at room temperature were weighed and their diameters were measured; these procedures were repeated after cooking. The reduction in diameter and the increases in thickness and cooking loss were calculated according to Equations (7)–(9).

$$\text{Shrinkage (\%)} = \frac{(\text{raw diameter} - \text{cooked diameter})}{(\text{raw diameter})} \times 100 \quad (7)$$

$$\text{Thickness increase (\%)} = \frac{(\text{Cooked thickness} - \text{raw thickness})}{(\text{cooked thickness})} \times 100 \quad (8)$$

$$\text{(\%)}\text{Cooking loss} = \frac{(\text{raw weight} - \text{cooked weight})}{(\text{raw weight})} \times 100 \quad (9)$$

2.8. Oxidative Stability

The evaluation of lipid stability was performed on raw and cooked burgers by measuring thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) following the method proposed by Rosmini et al. [38]. The TBARS value was calculated from a malonaldehyde standard curve expressed as mg of malondialdehyde (MDA)/kg of sample.

2.9. Statistical Analysis

Experimental data were expressed as mean ± standard deviation of three repeated measurements per sample (five treatments). Statistical analysis for chemical composition and physicochemical and cooking properties was performed by one-way analysis of variance (ANOVA). Oxidative stability was analyzed by means of a two-way ANOVA test with two factors: thermal treatment (two levels: raw or cooked) and treatments (five levels: BC, BSM, BSMC0.25, BSMC0.5, and BSMC1.0). Tukey's post hoc test was applied for comparisons of means; statistical significance was accepted at a level of ($p < 0.05$) in all statistical analyses using the software SPSS® IBM® Statistics 22.0.0.0. (International Business Machines Corp., Armonk, New York, NY, USA).

3. Results and Discussion

3.1. Proximate Composition of Burgers

Table 3 shows the results of the chemical composition of BC and the substitution of 50% of pork fat by the gelled emulsions in BSM, BSMC0.25, BSMC0.5, and BSMC1.0. The moisture content increased in the raw and cooked burgers substituted with the gelled emulsion; the control sample presented significant differences with the reformulations ($p < 0.05$). The increased values of moisture content could be due to the water used to elaborate the gelled emulsions. These results were in agreement with those reported

by Lucas-Gonzalez et al. [39] and Botella-Martinez et al. [9] when gelled emulsions are employed in the substitution of fat in meat products.

Table 3. Effect of partial substitution of pork backfat by a gelled emulsion of maca flour, soybean oil, and chincho essential oil on the chemical composition (%) of raw and cooked beef burgers.

	Treatments *				
	Raw				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
Moisture	63.03 ± 0.61 ^a	65.96 ± 0.39 ^b	66.01 ± 0.18 ^b	66.09 ± 0.44 ^b	65.80 ± 0.40 ^b
Protein	19.67 ± 0.58 ^b	18.17 ± 0.00 ^a	18.26 ± 0.12 ^a	17.91 ± 0.47 ^a	18.14 ± 0.09 ^a
Fat	12.26 ± 0.05 ^c	7.16 ± 0.15 ^a	8.36 ± 0.20 ^b	7.90 ± 0.62 ^{a,b}	7.67 ± 0.19 ^{a,b}
Ash	2.35 ± 0.07 ^a	2.46 ± 0.09 ^a	2.33 ± 0.03 ^a	2.36 ± 0.07 ^a	2.25 ± 0.07 ^a
	Cooked				
Moisture	53.69 ± 0.39 ^a	55.56 ± 0.15 ^{b,c}	56.79 ± 0.27 ^c	55.13 ± 0.84 ^{a,b,c}	54.56 ± 1.02 ^{a,b}
Protein	27.52 ± 0.03 ^c	25.16 ± 0.45 ^b	24.42 ± 0.10 ^a	24.64 ± 0.07 ^{a,b}	25.10 ± 0.16 ^b
Fat	12.97 ± 0.17 ^b	12.05 ± 0.27 ^a	12.18 ± 0.32 ^{a,b}	12.76 ± 0.05 ^{a,b}	12.06 ± 0.49 ^a
Ash	2.94 ± 0.05 ^b	3.00 ± 0.02 ^b	2.81 ± 0.12 ^{a,b}	2.87 ± 0.05 ^{a,b}	2.74 ± 0.09 ^a

(a–c) Equal letters on the same row indicate that there is no significant difference according to Tukey's HSD post-hoc test ($p > 0.05$). PB: pork back fat; GE: gelled emulsion. * BC: control hamburger with a traditional formula (20% PB); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₁ with maca flour and soybean oil; BSMC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₂ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₃ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by GE₄ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil.

In reference to the protein content of raw samples (Table 3), the BC showed the highest ($p < 0.05$), while no differences ($p > 0.05$) were obtained between samples where the gelled emulsions were used as fat replacer. The same trend was observed in cooked samples, where BC had the highest ($p < 0.05$) protein values. This reduction in protein content may be due to the fact that in the gelled emulsion, the protein content comes from maca (11.9%). Thus, for every 100 g of emulsion, only 1.7 g of protein is provided, while the pork backfat provides 12.19 g of protein per 100 g. Regarding ash content in raw burgers, no statistical differences ($p > 0.05$) were found between BC and samples with pork backfat partially replaced by gelled emulsions. The cooked burgers of BSM0.25, BSMC0.5, and BSMC1.0 had lower ($p < 0.05$) ash content than BC and BSM, without statistical differences between them ($p > 0.05$). Among the different samples tested, BC showed a higher fat content compared to the burgers partially substituted with the gelled emulsion—BSM, BSMC0.25, BSMC0.5, and BSMC1.0—leading to a decrease in fat content by 41.59% and 7.09% for the BSM sample versus the BC control in the raw and cooked burgers, respectively. This decrease in fat content was similar to that reported in the scientific literature analyzing the substitution of animal fat with a gelled emulsion [9,11,40–42].

3.2. Lipid Profile and Health Indices

3.2.1. Fatty Acid Profile

The fatty acid profile of raw and cooked beef burgers is shown in Tables 4 and 5, respectively. In raw burgers, the main saturated fatty acids found in all samples analyzed were palmitic acid (16:0) and stearic acid (18:0). However, significant differences ($p < 0.05$) were obtained between BC, which had the highest values for these fatty acids, and samples where the pork backfat was replaced by gelled emulsions. Thus, for palmitic acid, a reduction ranged between 14.07 and 16.84% was obtained with respect to BC, while for stearic acid, the reduction with regards to BC varied between 16.90 and 20.05%. The reduction in saturated fatty acid when gelled emulsions elaborated with healthier oils are used as a fat replacer in meat product is well described in the literature [9,28,41].

Table 4. Effect of partial replacement of pork backfat with a gelled emulsion of maca flour, soybean oil, and chincho essential oil on the fatty acid profile of raw beef burgers.

Fatty Acid (g/100 g of Fat)	Raw				
	Treatment				
	* BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
C10:0	0.07 ± 0.00 ^c	0.06 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.00 ^{a,b}	0.05 ± 0.01 ^a	0.05 ± 0.01 ^{a,b}
C12:0	0.08 ± 0.00 ^c	0.06 ± 0.00 ^b	0.06 ± 0.00 ^{a,b}	0.06 ± 0.0 ^a	0.06 ± 0.00 ^{a,b}
C14:0	1.5 ± 0.04 ^b	1.17 ± 0.09 ^a	1.13 ± 0.03 ^a	1.14 ± 0.11 ^a	1.14 ± 0.01 ^a
C14:1 (n-5)	0.04 ± 0.03 ^a	0.05 ± 0.02 ^a	0.10 ± 0.12 ^a	0.08 ± 0.11 ^a	0.06 ± 0.01 ^a
C15:0	0.08 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.03 ^a	0.08 ± 0.00 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.00 ^a
C16:0	23.88 ± 0.00 ^b	20.52 ± 0.48 ^a	19.95 ± 0.27 ^a	19.86 ± 0.80 ^a	19.93 ± 0.12 ^a
C16:1 (n-7)	2.38 ± 0.06 ^b	1.88 ± 0.10 ^a	1.76 ± 0.03 ^a	1.75 ± 0.11 ^a	1.80 ± 0.02 ^a
C17:0	0.42 ± 0.02 ^b	0.34 ± 0.01 ^a	0.34 ± 0.00 ^a	0.36 ± 0.03 ^a	0.35 ± 0.01 ^a
C17:1 (n-7)	0.41 ± 0.00 ^c	0.32 ± 0.01 ^{a,b}	0.31 ± 0.01 ^a	0.33 ± 0.02 ^{a,b}	0.33 ± 0.01 ^b
C18:0	11.42 ± 0.13 ^b	9.49 ± 0.36 ^a	9.13 ± 0.24 ^a	9.31 ± 0.52 ^a	9.20 ± 0.19 ^a
C18:1 (n-9)Cis	48.68 ± 0.20 ^d	43.12 ± 0.01 ^c	41.80 ± 0.16 ^a	41.42 ± 0.58 ^a	42.46 ± 0.41 ^b
C18:1 (n-9)Trans	2.58 ± 0.07 ^d	2.29 ± 0.03 ^c	2.21 ± 0.02 ^{a,b}	2.15 ± 0.02 ^a	2.25 ± 0.03 ^{b,c}
C18:2 (n-6)	6.20 ± 0.10 ^a	16.95 ± 0.89 ^b	19.63 ± 0.29 ^c	19.96 ± 1.85 ^c	18.61 ± 0.09 ^{b,c}
C18:3 (n-3)	0.32 ± 0.00 ^a	1.60 ± 0.07 ^b	1.92 ± 0.01 ^c	1.95 ± 0.19 ^c	1.79 ± 0.01 ^c
C18:3 (n-6)	0.17 ± 0.00 ^a	0.23 ± 0.00 ^b	0.24 ± 0.01 ^c	0.25 ± 0.01 ^c	0.24 ± 0.00 ^c
C20:0	1.19 ± 0.01 ^d	0.90 ± 0.02 ^c	0.80 ± 0.02 ^a	0.79 ± 0.00 ^a	0.86 ± 0.02 ^b
C20:1	0.34 ± 0.00 ^b	0.23 ± 0.02 ^a	0.21 ± 0.03 ^a	0.22 ± 0.00 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
C20:3 (n-8)	0.15 ± 0.12 ^a	0.34 ± 0.03 ^b	0.18 ± 0.03 ^a	0.18 ± 0.10 ^a	0.37 ± 0.04 ^b
C20:3 (n-11)	0.04 ± 0.03 ^{a,b}	0.18 ± 0.08 ^c	0.04 ± 0.01 ^{a,b}	0.02 ± 0.02 ^a	0.14 ± 0.09 ^{b,c}
C24:1	0.05 ± 0.05 ^a	0.18 ± 0.03 ^b	0.09 ± 0.09 ^{a,b}	0.04 ± 0.04 ^a	0.05 ± 0.04 ^a
ΣSFA	38.65 ± 0.19 ^b	32.60 ± 0.95 ^a	31.53 ± 0.51 ^a	31.65 ± 1.48 ^a	31.67 ± 0.30 ^a
ΣMUFA	54.42 ± 0.29 ^d	47.89 ± 0.12 ^c	46.40 ± 0.03 ^{a,b}	45.95 ± 0.73 ^a	47.14 ± 0.48 ^{b,c}
ΣPUFA	6.88 ± 0.05 ^a	19.31 ± 1.01 ^b	22.01 ± 0.34 ^c	22.36 ± 2.17 ^c	21.14 ± 0.22 ^{b,c}
Σn-3	0.32 ± 0.00 ^s	1.60 ± 0.07 ^b	1.92 ± 0.01 ^c	1.95 ± 0.19 ^c	1.79 ± 0.01 ^c
Σn-6	6.37 ± 0.10 ^a	17.18 ± 0.89 ^b	19.88 ± 0.29 ^c	20.21 ± 1.86 ^c	18.85 ± 0.10 ^{b,c}

Results are expressed as g/100 g. Data are presented as mean ± standard deviation. ^(a-d) For each parameter, results followed by the same letter are not significantly different according to Tukey's HSD post-hoc test ($p > 0.05$). A lower-case letters refers to the comparison of the same fatty acid or parameters between the different raw samples. PB: pork backfat; GE: gelled emulsion.* BC: control hamburger with a traditional formula (20% PB); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₁ with maca flour and soybean oil; BSMC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₂ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₃ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by GE₄ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil. SFA = saturated fatty acids; MUFA = monounsaturated fatty acids; PUFA = polyunsaturated fatty acids; n-6 = omega-6; n-3 = omega-3.

Soybean oil has a high content of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in its composition (49.24%), followed by monounsaturated fatty acids MUFA (29.44%). These contents, when incorporated in the gelled emulsion, modify the composition of beef burgers. It was found that the highest MUFA contents in raw and cooked burgers were palmitoleic acid (C16:1) and oleic acid (C18:1), but these were significantly reduced ($p < 0.05$) with the partial substitution of the gelled emulsion in all formulations compared to the control. In this sense, regarding monounsaturated fatty acids, mainly oleic acid (C18:1 (n-9)), the substitution of animal fat with a gelled emulsion elaborated with soybean oil produces a reduction ($p < 0.05$) in the content of this fatty acid with respect to BC.

Table 5. Effect of partial replacement of pork backfat with a gelled emulsion of maca flour, soybean oil, and chincho essential oil on the fatty acid profile of cooked beef burgers.

Fatty Acid (g/100 g of Fat)	Cooked				
	Treatment *				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
C10:0	0.08 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a
C12:0	0.08 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.06 ± 0.00 ^a
C14:0	1.48 ± 0.02 ^d	1.01 ± 0.01 ^a	1.07 ± 0.00 ^b	1.12 ± 0.00 ^c	1.13 ± 0.02 ^c
C14:1 (n-5)	0.06 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.02 ^a	0.08 ± 0.00 ^a	0.08 ± 0.01 ^a	0.08 ± 0.01 ^a
C15:0	0.09 ± 0.00 ^b	0.04 ± 0.04 ^a	0.09 ± 0.00 ^b	0.09 ± 0.00 ^b	0.09 ± 0.00 ^b
C16:0	23.68 ± 0.03 ^c	19.20 ± 0.10 ^a	19.42 ± 0.03 ^a	19.70 ± 0.13 ^b	19.70 ± 0.24 ^b
C16:1 (n-7)	2.41 ± 0.02 ^c	1.68 ± 0.00 ^a	1.69 ± 0.00 ^a	1.75 ± 0.03 ^b	1.76 ± 0.03 ^b
C17:0	0.43 ± 0.00 ^d	0.33 ± 0.00 ^a	0.34 ± 0.00 ^b	0.36 ± 0.01 ^c	0.36 ± 0.00 ^c
C17:1 (n-7)	0.42 ± 0.00 ^d	0.31 ± 0.00 ^b	0.30 ± 0.00 ^a	0.33 ± 0.00 ^c	0.33 ± 0.00 ^c
C18:0	11.86 ± 0.08 ^c	9.03 ± 0.02 ^a	9.25 ± 0.03 ^{a,b}	9.36 ± 0.13 ^b	9.35 ± 0.23 ^b
C18:1 (n-9)Cis	47.92 ± 0.02 ^b	40.70 ± 0.15 ^a	40.44 ± 0.02 ^a	41.00 ± 0.50 ^a	40.97 ± 0.46 ^a
C18:1 (n-9)Trans	2.57 ± 0.08 ^b	2.18 ± 0.03 ^a	2.14 ± 0.02 ^a	2.17 ± 0.01 ^a	2.13 ± 0.06 ^a
C18:2 (n-6)	6.46 ± 0.04 ^a	21.50 ± 0.06 ^c	21.48 ± 0.15 ^c	20.37 ± 0.75 ^b	20.33 ± 0.88 ^b
C18:3 (n-3)	0.30 ± 0.01 ^a	2.05 ± 0.02 ^c	2.06 ± 0.02 ^c	1.91 ± 0.07 ^b	1.92 ± 0.11 ^b
C18:3 (n-6)	0.17 ± 0.00 ^a	0.26 ± 0.00 ^c	0.26 ± 0.00 ^c	0.24 ± 0.01 ^b	0.25 ± 0.00 ^b
C20:0	1.14 ± 0.02 ^c	0.76 ± 0.00 ^b	0.71 ± 0.00 ^a	0.75 ± 0.03 ^b	0.76 ± 0.02 ^b
C20:1	0.33 ± 0.01 ^b	0.21 ± 0.05 ^{a,b}	0.14 ± 0.15 ^a	0.14 ± 0.11 ^a	0.20 ± 0.01 ^{a,b}
C20:3 (n-8)	0.37 ± 0.01 ^a	0.42 ± 0.00 ^b	0.36 ± 0.01 ^a	0.44 ± 0.01 ^b	0.45 ± 0.03 ^b
C20:3 (n-11)	0.08 ± 0.04 ^b	0.03 ± 0.00 ^a	0.02 ± 0.00 ^a	0.03 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.00 ^a
C24:1	0.06 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.10 ^a	0.07 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.07 ^a	0.07 ± 0.07 ^a
ΣSFA	38.84 ± 0.04 ^d	30.48 ± 0.08 ^a	30.97 ± 0.00 ^b	31.48 ± 0.27 ^c	31.49 ± 0.47 ^c
ΣMUFA	53.71 ± 0.04 ^b	45.15 ± 0.10 ^a	44.78 ± 0.18 ^a	45.46 ± 0.63 ^a	45.47 ± 0.55 ^a
ΣPUFA	7.39 ± 0.10 ^a	24.26 ± 0.08 ^c	24.17 ± 0.17 ^c	22.99 ± 0.83 ^b	22.97 ± 0.96 ^b
Σn-3	0.30 ± 0.01 ^a	2.05 ± 0.02 ^c	2.06 ± 0.02 ^c	1.91 ± 0.07 ^b	1.92 ± 0.11 ^b
Σn-6	6.63 ± 0.04 ^a	21.76 ± 0.06 ^c	21.73 ± 0.15 ^c	20.61 ± 0.75 ^b	20.58 ± 0.88 ^b

Results are expressed as g/100 g. Data are presented as mean ± standard deviation. ^(a-d) For each parameter, results followed by same letter are not significantly different according to Tukey's HSD post-hoc test ($p > 0.05$). A lower-case letters refers to the comparison of the same fatty acid or parameters between the different cooked samples. PB: pork backfat; GE: gelled emulsion * BC: control hamburger with a traditional formula (20% PB); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₁ with maca flour and soybean oil; BSMC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₂ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₃ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by GE₄ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil. SFA = saturated fatty acids; MUFA = monounsaturated fatty acids; PUFA = polyunsaturated fatty acids; n-6 = omega-6; n-3 = omega-3.

The most abundant PUFA in raw burgers was linoleic acid (C18:2 n-6); partial substitution of pork backfat (50%) with the gelled emulsion increased the linoleic acid content ($p < 0.05$) in all formulations. In addition, all formulations had significantly higher α -linolenic acid (C18:3 n-3) content ($p < 0.05$) compared to the control in both raw and cooked burgers. These results are in agreement with those reported by Selani et al. [43], who analyzed the effects of pineapple by-products and canola oil used as fat replacers on fatty acid profile. They found that in the samples where the back fat was replaced by the canola oil emulsion or canola oil and pineapple by-products, the fatty acid profile was improved (higher content of MUFA and PUFA and lower content of SFA) with respect to the control sample. Similarly, Szpicer et al. [44] mentioned that in beef burgers where the tallow was partially replaced by canola oil or a mix of canola oil and β -glucan, the oleic, linoleic, and linolenic acids content increased with respect to control samples.

For the cooked samples (Table 5), the trend is very similar to raw samples. Some minor differences in the values, and therefore in the statistical significance in cooked samples with respect to the uncooked samples, may be attributed to the loss of fat and water during cooking.

Burgers with pork backfat (50%) replaced by gelled emulsion (BSM, BSMC0.25, BSMC0.5, BSMC1.0) can be declared to be "high in omega-3 fatty acids", as they have at least 0.6 g of α -linolenic acid per 100 g of product [45].

3.2.2. Health Indices

Table 6 shows the results obtained for the health indices of the cooked burgers. It can be observed that with the substitution with gelled emulsion (BSM, BSMC0.25, BSMC0.5 and BSMC1.0) in the formulations, the content of omega-3 acids increases with respect to the control (BC), which decreases the ratio of n-6/n-3 ($p < 0.05$); however, the values are higher in all formulations. This fact may be due to the low content of omega-3 acids in soybean oil, as shown in Table 4 and various studies [19]. However, the omega-6 content increased in the formulations substituted with gelled emulsion, which is beneficial because it replaces saturated fatty acids [6].

Table 6. Health indices of cooked beef burgers reformulated with gelled emulsion of maca flour, soybean oil, and chincho essential oil used as substitutes for pork backfat.

Indices	Formulation *				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
n-6/n-3	21.83 ± 0.32 ^b	10.63 ± 0.06 ^a	10.53 ± 0.01 ^a	10.79 ± 0.01 ^a	10.73 ± 0.15 ^a
PUFA/SFA	0.19 ± 0.00 ^a	0.80 ± 0.00 ^c	0.78 ± 0.01 ^c	0.73 ± 0.03 ^b	0.73 ± 0.04 ^b
AI	0.49 ± 0.00 ^d	0.34 ± 0.00 ^a	0.35 ± 0.00 ^b	0.36 ± 0.00 ^c	0.36 ± 0.00 ^c
TI	1.19 ± 0.00 ^c	0.74 ± 0.00 ^a	0.75 ± 0.00 ^a	0.78 ± 0.01 ^b	0.78 ± 0.02 ^b
h/H	2.29 ± 0.01 ^b	2.98 ± 0.12 ^a	3.13 ± 0.06 ^a	3.14 ± 0.21 ^a	3.12 ± 0.03 ^a

^(a-c) Equal letters on the same row indicate that there is no significant difference according to Tukey's HSD post-hoc test ($p > 0.05$). PB: pork back fat; GE: gelled emulsion. * BC: control hamburger with a traditional formula (20% PB); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE1 with maca flour and soybean oil; BSMC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE2 with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE3 with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by GE4 with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil. SFA: saturated fatty acids. PUFA: polyunsaturated fatty acids. n-3: omega-3; n-6: omega-6; AI: atherogenic index; TI: thrombogenic index; h/H: hypo cholesterolemic/hypercholesterolemic index.

The BC formulation showed a PUFA/SFA ratio of 0.19 in the cooked burgers. However, the values of this ratio increased significantly ($p < 0.05$) when substituting the pork backfat with the gelled emulsion. Thus, the BSM formulation showed a value of 0.80, while the samples of BSMC0.25; BSMC0.5, and BSMC1.0 had values ranging between 0.73 and 0.78. This result is considerably beneficial because a PUFA/SFA ratio lower than 0.45 may increase the incidence of cardiovascular diseases [6,46]. The use of gelled emulsion to replace animal fat in several meat products is a great strategy to improve several nutritional indices, including n-6/n-3 and PUFA/SFA ratios, as has been reported by several authors [9,11,41,44]. The partial substitution of pork backfat resulted in a decrease ($p < 0.05$) of the atherogenicity (AI) and thrombogenicity (TI) indices; in all formulations, values less than 1 were found, which indicates that the formulations contribute to reducing the risk and severity of diseases [7]. In addition, higher values of AI and TI (> 1.0) are harmful to human health [47]. The h/H ratio, on the other hand, should be increased. Table 5 shows the formulations with the substitution of pork backfat, which have increased h/H ratios compared to the BC control ($p < 0.05$).

3.3. Physico-Chemical Analysis

The physicochemical properties (color, pH, and Aw) of raw and cooked beef burgers are shown in Table 7. Regarding the color properties of raw burgers, the addition of gelled emulsions as fat replacers increased the lightness (L^*) and yellowness (b^*) values in all samples ($p < 0.05$) with respect to BC. However, no statistical differences were found ($p > 0.05$) between samples where animal fat was replaced by gelled emulsion. In meat products, a higher value of lightness is related to higher free surface water content, which agrees with the moisture values obtained. On the other hand, with respect to BC, the redness (a^*) decreased in the raw burgers where the animal fat was substituted with gelled emulsion, although no statistical differences ($p < 0.05$) were found. In reference to color differences, the used of gelled emulsion as a fat replacement generates visual changes

in color that can be observed by human eyes ($\Delta E^* > 3$). These results agree with several studies reporting that the modification or substitution of ingredients as fat can affect color parameters [9,39].

Table 7. Effect of partial substitution of pork backfat by a gelled emulsion of maca flour, soybean oil, and chincho essential oil on the color, pH, and Aw parameters of raw and cooked beef burger.

	Treatments *				
	Raw				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
L*	44.35 ± 0.99 ^a	48.52 ± 2.11 ^b	49.28 ± 1.89 ^b	49.82 ± 2.64 ^b	48.22 ± 2.32 ^b
a*	7.62 ± 1.33 ^a	6.82 ± 1.12 ^a	6.21 ± 0.68 ^a	6.20 ± 1.24 ^a	6.56 ± 1.28 ^a
b*	13.31 ± 1.44 ^a	14.18 ± 0.75 ^{a,b}	15.58 ± 1.09 ^c	14.82 ± 1.14 ^{b,c}	15.34 ± 1.17 ^{b,c}
C*	15.41 ± 1.36 ^a	15.77 ± 0.90 ^{a,b}	16.79 ± 1.06 ^b	16.11 ± 1.17 ^{a,b}	16.74 ± 0.97 ^b
H*	60.13 ± 5.34 ^a	64.37 ± 3.64 ^{a,b}	68.22 ± 2.48 ^b	67.32 ± 4.35 ^b	66.79 ± 4.90 ^b
ΔE^*	-	4.98 ± 2.10 ^a	6.09 ± 1.18 ^a	6.68 ± 3.10 ^a	5.18 ± 1.97 ^a
pH	5.71 ± 0.01 ^c	5.68 ± 0.01 ^c	5.62 ± 0.01 ^b	5.53 ± 0.05 ^a	5.62 ± 0.00 ^b
aw	0.89 ± 0.0 ^a	0.89 ± 0.0 ^a	0.89 ± 0.0 ^a	0.89 ± 0.0 ^a	0.89 ± 0.0 ^a
	Cooked				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
L*	41.46 ± 5.04 ^a	43.12 ± 6.00 ^a	40.74 ± 4.59 ^a	42.41 ± 4.44 ^a	41.54 ± 4.08 ^a
a*	4.32 ± 1.28 ^a	5.60 ± 1.21 ^b	6.31 ± 1.13 ^b	5.61 ± 1.14 ^b	6.51 ± 0.96 ^b
b*	8.32 ± 3.82 ^a	12.62 ± 2.15 ^b	12.6 ± 2.13 ^b	11.71 ± 2.54 ^b	13.02 ± 1.97 ^b
C*	9.73 ± 3.03 ^a	13.93 ± 1.59 ^b	14.20 ± 1.73 ^b	13.12 ± 2.08 ^b	14.63 ± 1.65 ^b
H	60.12 ± 15.43 ^a	65.36 ± 8.52 ^a	62.86 ± 6.91 ^a	63.42 ± 8.70 ^a	63.03 ± 5.69 ^a
ΔE^*	-	8.40 ± 5.50 ^a	8.57 ± 4.54 ^a	7.62 ± 3.28 ^a	8.03 ± 4.20 ^a
pH	5.95 ± 0.03 ^b	5.87 ± 0.02 ^a	5.83 ± 0.03 ^a	5.83 ± 0.02 ^a	5.86 ± 0.04 ^a
aw	-	-	-	-	-

(a–c) Equal letters on the same row indicate that there is no significant different according to Tukey's HSD post-hoc test ($p > 0.05$). PB: pork backfat; GE: gelled emulsion. - non determined; * BC: control hamburger with a traditional formula (20% PB); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₁ with maca flour and soybean oil; BSMC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₂ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₃ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by GE₄ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil.

In cooked samples, the use of gelled emulsions had a major impact on redness (a*) and yellowness (b*) coordinates, as well as on the psychophysical parameter C*, since an increase ($p < 0.05$) in the values obtained was observed in all samples substituted with gelled emulsion with respect to BC. Several authors have reported that the use of gelled emulsions in diverse meat products can modify all color parameters. All these differences may be due to the different composition and physicochemical properties of oil, as well as the emulsion characteristics and the rest of ingredients used in the preparation of the meat product [11,39,40,42]. With respect to the differences in instrumental color between the control and the other treatments, it was observed that these increased in the cooked burgers in which the pork backfat was substituted with the gelled emulsion, with ΔE values > 3 , meaning that the difference can be perceived by consumers [48].

As can be seen in Table 7, the pH values in the raw burgers ranged from 5.71–5.53; partial substitution decreased the pH compared to the control ($p < 0.05$). On the other hand, due to the heat treatment of cooked burgers, there was an increase in pH, with values ranging between 5.95 and 5.83, and significant differences ($p < 0.05$) between the control and the burgers substituted with gelled emulsion. These results agree with those reported by Lucas-Gonzalez et al. [39]. Furthermore, the substitution of animal fat with several ingredients such as vegetable oils can affect the pH values of reformulated meat products [40,49]. In the case of Aw in raw samples, there were no significant differences ($p > 0.05$) with the substitution of pork backfat with the gelled emulsion. All samples

reached intermediate values of food moisture ($A_w < 0.90$) and several studies show that there are no differences in A_w between raw and cooked burgers [50,51].

3.4. Texture Profile and Cooking Properties

Figure 1 illustrates the influence of various types of gelled emulsion compounds on the texture profile of cooked beef burgers. Regarding the hardness values, significant differences were found in all treatments ($p < 0.05$). The BC formulation presented the highest hardness value; this may be due to the fact that during cooking, the loss of water is related to the generation of hardness, which is apparently influenced by collagen and other myofibrillar proteins [52].

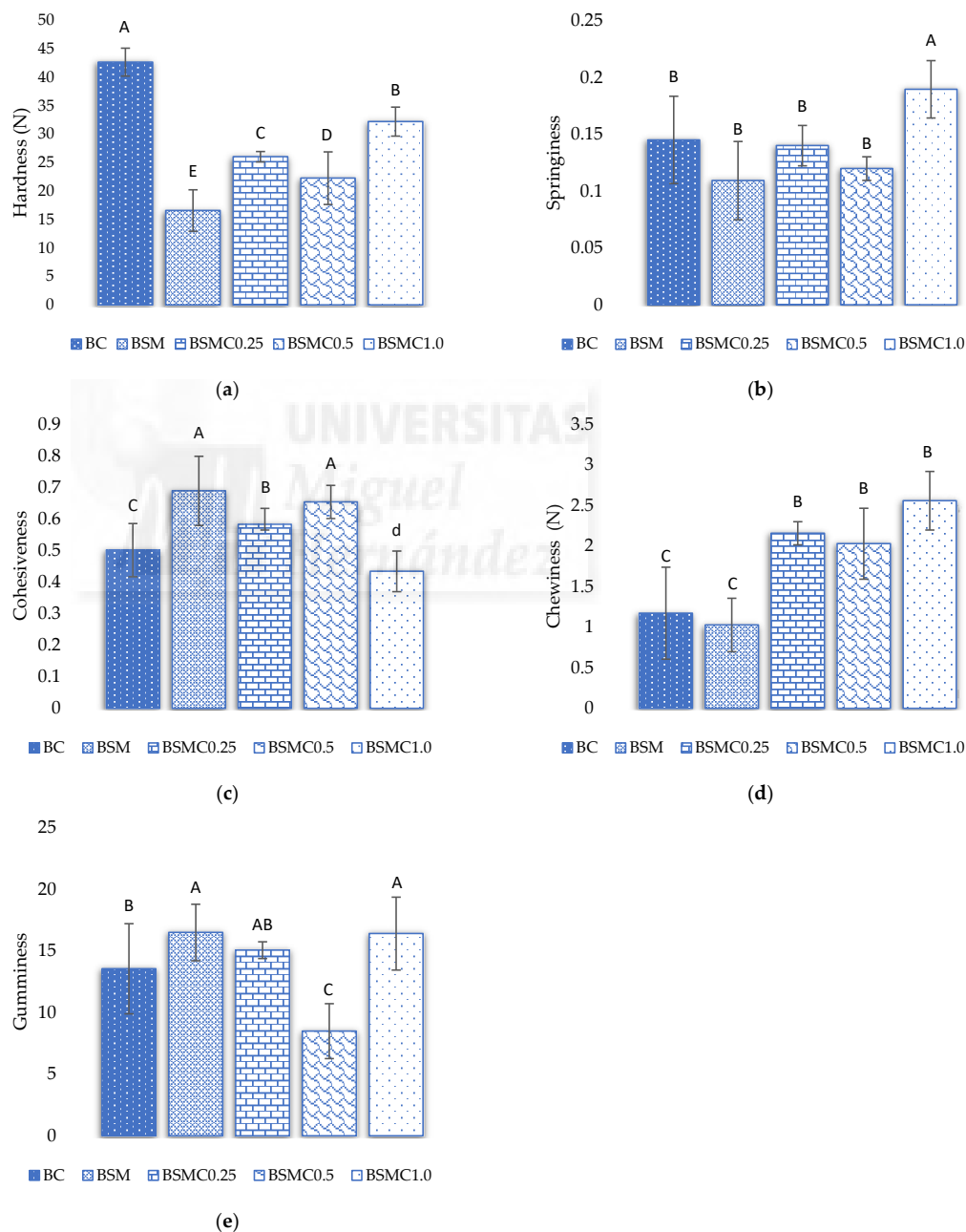


Figure 1. Effect of partial replacement of pork backfat with a gelled emulsion of maca flour, soybean oil, and chincho essential oil on the textural parameters of beef burger. (a): hardness; (b): Springiness;

(c): Cohesiveness; (d): Chewiness; (e): Gumminess. (A-E) Equal capital letters on the same bars indicate that there is no significant difference according to Tukey's HSD post-hoc test ($p > 0.05$). PB: pork backfat; GE: gelled emulsion BC: control hamburger with a traditional formula (20% PB); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₁ with maca flour and soybean oil; BSMC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₂ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₃ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by GE₄ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil.

Regarding springiness, no significant differences were found ($p > 0.05$) with the exception of the BSMC1.0 formulation ($p < 0.05$); these data are similar to those reported by Botella-Martinez et al. [9], who found no significant differences when substituting partial pork backfat with a gelled emulsion of amaranth flour with chia or hemp oil. On the contrary, other studies show that there are significant differences in springiness when reformulating burgers with a gelled emulsion [11,41]. The elasticity values may also be due to protein denaturation, which contributes to the higher elasticity in the gels [10]. The BSM formulation partially substituted with maca flour and soybean oil showed the highest value of cohesiveness and gumminess, but the lowest value of chewiness compared to the other formulations. These values agree with those reported by Barros et al. [11], Foggiaro et al. [40], and Heck et al. [42], who reported that cohesiveness and gumminess values increase with the substitution of pork backfat with the gelled emulsion; furthermore, Ref. [11] mentions that these results do not allow direct knowledge of which effect has the greatest influence on the change of texture when reformulating the burgers.

Regarding cooking properties (Table 8), the results obtained indicate that the beef burger formulations substituted with the gelled emulsion had lower cooking and shrinkage loss percentages compared to the control ($p > 0.05$), with no significant differences between the formulations except for the BSMC0.25 formulation ($p < 0.05$). These results are similar to those reported by Heck et al. [42], in which cooking losses were reduced by up to 60% with a gelled emulsion replacing pork backfat ($p > 0.05$); likewise, Refs. [40,49] reported lower cooking losses when reformulating burgers with basil leaf, thyme oil, pistachio oil, and seaweed oil ($p > 0.05$). On the other hand, our results differ from those reported by [9,28], who found significant differences ($p < 0.05$) when reformulating meat burgers with gelled emulsions. In the case of the thickening property, the formulations substituted with the gelled emulsion showed increased thickening compared to the control except for the BSM sample ($p < 0.05$), which presented the lowest values, probably due to its ingredients.

Table 8. Effect of partial replacement of pork backfat with a gelled emulsion of maca flour, soybean oil, and chincho essential oil on the cooking characteristics of beef burgers.

Technological Parameters (%)	Treatments *				
	BC	BSM	BSMC0.25	BSMC0.5	BSMC1.0
Cooking loss	28.97 ± 2.5 ^b	26.47 ± 0.63 ^{a,b}	23.39 ± 2.22 ^a	27.05 ± 1.41 ^{a,b}	27.46 ± 0.84 ^b
Shrinkage	24.68 ± 2.62 ^b	20.63 ± 2.64 ^{a,b}	18.64 ± 1.35 ^a	19.84 ± 3.09 ^{a,b}	22.09 ± 3.52 ^b
Thickness increase	30.30 ± 3.09 ^{b,c}	15.96 ± 2.37 ^a	48.14 ± 3.20 ^d	42.81 ± 2.31 ^{c,d}	31.66 ± 2.35 ^b

(a–d) Equal letters on the same row indicate that there is no significant difference according to Tukey's HSD post-hoc test ($p > 0.05$). PB: pork backfat; GE: gelled emulsion. * BC: control hamburger with a traditional formula (20% PB); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₁ with maca flour and soybean oil; BSMC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₂ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₃ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by GE₄ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil.

3.5. Oxidative Stability

Lipid oxidation is related to spoilage and off-flavors in processed meat products [20,53]. Changes in the TBAR content of partially substituted raw and cooked beef burgers (Figure 2) indicated that TBAR levels were significantly ($p < 0.05$) affected by gelled emulsion substi-

tution. As expected, MDA content increased after cooking ($p < 0.05$), regardless of the type of treatment.

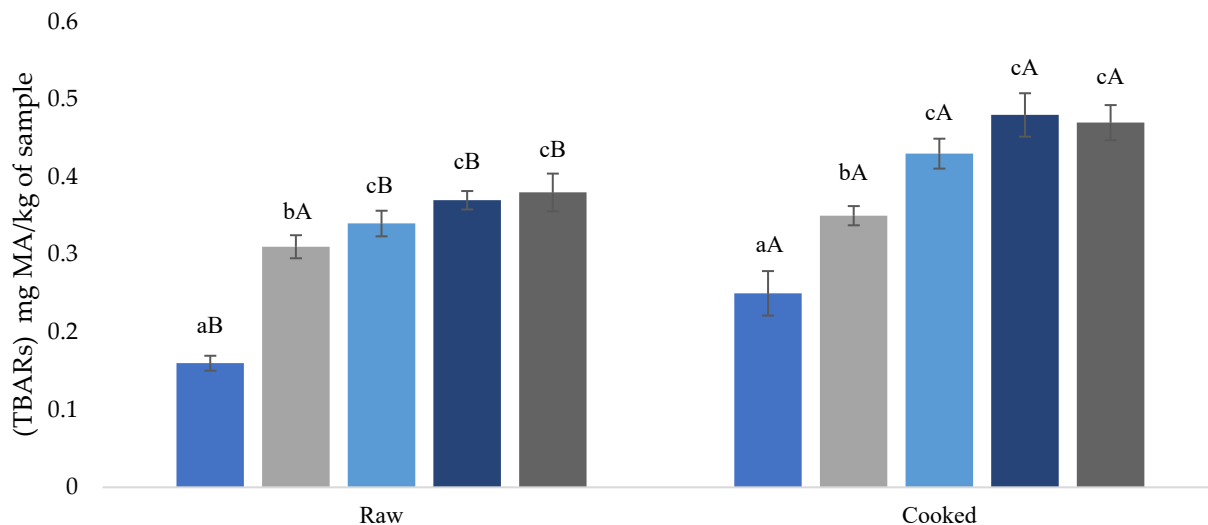


Figure 2. Effect of partial substitution of pork backfat with a gelled emulsion of maca flour, soybean oil, and chincho essential oil on the TBARS values of cooked beef burger. For each thermal treatment (raw or cooked), bars with different small letters indicate the existence of significant differences ($p < 0.05$) among samples (BC, BSM, BSM0.25; BSM0.5, and BSM1.0) according to Tukey's HSD post-hoc test. For each sample (BC, BSM, BSM0.25; BSM0.5, and BSM1.0), bars with different capital letters indicate the existence of significant differences ($p < 0.05$) among thermal treatments (raw or cooked) according to Tukey's HSD post-hoc test. PB: pork backfat; GE: gelled emulsion *BC: control burger with a traditional formula (20% PB); BSM: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₁ with maca flour and soybean oil; BSMC0.25: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₂ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC0.5: burger with 10% PB and 10% substituted by GE₃ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil; BSMC1.0: burger with 10% of PB and 10% substituted by GE₄ with maca flour, soybean oil, and chincho essential oil.

TBAR content had values ranging from 0.16 to 0.38 mg MDA/kg in raw burgers, while in cooked burgers, the range was 0.25 to 0.47 mg MDA/kg. These results agree with those reported by Heck et al. [42], in which TBARS values increase significantly with fat substitution. For their part, Fusaro et al., [21] evaluated oxidative stability in Marchigiana burgers treated with and without a blend of essential oils (*Rosmarinus officinalis* and *Origanum vulgare* var. *hirtum*). These authors reported that lipid oxidation values were higher (0.55 to 0.43 mg MDA/kg) in burgers without addition and with direct addition of oregano and rosemary essential oil. As expected, the samples where the fat was replaced by gelled emulsions elaborated with soybean oil showed higher lipid oxidation values in both raw and cooked samples compared to the control sample. This fact could be explained by soybean oil being associated with low oxidative stability and rancidity due to its high content of polyunsaturated fatty acids [19].

In all raw and cooked formulations, the acceptability limit (2 mg MDA/kg) for quality loss and lipid oxidation perception by consumers as proposed by Greene and Cumuze [54] was not exceeded, while the addition of chincho essential oil in BSMC0.25, BSMC0.5, and BSMC1.0 formulations showed no significant differences ($p > 0.05$) in the addition of oil concentrations. This may be due to the fact that chincho essential oil presents pro-oxidant activity in concentrations of 0.25–1%; this fact agrees with the results reported by Taherian et al. [55], who mentioned that the use of vegetable oils in emulsions is complex due to the sensitivity to oxidation. An alternative is the addition of various essential oils with high contents of phenolic compounds to reduce lipid oxidation [56]; on the other hand, the reduction of lipid oxidation in formulations substituted with gelled emulsions with the use of carregin as a fat substitute has also been demonstrated [57].

4. Conclusions

Replacement of pork backfat with gelled emulsion GE reduced the content of saturated fatty acids (SFA) and increased that of polyunsaturated fatty acids (PUFA) (mainly linoleic acid); in addition, there was a considerable increase in the PUFA/SFA ratio and a decrease of up to 26.53 and 34.45% in the atherogenicity and thrombogenicity indices (BSMC0.5 and BSMC1.0), respectively. The h/H ratio increased to a value of 37% (BSMC1.0).

In addition, the addition of gelled emulsion decreased the amount of fat and protein, and lowered the pH; water activity in raw burgers was not modified. Hardness ($p < 0.05$), cooking losses, shrinkage, and thickness changes decreased with the addition of GE. Lipid oxidation levels were higher in cooked burgers and were significantly affected ($p < 0.05$) by GE substitution.

Therefore, replacing pork backfat with gelled emulsions containing maca flour, soy-bean oil, and chincho essential oil can be considered as an effective strategy to produce healthier burgers without negatively affecting their physicochemical and technological properties.

Author Contributions: Conceptualization, M.V.-M. and J.F.-L.; methodology, C.M.B.-M.; validation, J.A.P.-A.; formal analysis, M.V.-M.; investigation, F.C.-M.; data curation, B.K.S.-R. and J.F.-L.; writing—original draft preparation, F.C.-M.; writing—review and editing, M.V.-M. and J.A.P.-A.; supervision, J.A.P.-A.; funding acquisition, J.F.-L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED: 119RT0568.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author.

Acknowledgments: The authors are grateful for the financial support of the CONCYTEC project World Bank through its executing unit FONDECYT (Contract No. 70-2018-Fondecyt-BM-IADT-AV)." F. Cerrón-Mercado reconoce la beca del proyecto Concytec-Banco Mundial (Convenio de Adjudicación de Fondos N° 02-2018-FONDECYT-BM), a través de su unidad ejecutora, Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (Fondecyt).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. Vahmani, P.; Ponnampalam, E.N.; Kraft, J.; Mapiye, C.; Bermingham, E.N.; Watkins, P.J.; Proctor, S.D.; Dugan, M.E.R. Bioactivity and health effects of ruminant meat lipids. Invited Review. *Meat Sci.* **2020**, *165*, 108114. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Niforou, A.; Magriplis, E.; Klinaki, E.; Niforou, K.; Naska, A. On account of trans fatty acids and cardiovascular disease risk—there is still a need to upgrade the knowledge and educate consumers. *Nut. Met Card. Dis.* **2022**, *32*, 1811–1818. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Kumar, Y. Development of low-fat/reduced-fat processed meat products using fat replacers and analogues. *Food Rev. Int.* **2019**, *37*, 296–312. [[CrossRef](#)]
4. Sogari, G.; Li, J.; Wang, Q.; Lefebvre, M.; Huang, S.; Mora, C.; Gómez, M.I. Toward a reduced meat diet: University North American students' acceptance of a blended meat-mushroom burger. *Meat Sci.* **2022**, *187*, 108745. [[CrossRef](#)]
5. Rabadán, A.; Álvarez-Ortí, M.; Martínez, E.; Pardo-Giménez, A.; Zied, D.C.; Pardo, J.E. Effect of replacing traditional ingredients for oils and flours from nuts and seeds on the characteristics and consumer preferences of lamb meat burgers. *LWT-Food Sci. Technol.* **2021**, *136*, 110307. [[CrossRef](#)]
6. Panda, C.; Varadharaj, S.; Voruganti, V.S. PUFA, genotypes and risk for cardiovascular disease. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* **2022**, *176*, 102377. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Djuricic, I.; Calder, P.C. Beneficial outcomes of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on human health: An update for 2021. *Nutrients* **2021**, *13*, 2421. [[CrossRef](#)]
8. Herrero, A.M.; Ruiz-Capillas, C. Novel lipid materials based on gelling procedures as fat analogues in the development of healthier meat products. *Cur. Op. Food Sci.* **2021**, *39*, 1–6. [[CrossRef](#)]

9. Botella-Martínez, C.; Gea-Quesada, A.; Sayas-Barberá, E.; Pérez-Álvarez, J.A.; Fernández-López, J.; Viuda-Martos, M. Improving the lipid profile of beef burgers added with chia oil (*Salvia hispanica* L.) or hemp oil (*Cannabis sativa* L.) gelled emulsions as partial animal fat replacers. *LWT-Food Sci. Technol.* **2022**, *161*, 113416. [[CrossRef](#)]
10. Essa, R.Y.; Elsebaie, E.M. New fat replacement agent comprised of gelatin and soluble dietary fibers derived from date seed powder in beef burger preparation. *LWT-Food Sci. Technol.* **2022**, *156*, 113051. [[CrossRef](#)]
11. Barros, J.C.; Munekata, P.E.S.; de Carvalho, F.A.L.; Domínguez, R.; Trindade, M.A.; Pateiro, M.; Lorenzo, J.M. Healthy beef burgers: Effect of animal fat replacement by algal and wheat germ oil emulsions. *Meat Sci.* **2021**, *173*, 108396. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Ren, Y.; Huang, L.; Zhang, Y.; Li, H.; Zhao, D.; Cao, J.; Liu, X. application of emulsion gels as fat substitutes in meat products. *Foods* **2022**, *11*, 1950. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Chang, L.; Koo, C. Development of low-fat sausages using basil seed gum (*Ocimum bacilicum* L.) and gelatin as a fat replacer. *Inter. J. Food Sci. Technol.* **2017**, *52*, 733–740. [[CrossRef](#)]
14. Yun-Sang, C.; Kwaon-Sik, P.; Hyun-Wook, K.; Ko-Eun, H.; Dong-Heon, S.; Min-Sung, C.; Soo-Yeon, L.; Hyun-Dong, P.; Cheon-Jei, K. Quality characteristics of reduced-fat frankfurters with pork fat replaced by sunflower seed oils and dietary fiber extracted from makgeolli lees. *Meat Sci.* **2013**, *93*, 652–658. [[CrossRef](#)]
15. Carvalho, F.; Fonseca, L.; Diogenes, V.; Costa, S.; Leonardo Zambotti, L.; Colepicolo, P.; Ferraz, C.; Ribeiro, P. Combination of a multiplatform metabolite profiling approach and chemometrics as a powerful strategy to identify bioactive metabolites in *Lepidium meyenii* (Peruvian maca). *Food Chem.* **2021**, *364*, 130453. [[CrossRef](#)]
16. Zhang, L.; Li, G.; Wang, S.; Yao, W.; Zhu, F. Physicochemical properties of maca starch. *Food Chem.* **2017**, *218*, 56–63. [[CrossRef](#)]
17. Wang, S.; Zhu, F. Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem.* **2019**, *288*, 422–443. [[CrossRef](#)]
18. Fisk, I.D.; Gray, D.A. Soybean (*Glycine max*) oil bodies and their associated phytochemicals. *J. Food Sci.* **2011**, *76*, 1349–1354. [[CrossRef](#)]
19. Olagunju, I.; Adelakun, S.; Olawoyin, S. The effect of rice bran extract on the quality indices, physicochemical properties and oxidative stability of soybean oil blended with various oils. *Meas. Food* **2022**, *6*, 100032. [[CrossRef](#)]
20. Domínguez, R.; Pateiro, M.; Gagaoua, M.; Barba, F.; Zhang, W.; Lorenzo, J. A Comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants* **2019**, *8*, 429. [[CrossRef](#)]
21. Fusaro, I.; Cavallini, D.; Giammarco, M.; Serio, A.; Mammi, L.M.E.; De Matos Vettori, J.; Lanzoni, L.; Formigoni, A.; Vignola, G. Effect of diet and essential oils on the fatty acid composition, oxidative stability and microbiological profile of marchigiana burgers. *Antioxidants* **2022**, *11*, 827. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Walia, S.; Kumar, R. Wild marigold (*Tagetes minuta* L.) an important industrial aromatic crop: Liquid gold from the Himalaya. *J. Essent. Oil Res.* **2020**, *32*, 373–393. [[CrossRef](#)]
23. De Oliveira, D.; Abib, P.; Giacomini, R.; Lenardão, E.; Schiedeck, G.; Wilhelm, E.; Luchese, C.; Savegnago, L.; Jacob, R. Antioxidant and antifungal activities of the flowers' essential oil of *Tagetes minuta*, (Z)-tagetone and thiotagetone. *J. Essent. Oil Res.* **2018**, *31*, 160–169. [[CrossRef](#)]
24. Singh, P.; Krishna, A.; Kumar, V.; Krishna, S.; Singh, K.; Gupta, M.; Singh, S. Química y biología de cultivos industriales *Tagetes Species*: Una revisión. *J. Essent. Oil Res.* **2015**, *28*, 1–14. [[CrossRef](#)]
25. Loockerman, D.; Turner, B.; Jansen, R. phylogenetic relationships within the Tageteae (Asteraceae) based on nuclear ribosomal and chloroplast *ndhF* gene sequences. *Sys. Bot.* **2003**, *28*, 191–207. [[CrossRef](#)]
26. Gonzales, M.; Baldeón, S.; Beltrán, H.; Julian, V.; Bourdy, G. Hot and cold: Medicinal plant uses in Quechua speaking communities in the high Andes (Callejón de Huaylas, Ancash, Perú). *J. Ethnopharmacol.* **2014**, *155*, 1093–1117. [[CrossRef](#)]
27. Salehi, B.; Valussi, M.; Morais-Braga, M.; Carneiro, J.; Leal, A.; Coutinho, H.; Vitalini, S.; Kregiel, D.; Antolak, H.; Sharifi-Rad, M.; et al. *Tagetes* spp. Essential oils and other extracts: Chemical characterization and biological activity. *Molecules* **2018**, *23*, 2847. [[CrossRef](#)]
28. Botella-Martínez, C.; Lucas-González, R.; Lorenzo, J.M.; Santos, E.M.; Rosmini, M.; Sepúlveda, N.; Teixeira, A.; Sayas-Barberá, E.; Pérez-Álvarez, J.A.; Fernández-López, J.; et al. Cocoa coproducts-based and walnut oil gelled emulsion as animal fat replacer and healthy bioactive source in beef burgers. *Foods* **2021**, *10*, 2706. [[CrossRef](#)]
29. AOAC. *2000 AOAC Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17th ed.; International, A., Ed.; AOAC International: Gaithersburg, MD, USA, 2000; Volume 1.
30. Folch, J.; Lees, M.; Stanley, G.S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **1957**, *226*, 497–509. [[CrossRef](#)]
31. Golay, P.A.; Moulin, J. Determination of labeled fatty acids content in milk products, infant formula, and adult/pediatric nutritional formula by capillary gas chromatography: Collaborative study, Final Action 2012.13. *J. AOAC Int.* **2016**, *99*, 210–222. [[CrossRef](#)]
32. Pellegrini, M.; Lucas-Gonzales, R.; Ricci, A.; Fontecha, J.; Fernández-López, J.; Pérez-Álvarez, J.A.; Viuda-Martos, M. Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Ind. Crop Prod.* **2018**, *111*, 38–46. [[CrossRef](#)]
33. Ulbricht, T.L.V.; Southgate, D.A.T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet* **1991**, *338*, 985–992. [[CrossRef](#)]
34. AMSA. *Meat Color Measurement Guidelines*; Association AMS: Champaign, IL, USA, 2012.
35. Sánchez, E.; Fuentes, E.; Navarro, C.; Sayas, E.; Sendra, E.; Fernández, J.; Pérez, J.A. Effects of tuna pâté thickness and background on CIEL*a*b* color parameters and reflectance spectra. *Food Control.* **2011**, *22*, 1226–1232. [[CrossRef](#)]

36. Cassens, R.G.; Demeyer, D.; Eilelembom, G.; Honikel, K.O.; Johansson, G.T.; Nielsen, T.; Renerre, M.; Richardson, I.; Sakata, R. Recommendations of reference methods for assessment of meat colour. In Proceedings of the 41st International Congress of Meat Science and Technology, San Antonio, TX, USA, 20–25 August 1995.
37. Claus, J.R. Methods for the objective measurement of meat product texture. In Proceedings of the 48th Reciprocal Meat Conference, San Antonio, TX, USA, 20–25 August 1995; pp. 96–101.
38. Rosmini, M.R.; Perlo, F.; Perez-Alvarez, J.A.; Pagan-Moreno, M.J.; Gago-Gago, M.A.; Lopez-Santoveña, F.; Aranda-Catala, V. TBA test by extractive method applied to pate. *Meat Sci.* **1996**, *42*, 103–110. [[CrossRef](#)]
39. Lucas-Gonzalez, R.; Roldán, A.; Sayas-Barberá, E.; Fernández-López, J.; Pérez-Alvarez, J.A.; Viuda-Martos, M. Assessment of emulsion gels formulated with chestnut (*Castanea sativa* M.) flour and chia (*Salvia hispanica* L) oil as partial fat replacers in pork burger formulation. *J. Sci. Food Agric.* **2020**, *100*, 1265–1273. [[CrossRef](#)]
40. Foggiano, D.; Domínguez, R.; Pateiro, M.; Cittadini, A.; Munekata, P.E.S.; Campagnol, P.C.B.; Fraqueza, M.J.; De Palo, P.; Lorenzo, J.M. Use of healthy emulsion hydrogels to improve the quality of pork burgers. *Foods* **2022**, *11*, 596. [[CrossRef](#)]
41. De Carvalho, F.A.L.; Munekata, P.E.S.; Pateiro, M.; Campagnol, P.C.B.; Domínguez, R.; Trindade, M.A.; Lorenzo, J.M. Effect of replacing backfat with vegetable oils during the shelf-life of cooked lamb sausages. *LWT-Food Sci. Technol.* **2020**, *122*, 109052. [[CrossRef](#)]
42. Heck, R.; Saldaña, R.; Lorenzo, J.; Pereira, L.; Bittencourt, M.; Cichoski, A.; Ragagnin, C.; Wagner, R.; Bastianello, P. Hydrogelled emulsion from chia and linseed oils: A promising strategy to produce low-fat burgers with a healthier lipid profile. *Meat Sci.* **2019**, *156*, 174–182. [[CrossRef](#)]
43. Selani, M.M.; Shirado, G.A.N.; Margiotta, G.B.; Rasera, M.L.; Marabesi, A.C.; Piedade, S.M.S.; Contreras-Castillo, C.J.; Canniatti-Brazaca, S.G. Pineapple by-product and canola oil as partial fat replacers in low-fat beef burger: Effects on oxidative stability, cholesterol content and fatty acid profile. *Meat Sci.* **2016**, *115*, 9–15. [[CrossRef](#)]
44. Szpicer, A.; Onopiuk, A.; Póltorak, A.; Wierzbicka, A. Influence of tallow replacement by oat β -glucan and canola oil on the fatty acid and volatile compound profiles of low-fat beef burgers. *CYTA-J. Food* **2019**, *17*, 926–936. [[CrossRef](#)]
45. European Parliament. Regulation 1924/2006 of the European Parliament and of the 535 council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *Off. J. Eur. Union* **2006**, *L12*, 3–8.
46. Wood, J.G.; Rogina, B.; Lavu, S.; Ilowitz, K.; Helfand, S.L.; Tatar, M.; Sinclair, D. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* **2004**, *430*, 686–689. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Ouraji, H.; Shabanpur, B.; Kenari, A.A.; Shabani, A.; Nezami, S.; Sudagar, M.; Faghani, S. Total lipid, fatty acid composition and lipid oxidation of Indian white shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) fed diets containing different lipid sources. *J. Sci. Food Agric.* **2009**, *89*, 993–997. [[CrossRef](#)]
48. Martínez, J.A.; Melgosa, M.; Pérez, M.M.; Hita, E.; Negueruela, A.I. Note. Visual and Instrumental Color Evaluation in Red Wines. *Food Sci. Technol. Int.* **2001**, *7*, 439–444. [[CrossRef](#)]
49. Albergamo, A.; Vadalà, R.; Metro, D.; Nava, V.; Bartolomeo, G.; Rando, R.; Macri, A.; Messina, L.; Gualtieri, R.; Colombo, N.; et al. Physicochemical, nutritional, microbiological, and sensory qualities of chicken burgers reformulated with Mediterranean plant ingredients and health-promoting compounds. *Foods* **2021**, *10*, 2129. [[CrossRef](#)]
50. França, F.; Harada-Padermo, S.; Frasceto, R.; Saldaña, E.; Lorenzo, J.; Ferreira de Souza, T.; Selani, M. Umami ingredient from shiitake (*Lentinula edodes*) by-products as a flavor enhancer in low-salt beef burgers: Effects on physicochemical and technological properties. *LWT-Food Sci. Technol.* **2022**, *154*, 112724. [[CrossRef](#)]
51. López, J.; Fernández, J.; Pérez, J.A.; Viuda, M. Quality characteristics of pork burger added with albedo-fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. flavicarpa) co-products. *Meat Sci.* **2014**, *97*, 270–276. [[CrossRef](#)]
52. Hughes, J.M.; Oiseth, S.K.; Purslow, P.P.; Warner, R.D. A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Sci.* **2014**, *98*, 520–532. [[CrossRef](#)]
53. Tatiyaborworntham, N.; Oz, F.; Richards, M.; Wu, H. Paradoxical effects of lipolysis on the lipid oxidation in meat and meat products. *Food Chem. X* **2022**, *14*, 100317. [[CrossRef](#)]
54. Greene, B.E.; Cumuze, T.H. Relationship between TBA numbers and inexperienced panelists' assessments of oxidized flavor in cooked beef. *J. Food Sci.* **1982**, *47*, 52–54. [[CrossRef](#)]
55. Taherian, A.; Britten, M.; Sabik, H.; Fustier, P. Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion. *Food Hydrocol.* **2011**, *25*, 868–878. [[CrossRef](#)]
56. Jonušaitė, K.; Venskutonis, P.R.; Martínez, G.B.; Taboada, A.; Nieto, G.; López, A.; Marín, F. Antioxidant and antimicrobial effect of plant essential oils and *Sambucus nigra* extract in salmon burgers. *Foods* **2021**, *10*, 776. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Poyato, C.; Astiasarán, I.; Barriuso, B.; Ansorena, D. A new polyunsaturated gelled emulsion as replacer of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and sensory acceptability. *LWT-Food Sci. Technol.* **2015**, *62*, 1069–1075. [[CrossRef](#)]