

Del 2 al 5 de mayo de 2023

CENTRO UNIVERSITARIO
SANTA ANA
ALMENDRALEJO



Joaquín Sorolla Bastida. Comiendo uvas, 1898. Acualera sobre papel. Museo Sorolla, n° inv. 00427

XLV JORNADAS
DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
TIERRA DE BARROS
V CONGRESO AGROALIMENTARIO
DE EXTREMADURA

XLV JORNADAS DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
DE LA TIERRA DE BARROS
V CONGRESO AGROALIMENTARIO DE EXTREMADURA

Edita:

Centro Universitario Santa Ana
C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2
Almendralejo
Tel. 924 661 689
<http://www.univsantana.com>

Colabora: Cajalmendralejo

Ilustración de portada:

Joaquín Sorolla Bastida. "Comiendo uvas". 1898. Acuarela sobre papel.
Museo Sorolla. n: inv. 00427. © Fundación Museo Sorolla

Diseño original:

Tecnigraf S.A.

Maquetación: María Sabater

ISBN: 84-7930-113-9

D.L.: BA-000169-2024

Imprime: Impresal

Valorización de subproductos de ciruela y pimiento para la conservación de productos cárnicos frescos

SÁNCHEZ ORDÓÑEZ, M.

CABEZA DE VACA, M.

ROCHA PIMIENTA, J.

GARCÍA PARRA, P.

DELGADO ADÁMEZ, P.

RAMÍREZ BERNABÉ, R.

Instituto Agroalimentario (INTAEX).
Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CICYTEX)

RESUMEN

El objetivo de este estudio es evaluar la utilización de frutos de destrío para incluirlos como ingredientes para la facilitar la conservación de productos cárnicos frescos (en este caso se ha evaluado una hamburguesa como matriz modelo).

Para ello se utilizó la tecnología de altas presiones hidrostáticas (HHP), que permitiría estabilizar a nivel microbiológico y enzimático el producto y mantener los niveles de compuestos bioactivos.

En el caso de la ciruela, se necesitó un escaldado previo (80° C/1 min) a la aplicación de HHP para inactivar la enzima polifenoloxidas (PPO). Por el contrario, la actividad

enzimática del pimiento fue muy baja y se optó por no escaldar el producto antes de aplicar HHP. El procesado HHP fue efectivo para reducir la carga microbiana en ambos productos al tiempo que mantuvo los compuestos bioactivos tras el procesado. Finalmente, para evaluar el grado de aceptación de ambos ingredientes se realizó un análisis sensorial de hamburguesas con diferentes niveles de ciruela y pimiento (0-10%). Tuvo mayor aceptabilidad la inclusión de elevados niveles de pimiento que de ciruela. En el caso de hamburguesas con pimiento, la adicción del 10% tuvo mejor valoración, en cambio en las hamburguesas con ciruela, tuvo mejor valoración el nivel intermedio (3%). Por tanto, el sistema de valorización empleado en ambos productos podría ser adecuado para la conservación de productos cárnicos frescos como las hamburguesas.

Palabras clave: Altas presiones hidrostáticas (HHP), escaldado, actividad enzimática, ciruela, pimiento, hamburguesa, análisis sensorial.

SUMMARY

The aim of this study is to evaluate the use of reject fruits to be included as ingredients to facilitate the preservation of fresh meat products (in this case a hamburger was evaluated as a model matrix).

For this purpose, high hydrostatic pressure (HHP) technology was used, which would stabilise the product at microbiological and enzymatic levels and maintain the levels of bioactive compounds.

In the case of plums, a thermal blanching (80 °C/1 min) before applying the HHP was necessary to inactivate the polyphenol oxidase enzyme (PPO). In contrast, the enzyme activity of pepper was very low, and it was decided not to blanch the product before applying HHP. HHP processing was effective in reducing the microbial load in both products while maintaining the bioactive compounds after treatment. Finally, to evaluate the acceptability of both ingredients, a sensory analysis of burgers with different levels of plum and pepper (0-10%) was performed. The inclusion of high levels of pepper was more acceptable than plum. In the case of burgers with pepper, the addition of 10% was more acceptable, while in the case of burgers with plum, the intermediate level (3%) was more acceptable. Therefore, the valorisation system used

in both products could be suitable for the preservation of fresh meat products such as hamburgers.

Keywords: High hydrostatic pressure (HHP), thermal blanching, enzyme activity, red plum, red pepper, burger, sensory analysis.

1. INTRODUCCIÓN

La bioeconomía y economía circular tiene como principio la gestión sostenible de los recursos disponibles y aprovechamiento máximo de los mismos. En el sector agroalimentario, se está aplicando cada vez más medidas para aprovechar y valorizar los subproductos generados. Asimismo, este aprovechamiento crea nuevas fuentes de riqueza que aportan una mayor rentabilidad económica al proceso industrial de partida (Fernández Ginés *et al.*, 2008).

Actualmente, el sector frutícola tiene gran importancia en la economía de Extremadura, con un área de cultivo de alrededor de 11.000 ha, siendo la producción de ciruela la que ocupa alrededor de un 50% en la producción de frutas extremeñas. La producción de pimiento rojo está principalmente en Extremadura, en particular, en la zona de La Vera, ya que se utiliza para la obtención de pimentón.

En este estudio se abordará la obtención de ingredientes naturales a partir de subproductos hortofrutícolas, en concreto de frutos como la ciruela de piel y pulpa roja (*Prunus salicina*) y el pimiento rojo (*Capsicum annuum*). Todas estas aplicaciones tienen como objetivo solucionar demandas de la industria cárnica que necesitan la incorporación de ingredientes para la conservación de sus productos. De modo que, se sustituirán los aditivos químicos por antioxidantes y antimicrobianos de origen natural. La tecnología de altas presiones hidrostáticas permite inactivar microorganismos y enzimas permitiendo prolongar la vida útil de los productos vegetales sin reducir los niveles de compuestos bioactivos. Estudios publicados (Castro *et al.*, 2011; García-Parra *et al.*, 2014) también utilizan las HHP en productos vegetales como ciruela y pimiento, y muestran cómo pueden preservar mejor sus compuestos bioactivos en comparación con otros tratamientos térmicos tradicionales. En el caso de la valorización de subproductos, esta tecnología permite la estabilización microbiológica y fisicoquímica para

un aprovechamiento integral de los mismos favoreciendo la obtención de productos cárnicos más saludables y que responde a las demandas de los consumidores.

El objetivo de este estudio fue optimizar las condiciones de procesado para estabilizar los subproductos de ciruela y pimiento e incorporarlo a productos cárnicos frescos, como las hamburguesas, para obtener alimentos que den respuestas a las necesidades de consumidores y empresas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Diseño experimental

2.1.1 Elaboración de purés de frutos

Los frutos de ciruela (var. Crimson Globe) y pimiento rojo (var. Franchi) utilizados, fueron proporcionados por una empresa local y no cumplían las condiciones de calibre para su comercialización. Los frutos fueron lavados con hipoclorito sódico diluido (150 ppm) y triturados hasta obtener un puré fino en un equipo de molienda por cuchilla con termobatido. El escaldado se realizó calentando el puré durante el proceso de triturado hasta alcanzar la temperatura adecuada. La temperatura fue controlada mediante una sonda externa al equipo. Previamente a la aplicación del tratamiento de alta presión los purés se envasaron en bolsas termoselladas. El tratamiento se aplicó en un equipo de Hiperbaric Wave 6000/55 a 600 MPa durante 5 min y a una temperatura de 10 °C de comanda. Los análisis en ciruela y pimiento se ensayaron utilizando 3 muestras independientes evaluadas por triplicado por cada tratamiento ensayado.

2.1.2 Elaboración de hamburguesas

Las hamburguesas se elaboraron con carne picada de cerdo y se les incorporaron sal y especias (0.05% de pimienta negra, 0.075% de pimienta blanca, 0.15% de ajo, 0.15% de cebolla y 1.3 % de sal). A continuación, se añadieron diferentes niveles de los ingredientes de ciruela y pimiento para poder conocer los límites máximos de aceptación de estos por

parte del consumidor. Se elaboraron hamburguesas como sistemas modelos para valorar la inclusión de los ingredientes en la elaboración de productos cárnicos frescos.

Una vez todo mezclado y homogeneizado se prepararon las hamburguesas de aproximadamente 100 g utilizando un molde específico para su elaboración. Se elaboraron 3 hamburguesas por lote (0,5%, 1%, 3%, 5%, 7% y 10% tanto para ciruela como para pimiento)

2.2 Métodos de análisis

2.2.1 Composición físico-química

Las proteínas y humedad fueron determinadas acordes a AOAC (2016). El pH fue evaluado con el pH-metro Crison pH 25+ (Crison, Barcelona, Spain). El contenido en fibra fue determinado acorde al método modificado Southgate (Villanueva & Barragán, 1985).

2.2.2 Actividad enzimática de la enzima polifenoloxidasas

El análisis de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas en los ingredientes de pimiento y ciruela se llevó a cabo según lo descrito por Terefe *et al.*, (2010) con algunas modificaciones. La absorbancia se midió a 420 nm y 25 °C durante 3 minutos en un espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific Evolution 201 (Thermo Scientific™, Fisher Scientific SL, Madrid, España), en modelo cinético. La actividad de la enzima se expresó en porcentaje de actividad con respecto a las muestras control. Para optimizar el tratamiento de escaldado en la ciruela se aplicaron diferentes temperaturas (70, 80, 90 °C) durante distintos tiempos (1, 3, 5 min). Se utilizó un baño termostático. El control de la temperatura de escaldado en los purés se realizó mediante el uso de sondas independientes. En el pimiento no se aplicaron tratamientos de escaldado porque se detectó una actividad de la enzima muy baja.

2.2.3 Contenido de compuestos fenólicos totales

La concentración de compuestos fenólicos totales se determinó mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Lima *et al.*, 2005). Se utilizó

ácido gálico para la generación de una curva estándar y los resultados se expresaron como miligramos de equivalente de ácido gálico (GAE) por 100 gramos de peso de muestra en base húmeda.

2.2.4 Análisis microbiológico

Se pesaron asépticamente 10 g de muestra y se homogeneizaron con 90 ml de agua de peptona estéril en una batidora de laboratorio (Stomacher R_ 400 Circulator) durante 1 min. Se prepararon diluciones decimales seriadas en agua de peptona estéril y se extendió 1 ml de cada muestra en un medio de cultivo adecuado. Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas se realizaron en un agar estándar para recuento en placa (Merck, 1.07881), y las placas se incubaron a 30 °C durante 72h. Los recuentos de psicrófilos se determinaron en agar para recuento en placa (Merck, 1.07881) tras incubación a 6 °C durante 10 días. Los coliformes totales se incubaron a 37 °C durante 24-48 h en medio de cultivo Chromocult Agar (Merck, 1.10426). Los mohos y levaduras se incubaron a 25 °C durante 4-5 días en Yeast Extract Agar. Los resultados se expresaron como Log_{10} UFC (unidades formadoras de colonias) g^{-1} . El límite de detección de las técnicas mencionadas fue de 10 UFC g^{-1} .

2.2.5 Análisis sensorial de hamburguesas

El análisis sensorial se llevó a cabo mediante un panel de 8 catadores, para valorar el porcentaje de pimienta/ciruela máxima que se le podía añadir a las hamburguesas sin que fuera desagradable.

Las hamburguesas se cocinaron en una plancha, controlando la temperatura con un sensor independiente, procurando no superar la temperatura de 75 °C en el centro para controlar que el proceso sea reproducible y para conservar su máxima jugosidad.

A cada catador se le presentó una porción de hamburguesa de cada lote en un plato. También se les proporcionó agua y pan para evitar interferencias en la valoración entre muestra y muestra. En la hoja de cata se analizaron 6 descriptores (aspecto general, olor, sabor, textura, sabor desagradable y valoración global). para conocer la valoración hedónica de cada una de las muestras presentadas. Igualmente, también se realizó una valoración global de cada muestra evaluada.

3. RESULTADO Y DISCUSIÓN

3.1 Composición físico-química de los purés de pimiento y ciruela

En la Tabla 1 se muestra la composición físico-química de los frutos de pimiento y ciruela utilizados en este estudio. Todos los parámetros que determinaron la composición de los ingredientes (ciruela y pimiento) fueron significativos. Con relación al pH, aparecen diferencias significativas, ya que la ciruela es un producto más ácido (pH 3,4) y el pimiento se acerca a un pH más neutro (pH 5,2). En ambos frutos el componente mayoritario es el agua, siendo el % de humedad más alto en el pimiento (91,4%) que en la ciruela (88,1%). Además, presentan un bajo contenido en proteína (ciruela 0,5% y pimiento 1,1%) y de fibra total (ciruela 1,5% y pimiento 1,9%). La fibra es un componente de gran importancia a nivel nutricional puesto que la carencia en la dieta provocaría enfermedades como obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc. Además, presenta beneficios en las propiedades funcionales tecnológicas de los alimentos, mejorando las características organolépticas (Chamorro & Mamani, 2010).

3.2 Inactivación de la enzima polifenoloxidasas en ciruela.

La enzima polifenoloxidasas (PPO) se encuentra en productos vegetales y ocasiona el pardeamiento de estos, lo que da lugar a la disminución de las propiedades organolépticas y nutricionales. La PPO cataliza el paso inicial de la oxidación de o-fenoles a o-quinonas, los cuales sufrirán más adelante polimerización para producir pigmentos insolubles reconocidos como melaninas responsables del color pardo oscuro (Gil & Rojano, 2012). Este pardeamiento ocurre durante el almacenamiento y manipulación, donde la enzima puede llegar a ser liberada y puesta en contacto con el sustrato (Gasull & Becerra, 2006).

Basándonos en los resultados de estudios anteriores, se decidió optimizar las condiciones de inactivación de la PPO en ciruela antes de aplicar el tratamiento de HHP, puesto que en el caso de la ciruela la enzima es muy resistente a los tratamientos por alta presión hidrostática. Por ello, se realizó un ensayo aplicando diferentes condiciones para establecer las condiciones óptimas de escaldado: temperaturas (70, 80, 90 °C) y tiempos (1, 3, 5 min). La actividad de PPO (%) mostró una tendencia a disminuir a medida que la

temperatura aumentó, con valores de 105% en el tratamiento más leve (70 °C/ 1min) hasta alcanzar valores de -1% de actividad de PPO a partir del tratamiento de 80 °C durante 1 minuto (Figura 1).

En el caso del pimiento al analizar la actividad de la PPO se observó que ésta tenía una actividad residual, por ello se planteó que en este caso no era necesario realizar un escaldado previo a la aplicación del tratamiento de alta presión.

3.3 Efecto del procesado mediante altas presiones hidrostáticas en los frutos: ciruela y pimiento.

Tanto en la ciruela como en el pimiento se aplicó un tratamiento de HHP de 600 MPa durante 5 min para conseguir un ingrediente seguro desde el punto de vista microbiológico. En el caso de la ciruela el tratamiento HHP se aplicó al producto triturado y escaldado en las condiciones óptimas (apartado anterior). En el pimiento el tratamiento se aplicó en el producto triturado sin escaldar.

Los recuentos en el caso de la ciruela fueron muy bajos, principalmente al proceso previo de escaldado, además del bajo pH del producto, que evita el crecimiento microbiano; por este motivo el efecto del procesado por HHP no presentó diferencias significativas en el recuento de *psicrófilos*, *coliformes* y *mohos y levaduras*. por este motivo el efecto del procesado por HHP es poco significativo. En cambio, el tratamiento por HHP fue altamente significativo (*p-value* 0,007) a la hora de reducir la carga microbiana inicial de *mesófilos*.

En cuanto al puré de pimiento, se observan diferencias significativas en todos los recuentos de microorganismos, de modo que, una vez tratado con HHP disminuyeron los recuentos tanto de mesófilos, psicrófilos, mohos y levaduras. Por tanto, con el tratamiento de alta presión lograríamos tener un producto estable desde el punto de vista microbiológico. Este tratamiento, al ser presiones de 600 MPa, fue más efectivo respecto a lo estudiado (Castro *et al.*, 2008) que mostraron como los tratamientos de alta presión a 100 y 200 MPa (10 y 20 minutos) no fueron suficientes para reducir la carga microbiana en pimiento rojo, con respecto a tratamientos térmicos convencionales.

3.4 Fenoles totales

En la tabla 3 se observa el cambio en el contenido fenólico en ciruela escaldada (80 °C/1min) y pimienta, antes de tratarlos con HHP y una vez tratadas con HHP (600 MPa/5 min).

Nuestros resultados muestran que las altas presiones a 600 MPa durante 5 minutos mantuvieron el contenido fenólico en ciruela escaldada, de modo que no se observan diferencias significativas tras el tratamiento. González-Cebrino *et al.*, 2012 también mostraron como las altas presiones a 600 MPa era el tratamiento más efectivo para mantener los niveles de fenoles totales en varios purés de ciruela.

En cuanto al pimienta sí que se observan diferencias significativas en el contenido de fenoles antes de HHP y una vez tratado. Aunque el valor de los fenoles totales en el pimienta tratado por altas presiones hidrostáticas disminuye significativamente, el valor tras el tratamiento sigue siendo elevado y suficiente como para utilizarse como ingrediente en la elaboración de hamburguesas.

3.5 Análisis sensorial en hamburguesas de cerdo elaboradas con diferentes niveles de los ingredientes obtenidos

Todos los lotes de hamburguesas elaboradas con pimienta mostraron una elevada aceptabilidad con puntuaciones por encima del valor 7. Sin embargo, en el caso de la ciruela sus valoraciones fueron, en general inferiores.

El análisis sensorial realizado mostró que las hamburguesas con pimienta presentaron una gran aceptabilidad incluso cuando se incorporó el ingrediente hasta un 10% (Figura 2). En cambio, en hamburguesas con ciruela, el nivel de aceptación fue mayor con porcentajes bajos del ingrediente, como sería un 1% o 3% (Figura 3).

4. CONCLUSIONES

En ciruela, el tratamiento óptimo de escaldado sería a 80 °C durante 1 minuto ya que se consigue una máxima inactivación de la enzima polifenoloxidasas.

Con la aplicación del tratamiento de altas presiones hidrostáticas (600 MPa/5min) conseguimos un ingrediente de pimiento estable microbiológicamente.

El tratamiento aplicado de altas presiones hidrostáticas mantiene los compuestos fenólicos en la ciruela y los reduce ligeramente en el caso del pimiento.

Ambos ingredientes (ciruela y pimiento) presentaron elevada aceptabilidad al incorporarla a hamburguesas de cerdo, especialmente el pimiento, donde se obtuvieron valores de aceptabilidad altos en hamburguesas con un 10% de pimiento. En cambio, en las hamburguesas con ciruela como ingrediente, los porcentajes de aceptación más altos se encontraron cuando los niveles de incorporación fueron bajos (1%-3%).

AGRADECIMIENTOS

Esta publicación es parte del proyecto de I+D+i PID 2020-11908, financiado por MCIN/ AEI/10.13039/501100011033/. Ayuda PRE2021-100168 financiada por MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033 y según proceda, por “FSE Invierte en tu futuro”.

Tabla 1. Composición físico-química de ingrediente ciruela y pimiento

	Ciruela	Pimiento	P-value
pH	3,4 ± 0,0	5,2 ± 0,0	0,000
Proteína (%)	0,5 ± 0,0	1,1 ± 0,0	0,000
Humedad (%)	88,1 ± 0,1	91,4 ± 0,6	0,001
Fibra total (%)	1,5 ± 0,1	1,9 ± 0,2	0,027

Tabla 2. Recuentos microbiológicos (Log Unidades Formadoras de Colonias CFU g⁻¹) en ingredientes de ciruela y pimiento antes del tratamiento de HHP y tratados con HHP.

		Mesófilos	Psicrófilos	Mohos y levaduras	Coliformes
Ciruela (80 °C/1min)	Antes HHP	1,9 ± 0,1	<1	1,1 ± 0,2	<1
	HHP	1,4 ± 0,1	<1	1,0 ± 0,0	<1
	P-value	0,007		0,388	
Pimiento	Antes HHP	6,5 ± 0,0	6,2 ± 0,1	3,9 ± 0,0	<1
	HHP	<1	<1	<1	<1
	P-value	0,000	0,000	0,000	

Tabla 3. Cambios en el contenido total de compuestos fenólicos (mg 100g⁻¹) en ingrediente de ciruela y pimiento, antes de HHP y con HHP (600 MPa/5 min).

	Antes HHP	HHP	P-value
Ciruela (80 °C/1min)	2.689,5 ± 142,2	2.658,7 ± 117,4	0,787
Pimiento	1.474,3 ± 153,6	1.098,3 ± 10,7	0,013

Figura 1. Porcentaje inactivación enzima polifenoloxidasas en puré de ciruela a diferentes tiempos (1, 3, 5 minutos) y temperaturas (70 °C, 80 °C y 90 °C)

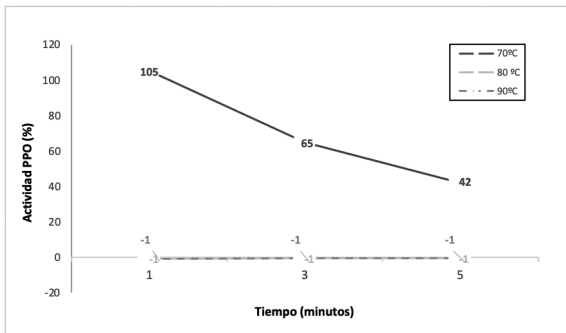


Figura 2. Valoración global de análisis sensorial en hamburguesas con diferentes porcentajes de pimienta

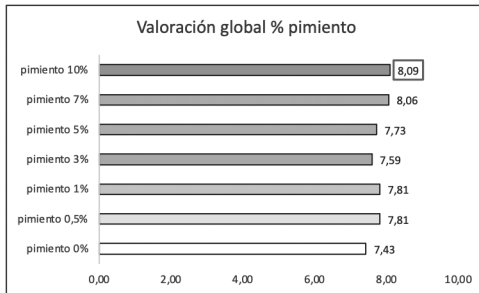
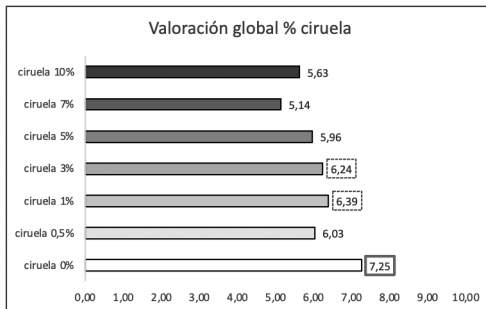


Figura 3. Valoración global de análisis sensorial en hamburguesas con diferentes porcentajes de ciruela



BIBLIOGRAFÍA

Castro, S. M., Saraiva, J. A., Domingues, F. M. J., & Delgadillo, I. (2011). "Effect of mild pressure treatments and thermal blanching on yellow bell peppers (*Capsicum annuum* L.)". *LWT-Food Science and Technology*, 44(2), 363-369. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2010.09.020>

Castro, S. M., Saraiva, J. A., Lopes-da-Silva, J. A., Delgadillo, I., Loey, A. Van, Smout, C. & Hendrickx, M. (2008). "Effect of thermal blanching and of high pressure treatments on sweet green and red bell pepper fruits (*Capsicum annuum* L.)". *Food Chemistry*, 107(4), 1436-1449. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.074>

Chamorro, R. A. M. & Mamani, E. C. (2010). "Importancia de la Fibra Dietética, sus Propiedades Funcionales en la Alimentación Humana y en la Industria Alimentaria". *Revista de Investigación En Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1). https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/ri_alimentos/article/view/813

Fernández Ginés, J. M., Tudela Carrasco, M., Caballero Santos, B., Moreno González, M. & Madera Bravo, E. (2008). "Generación de subproductos en la industria agroalimentaria: situación y alternativas para su aprovechamiento y revalorización". *Alimentaria: Revista de Tecnología e Higiene de Los Alimentos*, ISSN 0300-5755, N° Extra 1, 2008, Págs. 39-42, 1, 39-42. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2785642>

García-Parra, J., González-Cebrino, F., Cava, R. & Ramírez, R. (2014). "Effect of a different high pressure thermal processing compared to a traditional thermal treatment on a red flesh and peel plum purée". *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 26, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.08.002>

Gasull, E. & Becerra, D. (2006). "Caracterización de Polifenoloxidasas Extraídas de Pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious)". *Información Tecnológica*, 17(6). <https://doi.org/10.4067/S0718-07642006000600012>

Gil, M. & Rojano, B. (2012). *Inhibición de la polifenoloxidasas extraídas del banano (cavendish) por medio de algunos derivados del isoespintanol Natural products as inhibitors of phospholipases A2 present in snake venom (Viperidae) View project Elite cocoa from Antioquia-Colombia View project*. <https://www.researchgate.net/publication/277176519>

González-Cebrino, F., García-Parra, J., Contador, R., Tabla, R. & Ramírez, R. (2012). "Effect of High-Pressure Processing and Thermal Treatment on Quality Attributes and Nutritional Compounds of "Songold" Plum Purée". *Journal of Food Science*, 77(8), C866-C873. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02799.x>

Lima, V. L. A. G., Mélo, E. A., Maciel, M. I. S., Prazeres, F. G., Musser, R. S., & Lima, D. E. S. (2005). "Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages". *Food Chemistry*, 90(4), 565-568. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.04.014>

Official Methods of Analysis of AOAC International—20th Edition, 2016. (n.d.). Retrieved April 25, 2023, from https://www.techstreet.com/standards/official-methods-of-analysis-of-aoac-international-20th-edition-2016?product_id=1937367

Villanueva, M. J., & Barragán, R. (1985). "Determinación cuantitativa de la fracción hidrocarbonada en alimentos". *Anal. Bromatol.* XXXVII, XXXVII, 61-77.