

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**IMPACTO DEL USO DE ANTIOXIDANTES NATURALES SOBRE LA
ESTABILIDAD DEL COLOR Y DE LOS LÍPIDOS DE HAMBURGUESAS DE
CORDERO**

Por

Carolina María DE LOS SANTOS RUETE

TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título
de Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal

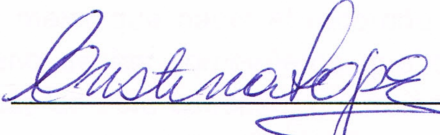
MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2018**

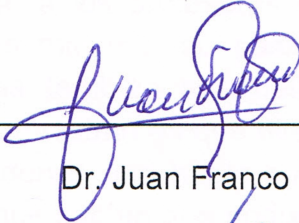
PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de Grado aprobada por:

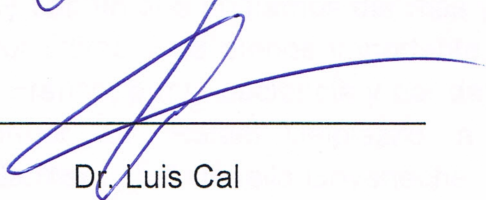
Presidente de Mesa:


Dra. Cristina López

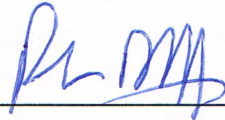
Segundo Miembro (tutor):


Dr. Juan Franco

Tercer Miembro:


Dr. Luis Cal

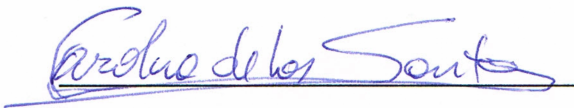
Cuarto Miembro (co-tutor):


Dr. Rafael Delpiazzo

Fecha:

_____ 6 de abril de 2018 _____

Autores:


Br. Carolina María de los Santos Ruete

FACULTAD DE VETERINARIA
10 (diciembre) 2018

Agradecimientos

Después de tanto recorrer, cuando se llega a la meta y se mira hacia atrás, son muchas las cosas y las personas por las que hay que agradecer. En primer lugar a mi familia, a cada uno de ellos, pero en especial a mis padres, hermanos y padrinos quienes fueron los que más de cerca me acompañaron en este andar, a ellos se lo dedico. A mis amigos, los que están desde antes, los que hice en facultad, los que siguen conmigo y los que quedaron por el camino, que me soportan más de lo que merezco y son ellos los que entienden mejor que nadie el recorrido que nos trajo hasta aquí. Cabe mencionar a cada uno de los compañeros que de una u otra manera ayudaron a forjar un peldaño más en este ascenso, guardando una silla en los teóricos, cebando un mate, prestando apuntes o simplemente dando palabras de ánimo. Gracias a la Facultad de Veterinaria, a los profesores y veterinarios que brindaron sus conocimientos y tiempo, transmitiendo su pasión por esta bella profesión y motivándonos a seguir. Gracias también a aquellos que hacen lo opuesto, porque de esa manera también nos muestran en qué dirección debemos ir. Gracias a los que hicieron críticas, mostrándonos que había cosas por corregir y mostrándonos que si nos lo decían, eran porque sabían que podíamos dar más y no se habían dado por vencidos con nosotros. Por último y no menos importante, un especial agradecimiento a mi tutor, el Dr. Juan Franco, por la paciencia y por darme la posibilidad de realizar esta tesis. Al cotutor, Dr. Rafael Delpiazzo, a los funcionarios del frigorífico Casa Blanca, particularmente a Antonella Goyeneche, a la Facultad de Agronomía y los funcionarios de la Estación Experimental Mario Cassinoni, en especial a Camila Horta, por dejarnos usar las instalaciones para llevar a cabo el trabajo. A los diferentes músicos que le pusieron banda sonora a cada momento e hicieron más ameno el viaje. Y sobre todo, gracias a Dios.

TABLA DE CONTENIDO

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	6
1- RESUMEN.....	7
2- SUMMARY.....	8
3- INTRODUCCIÓN.....	9
4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
4.1- Calidad de la carne.....	10
4.2- Factores que afectan la calidad de la carne.....	12
4.2.1- Factores microbiológicos.....	12
4.2.2- pH.....	12
4.2.3- Actividad del agua.....	13
4.2.4- Temperatura.....	13
4.2.5- Potencial oxidorreducción.....	14
4.3- Oxidación.....	15
4.3.1- Oxidación de lípidos.....	16
4.3.2- Oxidación de proteínas.....	20
4.4- Antioxidantes.....	24
4.4.1- Antioxidantes artificiales.....	25
4.4.2- Antioxidantes naturales.....	25
4.5- Té verde.....	28
4.6- Extracto de romero.....	33
5- HIPÓTESIS.....	38
6- OBJETIVOS.....	38
6.1- Objetivo general.....	38
6.2- Objetivos particulares.....	38
7- MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
7.1- Materias primas.....	38
7.2- Elaboración de las hamburguesas y tratamientos.....	39
7.3-Evolución del color.....	39
7.4- TBARS.....	39
7.5- Sensorial.....	40
7.6- Análisis estadístico.....	41
8- RESULTADOS.....	41
8.1- Evolución del color.....	41
8.2- Resultados TBARS.....	45

8.3- Resultados sensorial.....	47
9-CONCLUSIONES.....	48
10- BIBLIOGRAFÍA.....	49

Tabla I. Efecto antioxidantes sobre valores de TBARS en diferentes estudios.....	18
Tabla II. Efecto de los antioxidantes sobre el color en diferentes estudios.....	23
Tabla III. Efecto de antioxidantes sobre evaluación sensorial en diferentes estudios.....	37
Tabla IV. Efecto de los tratamientos sobre la estabilidad del color de las hamburguesas envasadas con film permeable al oxígeno y en vitrina refrigerada durante 9 días.....	42
Tabla V. Resultados TBARS expresados en mg MDA/kg.....	45
Tabla VI. Resultados de la evaluación sensorial para días y tratamientos.....	47
Figura 1. Efecto del tratamiento sobre los valores de H* en función de los días.....	44
Figura 2. Resultados TBARS. Mg MDA/kg por tratamiento en función de los días....	46

1- RESUMEN

Se investigó el efecto de dos antioxidantes naturales, romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y té verde (*Camellia sinensis* L.), con el objetivo de extender la vida comercial en hamburguesas de cordero almacenadas en condiciones de refrigeración durante 9 días. La carne picada de cordero fue dividida en 3 grupos de 3 kg cada uno, los que fueron asignados al azar a un lote control, un lote mezclado con 400 ppm de extracto de té verde y el restante con el agregado de 800 ppm de extracto de romero, dichos antioxidantes se disolvieron en una solución buffer conteniendo 0,15 M de NaCl. A su vez, dentro de cada tratamiento se realizaron 3 réplicas de 1 kg de carne picada cada una, a partir de esos subgrupos se armaron las hamburguesas.

Como objetivo secundario se evaluó la evolución del color, la oxidación de lípidos y las características sensoriales, producidos por los antioxidantes. Para el análisis de la primer variable se utilizó un colorímetro, midiéndose los parámetros de color L^* , a^* y b^* , al día 0, 3, 6 y 9. Después de cada medición las hamburguesas evaluadas ese día eran envasadas al vacío y congeladas. El nivel de oxidación de lípidos se evaluó mediante la técnica TBARS, y los cambios en el sabor mediante un panel sensorial.

Los resultados obtenidos muestran que el té verde fue significativamente ($P < 0,05$) más eficiente manteniendo estable los valores de a^* (índice de rojo) y C^* (intensidad del color). En lo que refiere a la oxidación de los lípidos se encontró que, tanto el romero como el té verde, demostraron ser eficientes retrasando significativamente ($P < 0,05$) la oxidación. Al análisis sensorial, los panelistas no detectaron diferencias en el sabor rancio para los distintos tratamientos, identificándose el gusto a romero cuando fue usado como antioxidante.

2- SUMMARY

The effect of two natural antioxidants, rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and green tea (*Camellia sinensis* L.), was investigated, with the aim of extending the commercial life in lamb burgers stored under refrigerated conditions for 9 days. Minced lamb meat was divided into 3 groups of 3 kg each, which were randomly assigned to a control batch, a batch blended with 400 ppm of green tea extract and the remainder with the addition of 800 ppm of rosemary extract. Said antioxidants were dissolved in a buffer solution containing 0.15 M of NaCl. In turn, within each treatment 3 replicas of 1 kg of minced meat were made, from these subgroups the burgers were assembled.

As a secondary objective, the evolution of colour, lipid oxidation and sensory characteristics, produced by antioxidants, were evaluated. For the analysis of the first variable a colorimeter was used, the colour parameters L^* , a^* and b^* , at day 0, 3, 6 and 9 being measured. After each measurement, the burgers evaluated that day were vacuum-packed and frozen. The lipid oxidation level was evaluated by TBARS technique, and the changes in the flavour by means of a sensorial panel.

The results obtained showed that green tea was significantly ($P < 0.05$) more efficient maintaining stable values of a^* (red index) and C^* (colour intensity). As regards the oxidation of lipids, it was found that both rosemary and green tea, proved significantly ($P < 0.05$) efficient in delaying oxidation. To the sensorial analysis, the panelists did not detect differences in rancid taste between the different treatments, rosemary taste being recognized when it was used as an antioxidant.

3- INTRODUCCIÓN

La calidad de la carne es un término complejo, muy ligado en algunos consumidores a la cantidad de grasa presente en el corte; sin embargo, el término va más allá y comprende aspectos nutricionales, sensoriales, tecnológicos y sanitarios, entre otros; siendo el foco central, las características sensoriales de aroma, color, sabor, jugosidad, suavidad, que son los de mayor influencia en la experiencia por parte de los consumidores (Lawrie, 1981; Mitsumoto y col., 1998, Brondum, 2000). El color es el principal atributo que el consumidor nota cuando se altera, este cambio en la coloración está dado por la oxidación del pigmento de la carne, la mioglobina. Después de una exposición prolongada al medio ambiente, la oximioglobina se oxida a su forma de metamioglobina (MMb Fe³⁺) generando un color café-rojizo que es poco deseable (López Hernández y col., 2013), es por esto que retrasar que esto suceda es de suma importancia y por lo que resulta de interés su medición.

Particularmente la carne picada por su procesamiento y la disrupción que sufren las fibras musculares durante el proceso, facilita la interacción de los lípidos con los componentes prooxidantes y de esta manera acelera el proceso de oxidación y por ende el deterioro y rancidez de la carne. Eso tiene efecto negativo en la calidad de la carne y sus productos causando cambios en los atributos sensoriales (color, textura y sabor) y nutricionales (Karakaya y col., 2011). Conservar la calidad y las cualidades organolépticas de la carne es una de las principales metas de la industria, es por esto que nos resultó de especial interés estudiar las posibles alternativas para evitar su rápido deterioro, en especial los antioxidantes naturales, entre los que se encuentran el té verde y el romero como los más ampliamente usados, ya que han demostrado ser los más eficaces como antioxidantes y que además poseen cualidades benéficas para la salud. Por su parte, los antioxidantes sintéticos comúnmente usados presentan efectos nocivos para la salud de los consumidores, tales como ser potencialmente cancerígenos.

La elección de la carne de cordero como materia prima para nuestro ensayo se basa en que contiene niveles más altos de lípidos, particularmente ácidos grasos poliinsaturados omega 3, los cuales se oxidan con facilidad (Wood y col., 1999), además es particularmente densa en nutrientes, es la fuente más rica de tiamina, vitaminas B6 y B12, fósforo, hierro y cobre (Williams, 2007). Cabe destacar que en Uruguay, la carne ovina es la menos consumida, con un promedio de 3,8 Kg per cápita por año en el 2016 (INAC). Por eso es interesante poder estimular el consumo de dicha carne mediante alternativas que le resulten más atractivas al consumidor, como lo son las hamburguesas.

Dado que en Uruguay existe muy poca información respecto al uso de antioxidantes naturales en la carne, de aquí también el interés y la importancia de ampliar la información en este tema.

4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1- Calidad de la carne

La calidad de la carne es un término subjetivo que depende del consumidor, quién según sus preferencias en cantidad de grasa del corte, color, aroma, jugosidad, sabor y demás características sensoriales, va a definir la calidad del corte. No existe un valor absoluto, sino que es la suma de atributos que se conocen cuando el producto se consume.

Entre las características a considerar claves en la adecuada aceptación de materia prima cárnica se encuentran: el color (primer indicio de calidad y frescura del producto), el grado de maduración (se encuentra relacionado con la estabilidad de las fibras musculares y la interacción de olores de la carne) y la capacidad de retención de agua (es un indicativo de lo sucedido desde transportación del animal, pasando por la faena y enfriamiento, relacionado con la estabilidad de las fibras musculares y con la velocidad y amplitud de la caída del pH de la carne después del sacrificio), además de la carga microbiana inicial (la cual estará relacionada con todo el proceso de sacrificio y faenado, lavado de canales y mantenimiento de la cadena de frío) (López Hernández y col., 2013).

El color y la apariencia de la carne se encuentran dentro de los principales atributos de calidad que influyen en la decisión de compra del consumidor. Los cambios en el color pueden estar asociados a alteraciones químicas a nivel superficial, a la composición química del alimento, a la creación de nuevos compuestos en la superficie, al desarrollo microbiano, o simplemente a modificaciones en el contenido de agua (poca o alta capacidad de retención de agua; o deshidratación de la carne por congelamiento) (López Hernández y col., 2013).

El principal pigmento de la carne es la mioglobina, la cual cambia de color en función de su estado de oxidación. Así, el color de la carne no es fijo y se puede modificar por la interconversión de las tres diferentes formas de la molécula de mioglobina. La mioglobina interactúa principalmente con los gases de la atmósfera, ya sea oxígeno, monóxido o dióxido de carbono (Silliker y col., 1997), lo que puede resultar en diferentes porciones de las diferentes especies de mioglobina (Mancini y Hunt, 2005). Cuando la carne es fresca o recién cortada la proporción de Deoximioglobina (DMb Fe^{2+}) es alta y esto confiere a la carne un color rojo púrpura, debido a que la mioglobina se encuentra en estado reducido, ya que no hay oxígeno fijado a la molécula.

Después de condiciones aerobias, el Oxígeno (O_2) se une a la molécula de DMb para producir Oximioglobina (OMb Fe^{2+}) y generar un color rojo cereza brillante. Esta reacción ocurre en los primeros 3-5 milímetros de la superficie de la carne, que son los que están en contacto con el oxígeno.

Después de una exposición prolongada al medio ambiente, la OMb se oxida a su forma de metamioglobina (MMb Fe^{3+}) generando un color café-rojizo que es poco deseable (López Hernández y col., 2013).

Es por esto que desde hace mucho tiempo la conservación de la carne es uno de los principales preocupaciones para el ser humano, lo que ha llevado al desarrollo de

diversos mecanismos para extender la vida útil de dicho producto como el salado, ahumado, congelado, etc., pero el objetivo hoy en día es conservar el mayor tiempo posible la carne fresca, sobre todo el tiempo que permanece en anaquel sin que se alteren sus características sensoriales y su inocuidad, siendo aceptada por el consumidor.

Lo interesante es que la gran mayoría de los cambios son normalmente percibidos por el consumidor mediante el uso de sus sentidos (vista, olfato, gusto, tacto y oído). Cuando el consumidor rechaza el producto, porque considera que sus características lo hacen inaceptable o porque pone en riesgo su salud, se dice que ha llegado al final de su vida de anaquel o vida útil (López Hernández y col., 2013). Existen diversas definiciones (Davies, 1995; Brody, 2001; Coma 2006; Eilert, 2005) sobre lo que implica la vida de anaquel, entre las que se encuentran:

“Período en el que un alimento almacenado bajo condiciones óptimas preestablecidas, mantiene características sensoriales y de seguridad aceptables para el consumidor”.

“Periodo de tiempo bajo condiciones de almacenamiento conocidas, posterior a la manufactura y envasado de los alimentos. Durante este tiempo deberá conservar sus características de calidad sensorial, química, física, funcional o microbiológica, cumpliendo con todas las declaraciones de contenido nutrimental que aparecen en su etiqueta, cuando se almacena en condiciones adecuadas”.

“El periodo entre la manufactura y venta al menudeo de un producto alimenticio, durante el cual el producto tiene una calidad satisfactoria”.

Para lograr una buena vida de anaquel lo principal es partir de una buena materia prima, siempre se debe partir de un producto de buena calidad ya que con el paso del tiempo ésta va a empeorar y no puede mejorarse durante el almacenamiento. Partiendo de estas materias primas apropiadas también hay que cerciorarse de que la carga microbiana sea la mínima. Durante el procesamiento hay que asegurarse de disminuir las operaciones que modifiquen las propiedades de la carne, así como de que se produzca la contaminación cruzada. Además hay que hacer énfasis en el empaque, de manera que éste disminuya lo más posible el impacto negativo del ambiente. De suma importancia es también que se conserve la cadena de frío durante el transporte, distribución y venta, hasta su llegada al hogar (López Hernández y col., 2013).

El entendimiento y la estimación de la vida de anaquel, son aspectos relevantes para poder tener una adecuada comercialización de los productos perecederos. Esta vida debe al menos exceder el tiempo mínimo requerido de distribución del productor al consumidor. La capacidad de predicción que se tenga, permitirá a los industriales evitar pérdidas por devoluciones, y establecer una correcta inteligencia de mercados, sustentada en la calidad del producto y en la confianza del consumidor (Rodríguez, 2003).

4.2- Factores que afectan la integridad de la carne

La integridad de la carne puede verse afectada por diversos factores, los cuales van a depender tanto de características intrínsecas (propias de la carne, de orígenes físicos y químicos) y extrínsecas (dependientes de factores externos). Dentro de los llamados intrínsecos vamos a encontrar el pH, actividad del agua (A_w), potencial de oxidorreducción, componentes mismos de la carne. Los factores extrínsecos están integrados por la manipulación a la cual sea sometida la carne, temperatura a la que sea expuesta, conservantes o aditivos que se apliquen y tiempo durante el cual esté expuesta a estos factores. Los principales serán detallados a continuación.

4.2.1- Factores microbiológicos

Diversos tipos de microorganismos pueden colonizar y desarrollarse en la carne y alterar las características de ésta. Entre dichos microorganismos se encuentran bacterias, mohos y levaduras, los cuales provienen de la piel, pelos y pezuñas del animal, así como del tubo digestivo de éste una vez faenado, y del ambiente en general. Es de suma importancia evitar en la medida de lo posible la contaminación, para esto se debe prestar atención a la limpieza de los equipos e instalaciones, hábitos higiénicos del personal, llevar buenas prácticas de manufactura y tener sistemas de control (Copes, 2007).

A su vez, después que se produjo la contaminación, para que los microorganismos prosperen deben presentarse una serie de factores.

4.2.2- pH

Uno de los principales factores que determinan la supervivencia y crecimiento durante el procesado y almacenamiento de la carne, es el pH, ya que los microorganismos se ven afectados por el nivel de hidrogeniones (H^+) y concentración de ácido débil no disociado. Los aniones de algunos ácidos débiles (ácido acético, láctico) son metabolizados dentro de la célula bacteriana, liberando H^+ acidificando así el interior de la célula hasta que se alcanzan niveles inhibitorios, a su vez el pH interior puede verse afectado por el pH del medio exterior (Copes, 2007). Para determinar el pH se utilizan pHmetros, los cuales miden en unidades de pH en un rango de 0 a 14 (0 totalmente ácido, 14 totalmente básico). Dentro de los valores entre 1 y 11 es donde se da el desarrollo bacteriano. La carne por su alto contenido de proteínas posee gran capacidad tampón y no se acidifica con facilidad (Copes, 2007).

En el caso de los bóvidos, el pH inicial del músculo *Longissimus dorsi* es de 7,08, alcanzado valores de 5,5-5,7 a las 48 horas *postmortem* (pm). Un descenso similar se aprecia en el músculo *Pectoralis profundus* ovino, cuyo pH es de 7,18 (Pearson y Young, 1989). La caída de pH muscular dependerá a su vez del tipo fibras predominantes y de la actividad muscular antes del sacrificio. Temperaturas elevadas (alrededor de 40°C) aceleran la glucólisis pm y el descenso del pH, siendo

necesarias menos horas para alcanzar el pH final (Pearson y Young, 1989). El estrés previo al sacrificio por un inadecuado manejo de los animales reduce las reservas de glucógeno muscular y conduce a la aparición de carnes DFD (oscuras “Dark”, firmes “Firm” y secas “Dry”) en los rumiantes.

4.2.3- Actividad del agua

Otro factor de suma importancia para el desarrollo de los microorganismos es la actividad del agua (A_w , relación entre la presión de vapor del agua del alimento y la del agua pura a la misma temperatura, se valora en un rango de 0 a 1), ya que el descenso en la cantidad de agua libre limitaría su capacidad para prosperar. La cantidad de agua libre disminuye ya sea por deshidratación, fijación por el agregado de cloruro de sodio o sacarosa o el aislamiento del agua como cristales de hielo. De acuerdo con esto vamos a poder clasificar a los microorganismos según su capacidad de sobrevivir en diferentes A_w . Es así que tenemos halófilos (presentan necesidades específicas de NaCl para su desarrollo), xerófilos (generalmente hongos, necesitan un A_w menor a 0,85) y osmófilos (levaduras que se desarrolla en altas concentraciones de sacarosa, no necesariamente necesitan bajas A_w) (Copes, 2007).

Es importante tener en cuenta también la humedad relativa. En alimentos que sean mantenidos en recipientes abiertos o en envases que sean permeables a la humedad, la presión de vapor del ambiente va a influenciar el A_w . Con la humedad que existe en las cámaras frigoríficas donde se almacena la carne, en las superficies de los tejidos grasos pueden crecer los mohos y algunas levaduras, mientras que en las partes magras van a desarrollarse bacterias productoras de limosidad como las *Pseudomonas spp.* (Copes, 2007).

4.2.4- Temperatura

Dentro de los factores extrínsecos mencionados con anterioridad, encontramos a la temperatura, el efecto de ésta durante el almacenado es tan significativo, que puede resultar en importantes modificaciones en la vida útil del producto. Se ha encontrado que la vida útil tiene una reducción considerable a medida que aumenta la temperatura.

Una carne de buena calidad, que sea refrigerada sin empacar (expuesta al ambiente), tendría una vida de anaquel de 5 a 7 días; si esta misma carne, hubiera sido además empacada al vacío, su vida útil fácilmente se pudiera extender a 30 días, e incluso a temperaturas de 2°C pudiera haber llegado a 50 días de vida útil (López Hernández y col., 2013).

Desde finales del siglo XIX, el principal método de preservación de la carne a largo plazo, ha sido la congelación a -20°C; mientras que para períodos de tiempo cortos, se prefiere la refrigeración a temperaturas entre 0 y 4°C. El mantenimiento de la cadena de frío se hace para salvaguardar la seguridad de los consumidores y la protección de la salud pública (Eilert, 2005). Esto se logra por la desaceleración de reacciones enzimáticas propias de la misma carne, así como por la reducción del

daño microbiano y/o contaminación biológica, puesto que la temperatura baja, reduce importantemente la replicación de la mayoría de los microorganismos, quienes son los responsables de la aparición del limo superficial, desarrollo de olores desagradables, así como de producir enfermedades, ya sea por la presencia particular de algunas de las bacterias, o de toxinas microbianas derivadas de su metabolismo (Baranyi y col., 1993 a y b; Arinder y Borch, 1999).

Es así que tiene uno de los papeles más importantes en la sobrevivencia bacteriana ya cada especie va a tener una temperatura óptima para su desarrollo. Ésta va a afectar la fase de latencia, velocidad de crecimiento, número final de células, necesidades nutritivas y composición enzimática. Las bacterias se ven más afectadas por temperaturas que superen la máxima óptima para su desarrollo, que por temperaturas que estén por debajo de la mínima óptima (Copes, 2007).

Teniendo en cuenta éste parámetro, se van a clasificar las bacterias en psicrófilos (desarrollan entre 0-10°C, óptima de 10-12°C y máxima 15-10°C), psicrótrofos (crecen en temperaturas cercanas a 0°C, tienen buen crecimiento a temperaturas moderadas 25-35°C, en este grupo se encuentran algunos de los que van a alterar las propiedades de los alimentos como las *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Proteus*, *Lactobacillus*, etc., y los que son patógenos *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli*, etc.), mesófilos (la temperatura óptima para su desarrollo se ubica entre los 30-37°C, los alteradores son *Proteus vulgaris* y *mirabilis*, *Moraxella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Mohos*, *Levaduras*, etc., dentro de los patógenos encontramos *E.coli*, *Salmonella thyphimorium* y *enteritidis*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* y *perfringens*, etc.), termófilos (su temperatura óptima es de 55-56°C, ej. *Clostridium nigrificans*, etc.) (Copes, 2007).

4.2.5- Potencial oxidorreducción

El potencial de oxidorreducción mide la capacidad oxidante o reductora que posee el medio (se entiende por oxidación a la pérdida de electrones, la reducción es la ganancia de éstos) y está directamente relacionado con la proliferación de ciertos microorganismos.

Algunas especies se desarrollan con mayor facilidad en un medio oxidante (oxígeno libre). Otras en cantidad restringida y otras desarrollan en medios reductores (sin oxígeno). Es así que se conocen como bacterias aerobias o anaerobias (Copes, 2007).

A su vez las podemos subdividir dependiendo la cantidad de oxígeno necesaria en aerobios estrictos (necesitan oxígeno, ej. *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus*, *Moraxella*, etc.), microaerófilos (requieren poco oxígeno, ej. *Campylobacter sp.*), anaerobios estrictos (no crecen en presencia de oxígeno, ej. *Clostridium*) y anaerobios facultativos (pueden desarrollar con diferentes valores de potencial redox, ej. *Corynebacterium*, *Enterobacterium*) (Copes, 2007). En la carne vamos a hallar los aerobios en la superficie y los anaerobios en la parte profunda del músculo.

Para su crecimiento los microorganismos también necesitan nutrientes. En el metabolismo la energía la pueden obtener de proteínas, glúcidos o lípidos. Los factores de crecimiento son aportados por las vitaminas del grupo B y algunos aminoácidos que no son capaces de producir (Copes, 2007).

Hay ciertos componentes de la carne que dificultan la colonización bacteriana, como lo son por ejemplo las fascias que recubren los tejidos musculares, las cuales hacen posible que la carne refrigerada se conserve por mayor tiempo. Cuando la carne es despojada de éstas, queda más expuesta a los contaminantes del ambiente y microorganismos, cosa que es más notoria en la carne picada o trozada (Copes, 2007). A su vez la carne picada recibe una mayor manipulación y tiene una mayor superficie de contacto con las maquinas picadoras y cuchillos, lo que facilita la contaminación bacteriana.

4.3- Oxidación

La oxidación en los productos alimenticios es considerada el principal factor no microbiano limitante en la calidad y aceptabilidad del producto debido a la producción de especies reactivas de oxígeno y sabores desagradables por los ácidos grasos insaturados (Asghar y col., 1988; Frankel, 1993). Los lípidos y proteínas en la carne son fácilmente susceptibles a los daños oxidativos dada la rápida depleción de los antioxidantes endógenos luego del sacrificio (Xiao y col., 2013).

Las carnes rojas y de pollo son típicamente susceptibles a la oxidación lipídica debido a su alto contenido en grasa (Yilmaz, 2006) y una alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados. Estos fosfolípidos altamente insaturados presentes en los productos de carne roja y pollo son responsables por el desarrollo de sabores y olores desagradables después de cocinarlos y su subsecuente almacenamiento refrigerado (Senanayake y Namal, 2013).

Comparando con la carne de res o cerdo, la carne de cordero contiene niveles más altos de lípidos, particularmente ácidos grasos poliinsaturados omega 3, los cuales se oxidan con facilidad (Wood y col., 1999). Es así que pasos adicionales para evitar la oxidación lipídica pueden contribuir a extender la vida útil del cordero empacado y refrigerado.

Algunos procedimientos como el picado, cocción y otros, rompen la membrana de la célula muscular facilitando la interacción de los lípidos con los componentes prooxidantes, de esta manera acelerando el proceso de oxidación y por ende el deterioro y rancidez de la carne.

Eso lleva a la formación de varios componentes los cuales tienen efecto negativo en la calidad de la carne y sus productos causando cambios en los atributos sensoriales (color, textura y sabor) y nutricionales (Karakaya y col., 2011).

El tiempo de almacenamiento de la canal posterior al *rigor mortis*, conocida como fase de maduración, también juega un papel importante en el aroma y sabor, y especialmente, en el desarrollo de la textura de la carne. Durante la maduración se desarrollan los precursores del aroma y sabor de la carne cocinada, como péptidos y

aminoácidos libres, debido a la actividad de las proteasas y peptidasas endógenas, así como otros compuestos precursores del aroma y sabor procedentes de la hidrólisis y oxidación de lípidos, el cual es un proceso complejo y depende de la composición química de la carne, la luz, el acceso al oxígeno y la temperatura de almacenamiento (Kanner, 1994). En general, a medida que aumenta el tiempo de maduración se produce una mejora de sus atributos sensoriales. Las canales de cordero maduradas en frío (2°C) necesitan un periodo de tiempo inferior a 72 horas para completar su maduración, en función del tamaño y edad del animal (Ortuño, 2016).

4.3.1- Oxidación de lípidos

La oxidación de los lípidos se relaciona con su estado físico (Frankel y col., 1994, 1996; Huang y col., 1994), diferentes substratos lipídicos (Hopia y col., 1996), también con el grado de insaturación de éstos, al tipo de músculo, a la dieta del animal, a la presencia de algunos aditivos, al método de cocción, la manera en que se conserva la carne y el pH del músculo (Huang y col., 1996; Faustman y col., 2010; Zhang y col., 2013).

El mecanismo de oxidación puede ser descrito en tres pasos. Paso uno: iniciación, pérdida del radical hidrógeno por ácidos grasos insaturados cuando reaccionan con oxígeno en presencia de luz, calor o trazas de metales para formar radicales peróxido. Paso dos: propagación, en este proceso, los radicales peróxido reaccionan con más ácidos grasos insaturados para formar hidroperóxidos lípidos. Paso tres: terminación: el proceso en cadena de oxidación termina cuando dos radicales peróxidos reaccionan para producir especies no radicales.

El deterioro de la carne por oxidación se debe a que la estabilidad de sus lípidos y proteínas dependen del balance entre los antioxidantes musculares y los componentes pro-oxidantes (Faustman y col., 2010). Los lípidos están ampliamente distribuidos en ambos espacios, intra y extracelular de la carne, como triglicéridos, fosfolípidos y esteroides. Sin embargo, los lípidos son químicamente inestables, es por esto que están fácilmente predispuestos a la oxidación, especialmente durante el manejo *postmortem* y el almacenamiento. La exposición al oxígeno y a la luz de la carne durante su vida de anaquel son unos de los principales factores que originan su oxidación.

Los establecimientos de venta al por menor utilizan sistemas de iluminación con luces brillantes para realzar la frescura y mejorar el aspecto de la carne (Van Oeckel y col., 1999). Sin embargo, la utilización de lámparas fluorescentes en los anaqueles puede desencadenar reacciones foto-químicas y procesos de oxidación, además de aumentar la temperatura de la superficie de la carne, favoreciendo el crecimiento de microorganismos y afectando a la estabilidad del color (Sánchez-Escalante y col., 2008). La velocidad a la que se producen las reacciones de oxidación depende principalmente de factores como la longitud de onda, la intensidad de la iluminación y las propiedades de permeabilidad a la luz del film que se utilice en el envasado. La luz con longitudes de onda corta tiene un efecto muy marcado sobre la oxidación de la grasa y sobre la degradación del color de la carne (Renerre y col., 1999).

Los componentes pro-oxidantes pueden llevar a los tejidos a sufrir una disminución de los sistemas antioxidantes, llevando a la formación de especies reactivas del oxígeno (hidroxilos, superóxidos, y radicales del óxido nítrico) que pueden

interactuar con lípidos y proteínas constituyentes de la carne, causando su oxidación (Faustman y col., 2010; Zhang y col., 2013), y aparición de olores y sabores desagradables.

Los hidroperóxidos lipídicos fueron identificados como los productos primarios de auto oxidación. Típicamente, los hidroperóxidos lipídicos son insípidos e inodoros. La descomposición de los hidroperóxidos da lugar a aldehídos, cetonas, alcoholes, hidrocarburos y ácidos, los cuales son conocidos como productos secundarios de la oxidación de lípidos. En muchos casos, estos compuestos son responsables de los sabores y olores desagradables en los alimentos (Senanayake y Namal 2013), alteración del color, y en general una disminución de su calidad organoléptica y valor nutritivo (Faustman y col.2010), en este sentido, los radicales lipídicos, hidroperóxidos, malonaldehído (MDA) y productos específicos de la oxidación del colesterol juegan un papel importante en promover las reacciones oxidativas *in vivo* e iniciar reacciones perjudiciales con consecuencias nocivas para la salud. De hecho, la ingesta de lípidos oxidados se cree que tienen un gran impacto sobre la salud del consumidor, así como también ciertos productos procedentes de la oxidación de lípidos, como aminos heterocíclicos en carnes cocinadas (cocinar a bajas temperaturas es óptimo para liberar el hierro, el mayor catalizador de la rancidez oxidativa en el músculo (Chen y col., 1984; Richards y col., 2002; Tsen y col., 2006; Chaijan, 2008; Mapiye y col., 2012), a su vez están involucrados en el desarrollo de enfermedades como el cáncer y la cardiopatía coronaria (Aikawa y Chikuni, 1988; Verbeke y col., 1999).

Antecedentes sobre la oxidación de lípidos.

Tabla I- Efecto de antioxidantes sobre valores de TBARS en diferentes estudios.

Referencia	Tratamiento	Concentración	Carne/ producto	Almacenaje	Resultados
Nissen y col. (2004)	Extracto de romero Extracto de té verde	200 ppm 200 ppm	Hamburguesas de cerdo	Envasado al vacío 4, 5 °C 10 días	Redució los valores TBARS. Efectividad antioxidante romero> té verde
Wojciak (2011)	Extracto de té verde Extracto de romero	10 % 10%	Cerdo cocido	4°C, 30 días	Ambos extractos redujeron la oxidación lipídica
Sebranek y col. (2005)	Extracto de romero	500 y 300 ppm	Salchicha cruda y precocida congelada	Refrigerador	Redució los valores de TBARS y mantuvo el color rojo en las salchichas crudas
Bañón (2007)	Extracto de té verde + SO ₂	300 mg/kg 100 mg/kg	Hamburguesas de carne vacuna crudas y cocidas	Empaquetaje aeróbico 4° C, 9 días	Redució oxidación lipídica y pérdida de rojo en hamburguesas crudas, retrasó desarrollo de sabor rancio en hamburguesas cocidas.
Akarpat (2008)	Extracto de romero	10 %	Hamburguesas de carne vacuna	Envueltas en film, -20°C 120 días	Redució la oxidación lipídica
Rababah y col. (2011)	Extracto té verde	500, 3000, 6000 ppm	Carne de cabra cruda y cocida	5°C, 9 días	Efectivo en retrasar la oxidación lipídica. Redujo el color rojo
Mathenjwa y col. (2012)	Extracto de romero	260 mg/kg	Boerewors (salchicha fresca Sudafricana)	4 °C, 9 días y -18 °C, 100 días	Mostró estabilidad lipídica

Nath y col. (2016)	Extracto de té verde Extracto de romero	2% 2%	Hamburguesas de Cabra	de 4 °C, 15 días	Ambos demostraron disminuir los niveles de TBARS. Efecto antioxidante té verde> romero.
Jongberg y col. (2013)	Extracto de romero Extracto de té verde	400 ppm 500 ppm	Salchichas bologna	tipo MAP, 5 °C, 30 días	Ambos disminuyeron los valores de TBARS
Stapornkul y col. (2016)	Té verde	25 mg/ml 100 mg/ml	Proteína sarcoplásmica y miofibrilar extraída de músculo vacuno	9 días, refrigerado	Unión con MDA aumentó en presencia de té verde y fue concentración dependiente

Ppm- partes por millón. MAP- atmósfera modificada (30% CO₂/69%N₂/1% O₂). MDA- malonaldehído. TBARS- Sustancias reactivas al ác. Tiobarbitúrico. SO₂-dióxido de azufre.

A modo de resumen se muestra en la tabla I, varios autores que han estudiado el efecto de los diversos antioxidantes sobre la oxidación de los lípidos de la carne.

Lo primero que debemos destacar es que no hay antecedentes de trabajos en hamburguesas elaboradas con carne ovina. Las concentraciones en que fueron evaluados los antioxidantes abarcan un rango de 200 a 6000 ppm, en diferentes condiciones de almacenamiento, tipo de carne y duración del período de evaluación. En la amplia mayoría de los trabajos ambos antioxidantes lograron disminuir la oxidación lipídica.

Centrándonos en los resultados obtenidos para el extracto de romero y té verde, todos los autores revisados, hallaron que ambos extractos fueron eficientes en disminuir los valores de TBARS.

4.3.2- Oxidación de las proteínas

La oxidación de las proteínas es uno de los problemas principales en la evaluación de la calidad de la carne. Esto se debe a que el tejido muscular contiene altas cantidades de proteínas, las cuales juegan un papel esencial en la calidad de la carne con respecto a las propiedades sensoriales, nutricionales y fisicoquímicas de la carne y sus productos. De acuerdo con Shacter (2000), la oxidación proteica se describe como la modificación covalente inducida por especies reactivas al oxígeno (ROS) o reaccionando con subproductos secundarios del stress. La oxidación de las proteínas ocurre a través de la reacción en cadena de los radicales libres como la oxidación de los lípidos en el músculo animal (Lund y col., 2011).

El stress oxidativo en los tejidos dañados por el shock, hipoxia, toxinas del stress o varias condiciones de enfermedad, incluida la sepsis, mastitis, enteritis, neumonía, enfermedades respiratorias y articulares (Lykkesfeldt y Svendsen, 2007) resulta en daños funcionales o estructurales de los organelos musculares, células y tejidos. Se ha encontrado que esas proteínas miofibrilares son afectadas por ROS durante la maduración y almacenamiento de la carne (este último afecta fuertemente el deterioro en el color, olor, sabor y jugosidad de la carne de cordero) (Martinaud y col., 1997; Nieto y col., 2010) y esa alta producción de radicales libres y ROS resulta en daño degenerativo de la estructura celular y afecta la calidad de la carne, modificando la viscosidad, emulsificación, capacidad de retención de agua y textura, y disminuyendo el valor nutricional (Min y Ahn, 2005; Estévez, 2011; Lund y col., 2011; Zhang y col., 2013, Piccione y col., 2013). También se ha demostrado que el stress oxidativo afecta la terneza de la carne. Evidencia de esto se muestra por la habilidad de ROS de influir en el colágeno intramuscular, en términos de balance entre su degradación por la enzima matriz metaloproteinasa-2 (EMP-2) y síntesis por los fibroblastos intramusculares derivados de los músculos bovinos. La reducción en la síntesis de colágeno resulta en la disminución en la solubilidad del colágeno, entonces aumenta la dureza de la carne (Archile-Contreras y Purslow, 2011).

Debido a modificaciones químicas de los grupos de cadenas de aminoácidos y la agregación o enlaces cruzados de las proteínas, la oxidación puede cambiar la digestibilidad de éstas, incluyendo un descenso en la biodisponibilidad de los aminoácidos proteicos, cambios en la composición de los aminoácidos, descenso en

la solubilidad de la proteína debido a la polimerización de ésta, pérdida de la actividad proteolítica y daño en la digestibilidad de la proteína (Levine y col., 1990; Lund y col., 2011). Por esto afecta la calidad nutricional. En general, oxidaciones leves no influyen en la degradación proteolítica de las proteínas del músculo, pero la oxidación extensiva puede disminuir la digestión proteolítica (Liu y Xiong, 2000; Sante-Lhoutellier y col., 2007; Soladoye y col., 2015).

La interacción de los aldehídos de la oxidación lipídica con las proteínas cárnicas puede formar aductos de proteínas volátiles, que pueden afectar negativamente la estructura y función proteica (Gardner, 1979; Addis, 1986; Nair, Cooper y col., 1986; Gerrard y Brown, 2002). La unión de aldehídos por ejemplo malonaldehído, hexanal, y 4 hidroxinonenal a una variedad de proteínas ha sido investigada (Smith y col., 1999; Lynch y col., 2001; Goodridge y col., 2003; Pérez-Juan y col., 2006; Pignoli y col., 2009). Estos aductos volátiles de proteínas podrían afectar la calidad sensorial de los alimentos inhibiendo la rancidez oxidativa percibida a través de la conversión de productos secundarios a la oxidación de lípidos en aductos no volátiles (Elias y col., 2008). A pesar de la unión de las proteínas cárnicas con los productos de la oxidación lipídica (Pérez-Juan y col., 2006), si las proteínas se oxidan, pueden actuar como pro oxidantes de lípidos.

De acuerdo con Lund y col. (2011), la oxidación de las proteínas comienza con la iniciación del proceso de la extracción de átomos de hidrógeno desde la proteína vía ROS para formar un radical proteico carbón centrado (reacción a) el cual es consecuentemente convertido en un radical alquilproxilo (reacción b) en la presencia de oxígeno y a un alquilperóxido (reacción c) extrayendo átomos de hidrógeno desde otra molécula susceptible. Subsecuentes reacciones con ROS, como HO_2 (hidroperoxilo) o con formas reducidas de la transición de metales Mn^+ , Fe_{2+} o Cu_{+1} llevan a la producción del radical alcóxilo (reacción e y f) y es derivativo del hidroxilo (reacción g). La oxidación de proteínas también ocurre debido a la interacción entre las proteínas, especialmente los centros de nitrógeno o sulfuro de los residuos reactivos de aminoácidos de las proteínas y los hidroperóxidos grasos o productos secundarios a la oxidación lipídica, como los aldehídos o reduciendo azúcar (reacción h) (Viljanen, 2005; Baron, 2010).

La degradación de las fracciones de ácidos grasos no saponificables y poliinsaturados de los lípidos de la carne y la conversión del pigmento oximioglobina (MbO_2) a metamioglobina (MMb) (quedando un color amarronado, afectando de manera negativa la percepción del consumidor) resulta en la generación de radicales libres que puede llevar al deterioro de la proteína cárnica, disminución de su valor nutritivo, debido a una menor biodisponibilidad de sus aminoácidos esenciales y menor digestibilidad de las proteínas (Lund y col., 2011; Suman y Joseph, 2013; Zhang y col., 2013). La decoloración en las carnes que se encuentran en anaquel es una combinación de la oxidación de estos pigmentos y la oxidación lipídica que ocurre en la grasa intramuscular, ésta y/o los fosfolípidos de las membranas. Estos dos tipos de oxidación están relacionados y se ha reportado que son causados por procesos similares (Faustman y Cassens, 1989). Por lo tanto extender el tiempo que la carne retiene la coloración rojo brillante puede ser logrado previniendo o retrasando la formación de pigmentos y la oxidación de los lípidos.

La modificación de las proteínas como la formación de carbonilos, pérdida de tioles, y formación enlaces cruzados disulfuro son todos marcadores de oxidación, e indican la estabilidad oxidativa de la proteína. Los radicales de proteína son generados y acumulados en la carne bajo condiciones oxidativas y son productos intermediarios y precursores de las modificaciones oxidativas, medidas como por ejemplo como la pérdida de tioles o la formación de carbonilos (Jongberg y col., 2011; Lund y col., 2011; Lund y col., 2008).

La presencia de aminoácidos aromáticos (tirosina e histidina) en la proteína sarcoplásmica y su ausencia en la proteína miofibrilar le da a la proteína sarcoplásmica mayor capacidad para enlazar malonaldehído que la proteína miofibrilar (Yin y col. 2011).

Bajo condiciones oxidativas los tioles se pierden debido a interacciones nucleofílicas con fenoles oxidados, las quinonas (Pierpoint, 1969).

El barrido de radicales por componentes fenólicos resulta en la formación de semi quinonas y quinonas. Jongberg y col., (2011) encontraron que la quinona de 4-metil catecol (4-MC) reaccionó con los tioles de la proteína de la carne en un sistema modelo oxidado por Fe (II)/H₂O₂. El enlace covalente entre los tioles de la proteína y la quinona de 4-metil catecol fue encontrado posteriormente responsable de una distintiva pérdida de tioles durante el almacenamiento de carne de res fresca bajo atmósferas con altos niveles de oxígeno (Jongberg y col. 2011).

Los rangos de reacción de los distintos sustratos oxidativos con especies reactivas al oxígeno pueden ser de gran relevancia cuando se consideran los efectos antioxidantes frente a distintos sustratos. El rango de reacción de cisteína y metionina con ácido hipocloroso (HOCl) en un sistema modelo fue encontrado de ser significativamente más alto que por ejemplo lisina y arginina, que reaccionan con HOCl (ácido hipocloroso) con un rango similar que el del doble enlace carbón-carbón en los residuos de ácidos grasos (Pattison y Davies, 2001; Pattison y Davies, 2006). Dependiendo de la reactividad del antioxidante fenólico con las especies reactivas al oxígeno dadas, algunos sustratos pueden ser protegidos por el antioxidante y otros puede que no lo sean. Dada la mayor reactividad de los tioles con ciertos agentes oxidantes ellos se pueden oxidar más rápido que otros sustratos, y pueden por esto, no ser protegidos por los componentes fenólicos.

Antecedentes sobre la evolución del color

Tabla II- Efecto de antioxidantes sobre el color en diferentes estudios.

Referencia	Tratamiento	Concentración	Almacenaje	Carne/ producto	Color		
					L	a	b
Nath y col. (2016)	Extracto de té verde	2%	4 °C, 15 días	Hamburguesas de cabra	NS	Ambos extractos >valores que control	NS hasta 5 días Romero val. más bajos>5d, aumentó con té
	Extracto de romero	2%					
Serrano y col. (2014)	DRE ovejas gestando y esos corderos hijos	600mg/kg ración/ 240 días ovejas 80 días corderos	MAP, 2°C, 21 días	Lomo de cordero	NS< 7 días RR<valores 21d	NS<7 días RR> valores 21d	NS<7 días RR< valores 21d
Ortuño y col. (2015)	DRE corderos	1,8kg/1000kg ración	MAP, 2°C, 12 días	Hamburguesas de cordero	<valores a partir del día 4	<valores a partir día 4	NS
Sánchez Escalante y col. (2011)	Extracto de romero y ácido ascórbico	1g/kg	MAP, 2°C; 20 días. Distinta iluminación	Hamburguesas de carne vacuna		Mejores valores hasta el día 16	
Wojciak y col. (2011)	Extracto de té verde	10 %	4°C, 30 días	Cerdo cocido	Té verde <valores	Ambos extractos >valores que control días	NS<10d >10d
	Extracto de romero	10%					romero<val >30d té>val.

DRE- Dietas con extracto de romero. RR-animales suplementados con romero. NS- no significativo. L-luminosidad. A- rojo. B- amarillo. MAP (30% CO₂/69%N₂/1% O₂).

A modo de resumen, como manifiesta la tabla II, se observa que para los trabajos de conservación en atmósfera modificada ambos antioxidantes logran mantener los valores de índice de rojo (a^*) principalmente en períodos más prolongados. Mientras que la luminosidad y el índice de amarillo mostraron menor variabilidad por el agregado de ambos antioxidantes.

En estos trabajos se evaluaron concentraciones entre 2 y 10%, así como la integración de romero en la dieta.

4.4- Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia que retarda la oxidación lipídica, inhibiendo el inicio de la formación de radicales libres la cual puede diseminar la reacción de oxidación. Estas sustancias ayudan a preservar las comidas mediante el retraso en el desarrollo de rancidez, deterioro y descoloración debidos a la oxidación de lípidos (Senanayake y Namal, 2013), y los hay tanto naturales como artificiales.

Los antioxidantes liposolubles ordinariamente utilizados en los alimentos son fenoles, monohídricos o polihídricos, con diversos agentes secuestradores de metales. La eficacia de un antioxidante está relacionada con numerosos factores, entre ellos la energía de activación, las constantes de velocidad, el potencial de oxidación reducción, la mayor o menor facilidad de destrucción o pérdida del antioxidante y las propiedades de solubilidad (Wassef, 2000).

La actividad antioxidante refiere al retraso o la inhibición de la oxidación de los lípidos u otras moléculas mediante la inhibición de los pasos de inicio o propagación de las reacciones de oxidación en cadena o formando radicales libres, los cuales no son reactivos o forman productos no radicales (Huang y col., 2005).

La reacción de antioxidantes con la oxidación se cree que ocurre a través de dos vías principales. Donando electrones para romper y terminar el ciclo de oxidación en el paso de propagación y de ese modo previniendo que se formen lípidos adicionales y radicales de proteína (Dangles y Dufour, 2006; Allen y Cornforth, 2010), o removiendo los iniciadores de radicales libres (ROS) en orden de aplacar el inicio de la cadena de catálisis (radicales) (Antolovich y col., 2002). El otro modo es limitando a los radicales iniciadores enlazando metales como hierro y cobre como quelantes de metales para estabilizarlos en una forma inactiva e insoluble (Allen y Cornforth, 2010; Dai y Mumper, 2010).

Los mecanismos antioxidantes contra la oxidación lipídica son principalmente asignados al barrido de los radicales o a la actividad quelante de los metales de los componentes fenólicos, como fue revisado por Brewer (2011). Sin embargo, los mecanismos envueltos en la protección contra la oxidación proteica parecen no ser directamente comparables con los de oxidación lipídica, y las actividades prooxidativas son encontradas regularmente por la adición de antioxidantes fenólicos (Estévez y Heinonen, 2010).

La oxidación tanto de lípidos como de proteínas puede ser inhibida durante el procesamiento y almacenamiento de productos de carne procesada mediante la

adición de extractos ricos en fenoles (Vuorela y col., 2005; Estévez y Cava, 2006; Estévez y col., 2006; Lara y col., 2011). La habilidad de los extractos para inhibir la oxidación parece ser más pronunciada en la protección frente a la oxidación lipídica que la proteica.

Otra vía común para evitar la oxidación y extender la duración del color en las carnes rojas, es el uso de empaques de atmósfera modificada (MAP) (Robertson, 2006). Consiste en sustituir la atmósfera del envase para favorecer la conservación de la carne. Las carnes rojas refrigeradas se envasan habitualmente en atmósferas modificadas ricas en oxígeno y dióxido de carbono, que por un lado, favorecen la preservación del color rojo brillante gracias a la hiperoxigenación de la superficie cárnica y el consecuente acumulo de MbO₂, y, por otro lado, inhiben el crecimiento microbiano debido a la elevada concentración de dióxido de carbono, el cual alarga de la fase de latencia y reduce el crecimiento en la fase logarítmica de las bacterias Gram-negativas aerobias responsables de la descomposición, tales como *Pseudomonas* (Vergara y col., 2003; Kennedy y col., 2004).

La incorporación de antioxidantes protege a los lípidos de la oxidación y puede indirectamente estabilizar MbO₂ frente a la oxidación (O'Grady y col., 2001). El uso combinado de antioxidantes y MAP para la carne representa una estrategia real y atractiva para aumentar la duración de la carne fresca (Nicolalde y col., 2006).

4.4.1- Antioxidantes artificiales

Desde su desarrollo, los antioxidantes artificiales por su efectividad han sido utilizados ampliamente para prolongar la vida útil de los alimentos. Sin embargo se ha descubierto que los más usados, como el butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), galato de propilo (PG) y terbutil hidroquinolona (TBHQ) a altas dosis de aplicación pueden tener efectos nocivos para la salud humana, pueden actuar como agentes promotores del cáncer y/o teratógenos, producir un aumento significativo del hígado y una marcada proliferación del retículo endoplásmico (Van Esch, 1996). Es por esto que el uso de estos antioxidantes sintéticos está limitado a ciertas cantidades y además presenta inconvenientes, dado que son bastante volátiles al igual que se descomponen con facilidad a temperaturas altas (Ahn, y col., 2007), por estas razones su uso ha sido limitado en varios países. Sin embargo hay mucho menos evidencia que documente efectos adversos de los antioxidantes naturales. A pesar de que los antioxidantes artificiales han sido utilizados durante mucho tiempo en la industria cárnica, las tendencias de los mercados están cambiando y se inclinan hacia lo natural, dejando de lado poco a poco los antioxidantes artificiales.

4.4.2- Antioxidantes naturales

Extractos son preparados a partir de materiales de plantas usando diferentes solventes y métodos de extracción. Estos extractos son ricos en fenoles y proveen una buena alternativa para los antioxidantes sintéticos. La capacidad antioxidante de los extractos de plantas son afectados por el método de extracción y el solvente usado, dado que el procedimiento de extracción influencia fuertemente la composición del extracto (Schwarz y col., 2001; Trojakova y col., 2001; Brewer, 2011).

Muchas hojas de árboles, aunque no usadas para saborizar, son buenas fuentes de compuestos fenólicos, los polifenoles son agentes quelantes de metales y también actúan en los radicales libres, ya que sus anillos de benceno, inhiben las reacciones en cadena durante la oxidación de lípidos. Algunos minerales y vitaminas funcionan como cofactores de enzimas antioxidantes, por esto son consideradas también antioxidantes naturales. La naturaleza ha producido también un número de péptidos cortos multifuncionales que son capaces de neutralizar los radicales libres y quelar los iones de metales prooxidantes. Esto último ha llevado a la preparación de péptidos “naturales” antioxidantes a través de la hidrólisis enzimática de las proteínas. Cuando son usados como antioxidantes para la preservación de la calidad del producto, estos compuestos naturales también pueden ser considerados como ingredientes nutraceuticos o suplementos que promueven la salud. De hecho los antioxidantes derivados de las plantas promueven procesadores de carne con la flexibilidad de desarrollar nuevos productos mejorados con valor nutricional y beneficios a la salud, una vida media aumentada y un atractivo perfil de calidad general (Jiang y Xiong, 2016).

El efecto benéfico de producir productos cárnicos que contengan extractos medicinales de plantas podría usarse para combatir diferentes problemas relacionados con la salud que han sido asociados con el consumo de carne a lo largo de los años.

Ha sido demostrado también que el consumo de alimentos (carne) ricos en antioxidantes puede fortalecer la actividad de los antioxidantes endógenos contra enfermedades degenerativas vinculadas con el stress oxidativo y el daño de los tejidos relacionado al ROS (Valenzuela y col., 2003).

Es así que la utilización de diferentes antioxidantes naturales para reducir el deterioro y extender el tiempo de almacenamiento, así como para reducir las pérdidas económicas, costos de trabajo, asegurar la seguridad y finalmente mejorar las propiedades funcionales de la carne (Falowo y col., 2014), es una opción muy conveniente. Además los antioxidantes naturales son capaces de neutralizar ROS y por eso reducen la probabilidad de la formación de toxinas cuando se aplican altas temperaturas (Balogh y col., 2000), pero cuando son usados en la formulación del producto pueden también aumentar el potencial antioxidante existente incluso si la carne no está sujeta a un procesamiento extensivo. Estos beneficios adicionales nutritivos y saludables pueden ser una ventaja distintiva de los antioxidantes naturales aplicados al procesamiento de la carne (Jiang y Xiong, 2016).

Numerosos estudios básicos y clínicos han apuntado el rol de ROS, particularmente los radicales libres, en muchos procesos patológicos y han indicado el efecto protector de vitaminas antioxidantes, como la vitamina A (beta caroteno y criptoxantina como precursor), vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (alfa tocoferol) y minerales, selenio, zinc y otros carotenoides como luteína, licopeno y zeaxantina, y varios compuestos fenólicos (flavonoides y no flavonoides) para la salud cardiovascular y la prevención del cáncer (Diplock, 1991; Duthie y Crozier, 2000).

La adición de antioxidantes naturales estabiliza los niveles de colesterol, inhibiendo la formación de productos de colesterol oxidados, y reduce la formación y absorción de malonaldehído y amina heterocíclica (HCA) en carne cocida (Megan-Tempest, 2012; Kobus-Cisowska y col., 2014).

Además la adición de extractos antioxidantes naturales ha sido reportada en aumentar la terneza de la carne (Contini y col., 2014). Esto puede significar que algunos antioxidantes naturales contienen componentes enternecedores.

Los antioxidantes naturales pueden ser aplicados a través de la dieta o estrategias tecnológicas para reducir o prevenir el proceso oxidativo en el músculo (Falowo y col., 2014). Las estrategias tecnológicas involucran la aplicación de antioxidantes directamente en la carne y en los productos cárnicos o por el revestimiento del material de empaque con extractos de plantas, para mejorar la estabilidad oxidativa de los productos (Falowo y col., 2014).

En emulsiones de alimentos lograr una adecuada estructura y conseguir una estabilidad física y oxidativa durante el almacenamiento representa una meta desafiante. La adición de antioxidantes es una de las estrategias aplicada para retrasar las reacciones de oxidación lipídica, sin que ocurran modificaciones notorias en las propiedades generales del sistema emulsificado (Di Mattia y col., 2009).

El otro método usado para inhibir la oxidación lipídica involucra el aumento de antioxidantes endógenos a través de la dieta, los antioxidantes endógenos son metabolizados y depositados en el músculo, especialmente en las membranas de los tejidos, donde sus acciones antioxidantes son más efectivas. Los antioxidantes dietarios pueden jugar un rol importante en restaurar el balance oxidante-antioxidante en los sistemas biológicos, cuando los sistemas antioxidantes celulares existentes fallan en combatir el incremento en los niveles de agentes oxidantes (Botsoglou y col., 1994).

Se encontró que el tipo de dieta consumida por los animales durante la fase de producción tuvo gran influencia en la susceptibilidad de la carne a la oxidación postmortem (Falowo y col., 2014). También que una dieta a base de hierbas, siendo ricas en polifenoles, mejoró la estabilidad oxidativa en cordero cocido comparado con una dieta a base de concentrados (Luciano y col., 2009).

Además, la presencia y nivel de concentración de los diferentes compuestos fitoquímicos como fenólicos, flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos, carvacrol, terpenos y timol junto con otros han sido reconocidos como la fuente potencial de actividad antimicrobiana en los materiales de plantas (Sharma y col., 2012).

Los residuos de los aminoácidos, lisina, arginina, prolina y treonina son propensos a la oxidación en la carne por las reacciones mediadas por radicales para unir los carbonilos de las proteínas mediante reacciones que también dependen de la transición de iones metálicos, como el hierro o el cobre (Estévez, 2011). Estudios han demostrado que la adición de extractos de plantas ricos en fenoles previenen la acumulación de carbonilos proteicos durante el almacenamiento de la carne fresca (Rababah y col., 2004; Rodríguez-Carpena y col., 2011a; Rodríguez-Carpena y col.,

2011b; Jia y col., 2012). Sin embargo, la protección es inferior a la que es comúnmente observada ante la oxidación lipídica como fue demostrado recientemente en hamburguesas de res a las cuales se les adicionó extracto de uva blanca (Jongberg y col., 2011), y en algunos casos no fue encontrado efecto o efecto prooxidativo mediante la adición de extractos de plantas a la carne fresca o productos derivados de ésta (Estévez y Cava, 2006; Lund y col., 2007).

La actividad antioxidante del aloe vera, fenogreco, ginseng, mostaza, romero, salvia y catequinas del té fueron evaluadas en hamburguesas de cerdo (McCarthy y col., 2001a, b). Estos ingredientes fueron más efectivos en reducir la oxidación lipídica en hamburguesas hechas de cerdo congelado (-20°C) que de cerdo fresco. Las catequinas del té, el romero y la salvia fueron identificados como los antioxidantes más efectivos, con potencial decreciente en orden de catequinas del té > romero > salvia y niveles óptimos de 0,25; 0,10; 0,05% respectivamente.

El efecto protector depende de la composición de la materia prima (tanto la carne como los antioxidantes), concentración de antioxidantes y tecnologías de producción. Los efectos antioxidantes de la adición de antioxidantes naturales puede ser más evidente en carne con estrés oxidativo comparado con carnes de alta calidad, donde los efectos pueden ser empañados por una resistencia a natural frente al daño oxidativo (Jongberg y col., 2013).

4.5- Té verde

El té (*Camellia sinensis* L.) de la familia *Theaceae*, es un arbusto pequeño que puede crecer hasta 9 metros de altura, pero es comúnmente podado a los 0,5-1,5 metros cuando es cultivado por sus hojas. Las hojas son naturalmente verde oscuro y brillantes con bordes mellados y miden 2-5 cm de ancho y 4-5 cm de largo. Las flores son blancas y tienen estambres amarillo brillante.

A diferentes edades de la hoja varían las cualidades del té, ya que su composición química es diferente (Senanayake y Namal, 2013).

El té verde es producido mediante la inactivación de la enzima termolábil polifenol oxidasa de las hojas frescas, aplicándoseles calor o vapor, lo cual previene la oxidación enzimática de las catequinas, el flavonoide más abundante presente en el extracto de té verde (Velayutham y col., 2008). El proceso de fermentación y el calentamiento dan paso a la polimerización de catequinas (mono polifenoles) y cambios conformacionales, que al final contribuyen a varias propiedades del té. Basado en el grado de fermentación durante el proceso de manufacturación, el té puede ser clasificado en tres grandes tipos: té verde no fermentado (20%), té negro fermentado (78%) y té oolong semi fermentado (2%) (Cheng y Chen, 1994; Wei y col., 2009).

La composición química del té es compleja, consistiendo en polifenoles (catequinas y flavonoides), alcaloides (cafeína 3,5% del total del peso seco, teotrombina 0,15-0,2%, teofilina 0,02-0,04% y otras metilxantinas), clorofila (0,5%) y otros pigmentos, teanina (4%) y numerosos compuestos de sabor (Graham, 1992), aceites volátiles, polisacáridos, aminoácidos libres (1-1,5%), ácidos fenólicos y dépsidos, carbohidratos, vitaminas, minerales, enzimas y otros componentes sin caracterizar (Karori y col., 2007; Chaturvedula y Prakash, 2011). Entre estos, los componente

más complejos en las hojas de té verde son los carbohidratos (incluyendo fibra celulosa, lignina 6,5%) y los compuestos más simples son las catequinas (25-35% del peso seco de las hojas del té) (Graham, 1992; Balentine y col., 1997; Zaveri, 2006; Abdel-Rahman y col., 2011), un grupo de flavonoides llamados flava-3- ols y que posee dos anillos de benceno, anillos A y B. Además las moléculas de catequinas contienen dihidropyran heterocíclico (el anillo C) que tiene un grupo hidroxilo en el carbón 3 (Yilmaz, 2006). Estas catequinas son sintetizadas en las hojas de té verde a través de rutas metabólicas del ácido malónico y ácido siquímico con ácido gálico como un derivado intermediario (Naidu, 2000).

Los beneficios del consumo de té verde han sido reportados por diversos estudios y son atribuidos a los polifenoles. Entre dichos beneficios se encuentran, mejora en la circulación sanguínea, prevención de enfermedades cardiovasculares, eliminación de varias toxinas y mejorar la resistencia a diversas enfermedades (Afaq col., 2004). Esto puede deberse a que las catequinas que contiene el té verde tienen propiedades antioxidativas, anticancerígenas, antimicrobianas, antivirales, antiinflamatorias y antidiabéticas (Lakenbrink y col., 2000; Yang y Landau, 2000; Zaveri, 2006; Khan y Mukhtar, 2007; Xiay col., 2010).

Además las catequinas del té verde tienen otras actividades farmacéuticas como antihipertensivas e hipolipidémicas (Henry y Stephens-Larson, 1984; Chan y col., 1999).

Quelhas y col. (2010) demostraron que el uso de té verde para marinar la carne mostró ser efectivo para inhibir la oxidación y la formación de aminas heterocíclicas, las cuales tienen propiedades cancerígenas. Además el marinado con té verde no afectó de manera significativa el sabor de la carne, por lo que sería fácilmente aceptado por los consumidores. Aparte de la potente habilidad de barrido de radicales, estos flavonoides son capaces también de unir hierro para mejorar aún más el potencial antioxidante en la célula (Shahidi y col., 1992).

El extracto de té verde es un derivado del cultivo de la planta de hojas perennes de té procesado por la pulverización y secado de las infusiones concentradas luego de hayan sido concentradas a sólidos (40-50%) (Wang y col., 2000).

Los extractos comerciales de té verde están disponibles mayormente en forma de polvo de grano fino. Este extracto puede ser solubilizado en agua antes de su adición a los alimentos. El extracto de té verde soluble en agua tiene una baja viscosidad para una pulverización fácil y una distribución homogénea (Senanayake y Namal 2013).

Los compuestos polifenólicos (mayormente flavonoides) presentes en el extracto de té verde han demostrado propiedades antioxidantes debido a su potencial redox, eso los hace capaces de actuar de varias formas tales como dadores de hidrógeno, agentes reductores, extintores incipientes de oxígeno, e iones quelantes de metales en numerosas aplicaciones en las comidas (Gramza y col., 2006). Los grupos hidroxilo activos presentes en la estructura molecular de los polifenoles son los componentes activos del extracto de té verde que pueden interactuar con los radicales libres para inhibir la oxidación lipídica (Mitsumoto y col., 2005). Además, los polifenoles del té pueden exhibir actividad de barrido contra los radicales libres

(Rice-Evans y col., 1997), radicales superóxido, peroxinitrito, quelantes de hierro y cobre, previniendo la formación de radicales libres de metales catalizados (Lin y Liang, 2000).

Los flavonoides son un grupo de compuestos fenólicos con varias subclases: antocianidinas, flavononas, flavonoles, flavonas e isoflavonas. Estas subclases tienen una estructura común hecha de 15 carbonos con un puente de tres carbonos conectando dos anillos aromáticos en la configuración C6-C3-C6. Junto con los flavonoides, ácidos fenólicos y otro grupo importante divididos en ácidos hidroxibenzóico e hidroxicinámico. El ácido gálico es una estructura relativamente simple y este compuesto es la base para el ácido hidrobencóico y otros derivados con actividad antioxidante (Crozier y Jaganath, 2009).

Estas subclases de flavonoides son las más abundantes en la composición de fenoles del té verde, siendo más del 70% del contenido total de fenoles, como se reportó en diversos estudios (Del Rio y col., 2004; Zhao y col., 2011; van der Hooft y col., 2012).

Stewart y col. (2004) también indicó que el grupo flavonol fue responsable de más del 92% de la actividad antioxidante.

Las funciones antioxidantes de las catequinas del té dependen de la estructura, posición y número de grupos hidroxilo (Hu y col., 2001). Además, la concentración, la solubilidad, la accesibilidad de los grupos activos al oxidante, y la estabilidad del producto juegan un rol importante en las propiedades antioxidantes del extracto de té verde (Guo y col., 1999).

Los isómeros trans y cis son llamados catequina y epicatequina respectivamente. Estas estructuras químicas parecen ser importantes para las actividades antioxidantes de los polifenoles del té (Rice-Evans y col., 1996).

El extracto de té verde contiene seis catequinas primarias nombradas epicatequina (EC), galato de epicatequina (ECG), epigalocatequina (EGC) y galato de epigalocatequina (EGCG) (Kajiya y col., 2004). EGCG es la más importante y mejor estudiada catequina del té debido a su alto contenido (50%) en el té y tiene las propiedades fisiológicas más potentes mientras que EGC y EC están usualmente presentes en componentes traza (Stewart y col., 2004; Taylor y col., 2005). Las catequinas del tipo ester, ECG y EGCG son más amargas y más astringentes que EC y EGC y estos flavonoides tienen más acción sinérgica que componentes individuales del té (Han y Chen, 1995; Fujiki, 1999).

Además de las catequinas, el té verde contiene otros polifenoles como ácido gálico, quercetina, kaempferol, myricetina y sus glucósidos pero a menor concentración que EGCG (Sakakibara y col., 2003; Dubick y Omaye, 2007).

Entre las catequinas presentes en el extracto de té verde, EGCG y ECG son las más potentes exhibiendo actividad antimicrobiana debido a los restos de glucogalina presentes en sus estructuras (Shimamura y col., 2007). La membrana celular externa o membrana citoplasmática de una bacteria está compuesta esencialmente de una bicapa de fosfolípidos y proteínas y es el sitio de mayor interacción con componentes antimicrobianos. Daños en esta membrana vital puede resultar en la muerte bacteriana y puede ocurrir de las siguientes formas: disrupción física de la

membrana (Shimamura y col., 2007); disipación de la fuerza motriz del protón (Juven y col., 1994) e inhibición de la actividad enzimática asociada a la membrana.

Las catequinas (restos de glucogalina y ácido gálico) tienen efecto nocivo en la bicapa lipídica de la membrana que resulta en la pérdida de la estructura celular y eventualmente su función llevando a la muerte celular (Ikigai y col., 1993; Tsuchiya y col., 1996; Cox y col., 2001).

El contenido relativo de catequinas en el té verde depende de cómo las hojas son procesadas antes del secado. La fermentación y calentamiento de las hojas de té durante el proceso de manufacturación puede causar la polimerización de catequinas monopolifenólicas, llevando a cambios en la conformación y así modificando sus propiedades (Cabrera y col., 2006).

Los tratamientos con calor disminuyen la actividad antioxidante de las catequinas del té verde debido a la oxidación, degradación térmica, epimerización y polimerización (Ananingsih y col., 2013).

El nivel de catequinas en el té puede ser reducido fácilmente como resultado de la epimerización y degradación durante el procesamiento (Wang y col., 2008). La estabilidad de las catequinas en diferentes sistemas alimenticios puede estar influida por el pH, temperatura, disponibilidad de oxígeno, la presencia de iones metálicos y también la concentración de otros ingredientes activos (Komatsu y col., 1993; Guo y col., 1999; Kumamoto y col., 2001; Sang y col., 2005).

Friedman y col. (2009) observó que la EGCG disminuyó en un 28% en las hojas de té durante el almacenamiento por 6 meses a 20°C, mientras que ECG se redujo en un 51%. ECG puede ser más susceptible a la degradación que EGCG porque EGCG fue más abundante que ECG en las hojas de té. La pérdida general de la concentración total de catequinas fue del 32%. La degradación de EGCG se debió al efecto del proceso oxidativo ya que no hubo aumento en ECG concurrentemente con la reducción de EGCG.

Estas catequinas en solución acuosa son muy estables cuando el pH se encuentra por debajo de 4, mientras que son inestables a pH mayores a 6. Además, la temperatura de almacenamiento afecta significativamente la estabilidad de las catequinas del té incluso en condiciones ambientales (Komatsu y col., 1993; Wang y Helliwell, 2000; Chen y col., 2001; Su y col., 2003; Wang y col., 2006).

No solo la temperatura, sino también el tiempo de calentamiento influye en la epimerización de las infusiones de té verde (Wang y Helliwell, 2000).

Wang y Helliwell (2000) reportaron que las catequinas del té fueron sometidas a epimerización a 100°C, la cual fue dominada por la epimerización de epiestructura a noepiestructura. El pH influyó el grado de epimerización. Mayor epimerización ocurrió en agua de grifo (pH 7,1) más que en agua purificada (pH 5,9). La complejidad de los iones en el agua de grifo y la diferencia de pH entre el agua de grifo y purificada se piensa que fue también la razón principal para los diferentes grados de conversión de catequinas individuales. En la infusión con agua de grifo, las catequinas se epimerizaron con facilidad y se degradaron rápidamente.

Otros autores también reportan que en soluciones ácidas ($\text{pH} < 4$), las catequinas del té verde muestran una estabilidad excepcional, en soluciones alcalinas ($\text{pH} > 8$) sin embargo, son extremadamente inestables (Zhu y col., 1997).

La estabilidad de las catequinas es influenciada por la concentración de oxígeno, la presencia de radicales libres así como iones metálicos. Sang y col. (2005) reportó que niveles más altos de oxígeno y bajas concentraciones de antioxidantes aumentaron la oxidación de las catequinas.

Los iones metálicos pueden afectar la actividad antioxidante de las catequinas por su unión a éstas. Las catequinas reaccionan con los iones metálicos para formar complejos metálicos. Kumamoto y col. (2001) reportó que la actividad antioxidante de EGCG aumentó en presencia de Cu^{2+} y Mn^{2+} , sin embargo Fe^{2+} redujo la actividad.

La habilidad de las catequinas del té para unirse con los componentes férricos de la mioglobina ayudarían en el retraso de la oxidación lipídica cuando reaccionan con los radicales libres (Mitsumoto y col., 2005).

A su vez las catequinas del té demostraron acción sinérgica en reducir la oxidación lipídica cuando se combinaron con romero y salvia a niveles inferiores a 0,5% en hamburguesas de cerdo crudas y cocidas producidas a base de carne de cerdo congelada y de este modo pueden ser usados como antioxidantes naturales (McCarthy y col., 2001a, b). Dosis altas de extracto etanólico de té verde (1000 mg/kg) pueden retrasar la pérdida de color rojo en hamburguesas crudas de cerdo a través del almacenamiento (Jo y col., 2003).

Nakagawa (1975) descubrió que los tés que contienen más catequinas y aminoácidos puntuaron más alto en las evaluaciones de sabor por los consumidores. Su resultado indicó que la astringencia y amargura del té verde fue determinada principalmente por su contenido de catequinas y otros compuestos fenólicos.

El té verde ha sido aplicado a una variedad de carnes para minimizar la oxidación lipídica a través de la quelación de los metales y el barrido de los radicales libres por las catequinas y teaflavinas (Tang y col., 2001; Tang y col., 2002; Yilmaz, 2006).

El uso tecnológico del extracto de té verde no está limitado a la protección de la carne y sus productos como un ingrediente funcional, sino que también puede ser aplicado en films y otras formas de empaquetamiento. Esta tecnología tiene ventajas porque no modifica la formulación del producto y permite el uso de atmósfera modificada (Lorenzo y col., 2016).

Siripatrawan y Noipha (2012) evaluaron el efecto de film de quitosano preparado con extracto de té verde (20%) en la vida media de salchichas de cerdo comerciales. La oxidación lipídica y el crecimiento microbiano se redujo en las muestras envueltas con el film enriquecido con fenoles, comparado con las salchichas empaquetadas con film común, prolongando la vida media de las salchichas de cerdo.

Rababah y col. (2011) comparó extractos de plantas con TBHQ (terbutil hidroquinolona). Tanto los extractos de plantas como el TBHQ redujeron significativamente la oxidación lipídica en la carne de cabra. Además, mayores niveles de adición de antioxidantes fue más efectiva en minimizar la oxidación

lipídica. El extracto de uva aumentó el rojo de la carne mientras que el extracto de té verde lo disminuyó.

4.6- Extracto de romero

El romero (*Rosmarinus officinalis* L.) en particular ha sido exitosamente usado como fuente de antioxidantes en la dieta animal. Es una planta que pertenece a la familia *Labiataeo Lamiaceae*. Tiene su origen en la región mediterránea. Es perenne, leñosa y de porte arbustivo, con una vida media que varía entre 5 y 15 años y puede alcanzar un tamaño de hasta 2 metros. Sus hojas son firmes, de color verde oscuro por el haz y blanquecinas por el envés, provistas de abundantes glándulas de esencia. Sus flores son de color azul o violáceo pálido con los estambres más largos que los pétalos y el labio superior de la corola curvado y sus semillas son de tamaño reducido. La hoja fresca de romero presenta una composición compleja que incluye diversas familias de compuestos. El grupo de compuestos más importante, tanto por su proporción como por su potencialidad, es el de los compuestos fenólicos y polifenólicos, lo que permite obtener diferentes aceites y extractos mediante el uso de disolventes (Schwarz y col., 2001).

En contraste con el extracto de té verde, el extracto de romero contiene relativamente concentraciones más altas de di terpenos, aceites volátiles, y ácidos fenólicos (Brewer, 2011), todo lo cual puede sumar a la experiencia organoléptica por los consumidores.

El romero es usado comercialmente como un antioxidante en la carne y sus derivados, así como en otros alimentos. Varios autores han reportado la efectividad del romero en mantener las cualidades sensoriales y disminuir la oxidación lipídica (Abd El-Alim y col., 1999; Sánchez-Escalante y col., 2001; Djenane y col., 2002; Nissen y col., 2004).

Algunos autores han mencionado diferencias existentes en el contenido de polifenol entre las diferentes poblaciones tanto de romero silvestre como cultivado, dependiendo de una variabilidad intraespecífica, condiciones climáticas y el tiempo de cosecha (Hidalgo y col., 1998; Luis y Johnson, 2005; Sotomayor y col., 2009).

La hoja de romero destilada, libre de aceite esencial, contiene una gran cantidad de polifenoles que no son extraídos con vapor de agua. Dentro de este grupo destacan los polifenoles diterpénicos: ácido carnósico y carnosol; flavonoides: apigenina, genkwanina y luteolina; y ácidos fenólicos como el ácido rosmarínico, ácido cumárico y ácido gálico (Del Baño y col., 2003; Papageorgiou y col., 2008). Esta riqueza polifenólica permite la obtención de extractos de romero ricos en polifenoles hidrosolubles y liposolubles. La actividad antioxidante de los extractos de romero va a depender de su contenido en compuestos fenólicos: los extractos ricos en diterpenos fenólicos son más efectivos en sistemas lipídicos (Hopia y col., 1996) mientras que los extractos ricos en ácido rosmarínico son más efectivos en sistemas acuosos (Cuvelier y col., 2000). Los mecanismos antioxidantes y antimicrobianos de estos diterpenos del romero son bien conocidos. Los polifenoles del romero han mostrado exhibir un fuerte efecto antioxidante contra las especies reactivas al oxígeno y los radicales libres que agreden los alimentos así como en modelos de sistemas biológicos.

El ácido carnósico y el carnosol son agentes quelantes de metales y también actúan como radicales libres ya que su anillo de benceno inhibe las reacciones en cadena durante la oxidación lipídica (Frankel, 1998). El carnosol y el ácido carnósico han sido sugeridos de tener más del 90% de las actividades antioxidantes del extracto de romero (Aruoma y col., 1992; Frankel y col., 1996). Los diterpenos del romero también afectan severamente el orden de los lípidos y el empaquetado de fosfolípidos de membrana (Pérez-Fons y col., 2010) y son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativas y positivas y levaduras, siendo el ácido carnósico, ácido rosmarínico y carnosol los principales componentes bioactivos antimicrobianos (Moreno y col., 2006).

Además el carnosol, y a una menor medida el ácido carnósico, son moléculas biodisponibles para las ovejas que son depositadas en el músculo aumentando el estatus antioxidante en la carne de cordero (Moñino y col., 2008; Jordán y col., 2014).

El ácido carnósico y el carnosol podrían inducir ciertas rutas metabólicas (Keap1-Nrf2) responsables de incrementar la transcripción y síntesis de antioxidantes endógenos, como las enzimas de “fase 2” (GSTP, GSH, SOD) (Satoh y col., 2013; Lin y col., 2015).

El mecanismo de la actividad antioxidante de los productos a base de romero dependerá por tanto de su composición química: las quinonas isoprenoides actúan como terminadores de la cadena de radicales libres y como quelantes de especies reactivas al oxígeno (ROS); los compuestos fenólicos se comportan como antioxidantes primarios al reaccionar con los radicales lipídicos e hidroxilo para convertirlos en productos estables; pueden actuar como quelantes de iones metálicos (principalmente Fe^{2+}), reduciendo así el ratio de formación de especies reactivas derivadas del oxígeno, y pueden actuar como protectores y regeneradores de otros antioxidantes, como es el caso de la vitamina E (Gladine y col., 2007).

Algunos compuestos polifenólicos, principalmente los flavonoides, están implicados en el funcionamiento del organismo a través de su participación en actividades biológicas, como son: efecto vasodilatador, acción anticarcinogénica, antibacteriana y estimulante del sistema inmune (Middelton y col., 2000), antialérgicos y antivirales (Song y col., 2005); presentan efectos estrogénicos e inhiben numerosas enzimas como las fosfolipasas A, ciclooxigenasas y lipooxigenasa, aunque estimulan otras como la superóxido dismutasa. Algunos de estos compuestos bioactivos reducen el riesgo de muchas enfermedades, incluyendo enfermedades crónicas como enfermedades cardiovasculares, hipertensión diabetes y cáncer (Petiwala y col., 2013; Borrás-Linares y col., 2015).

Los diterpenos del romero pueden ser degradados en el aparato digestivo y luego ser sometidos a detoxificación en el hígado. La oxidación del ácido carnósico lleva a la subsecuente producción de carnosol y 7 metilrosmanol, como un posible precursor del metabolito diterpenico hallado en el músculo de los corderos (Jordán y col., 2014).

El destilado de hojas de romero (DRL) es un subproducto de aceite esencial, el cual es rico en polifenoles antioxidantes. Moñino y col. (2008) suplementó las dietas de ovejas en gestación y lactación con 10% y 20% con DRL, así que las

concentraciones activas de polifenoles de romero fueron alcanzadas en el musculo del cordero, sin ningún perjuicio en la performance animal.

Estas dietas DRL preservaron el color, olor y sabor, retrasaron la rancidez, inhibieron la oxidación lipídica, e incluso redujeron moderadamente el total de recuentos viables. Sin embargo, los estudios fallaron en aclarar si los antioxidantes endógenos del romero fueron efectivos en la prevención de la oxidación lipídica en carne cocida de cordero.

También las dietas de romero redujeron la formación de lípidos volátiles oxidativos en carne fresca de cordero (Ortuño y col., 2014).

En un estudio donde se evaluó la efectividad del romero como antioxidante así como la influencia de la luz en el cambio de coloración de la carne, se observó que la adición de romero y ácido ascórbico a hamburguesas de carne vacuna obtuvo los valores de a^* más altos ($p > 0,05$). Especialmente aquellos que permanecían en la oscuridad (Sánchez-Escalante y col., 2011).

La efectividad del romero y la carnosina (solos o en combinación con ácido ascórbico) en la preservación del color rojo de la carne fresca ya había sido probada por Djenane y col. (2002) y Sánchez-Escalante y col. (2001). Contradictoriamente, el efecto del agregado de romero para preservar el color rojo de la carne ha sido cuestionado por Yildiz-Turp y Serdaro-glu (1998) y McCarthy y col. (2001a, 2001b). El extracto de romero inhibió la oxidación lipídica en carne cruda refrigerada. Sin embargo su efectividad antioxidante en lípidos de carnes cocidas es dudosa (Dal y col., 2005; Haak y col., 2006; Botsoglou y col., 2007).

Esto se debe a que el calentamiento altera las membranas del músculo, ya que facilita la interacción de los agentes oxidantes tales como el grupo hemo de hierro con ácidos grasos insaturados. Esto promueve la aceleración de la oxidación lipídica llevando a un rápido deterioro en la calidad y el desarrollo de rancidez (Tichivangana y Morrissey, 1985). Las altas temperaturas también causan la disrupción de la compartimentación celular y desnaturalización de las proteínas musculares. Siguiendo con la ruptura de los grupos hemo de las mioproteínas, hay una liberación masiva de iones Fe^{+2} , incrementando la concentración de hierro libre (Chen y col., 1984). El deterioro en la performance de la permeabilidad selectiva de la membrana del medio favorece la salida de Fe^{+2} y otros cationes divalentes envueltos en el inicio de la oxidación lipídica (Mielche y Bertelsen, 1993).

Después de cocida, la carne sufre una progresiva oxidación lipídica favorecida por la refrigeración, una atmósfera oxidante y la existencia de luz durante la exposición del producto para la venta (Nieto y col., 2010).

En cualquier caso los antioxidantes del romero serán menos efectivos en preservar carne de cordero cocida que cruda. Esta falta de efectividad de las DRE como antioxidante endógeno en hamburguesas cocidas puede deberse al hecho de que las hamburguesas parten de un substrato más oxidado que la carne entera cruda, debido al picado involucrado, mayor grasitud y calentamiento, lo que significa que el poder de los antioxidantes endógenos es necesario para extender la vida media. Los diterpenos del romero son bastante termoestables a temperaturas de cocción, aunque varios productos de degradación han sido reportados de formarse dependiendo de las condiciones de temperatura (Schwarz, 1992). Así, el cocido

puede degradar parte de los polifenoles del romero depositados en el músculo del cordero, afectando su potencial actividad antioxidante.

Antecedentes sobre trabajos de evaluación sensorial.

Tabla II- Efecto de antioxidantes sobre la evaluación sensorial en diferentes estudios

Referencia	Tratamiento	Concentración	Almacenaje	Carne/ producto	Resultado Sensorial		
					Textura	Sabor	Aceptabilidad
Nath y col. (2016)	Extracto de té verde Extracto de romero	de 2% de 2%	4 °C, 15 días	Hamburguesas de cabra	NS	Las de romero obtuvieron mejores valores que las de té verde	La aceptabilidad fue mayor en las de romero que las de té verde
Jongberg y col. (2013)	Extracto de romero Extracto de té verde	de 400 ppm de 500 ppm	MAP, 5°C, 30 días	Salchichas tipo bologna	Ambos extractos redujeron los valores de textura	Las de romero fueron encontradas más amargas y picantes	
Bañón y col. (2007)	Extracto de té verde + SO ₂	de 300 mg/kg 100 mg/kg	Envasado al vacío, -18°C, 6 días	Hamburguesas de res cocidas	Menor pérdida de textura que el control	Mostró menos sabor rancio que control	
Nieto y col. (2011)	DRE en ovejas gestantes	10% 20%	4 °C, 4 días	Carne de cordero cocida	Mayor terneza	Levemente retrasó el sabor rancio, NS en concentración	
Quelhas y col. (2010)	Marinado de té verde	2g/250ml agua	1, 2, 3, 4, 5 hs a 5°C	Lomo de res	NS	NS	NS

SO₂- dióxido de azufre. DRE- Dietas extracto de romero. MAP- atmósfera modificada (30% CO₂/69% N₂/1%O₂). NS- no significativa.

Como se resume en la tabla III, existen muy pocos antecedentes de evaluación sensorial en el uso de antioxidantes y por diferentes métodos (panel entrenado o prueba de consumidores). Los mismos muestran resultados contradictorios cuando se usó extracto de romero (Nath y col. (2016) y Jongberg y col. (2013)) y un efecto positivo del té verde en disminuir la intensidad del sabor rancio.

5- HIPÓTESIS

La aplicación de antioxidantes naturales, romero y té verde, retrasa la oxidación de los lípidos en las hamburguesas de cordero y mantiene estables las cualidades organolépticas de la carne por más tiempo.

6- OBJETIVOS

6.1- Objetivo general:

Extender la vida comercial de hamburguesas refrigeradas elaboradas con carne de cordero por medio del uso de antioxidantes naturales (extracto de romero y té verde) agregados post-mortem.

6.2- Objetivos particulares:

Estudiar el efecto de los diferentes extractos de los antioxidantes naturales sobre:

- La evolución de color en exposición al oxígeno en vitrina refrigerada
- La oxidación de los lípidos
- Los parámetros sensoriales de importancia para el consumidor final.

7- MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo de este ensayo se contó con la planta frigorífica Casa Blanca, la cual nos permitió el procesamiento de la carne. Los análisis de laboratorio y el análisis sensorial se realizaron en la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni, perteneciente a la Facultad de Agronomía.

7.1- Materias primas

-Carne: se utilizaron paletas de corderos que fueron terminados a base de pradera de *Dactylis glomerata* en la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni (EEMAC) perteneciente a la Facultad de Agronomía, ubicada en el departamento de Paysandú. Dichos animales fueron faenados con 7 meses de edad y un peso promedio de 35±5 kg.

-Extracto de té verde: GUARDIAN™ Green Tea Extract 20S y extracto de romero: GUARDIAN™ 75 del proveedor DANISCO, importado y gestionado por la empresa DUEY S.A.

La mezcla fue realizada mediante amasado a mano. Luego de la mezcla se elaboraron las hamburguesas manualmente con moldes de 9,5 cm de diámetro destinados a dicho fin.

La concentración evaluada para té verde fue: 400 ppm

La concentración evaluada para romero fue: 800 ppm

7.2- Elaboración de las hamburguesas y tratamientos

Se describen las etapas de la elaboración de las hamburguesas, realizadas en la planta frigorífica:

-Se desosaron las paletas, retirándoseles algo de la grasa superficial, así como las aponeurosis y tendones, llegando a un total de 9 kg de carne, con un porcentaje de grasa del 17%.

-Picado de carne: la carne fue picada con una máquina picadora industrial con rejilla de un calibre aproximado de 5 mm.

-Los 9 kilos de carne picada se separaron en 3 lotes los que fueron asignados al azar a un lote control, un lote mezclado con 400 ppm de extracto de té verde y el restante con el agregado de 800 ppm de extracto de romero. A su vez, dentro de cada tratamiento se realizaron 3 réplicas de 1 kg de carne picada cada una.

-Se realizaron emulsificados para control, extracto de té verde y extracto de romero, disolviendo los antioxidantes en una solución buffer de 0,15 M de NaCl, dicha solución buffer también se aplicó al lote control. Primero se coloca la carne en una bolsa (1 kg) y después se le agregan los extractos, previamente hidratados con la solución buffer, para luego amasarse hasta lograr una mezcla uniforme.

-Finalmente la carne picada, ya con los extractos incorporados, se extiende con un palo de amasar entre dos capas de papel film, hasta obtener un espesor de 1 cm aproximadamente. Se cortan las hamburguesas manualmente con moldes de forma circular de 9,5 cm de diámetro, quedando de un peso aproximado de 85 g cada una.

7.3- Evolución del color

Las muestras se almacenaron en heladera vitrina a 2°C en ambiente oscuro, dispuestas en bandejas de plástico, y fueron cubiertas con film permeable al oxígeno sin que éste entre en contacto con la carne.

Para evaluar la evolución del color de la carne se empleó un colorímetro MINOLTA CR-300. Se registraron por triplicado de cada hamburguesa las coordenadas L*, a* y b*; quienes representan luminosidad (negro-blanco), contenido de +rojo o -verde y contenido de +amarillo o -azul respectivamente.

El espacio de color Hunter L*, a*, b* se basa en un esquema de vectores que se representan de forma tridimensional, y que están basados en la teoría de los colores opuestos. L* se refiere a la luminosidad y se ubica verticalmente, tomando valores de 100 (blanco) y 0 (negro); mientras que a* y b*, ubicados horizontalmente, no tienen límites, pero sí valores positivos o negativos.

A partir de estos parámetros se calcularon el tono (H^*) y la cromaticidad (C^*), los cuales se definen por las siguientes expresiones matemáticas:

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

$$H = \tan^{-1}[b^*/a^*][\text{grados}]$$

Los registros de evolución de color se realizaron a los 0, 3, 6 y 9 días. Finalizada la medición de color en cada momento, las hamburguesas correspondientes al día de evaluación se envasaron al vacío y fueron congeladas hasta su posterior análisis de oxidación de lípidos y panel sensorial.

7.4- TBARS

La medición de la capacidad antioxidante se puede realizar de diferentes maneras, una de estas es TBARS, esta prueba mide el daño causado a los lípidos, es decir, el nivel de peroxidación sufrida como consecuencia de la actividad oxidante. Se fundamenta en la reacción entre el malonaldeído, uno de los principales productos secundarios formado durante la oxidación de los ácidos grasos insaturados, y el ácido tiobarbitúrico para formar el complejo MDA-TBA, el cual presenta una tonalidad rosácea. Dicho cromóforo de color rosa puede ser detectado por espectrofotometría. La intensidad de la coloración rosa-roja es proporcional al nivel de enranciamiento, y permite cuantificar la cantidad de MDA en la carne (Tarladgis y col., 1960; Gray y Monahan, 1992; Raharjo y Sofos, 1993).

Londoño (2004) comenta que el método TBA (Thiobarbituric Acid), y conocido ampliamente como TBARS (Sustancias Reactivas con el Ácido Tiobarbitúrico) es una técnica oficial (AOCS American Oil Chemists' Society, method Cd 19-90) mundialmente aceptada para determinar la peroxidación lipídica. Se utilizan como reactivos ácido tricloroacético al 15%, buffer Tris 50mM (pH 7,4) ácido tiobarbitúrico al 0,75% y se mide absorbancia a 531nm.

7.5- Sensorial

El análisis sensorial permite medir, analizar e interpretar reacciones de las personas ante las características de los alimentos, al igual que la manera en la que estos son percibidos por los sentidos de la vista, olfato, gusto y tacto. Es una forma rápida de determinar la vida de anaquel de un producto, mediante el uso de un panel entrenado, para determinar si existen diferencias entre un control y un producto o entre diversos productos elaborados bajo ciertas condiciones y con diferentes tiempos de almacenamiento.

Las pruebas descriptivas son las más usadas para determinar la intensidad de las características sensoriales de un producto e identificar los parámetros del fin de la vida de anaquel. Es con frecuencia el método óptimo para determinar la vida de anaquel, pero es muy importante que estos datos sean correlacionados con pruebas de percepción del producto por parte de los consumidores. De otra manera, el producto podría ser evaluado por el panel experto como caducado pero todavía ser aceptable para los consumidores (López Hernández, 2013).

En este ensayo la escala utilizada es de tipo continua y estructurada con una amplitud de 7 puntos (1 nada, 7 muy intenso), evaluando: color, intensidad de sabor, sabor rancio y sabores extraños, sabor/aroma a romero, sabor/aroma a té verde. Se utiliza el panel de 8 jueces del DTA, el cual está entrenado específicamente en el reconocimiento de los atributos de las muestras en cuestión. Esto incluye, textura, rancidez, sabor a carne, sabor a cordero, jugosidad, sabor/aroma extraño, sabor/aroma a romero, sabor/aroma a té, color. Las pruebas incluirán pruebas de discriminación, y pruebas descriptivas. Las hamburguesas fueron cocidas envueltas en papel de aluminio en una plancha, mantenidas en esas condiciones en un calienta platos para que no se enfriaran. Fueron identificadas mediante una numeración de tres dígitos y presentadas a los panelistas quienes no sabían de qué muestra se trataba. Las 4 sesiones realizadas se llevaron a cabo en una sala con cabinas individuales y manteniendo las mismas condiciones de luz, temperatura y humedad en todas las sesiones.

7.6- Análisis estadístico

Para el análisis de las variables de color y de oxidación de lípidos se usó un diseño de parcelas al azar con arreglo factorial de tratamientos, utilizando un modelo general incluyendo el efecto de la media general, de los tratamientos y días de evaluación.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + D_j + (T \times D)_{ij} + e_{ijk}$$

Dónde: Y_{ij} = variables de respuesta; μ = Media general; T_i = efecto del i-esimo nivel del (i= 0,1); D_j = efecto de la j-esima días de conservación (j=0, 3, 6, 9 días); e_{ijk} = error experimental.

Se realizó un análisis de varianza mediante el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS versión 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, 2012). Los datos fueron analizados por el análisis de la varianza (ANOVA). Las diferencias significativas entre medias se realizaron por Tukey con un nivel de significancia $\alpha=0,05$.

Para el análisis sensorial se utilizará un modelo lineal generalizado asumiendo una distribución multinomial que incluya como efectos: sesión, panelista anidado a sesión, orden de la muestra, tratamientos e interacción entre los tratamientos. Se utilizó el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS versión 9.1 (SAS, Institute, Inc., 2005) y un nivel de significación de $p \leq 0,05$.

8- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1- Evolución del color

La tabla IV muestra las medias y el error estándar, que fueron obtenidos para los diferentes parámetros de color evaluados según el tratamiento y días de evaluación.

Tabla IV- Efecto de los tratamientos sobre la estabilidad del color de las hamburguesas envasadas con film permeable al oxígeno y en vitrina refrigerada durante 9 días.

Tratamiento	L*	a*	b*	C*	H*
Control	53,15a ±0,48	13,76b ±0,26	12,48a ±0,17	18,63b ±0,29	47,34c ±0,40
Romero	52,16a ±0,48	13,97b ±0,26	11,01b ±0,17	17,80b ±0,29	51,57a ±0,40
Té verde	53,28a ±0,48	15,48a ±0,26	12,81a ±0,17	20,12a ±0,29	50,16b ±0,40
P<f	NS	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Días de exposición					
0	54,38a ±0,56	16,84a ±0,30	12,90a ±0,20	21,23a ±0,33	52,53a ±0,46
3	53,65ab ±0,56	14,52b ±0,30	12,15b ±0,20	18,96b ±0,33	49,91b ±0,46
6	51,54c ±0,56	13,95b ±0,30	11,73b ±0,20	18,25b ±0,33	49,91b ±0,46
9	51,89bc ±0,56	12,30c ±0,30	11,62b ±0,20	16,97c ±0,33	46,40c ±0,46
P<f	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Letras diferentes (a, b, c) indican diferencia significativa ($P < 0,0001$) entre tratamientos o días. NS- No significativo.

A la hora de hacer el análisis de la evolución del color, los parámetros más importantes a tener en cuenta son a^* , C^* y H^* . Estos parámetros están relacionados entre sí y son quienes reflejan el contenido de rojo, la intensidad del color y grado de amarronamiento, respectivamente. No se encontró interacción para los días y tratamientos a excepción del parámetro H^* .

Analizando dichos parámetros según tratamientos, podemos observar que para los resultados de a^* se encontraron diferencias significativas con valores superiores para las hamburguesas tratadas con té verde en relación a las de romero y los controles, quienes no se diferenciaron entre sí. Esto demuestra la eficiencia de este antioxidante en retrasar la formación de MMb, ya que algunos estudios han confirmado que la oxidación de la mioglobina y la oxidación lipídica están interrelacionados en la carne y la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados cataliza la formación de metamioglobina y viceversa (Renerre, 1990; Bao y col., 2008), de aquí la importancia de los valores de a^* como indicadores de la calidad de la carne, donde menores valores de dicho parámetro van a estar indicando mayor grado de oxidación en la carne.

En contraste con nuestros resultados, Nath y col. (2016) evaluando el extracto de romero y el té verde, ambos a una concentración del 2%, en hamburguesas de cabra en condiciones de refrigeración durante 15 días, y Wojciak y col. (2011) en otro estudio con carne de cerdo cocida, utilizando ambos extractos a una concentración del 10%, también en condiciones de refrigeración durante 30 días, hallaron eficientes tanto al té como al romero para mantener el color rojo de la carne. Concordando con esos dos estudios y discrepando con nuestros hallazgos, Sánchez Escalante y col. (2011) encontró que el extracto de romero más el ácido ascórbico, a una concentración de 1 g/kg, fue efectivo manteniendo el color rojo en hamburguesas de carne vacuna, envasadas con MAP y mantenidas en condiciones de refrigeración durante 20 días, si bien el tipo de envasado y la combinación con ác. ascórbico pueden haber influido en los resultados.

En nuestro estudio los valores de rojo fueron disminuyendo al correr de los días en todos los tratamientos, hallándose diferencias significativas entre los días 0, 3-6, y 9, pero no entre los días 3 y 6, resultados que se muestran en la tabla IV; esto se debe a que al aumentar la exposición al oxígeno aumenta la conversión de MbO₂ a MMb, llevando a la carne de un color rojo brillante a uno más amarronado, observándose como una disminución en los valores de a* obtenidos con el colorímetro.

Siguiendo con el análisis de los parámetros de color, el chroma (C*) es el parámetro que indica la saturación o intensidad del color, sus valores tienden a disminuir a medida que se pierde el color rojo de la carne, ergo a medida que aumenta la formación de MMb, y es por esto que está altamente relacionado con los valores de a*.

Las hamburguesas tratadas con té verde fueron las que obtuvieron los mejores resultados, y las únicas que destacaron, ya que no se encontraron diferencias significativas entre las tratadas con romero y los controles. Esto es coherente porque las hamburguesas tratadas con té verde fueron las que obtuvieron los mejores valores de a*.

Los valores para C* al correr de las mediciones se iban haciendo más bajos y fueron halladas diferencias significativas en los resultados obtenidos tanto para los tratamientos como para los días, como muestra la tabla IV. Bañón y col. (2007) evaluando el té verde (300mg/kg) en combinación con dióxido de azufre (100 mg/kg), en hamburguesas de carne vacuna almacenadas refrigeradas durante 6 días, luego envasadas al vacío y mantenidas a -18°C por 30 días, y cocidas posteriormente, también encontraron una reducción en los valores de C* con el paso del tiempo y que el té evitó dicha disminución de manera significativa. También Bañón y col. (2012) reportaron disminuciones en los valores de C* al pasar el tiempo, pero sin diferencias significativas entre el control y el tratamiento de dieta de romero en ovejas (0,9 kg/animal/día) administrada en los períodos de gestación y lactación, para luego alimentar a sus hijos con esa dieta *ad libitum*, más un suplemento de 600 mg de extracto de romero por kg de ración durante 21 días, almacenando los lomos refrigerados y en MAP durante 21 días; si bien se utilizó una modalidad de administración del antioxidante distinta y diferente envasado, coincide con nuestros hallazgos de que el romero no fue eficiente en mantener estables los valores de C*.

En cuanto a los días se pudieron apreciar diferencias entre los días 0, 3-6, y 9, siendo que no hubo cambios preponderantes entre los días 3 y 6.

El otro parámetro importante a tener en cuenta es H*. Éste parámetro permite monitorizar el amarronamiento de las carnes rojas, y como muestra la tabla IV, se encontraron diferencias significativas tanto en los tratamientos como en los días, lo que nos permite afirmar que los antioxidantes contribuyeron a retrasar dicho amarronamiento. A su vez fue el único parámetro de color en el que se encontró interacción entre los días y los tratamientos.

Las diferencias significativas se vieron entre los tres tratamientos, siendo las hamburguesas con romero las que obtuvieron los mejores resultados. En éstas hamburguesas no hubo diferencias significativas entre los días 0, 3 y 6, y entre los días 6 y 9, solo apreciándose diferencias entre el día 9 y el resto. La tabla IV también muestra que para las hamburguesas tratadas con té verde ocurrió lo mismo. Es a partir del día 3 cuando se comienza a ver el cambio, diferenciándose las tratadas del control, pero sin diferenciarse las tratadas entre sí. En el días 6 se observa que las que destacaron fueron las de romero, sin hallarse diferencias preponderantes entre los otros dos grupos. En cuanto al día 9, se aprecia que los controles obtienen los peores resultados, sin apreciarse diferencias entre los dos tratamientos. No se encontraron diferencias entre los días 3 y 6, pero sí entre estos y los días 0 y 9. En cualquier condición, tratadas o control, los valores de H* disminuyeron a medida que pasaba el tiempo. Lo que sucede en general es que los valores de H* tienden a aumentar en contraste con los valores de C* que tienden a disminuir, como fue reportado por Bañón y col. (2007) y Bañón y col. (2012).

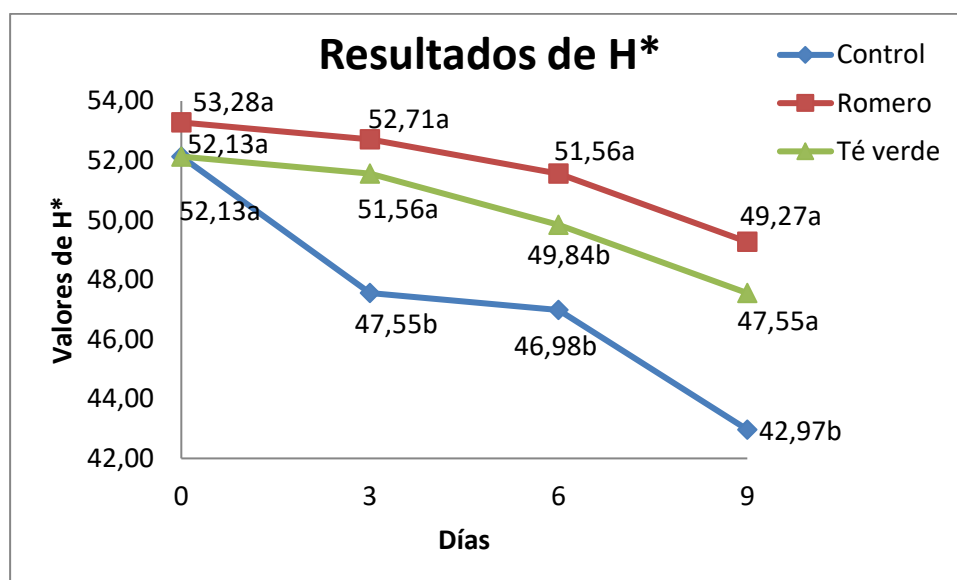


Figura 1- Efecto del tratamiento sobre los valores de H* en función de los días. Letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre los tratamientos.

En cuanto a los valores de b* (nivel de amarillo), se encontraron diferencias significativas en los resultados obtenidos para los días y para los tratamientos (tabla IV). La tabla IV muestra como las hamburguesas tratadas con té verde y las control obtuvieron mejores valores de amarillo (b*), que las de romero. Nath y col. (2016) también reportaron que el té obtuvo mejores valores de b* frente al romero luego de 5 días. Sin embargo Wojciak y col. (2011), no encontraron diferencias significativas para este parámetro, ni para el romero ni para el té verde, con menos de 10 días de almacenamiento.

Los valores fueron disminuyendo con el correr de los días y hubo diferencias significativas solo entre el día 0 y el resto, los valores para los otros días se asemejaban (tabla IV). Esto se contradice con otros estudios, como por ejemplo el

de Bañón y col. (2012), donde los valores de b^* tendieron a ir en aumento, si bien las condiciones, así como el tiempo de almacenaje, y la manera de administración del extracto fueron diferentes a las de nuestro estudio.

En ninguno de los casos se encontraron diferencias significativas en los valores obtenidos de L^* (parámetro que indica la claridad que tiene el color), ni en los tratamientos aplicados ni en los días transcurridos. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Nath y col. (2016), en su estudio en hamburguesas de cabra y con Serrano y col. (2014), quién administró dietas de romero con una concentración de 600 mg/kg de ración, por 240 días a ovejas gestantes y luego a los corderos hijos de esas ovejas también se los alimentó con esa dieta por 80 días. Los lomos de esos corderos permanecieron durante 21 días envasados en MAP y refrigerados, y no se encontraron diferencias significativas en los valores de L^* antes de 7 días de almacenaje. Sin embargo otros autores como Wojciak y col. (2011), reportaron que el té obtuvo valores más bajos de este parámetro, aunque en este caso se utilizó carne cocida, lo cual puede haber influido en el resultado.

En resumen, el uso de antioxidantes contribuyó al retraso en el deterioro del color de la carne, siendo el té verde el más efectivo.

8.2- Resultados TBARS

La tabla V muestra los valores medios y el error estándar de malonaldehído obtenidos en la prueba TBARS.

Tabla V- Resultados TBARS expresados en mg MDA/kg.

MgMDA/kg				
Tratamiento	Control	Romero	Té verde	P<f
	5,32X $\pm$ 0,22	1,56Y $\pm$ 0,22	1,07Y $\pm$ 0,22	0,0001
Días				
0	1,46cX $\pm$ 0,43	0,60bX $\pm$ 0,43	0,81aX $\pm$ 0,43	0,0001
3	4,85bX $\pm$ 0,43	1,62abY $\pm$ 0,43	0,85aY $\pm$ 0,43	0,0001
6	9,07aX $\pm$ 0,43	2,73aY $\pm$ 0,43	1,77aY $\pm$ 0,43	0,0001
9	5,91bX $\pm$ 0,43	1,28abY $\pm$ 0,43	0,82aY $\pm$ 0,43	0,0001

Letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre los días. X, Y muestran diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre los tratamientos. MDA- malonaldehído. NS- No significativo.

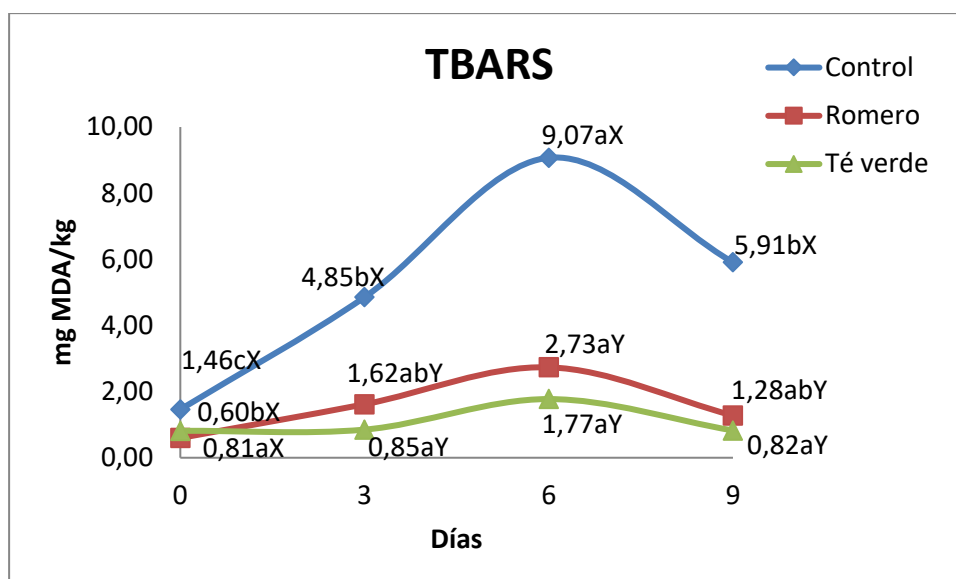


Figura 2- Resultados TBARS. Mg MDA/kg por tratamiento en función de los días.

MDA- malonaldehído. Letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre los días. X, Y muestran diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre los tratamientos.

En los resultados se aprecian diferencias significativas en los valores de malonaldehído entre las hamburguesas control y las tratadas, demostrando así el efecto inhibitorio de la oxidación lipídica del romero y el té verde gracias a sus componentes como los polifenoles, flavonoides y catequinas; si bien no se observaron mayores diferencias entre ellos. En todos los días evaluados los controles obtuvieron los valores más altos, siendo al día 6 casi tres veces mayores que los tratamientos. Sin embargo se constató interacción entre los días y los tratamientos (ver figura 2) en cuanto a esta interacción se vio que, en el día 0 no existieron diferencias entre los tratamientos, mientras que a partir del día 3 ambos antioxidantes mantuvieron valores inferiores de malonaldehído en relación a los controles.

El té resultó ser el mejor antioxidante, cuyos valores se mantuvieron prácticamente constantes a lo largo del estudio, hallazgos similares fueron reportados por otros autores (Nath y col., 2016), aunque hay quienes reportan que el romero fue mejor antioxidante frente al té como Nissen y col. (2004) estudiando los extractos de té y romero, ambos a 200 ppm, en hamburguesas de cerdo envasadas al vacío y refrigeradas durante 10 días. En estos dos estudios ambos antioxidantes fueron evaluados a concentraciones iguales, a diferencia del nuestro, dónde la concentración del té es menor que la del romero. La variante radica en que en el estudio que obtuvo mejores resultados para el romero, la carne fue envasada al vacío, lo que podría explicar la diferencia en el TBARS.

En las hamburguesas tratadas con romero las mayores diferencias se vieron entre el día 0 y 6, presentando resultados similares los días 0, 3 y 9, si bien los valores del día 6 también fueron semejantes a los de los días 3 y 9.

8.3- Resultados sensorial

La tabla VI muestra los valores obtenidos en la evaluación sensorial.

Tabla VI- Resultados de la evaluación sensorial para días y tratamientos.

Variable analizada	Tratamiento				Tiempo de conservación (días)				
	Control	Romero	Té	P<f	0	3	6	9	P<f
Olor (1-7)	1,25	1,13	1,12	ns	1,08	1,20	1,29	1,13	ns
Sabor Rancio (1-7)	2,60	2,21	2,00	ns	1,94	2,50	2,33	2,45	ns
Sabor Antioxidante (1-7)	1,58	2,50	1,60	< 0,0001	1,95	1,89	1,60	1,95	ns

NS- no significativo.

En los resultados obtenidos para el análisis sensorial, no se llegan a apreciar diferencias significativas en lo que respecta a los días de evaluación y al tipo de antioxidante, ni en el olor, ni en el sabor a rancio. Sin embargo los panelistas fueron capaces de identificar más fácilmente el romero. Otros autores como Nath y col. (2016) y Jongberg y col. (2013) también utilizando romero y té verde, han reportado que a la evaluación sensorial el romero era más fácilmente percibido por los jueces en comparación con el té, siendo mejor recibido por los evaluadores, describiendo el sabor como más amargo y picante.

Si bien los valores muestran un descenso del sabor a rancio en las hamburguesas con antioxidante, no manifiestan diferencias significativas. En discrepancia con nuestros hallazgos, Bañón y col. (2007) utilizando té verde en combinación con SO₂, encontró que retrasaba la aparición del sabor rancio en hamburguesas de carne vacuna cocidas. Siendo que la rancidez de las hamburguesas tratadas con antioxidantes es levemente inferior a la detectada para las hamburguesas control por el panel entrenado, cabría esperar que para el consumidor final, que no tiene ningún entrenamiento degustativo, no se apreciara diferencia alguna, por lo cual la adición de los antioxidantes no aportaría beneficios en ese aspecto.

Con estos resultados que obtuvimos, no podemos afirmar que en lo que respecta a la experiencia sensorial, los antioxidantes hayan sido efectivos evitando la aparición de sabores y olores desagradables, pero si aportaron un sabor distintivo a las hamburguesas.

9- CONCLUSIONES

La adición del extracto de té verde a 400 ppm fue efectiva en mantener estables los valores de a^* (índice de rojo) y C^* (intensidad de color) en comparación con el extracto de romero durante los 9 días de evaluación. Promoviendo la estabilidad de color en hamburguesas ovinas mantenidas en refrigeración.

Los extractos naturales de romero y té verde, a una concentración de 800 ppm y 400 ppm respectivamente, demostraron ser altamente efectivos en la reducción de la oxidación de lípidos y en prolongar la vida útil en hamburguesas de cordero.

Desde el punto de vista sensorial, si bien ambos antioxidantes naturales manifestaron una tendencia a una menor intensidad de sabor y olor rancio, ésta no fue significativa. El romero aportó un sabor distintivo a las hamburguesas, en relación al té verde.

Quedando demostrada la eficacia de ambos antioxidantes naturales en inhibir la oxidación de lípidos y la degradación de las proteínas de la carne, son una alternativa atractiva frente a los antioxidantes artificiales en la industria cárnica. Si bien es menester ahondar en las investigaciones para determinar los niveles de seguridad, así como los posibles efectos toxicológicos en la carne y sus derivados, sabiendo que el método de extracción y procesamiento pueden modificar sus propiedades.

10-BIBLIOGRAFÍA

1. Abd El-Alim S.S.L., Lugassi Z.A., Hovári J., Dworschák E. (1999). Culinary herbs inhibit lipid oxidation in raw and cooked minced meat patties during storage. *J Sci Food Agri*; 79: 277–285.
2. Abdel-Rahman A., Anyangwe N., Carlacci L., Casper S., Danam R. P., Enongene E., Erives G., Fabricant D., Gudi R., Hilmas C. J., Hines F., Howard P., Levy D., Lin Y., Moore R. J., Pfeiler E., Thurmond T. S., TurujmanS., Walker, N. J. (2011). The safety and regulation of natural products used as foods and food ingredients. *Toxicol Sci*; 123: 333–348.
3. Addis P. B. (1986). Occurrence of lipid oxidation products in foods. *Food Chem Toxicol*; 24: 1021–1030.
4. Afaq F., Adhami V. M., Ahmad N., Mukhtar H. (2004). Health benefits of tea consumption. En: T. Wilson, N. J. Temple (Eds.), *Beverages in nutrition and health*. New Jersey: Humana Press Inc. p. 143-156.
5. Ahn J. (1998). Fluorometric Analysis of 2- Thiaobarbituric Acid and Reactive substances in Turkey. *Poultry Sci*; 77: 475-480.
6. Ahn J., Grun I., Mustapha A. (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiol*; 24: 7–14.
7. Aikawa K., Chikini K. (1988). Antimutagenic effect of volatile decomposition products from thermally oxidized linoleate. *Mutation Res*; 208 (3-4): 163- 166.
8. Akarpat A., Turhan S., Ustun N. S. (2008). Effects of hot-water extracts from myrtle, rosemary, nettle and lemon balm leaves on lipid oxidation and color of beef patties during frozen storage. *J Food Proces Preservat*; 32: 117–132.
9. Allen K., Cornforth D. (2010). Comparison of spice-derived antioxidants and metal chelators on fresh beef color stability. *Meat Sci*; 85: 613–619.
10. Ananingsih V. K., Sharma A., Zhou, W. (2013). Green tea catechins during food processing and storage: a review on stability and detection. *Food Res Int*; 50: 469–479.
11. Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., Mc Donald S., Robards K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*; 127: 183–198.
12. Arinder P., Borch E. (1999). Validation of mathematical models for predicting growth of *Pseudomonas* spp. *Predictive microbiology applied to chilled food preservation*. *Refrigerat Sci Technol Proc*; 185-193.
13. Aruoma O.I., Halliwell B., Aeschbach R., Löliger J., 1992. Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica*; 22 (2): 257–268.
14. Asghar A., Gray J. I., Buckley D. J., Pearson A. M., Booren A. M. (1988). Perspectives on warmed over flavor. *Food Technol*; 42(6): 102–108.
15. Balentine D. A., Wiseman S. A., Bouwens, L. C. (1997). The chemistry of tea flavonoids. *Crit Rev Food Sci Nutr*; 37: 693–704.
16. Balogh Z., Gray J. I., Gomaa E. A., Booren A.M. (2000). Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food Chem Toxicol*; 38: 395–401.
17. Bao H.N.D., Ushio H., Ohshima T. (2008). Antioxidative activity and antidiscoloration efficacy of Ergothioneine in mushroom (*Flammulina velutioes*) extract added to beef and fish meats. *J Agric Food Chem*; 56: 10032–10040.

18. Bañón S., Diaz P., Rodríguez M., Garrido M. D., Price, A. (2007). Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Sci*; 77: 626–633.
19. Bañón S., Méndez L., Almela E. (2012). Effects of dietary rosemary extract on lamb spoilage under retail display conditions. *Meat Sci*; 90: 579–583.
20. Baranyi J., Roberts T. A., McClure P. J. (1993a). A nonautonomous differential equation to model bacterial growth. *Food Microbiol*; 10: 43–59.
21. Baranyi J., McClure P. J., Sutherland J. P., Roberts T. A. (1993b). Modeling bacterial growth responses. *J Ind Microbiol*; 13: 190–194.
22. Baron C. P. (2010). Protein oxidation in food and its prevention. En: Bartosz, G. *Food oxidants and antioxidants: Chemical, biological, and functional properties*. New York: CRC. p. 115–131.
23. Borrás-Linares I., Pérez-Sánchez A., Lozano-Sánchez J., Catalán E. B., Arráez-Román D., Cifuentes A., Micol V., Carretero A. S. (2015). A bioguided identification of the active compounds that contribute to the antiproliferative/cytotoxic effects of rosemary extract on colon cancer cells. *Food Chem Toxicol*; 80: 215–222.
24. Botsoglou N. A., Fletouris D. J., Papageorgiou G. E., Vassilopoulos V. N., Mantis A. J., Trakatellis A. G. (1994). Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid methods for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *J Agric Food Chem*; 42: 1931–1937.
25. Botsoglou N. A., Govaris A., Giannenas I., Botsoglou E., Papageorgiou G. (2007). The incorporation of dehydrated rosemary leaves in the rations of turkeys and their impact on the oxidative stability of the produced raw and cooked meat. *Internat J Food Sci Nutr*; 58(4): 312–320.
26. Brewer M. S. (2011). Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comp Rev Food Sci Food Saf*; 10: 221–247.
27. Brody A. L. (2001). What's active about intelligent packaging. *Food Technol*; 55(6): 75–78.
28. Brondum J., Byrne D. V., Back L. S., Bertelsen G., Engelsen S. B. (2000). Warmedover flavour in porcine meat a combined spectroscopic, sensory and chemometric study. *Meat Sci*; 54: 83–95.
29. Cabrera, C., Artacho, R., Giménez, R. (2006). Beneficial effects of green tea—a review. *J Amer Coll Nutr*; 25: 79–99.
30. Chaijan, M. (2008). Review: Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. *Songklanakarin J Sci Technol*, 30(1): 47–53.
31. Chang C. L., Wu, R. T. (2011). Quantification of (+)-catechin and (–)-epicatechin in coconut water by LC-MS. *Food Chem*; 126(2): 710–717.
32. Chaturvedula V. S. P., Prakash I. (2011). The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. *J Med Plants Res*; 5: 2110–2124.
33. Chen C. C., Pearson A. M., Gray J. I., Fooladi M. H., Ku P. K. (1984). Some factors influencing the nonheme iron content of meat and its implications in oxidation. *J Food Sci*; 49: 581–584.
34. Chen Z. Y., Zhu Q. Y., Tsang, D., Huang Y. (2001). Degradation of green tea catechins in tea drinks. *J Agric Food Chem*; 49: 477–482.
35. Cheng Q. K., Chen Z. M. (1994). *Tea and health*. Beijing, China. Press Chinese Agric Scis.

36. Coma V. (2006). Perspective for the active packaging of meat products. En: Nollet L.M., Toldrá F. *Advanced Technologies For Meat Products*. Boca Raton, CRC press, Taylor & Francis Group. p. 449- 472.
37. Contini C., Alvarez R., O'Sullivan M., Dowling D. P., Gargan S. O., Monahan F. J. (2014). Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. *Meat Sci*; 96: 1171–1176.
38. Copes J. A., (2007). Ecología microbiana de los alimentos. En: Stanchi N. O., Martino, P. E., Gentilini, E., Reinoso, E. H., Leandrini, N. A., Copes, J. A. *Microbiología Veterinaria*. Buenos Aires, Inter- médica. p. 516-523.
39. Cox S. D., Mann C. M., Markham J. L. (2001). Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J Appl Microbiol*; 91: 492–4977.
40. Cuvelier M.E., Bondety V., Berset C. (2000). Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: Structure-activity relationship. *J Amer Oil Chem Soc*; 77: 819-823.
41. Dai J., Mumper R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*; 15: 7313–7352.
42. Dal Bosco A., Castellini C., Cardinali R. (2005). Effect of dietary administration of rosemary extract on the oxidative stability of pigeon's meat. *Ital J Food Sci*; 17(4): 419–428.
43. Dangles O., Dufour C. (2006). Flavonoid-protein interactions. En O. M. Andersen, K. R. Markham. *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. Boca Raton, CRC. p. 443–464.
44. Davies A. R. (1995). Advances in modified-atmosphere packaging. En: Gould G.W., *New Methods of Food Preservation*. Blackie Academic and Professional, London. Springer. p. 304–320.
45. Del Baño M. J., Lorente J., Castillo J., Benavente-García O., Del Río J. A., Ortuño A., Quirin K.W., Gerard D. (2003). Phenolic Diterpenes, Flavones, and Rosmarinic Acid Distribution during the Development of Leaves, Flowers, Stems, and Roots of *Rosmarinus officinalis*. *Antioxidant Activity. J Agric Food Chem*; 51: 4247–4253.
46. Di Mattia C. D., Sacchetti G., Mastrocola D., Pittia P. (2009). Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Res Internat*; 42: 1163–1170.
47. Diplock A. T. (1991). Antioxidant nutrients and disease prevention: An overview. *The American J Clin Nutr*; 53(Suppl. 1): 189S–193S.
48. Djenane D., Sánchez-Escalante A., Beltrán J.A., Roncalés P. (2002). Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. *Food Chem*; 76: 407–415.
49. Dubick M. A., Omaye S. T. (2007). Grape wine and tea polyphenols in the modulation of atherosclerosis and heart disease. En Wildman R. E. C. *Handbook of nutraceuticals and functional foods*. 2nd. Boca Raton, CRC Press. p. 101-130.
50. Duthie G, Crozier A. (2000). Plant-derived phenolic antioxidants. *Curr Opin Lipidol*; 11: 43-7.

51. Eilert S. J. (2005). New packaging technologies for the 21st century, *Meat Sci*; 71: 122–127.
52. Elias R. J., Kellerby S. S., Decker E. A. (2008). Antioxidant activity of proteins and peptides. *Crit Rev Food Sci Nutr*; 48: 430–441.
53. Estévez M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Sci*; 89: 259–279.
54. Estévez M., Cava R. N. (2006). Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. *Meat Sci*; 72: 348–355.
55. Estévez M., Heinonen M. (2010). Effect of phenolic compounds on the formation of alpha-amino adipic and gamma-glutamic semialdehydes from myofibrillar proteins oxidized by copper, iron, and myoglobin. *J Agric Food Chem*; 58: 4448–4455.
56. Estévez M., Ventanas S., Cava R. (2006). Effect of natural and synthetic antioxidants on protein oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver pâté. *Meat Sci*; 74: 396–403.
57. Estévez M., Ventanas S., Cava R. (2005). Protein oxidation in frankfurters with increasing levels of added rosemary essential oil: Effect on color and texture deterioration. *J Food Sci*; 70: C427–C432.
58. Falowo A.B., Fayemi P.O., Muchenje V. (2014). Natural antioxidants against lipid–protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Res Internat*; 64: 171–181.
59. Farkas O., Jakus J., Héberger K. (2004). Quantitative structure –antioxidant activity relationships of flavonoid compounds. *Molecules*; 9: 1079–1088.
60. Faustman C., Cassens R.G. (1989). Strategies for improving fresh meat color. Paper presented at the 35th International Congress of Meat Science and Technology, Copenhagen, Denmark. p. 446-453.
61. Faustman C., Yin S., Tatiyaborworntham N., Naveena B. M. (2010). Oxidation and protection of red meat. Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications. Management in different industry sectors. Pensilvania, Woodhead Publishing. p. 3-49.
62. Frankel E.N., (1998). Lipid Oxidation. The Oily Press Ltd., Dundee. Frankel E. N., Huang S.-W., Aeschbach R. (1997). Antioxidant activity of green teas in different lipid systems. *J Amer Oil Chem Soc*; 74: 1309–1315.
63. Frankel E. N., Huang S. W., Aeschbach R., Prior E. (1996). Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J Agric Food Chem*; 44: 131–135.
64. Frankel E., Huang S. W., Kanner, J., German J. B. (1994). Interfacial phenomena in the evaluation of antioxidants: Bulk oils vs emulsions. *J Agric Food Chem*; 42: 1054–1059.
65. Friedman M., Levin C. E., Choi S. H., Lee S. U., Kozukue N. (2009). Changes in the composition of raw tea leaves from the Korean Yabukida plant during high temperature processing to pan-fried Kamairi-Cha green tea. *J Food Sci*; 74: C406–C412.
66. Fujiki H. (1999). Two stages of cancer prevention with green tea. *J Cancer Res Clin Oncol*; 125: 589–597.
67. Gardner H. W. (1979). Lipid hydroperoxide reactivity with proteins and amino acids: A review. *J Agric Food Chem*; 27: 220–229.

68. Gerrard A. J., Brown K. P. (2002). Protein cross-linking in food: Mechanisms, consequences, applications. *Internat Congr Ser*; 1245: 211–215.
69. Gladine C., Morand C., Rock E., Bauchart D., Durand D. (2007). Plant extracts rich in polyphenols (PERP) are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed n-3 PUFA supplemented diets. *Anim Feed Sci Technol*; 136: 281–296
70. Goodridge C. F., Beaudry R. M., Pestka J. J., Smith D. M. (2003). ELISA for monitoring lipid oxidation in chicken myofibrils through quantification of hexanal-protein adducts. *J Agric Food Chem*; 51: 7533–7539.
71. Graham H. N. (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med*; 21: 334–350.
72. Gramza A., Khokhar S., Yoko S., Gliszczynska-Swiglo A., Hes M., Korczak, J. (2006). Antioxidant activity of tea extracts in lipids and correlation with polyphenol content. *Europ J Lipid Sci Technol*; 108: 351–362.
73. Gray J. I., Monahan F. J. (1992). Measurement of lipid oxidation in meat and meats products. *Trends Food Sci Technol*; 3: 315–319.
74. Guo Q., Zhao B., Shen S., Hou J., Hu J. X. W. (1999). ERS study on the structure antioxidant activity relationship of tea catechins and their epimers. *Biochem Bioph Acta*; 1427: 13–23.
75. Henry J. P., Stephens-Larson P. (1984). Reduction of chronic psychosocial hypertension in mice by decaffeinated tea. *Hypertension*; 6: 437–444.
76. Hidalgo P. J., Uberta J. L., Tena M. T., Valcárcel M. (1998). Determination of the carnosic acid content in wild and cultivated *Rosmarinus officinalis*. *J Agric Food Chem*; 46: 2624–2627.
77. Hopia A. I., Huang S. W., Schwarz K., German J. B., Frankel E. N. (1996). Effect of different lipid systems on antioxidant activity of rosemary constitutes carnosol and carnosic acid with and without α -tocopherol. *J Agric Food Chem*; 44: 2030–2036.
78. Hu X. F., Yang X. Q., Liu K. X. (2001). Structure-activity relationship of tea polyphenols. Beijing. Beijing Science Press. p. 60–69.
79. Huang D., Ou B., Prior R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem*; 53: 1841–1856.
80. Huang S. W., Frankel E. N., Schwarz K., Aeschbac, R., German J. B. (1996). Antioxidant activity of carnosic acid and methyl carnosate in bulk oils and oil-in-water emulsions. *J Agric Food Chem*; 44: 2951–2956.
81. Huang S. W., Frankel E. N., German J. B. (1994). Antioxidant activity of α - and γ - tocopherols in bulk oils and in oil-in-water emulsions. *J Agric Food Chem*; 42: 2108–2114.
82. Hui Y. H., Guerrero L.I., Rosmini R.M. (2006). *Ciencia y Tecnología de la Carne*. Ciudad de México, Limusa, p. 634.
83. Ikigai H., Nakae T., Hara Y., Shimamura T. (1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta*; 1147: 132–136.
84. INAC (2016). Consumo de carnes en Uruguay. Disponible en: www.inac.gub.uy/innovaportal/v/13086/17/innova.front/consumo-de-carnes-en-uruguay. Fecha de consulta 12-12-17.
85. Jia N., Kong, B., Liu Q., Diao X., Xia X. (2012). Antioxidant activity of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract and its inhibitory effect on lipid and protein oxidation of pork patties during chilled storage. *Meat Sci*; 91: 533–539.

86. Jiang J., Xiong Y. L. (2016). Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Sci*; 120: 107–117.
87. Jo C., Son J. H., Son C. B., Byun M. W. (2003). Functional properties of raw and cooked pork patties with added irradiated, freeze-dried green tea leaf extract powder during storage at 4 °C. *Meat Sci*; 64: 13–17.
88. Jongberg S., Terkelsen L. D. S., Miklos R., Lund M. N. (2015). Green tea extract impairs meat emulsion properties by disturbing protein disulfide cross-linking. *Meat Sci*; 100: 2–9.
89. Jongberg S., Torngren, M., Gunvig, A., Skibsted, L., Lund, M. (2013). Effect of green tea or rosemary extract on protein oxidation in Bologna type sausages prepared from oxidatively stressed pork. *Meat Sci*; 93: 538–546.
90. Jongberg S., Gislason N. E., Lund M. N., Skibsted L. H., Waterhouse A. L. (2011). Thiol–quinone adduct formation in myofibrillar proteins detected by LC–MS. *J Agric Food Chem*; 59: 6900–6905.
91. Jongberg S., Lund M. N., Waterhouse A. L., Skibsted L. H. (2011). 4-Methyl catechol inhibits protein oxidation in meat but not disulfide formation. *J Agric Food Chem*, 59: 10329–10335.
92. Jongberg S., Skov S. H., Tørngren M. A., Skibsted L. H., Lund M. N. (2011). Effect of white grape extract and modified atmosphere packaging on lipid and protein oxidation in chill stored beef patties. *Food Chem*; 128: 276–283.
93. Jordán M. J., Castillo J., Bañón S., Martínez-Conesa C., Sotomayor J. A. (2014). Relevance of the carnosic acid/carnosol ratio for the level of rosemary diterpene transfer and for improving lamb meat antioxidant status. *Food Chem*; 151: 212–218.
94. Juven B. J., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J Appl Bacteriol*; 76: 626–631.
95. Kajiya K., Hojo H., Suzuki M., Nanjo F., Kumazawa S., Nakayama T. (2004). *J Agric Food chem*; 52(6): 1514–1519.
96. Kanner J. (1994). Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Sci*; 36: 169–174.
97. Karakaya M., Bayrak E., Ulusoy K. (2011). Use of natural antioxidants in meat and meat products. *J Food Sci Engin*; 1: 1–10.
98. Karori S.M., Wachira F. N., Wanyoko J. K., Ngure R. M. (2007). Antioxidant capacity of different types of tea products. *Afr J Biotechnol*; 6(19): 2287–2296.
99. Kennedy C., Buckley D.J., Kerry J.P. (2004). Display life of sheep meats retail packaged under atmospheres of various volumes and composition. *Meat Sci*; 68: 649–658.
100. Kerry J. P., O'Sullivan M. G., Buckley D. J., Lynch P. B., Morrissey P. A. (2000). The effects of dietary α -tocopheryl acetate supplementation and modified atmosphere packaging (MAP) on the quality of lamb patties. *Meat Sci*; 56: 61–66.
101. Khan N., Mukhtar H. (2007). Tea polyphenols for health promotion. *Life Sci*; 81: 519–533.
102. Kobus-Cisowska J., Flaczyk E., Rudzinska M., Kmiecik D. (2014). Antioxidant properties of extracts from *Ginkgo biloba* leaves in meatballs. *Meat Sci*; 97: 174–180.

103. Komatsu Y., Suematsu S., Hisanobu Y., Saigo H., Matsuda R., Hara K. (1993). Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion. *Biosci, Biotechnol, Biochem*; 57: 907–910.
104. Kumamoto M., Sonda T., Nagayama K., Tabata M. (2001). Effects of pH and metal ions on antioxidative activities of catechins. *Biosci, Biotechnol, Biochem*; 65(1): 126–132.
105. Lakenbrink C., Lapczynski S., Maiwald B., Engelhardt U. H. (2000). Flavonoids and other polyphenols in consumers brews of tea and other caffeinated beverages. *J Agric Food Chem*; 48(7): 2848–2852.
106. Lawrie, RA. 1981. *Ciencia de la Carne*. Ed. Acribia. Zaragoza. España. 355 p.
107. Levine R. L., Garland D., Oliver C. N., Amici A., Climent I., Lenz A. G., y col. (1990). Determination of carbonyl groups in oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol*; 186: 464–478.
108. Lin J., Liang, Y. (2000). Cancer chemoprevention by tea polyphenols. *Proceedings of the National Science Council, China*. 24(1): 1–13.
109. Lin C.Y., Wu C.R., Chang S.W., Wang Y.J., Wu J.J., Tsai C.W. (2015) Induction of the pi class of glutathione S-transferase by carnosic acid in rat clone 9 cells via the p38/Nrf2 pathway. *Food Function*; 6(6): 1936-1946.
110. Liu G., Xiong Y. L. (2000). Electrophoretic pattern, thermal denaturation, and in vitro digestibility of oxidized myosin. *J Agric Food Chem*; 48: 624–630.
111. Londoño J. (2004). *Guía de laboratorio de bioquímica de alimentos. Lípidos*. Corporación Universitaria Lasallista. Medellín, Colombia. p. 13
112. López Hernández L. H., Braña Varela D., Hernández Hernández I. (2013). Estimación de la vida de anaquel de la carne. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México. Libro técnico N° 11, p. 86. Disponible en: www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Documents/MNUALES%2520INIFAP/21.%2520Estimaci%25C3%25Bn%2520la%2520Vida%2520de%2520Anaquel%2520de%2520la%2520Carne.pdf&ved=2ahUKEwiFho_BvKjaAhUGIJAKHShUBcsQFjAAegQICBAB&usq=AOvVaw3esfnZf733tciOP7P0Yei1 Fecha de consulta: 11-09-2017.
113. Lorenzo J.M., Sichert Muneke P.E. (2016). Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in Food. *Asian Pac J Trop Biomed*; 6(8): 709–719
114. Lorenzo J.M., Sineiro J., Amado I.R., Franco D. (2014). Influence of natural extracts on the shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties. *Meat Sci*; 96(1): 526-34.
115. Luciano G., Monahan F. J., Vasta V., Vasta V., Pennisi P., Bella M., y col. (2009). Lipid and colour stability of meat from lambs fed fresh herbage or concentrate. Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat Sci*; 82: 193–199.
116. Luis J. C., Johnson C. B. (2005). Seasonal variations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary extracts. Analysis of their in vitro antiradical activity. *Span J Agric Res*; 1: 106–112.
117. Lund M, Heinonen M, Baron C, Estévez M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: a review. *Molecular Nutr Food Res*; 55: 83-95.

118. Lund M. N., Hviid M. S., Skibsted L. H. (2007). The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. *Meat Sci*; 76: 226–233.
119. Lykkesfeldt J., Svendsen O. (2007). Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet J*; 173: 502–511.
120. Mancini R. A., Hunt M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Sci*; 71:100-121.
121. Mapiye C., Aldai N., Turner T. D., Aalhus J. L., Rolland D. C., Kramer J. K. G., y col. (2012). The labile lipid fraction of meat: From perceived disease and waste to health and opportunity. *Meat Sci*; 92: 210–220.
122. Martinaud A., Mercier Y., Marinova P., Tassy C. (1997). Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems. *J Agric Food Chem*; 45: 2481–2487.
123. Mathenjwa S. A., Hugo C. J., Bothma C., Hugo A. (2012). Effect of alternative preservatives on the microbial quality, lipid stability and sensory evaluation of boerewors. *Meat Sci*; 91: 165–172.
124. McCarthy T.L., Kerry J.P., Kerry J.F., Lynch P.B., Buckley D.J. (2001a). Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Sci*; 58: 45–52.
125. McCarthy T.L., Kerry J.P., Kerry J.F., Lynch P.B., Buckley D.J. (2001b). Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. *Meat Sci*; 57: 177–184.
126. Megan-Tempest R. D. (2012). Adding spice for a healthier life- evidence shows antioxidant rich herbs and spices may cut chronic disease risk. *Today's Dietitian*; 14(3): 40.
127. Michalak A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J Environmental Stud*; 15: 523–530.
128. Middleton E., Kandaswami C., Theoharides T.C., (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*; 52: 673–751.
129. Mielche M. M., Bertelsen G. (1993). Effects of heat treatment on warmed-over flavour in ground beef during aerobic chill storage. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*; 197: 8–13.
130. Min B., Ahn D. U. (2005). Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products- A review. *Food Sci Biotechnol*; 14: 152–163.
131. Mitsumoto M., O'Grady M. N., Kerry J. P., Buckley D. J. (2005). Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Sci*; 69: 773–779.
132. Mitsumoto M., Oszawa S., Mitsuhashi T., Koide K. (1998). Effect of dietary vitamin E supplementation for one week before slaughter on drip, colour and lipid stability during display Japanese black steer beef. *Meat Sci*; 2: 165-174.
133. Moñino M. I., Martínez C., Sotomayor J. A., LafuenteJordan A., Jordán M. J. (2008). Polyphenolic transmission to segureño lamb meat from ewe diet supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves. *J Agric Food Chem*; 56: 3363–3367.

134. Moreno S., Scheyer T., Romano C. S., Vojnov A. A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Res*; 40(2): 223–231
135. Naidu A. S. (2000). Natural food antimicrobial systems. En: Juneja L. R., Okubo T., Hung P., Catechins. Florida, CRC press LLC. p. 381-398.
136. Nair V., Cooper C. S., Vietti D. E., Turner G. A. (1986). The chemistry of lipid peroxidation metabolites: Cross-linking reactions of malondialdehyde. *Lipids*; 21 (1): 6-10.
137. Nakagawa M. (1975). Chemical components and taste of green tea. *Japan Agric Res Q*; 9: 156–160.
138. Nakagawa T., Yokozawa T. (2002). Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. *Food Chem Toxicol*; 40: 1745–1750.
139. Nakao M., Takio S., Ono K. (1998). Alkyl peroxy radical scavenging activity of catechins. *Phytochemistry*; 49: 2379–2382.
140. Nanjo F., Honda M., Okushio K., Matsumoto N., Ishigaki F., Ishigami T., Hara Y. (1993). Effects of dietary tea catechins on alpha-tocopherol levels, lipid peroxidation, and erythrocyte deformability in rats fed on high palm oil and perilla oil diets. *Biol Pharmaceut Bull*; 16: 1156-1159.
141. Nath P. M., Kumar V., Praveen P. K., Ganguly S. (2016). A Comparative Study of Green Tea Extract and Rosemary. *Internat J of Sci Envir Technol*; 5 (3): 1680 – 1688.
142. Nicolalde C., Stetzer A.J., Tucker E.M., McKeith F.K., Brewer M.S. (2006). Antioxidant and modified atmosphere packaging prevention of discoloration in pork bones during retail display. *Meat Sci*; 72: 713–718.
143. Nieto G., Estrada M., Jordán M. J., Garrido M. D., Bañón, S. (2011). Effects in ewe diet of rosemary by-product on lipid oxidation and the eating quality of cooked lamb under retail display conditions. *Food Chem*; 124: 1423–1429.
144. Nieto G., Día P., Bañón S., Garrido M. D. (2010). Effect on lamb meat quality of including thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves in ewes' diet. *Meat Sci*; 85: 82–88.
145. Nissen L.R., Byrne D.V., Bertelsen G., Skibsted L.H. (2004). The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. *Meat Sci*; 68: 485-495.
146. O'Grady M. N., Maher M., Troy D. J., Moloney A. P., Kerry J. P. (2006). An assessment of dietary supplementation with tea catechins and rosemary extract on the quality of fresh beef. *Meat Sci*; 73: 132–143.
147. O'Grady M.N., Monahan F.J., Brunton N.P. (2001). Oxymyoglobin oxidation and lipid oxidation in bovine muscle. Mechanistic studies. *J Food Sci*; 66: 386–392.
148. Ortuño J. (2016). Polifenoles del romero en la dieta del cordero: efecto sobre la calidad y la capacidad de conservación de la carne. Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia. Tesis doctoral, p. 141.
149. Ortuño J., Serrano, R., Bañón, S. (2015). Use of dietary rosemary diterpenes to extend the preservation of sulphited-lamb products. *Small Ruminant Res*; 123: 269–277.
150. Ortuño J., Serrano R., Jordán M.J., Bañón S. (2014). Shelf life of meat from lambs given essential oil-free rosemary extract containing carnosic acid plus carnosol at 200 or 400 mg kg⁻¹. *Meat Sci*; 94: 1452–1459.

151. Papageorgiou V., Mallouchos A., Komaitis M. (2008). Investigation of the antioxidant behavior of air-and freeze-dried aromatic plant materials in relation to their phenolic content and vegetative cycle. *J Agric Food Chem*; 56(14): 5743-5752.
152. Pattison D. I., Davies M. J. (2001). Absolute rate constants for the reaction of hypochlorous acid with protein side chains and peptide bonds. *Chem Res Toxicol*; 14: 1453–1464.
153. Pattison D. I., Davies M. J. (2006). Reactions of myeloperoxidase-derived oxidants with biological substrates: Gaining chemical insight into human inflammatory diseases. *Current Med Chem*; 13: 3271–3290.
154. Pearson A.M., Young R.B. (1989) *Muscle and meat biochemistry*. San Diego Academic Press, 457 p.
155. Pérez-Fons L., Garzón M. T., Micol V. (2010). Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order. *J Agric Food Chem*; 58(1): 161–171.
156. Pérez-Juan M., Flores M., Toldrá F. (2006). Model studies on the efficacy of protein homogenates from raw pork muscle and dry-cured ham in binding selected flavor compounds. *J Agric Food Chem*; 54(13): 4802–4808.
157. Petiwala S. M., Puthenveetil A. G., Johnson J. J. (2013). Polyphenols from the Mediterranean herb rosemary (*Rosmarinus officinalis*) for prostate cancer. *Front Pharmacol*; 4: 1-4.
158. Piccione G., Caasella S., Giannetto C., Bazzano M., Giudice E., Fazio E. (2013). Oxidative stress associated with road transportation in ewes. *Small Ruminant Res*; 112: 235–238.
159. Pierpoint W. S. (1969). o-Quinones formed in plant extracts—their reactions with amino acids and peptides. *Biochem J*; 112: 609–616.
160. Quelhas I., Petisca C., Viegas O., Melo A., Pinho O., Ferreira I.M.P.L.V.O. (2016). Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan-fried beef. *Food Chem*; 122: 98–104.
161. Rababah T. M., Ereifej K. I., Alhamad M. N., Al-Qudah K. M., Rousan L. M., Al-Mahasneh M.A., Al-u'datt M. H., Yang, W. (2011). Effects of green tea and grape seed and TBHQ on physicochemical properties of Baladi goat meats. *Internat J Food Prop*; 14: 1208–1216.
162. Raharjo S., Sofos J.N. (1993). Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: a review. *Meat Sci*; 35: 145- 169.
163. Renerre M. (1990). Review: Factors involved in the discoloration of beef meat. *Internat J Food Sci Technol*; 25: 613–630.
164. Renerre M., Poncet K., Mercier Y., Gatellier P., Métro B. (1999). Influence of dietary fat and vitamin E on antioxidant status of muscle of turkey. *J Agric Food Chem*; 47 (1): 237-244.
165. Rice-Evans, C. A., Miller, N. G., Paganga G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*; 2: 152–159.
166. Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. (1996). Structureantioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol Med*; 20: 933–956.

167. Richards M. P., Modra A.M., Li R. (2002). Role of deoxyhemoglobin in lipid oxidation of washed cod muscle mediated by trout, poultry and beef hemoglobin. *Meat Sci*; 62: 157–163.
168. Robertson G.L. (2006). *Food packaging: Principles and practice*. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press Taylor and Francis Group, p. 568.
169. Rodríguez P.R. (2003). *Desarrollo y validación de modelos matemáticos para la predicción de vida comercial de productos cárnicos*. Departamento de Bromatología y tecnología de los alimentos, Universidad de Córdoba. Facultad de Veterinaria, Tesis Doctoral, p. 313.
170. Rodríguez-Carpena J. G., Morcuende D., Andrade M. J., Kylli P., Estévez M. (2011a). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *J Agric Food Chem*; 59: 5625–5635.
171. Rodríguez-Carpena J. G., Morcuende D., Estévez M. (2011b). Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage. *Meat Sci*; 89: 166–173.
172. Sakakibara H., Honda Y., Nakagawa S., Ashida H., Kanazawa K. (2003). Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *J Agric Food Chem*; 51: 571–581.
173. Sánchez-Escalante A., Torrescano G.R., Camou J.P., González N.F., Hernández G. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *Nacameh*; 2: 124-159.
174. Sánchez-Escalante A., Torrescano G., Djenane D., Beltrán J.A., Giménez B., Roncalés P.(2011) Effect of antioxidants and lighting conditions on color and lipid stability of beef patties packaged in high-oxygen modified atmosphere. *CyTA -J Food*; 9:1: 49-57.
175. Sang S., Lee M. -J., Hou Z., Ho C. -T., Yang C. S. (2005). Stability of tea polyphenol (-)- epigallocatechin-3-gallate and formation of dimmers and epimers under common experimental conditions. *J Agric Food Chem*; 53: 9478–9484.
176. Sante-Lhoutellier V., Aubry L., Gatellier P. (2007). Effect of oxidation on in vitro digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. *J Agric Food Chem*; 55: 5343–5348.
177. Satoh T., McKercher S. R., Lipton S. A. (2013). Nrf2/ARE-mediated antioxidant actions of pro-electrophilic drugs. *Free Radical Biol Med*; 65: 645–57.
178. Schwarz K., Bertelsen G., Nissen L. R., Gardner P. T., Heinonen M. I., Hopia A., Huynh-Ba A. H., Lambelet P., McPhail D., Skibsted L. H., Tijburg L. (2001). Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *European Food Res Technol*; 212: 319–328.
179. Schwarz K. (1992). Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. Stability of phenolic diterpenes of rosemary extracts under thermal stress as required for technological processes. *Lebensm, Z. Unters. Forsch*; 195: 104–107.
180. Sebranek J. G., Sewalt V. J. H., Robbins K. L., Houser T. A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Sci*; 69: 289–296.

181. Senanayake N. (2013). Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications – A review. *J Funct Foods*; 5: 1529 –1541.
182. Serrano R., Jordán M. J., Bañóna S. (2014). Use of dietary rosemary extract in ewe and lamb to extend the shelf life of raw and cooked meat. *Small Ruminant Res*; 116: 144– 152.
183. Shacter E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabol Rev*; 32(3–4): 307–326.
184. Shahidi F., Janitha P. K., Wanasundara P. D. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Rev Food Sci Nutr*; 32: 67–103.
185. Sharma A. K., Gangwar M., Tilak R., Nath G., Sinha A. S. K., Tripathi Y. B., y col. (2012). Comparative in vitro antimicrobial and phytochemical evaluation of methanolic extract of root, stem and leaf of *Jatropha curcas* Linn. *Pharm J*; 4(30): 34–40.
186. Shimamura T., Zhao W. H., Hu Z. (2007). Mechanism of action and potential for use of tea catechin as an anti-infective agent. *Anti-Infective Agents Med Chem*; 6: 57–62.
187. Silliker J. H., Woodruff R. E., Lugg J. R., Wolfe S. K., Brown W. D. (1997). Preservation of refrigerated meats with controlled atmospheres: treatment and post-treatment effects of carbon dioxide on pork and beef. *Meat Sci*; 1: 195-201.
188. Siripatrawan U, Noipha S. (2012). Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food Hydrocoll*; 27(1): 102-8.
189. Soladoye O. P., Juárez M. L., Aalhus J. L., Shand P., Estévez M. (2015). Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Rev Food Sci Food Safety*; 14: 106–122.
190. Song J. M., Lee K. H., Seong B. L. (2005). Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral Res*; 68(2): 66–74.
191. Sotomayor J. A., Martínez C., Moñino I., Lax V., Quílez M., Jordán M. J. (2009). Effect of altitude on *Rosmarinus officinalis* essential oil in Murcia (Spain). *Acta Horticulturae*; 826: 309 -316.
192. Stapornkul N., Prytkova T., Were L. (2016). Effect of green tea on interaction of lipid oxidation products with sarcoplasmic and myofibrillar protein homogenates extracted from bovine top round muscle. *Food Res Internat*; 89: 1038–1045.
193. Stewart J. A., Mullen W., Crozier A. (2004). On-line high performance liquid chromatography of the antioxidant of phenolic in green and black tea. *Molecular Nutr Food Res*; 49: 52–60.
194. Su Y. L., Leung L. K., Huang Y., Chen Z. Y. (2003). Stability of tea theaflavins and catechins. *Food Chem*; 83: 189–195.
195. Sullivan C. M., Lynch A. M., Lynch P. B., Buckley D. J., Kerry J. P. (2004). Assessment of the antioxidant potential of food ingredients in fresh, previously frozen and cooked chicken patties. *Internat J Poultry Sci*; 3(5): 337–344.
196. Suman S. P., Joseph P. (2013). Myoglobin chemistry and meat color. *Annual Rev Food Sci Technol*; 4: 79–99.

197. Tang S. Z., Kerry J. P., Sheehan D., Buckley D. J. (2002). Antioxidative mechanisms of tea catechins in chicken meat systems. *Food Chem*; 76: 45–51.
198. Tang S., Sheehan D., Buckley D. J., Morrissey P. A., Kerry J. P. (2001). Antioxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle. *Internat J Food Sci Technol*; 36: 685–692.
199. Tarladgis B. G., Watts B. M., Younathan M. T., Dugan L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in food. *J Amer Oil Chem Soc*; 3: 44-48.
200. Taylor P. W., Hamilton-Miller J. M. T., Stapleton P. D. (2005). Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci Technol Bull*; 2: 71–81.
201. Tichivangana J. Z., Morrissey P. A. (1985). Metmyoglobin and inorganic metals as pro-oxidants in raw and cooked muscle systems. *Meat Sci*; 15: 107–116.
202. Trojakova L., Reblova Z., Nguyen H. T. T., Pokorny J. (2001). Antioxidant activity of rosemary and sage extracts in rapeseed oil. *J Food Lipids*; 8: 1–13.
203. Tsen S., Ameri F., Smith J. (2006). Effects of rosemary extract on the reduction of heterocyclic amines in beef patties. *J Food Sci*; 71: 469-73.
204. Tsuchiya H., Sato M., Miyazaki T., Fujiwara S., Tanigaki S., Ohyama M., y col. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol*; 50: 27–34.
205. Valenzuela A.B., Sanhueza J., Nieto S. (2003). Natural antioxidants in functional foods: From food safety to health benefits. *Grasas y Aceites*; 54(3): 295–303.
206. Van Esch G.T. (1996). Toxicology of tert-butyl-hydroquinone (TBHQ). *Food Chem Toxicol*; 24: 1063-1066
207. Van Oeckel M.J., Warnants N., Boucqué C.V. (1999). Measurement and prediction of pork colour. *Meat Sci*; 52(4): 347-354.
208. Velayutham P., Babu A., Liu D. (2008). Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Current Med Chem*; 15: 1840–1850.
209. Verbeke W., Van Oeckel, Warnants N., Viaene J., Boucque C.V. (1999). Consumer perception, facts and possibilities to improve acceptability of health and sensory characteristics of pork. *Meat Sci*; 53: 77-99.
210. Vergara H., Gallego L., García A., Landete-Castillejos T. (2003). Conservation of *Cervus elaphus* meat in modified atmospheres. *Meat Sci*; 65: 779-793.
211. Viljanen K. (2005). Protein oxidation and protein–lipid interactions in different food models in the presence of berry phenolics (dissertation). University of Helsinki. EKT series, 1342, p. 87.
212. Wanasundara P. K. J. P. D., Shahidi F. (2005). Antioxidants: science, technology and applications. En: Shahidi F. *Bailey's industrial oil and fat products*. New Jersey: Wiley, p. 431–489.
213. Wang R., Zhou W., Jiang X. (2008). Reaction kinetics of degradation and epimerization of epigallocatechin gallate (EGCG) in aqueous system over a wide temperature range. *J Agric Food Chem*; 56: 2694–2701.

214. Wang R., Zhou W., Wen R. A. H. (2006). Kinetic study of the thermal stability of tea catechins in aqueous systems using a microwave reactor. *J Agric Food Chem*; 54, 5924–5932.
215. Wang H., Helliwell K. (2000). Epimerization of catechins in green tea infusions. *Food Chem*; 70: 337–344.
216. Wang, H., Provan G. J., Helliwell K. (2000). Tea flavonoids: Their functions, utilization, and analysis. *Trends Food Sci Technol*; 11: 152–160.
217. Wassef W. N. (2000). Lípidos. En Fennema O. *Química de alimentos*. 2da ed. Acirbia. P. 330- 334.
218. Williams P. G. (2007). Nutritional composition of red meat, *Nutrition & Dietetics*. 64 (54): S113- S119.
219. Wojciak K. M., Dolatowski Z. J., Okon A. (2011). The effect of water plant extracts addition on the oxidative stability of meat products. *Acta Scientiarum Polonorum. Technol Aliment*; 10: 175–188.
220. Wood J. D., Enser M., Fisher A. V., Nute G. R., Richardson R. I., Sheard P. R. (1999). Manipulating meat quality and composition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58. Surrey, England, p. 363–370.
221. Xia E. Q., Deng G. F., Guo Y. J., Li H. B. (2010). Biological activities of polyphenols from grapes- Review. *Internat J Molec Sci*; 11: 622–646.
222. Xiao S., Zhang W. G., Lee E. J., Ahn D. U. (2013). Effects of diet, packaging and irradiation on protein oxidation, lipid oxidation of raw broiler thigh meat during refrigerated storage. *Poultry Sci*. 90 (6): 1348-1357.
223. Yang C. S., Landau J.M. (2000). Effects of tea consumption on nutrition and health. *J Nutr*; 130: 2409–2412.
224. Yildiz-Turp G., Serdaroglu M. (1998). The effects of ascorbic acid, rosemary extract and α -tocopherol/ ascorbic acid on the some quality characteristics of chicken patties. *Electron J Polish Agric. Univ*. 7 (1). Disponible en: www.ejpau.media.pl/volume17/issue1/art-04.html. Fecha de consulta: 29-07-2017.
225. Yilmaz Y. (2006). Novel uses of catechins in foods. *Trends Food Sci Technol*; 17: 64–71.
226. Zaveri N. T. (2006). Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer application. *Life Sci*; 78: 2073–2080.
227. Zhang W, Xiao S, Ahn D. (2013) Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Crit Rev Food Sci Nutr.*; 53:1191-201
228. Zhu Q. Y., Zhang A., Tsang D., Huang Y., Chen Z. Y. (1997). Stability of green tea catechins. *J Agric Food Chem*; 45: 4624–4628.