

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA**

**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

---



**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE OLEORRESINA DE  
CHIPOTLE (*Capsicum annum*) Y ACEITES ESENCIALES DE ROMERO  
(*Rosmarinus officinalis*) Y AJO (*Allium sativum*) EN CARNE DE  
HAMBURGUESA.**

**POR:**

**Q.B.P. PAULINA OLIVAS MÉNDEZ**

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS**

**ÁREA MAYOR: TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL**

**CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO**

**MARZO DE 2020**

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer principalmente a Dios por darme fortaleza y sabiduría en el camino a lo largo de mi vida de estudiante.

A CONACYT por el apoyo dado para estudiar este posgrado y a la Facultad de Zootecnia y Ecología por aceptar que formara parte de ella.

A mi asesora la Dra. Ana Luisa Rentería Monterrubio, por guiarme en este camino, al igual que la Dra. América Chávez Martínez, que en todo momento me apoyaron, me ayudaron y resolvieron hasta la más pequeña duda que tenía. Al Dr. Arturo García Macías, que de la misma manera siempre me apoyó, son excelentes profesores y me dio mucho gusto tenerlos en esta etapa.

También quiero agradecer a mi asesor de la estancia el Dr. Luis Guerrero Asorey por la paciencia y el apoyo que recibí de su parte.

## DEDICATORIA

A mis papas Mónica Soledad Méndez Loya y Jesús José Olivas Rascón que siempre han estado en cada momento de mi vida, apoyándome incondicionalmente, escuchando cada aventura que he vivido, se que sin su apoyo esto no sería posible. Siempre han sido el soporte de mi vida, y cada vez que he caído se han esforzado en levantarme, por ellos me encuentro en este lugar.

A mi hermano Saúl Aarón Olivas Méndez, que con su apoyo y sus consejos me hace cada vez más fuerte. Es uno de mis mejores ejemplos a seguir ya que me ha enseñado a luchar por lo que quiero y siempre seguir adelante.

A mi compañero de maestría Fernando Álvarez, y a la maestra Juliana Juárez por apoyarme incondicionalmente, les agradezco con todo el corazón por compartir este tiempo.

## CURRICULUM VITAE

La autora nació el 23 de Junio de 1993 en la Ciudad de Chihuahua, Chihuahua, México.

Agosto 2011- Diciembre 2015

Estudios de Licenciatura de Químico Bacteriólogo Parasitólogo en la Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua. en la Cd. Chihuahua, Chihuahua, México. Título obtenido.

Enero – Octubre 2017

Trabajo en Laboratorio clínico Quest Diagnostics S.A. de C.V. como Jefe de centro de atención a pacientes.

Enero 2018 a la fecha

Estudios de Maestría en Ciencias en tecnología de productos de origen animal en la Facultad de Zootecnia y Ecología. Universidad Autónoma de Chihuahua en la cd. Chihuahua, Chihuahua, México.

## RESUMEN

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE OLEORRESINA DE  
CHIPOTLE (*Capsicum annum*) Y ACEITES ESENCIALES DE ROMERO  
(*Rosmarinus officinalis*) Y AJO (*Allium sativum*) EN CARNE DE  
HAMBURGUESA.

POR:

Q.B.P. PAULINA OLIVAS MÉNDEZ

Maestro en Ciencias

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Ph. D. Ana Luisa Rentería Monterrubio

En años recientes ha habido un creciente interés en el uso de ingredientes naturales en productos cárnicos. El objetivo del estudio consistió en evaluar la oleorresina (OL) de chile chipotle (OLC) y los aceites esenciales (AE) de ajo (AEA) y romero (AER) como conservantes de carne de hamburguesa. Seis tratamientos fueron evaluados: Control (T1), AEA al 1% (T2), AER al 1% (T3), OLC al 0.5% (T4), AEA 1% + OLC 0.5% (T5) y AER 1% + OLC 0.5% (T6). Se realizó un diseño completamente al azar, utilizando un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de los tratamientos en la carne y comparaciones múltiples de medias mediante la prueba de Tukey. Se realizó además Análisis Clúster, Análisis de Correspondencias y Análisis de Componentes Principales las pruebas sensoriales. La composición química y el análisis sensorial se realizaron al día uno de elaboración de la carne. La

oxidación lipídica, análisis microbiológico, color y pH se evaluaron al día 1, 8 y 15. Los AE y OL inhibieron significativamente algunos patógenos, teniendo el AEA 1% mayor actividad antimicrobiana actuando contra *S. aureus* con  $1.31 \pm 0.19$ ,  $1.5 \pm 0.01$  UFC/g a los días 1 y 8, al día 15 no se observó crecimiento y *B. thermosphacta* con crecimiento únicamente al día 15 ( $2.5 \pm 0.08$  UFC/g). La oxidación de lípidos disminuyó significativamente en el tratamiento con OLC 0.5% ( $0.13 \pm 0.035$ ,  $0.59 \pm 0.012$  y  $0.78 \pm 0.084$  mg de MDA/ Kg de carne), a los días 1, 8 y 15 respectivamente, en comparación con el tratamiento control ( $0.71 \pm 0.032$ ,  $0.89 \pm 0.011$  y  $1.6 \pm 0.034$  mg de MDA/ kg respectivamente). El análisis sensorial mostró preferencia de los consumidores por la carne adicionada con AEA para los atributos de color, olor, sabor y apariencia general ( $7.15 \pm 2.01$ ,  $7.22 \pm 1.97$ ,  $7.61 \pm 1.75$  y  $7.67 \pm 1.60$  respectivamente). Se concluye que los AL y OL mejoran la vida útil de la carne de hamburguesa, reducen el crecimiento de algunas bacterias, inhiben la oxidación de los lípidos y provocan mayor aceptación de la carne por los consumidores.

## ABSTRACT

### ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OLEORRESIN OF CHIPOTLE PEPPER (*Capsicum annum*) AND ESSENTIAL OILS OF ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis*) AND GARLIC (*Allium sativum*) ON BURGER MEAT

BY:

Q.B.P. PAULINA OLIVAS MÉNDEZ

In recent years there has been an increased interest in natural ingredients in meat and meat products. The aim of the study was to evaluate the use of oleoresin (OL) of chipotle pepper (OCP) and garlic (GEO) and rosemary (REO) essential oils (EO) as preservatives in burger meat. Six treatments were evaluated: Control (T1) , 1 % GEO (T2), 1 % REO (T3), 0.5 % OCP (T4), 1 % GEO + 0.5 % OCP (T5) and 1 % REO + 0.5 % OCP (T6). A completely raised design was made, one way ANOVA was used to evaluate the effect of the treatments on the meat. Multiple comparisons of means by Tukey test were also performed. Cluster analysis, correspondence analysis and principal component analysis were also performed for sensory test. Chemical and sensory analyses were performed at the beginning of the process. Lipid oxidation, microbiological analyses, instrumental colour and pH were also evaluated at days 1, 8 and 15. AE and OL significantly inhibited some pathogens; having AEA 1% greater antimicrobial activity acting against *S. aureus* ( $1.31 \pm 0.19$ ,  $1.5 \pm 0.01$   $\log_{10}$ UFC/g at days 1 and 8) at day 15 there was not growth and *B. thermosphacta* with growth only at day 15  $.5 \pm 0.08$   $\log_{10}$ UFC/g. Lipid oxidation

significantly decreased in treatment with OLC 0.5% ( $0.13 \pm 0.035$ ,  $0.59 \pm 0.012$  y  $0.78 \pm 0.084$  mg MDA/ Kg) at days 1, 8 and 15 respectively, compared to the control treatment (0.71, 0.89 and 1.6 mg MDA/ Kg respectively). Sensory analysis showed consumer preference for meat added with AEA for the attributes color, smell, taste and overall appearance ( $7.15 \pm 2.01$ ,  $7.22 \pm 1.97$ ,  $7.61 \pm 1.75$  y  $7.67 \pm 1.60$  respectively). It is concluded that EO and OL improve the shelf-life raw beef burgers, reduce the growth of some pathogens and inhibit lipid oxidation.



## CONTENIDO

	Página
RESUMEN .....	Vi
ABSTRACT.....	Viii
LISTA DE CUADROS .....	Xiii
LISTA DE FIGURAS .....	Xiv
INTRODUCCIÓN .....	1
REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
Producción Nacional y Estatal de Carne de Bovino .....	3
Carne.....	3
Productos Cárnicos.....	4
Aceites Esenciales.....	4
Aceite Esencial de Ajo .....	7
Aceite Esencial de Romero .....	10
Oleorresinas .....	12
Oleorresina de Chile Chipotle .....	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20

Localización del Área de Estudio. . . . .	20
Origen de la Materia Prima. . . . .	20
Extracción de Aceites Esenciales y Oleorresinas. . . . .	20
Descripción de los Tratamientos . . . . .	21
Elaboración de la Carne de Hamburguesa . . . . .	21
Color. . . . .	21
pH. . . . .	22
Composición Química. . . . .	22
Oxidación de Lípidos. . . . .	23
Análisis Microbiológico. . . . .	23
Análisis Sensorial. . . . .	24
Análisis Estadístico. . . . .	25
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN . . . . .</b>	<b>27</b>
Color . . . . .	27
pH. . . . .	30
Composición Química. . . . .	32
Oxidación de Lípidos . . . . .	34

Análisis Microbiológico. . . . .	38
Análisis Sensorial. . . . .	44
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES . . . . .	55
LITERATURA CITADA . . . . .	56

## LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Parámetros (media $\pm$ desviación estándar) de color L*, a* y b* a través del tiempo en hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ) . . . . .	28
2	Valores de pH (media $\pm$ desviación estándar) a través del tiempo en hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ) . . . . .	31
3	Composición química (media $\pm$ desviación estándar) de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ) . . . . .	33
4	Oxidación de lípidos (media $\pm$ desviación estándar) a través del tiempo en hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ) . . . . .	35
5	Conteo de microorganismos ( $\log_{10}$ UFC/g, media $\pm$ desviación estándar) de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ) . . . . .	39
6	Evaluación de atributos sensoriales de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ) . . . . .	50

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Biosíntesis de terpenos y su clasificación según las unidades de isopreno que contienen . . . . .	6
2	Principales compuestos azufrados encontrados en el ajo. . . . .	9
3	Estructura de los principales componentes del aceite esencial de romero. . . . .	11
4	Biosíntesis de los capsaicionides encontrados en los chiles del género <i>Capsicum</i> . . . . .	14
5	Estructura de los principales capsaicinoides encontrados en la oleorresina de chiles. . . . .	15
6	Correspondencia entre tratamientos y niveles de respuesta del atributo apariencia general de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ).....	45
7	Correspondencia entre tratamientos y niveles de respuesta del atributo olor de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ).....	46
8	Correspondencia entre tratamientos y niveles de respuesta del atributo sabor de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ).....	48
9	Correspondencia entre tratamientos y niveles de respuesta del atributo color de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ).....	49
10	Componentes principales para resultados globales y los tres clusters (C1: Cluster 1; C2: Cluster 2; C3: Cluster 3) generados a partir de los datos de la evaluación sensorial de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ajo ( <i>Allium sativum</i> ) y oleorresinas de chile chipotle ( <i>Capsicum annum</i> ).	52

## INTRODUCCIÓN

La carne de res ocupa el segundo lugar en consumo de carnes en México, superada sólo por la de aves, principalmente el pollo (SIAP, 2019). A nivel nacional se producen poco más de 7 millones de cabezas de carne de bovino en canal, siendo Chihuahua uno de los principales productores con 98 645 ton (SIAP, 2019).

Tal situación permite que en el estado de Chihuahua se comercialice una gran variedad de productos cárnicos crudos frescos, fermentados, salados y embutidos, entre otros (Totosaus y Ariza, 2016). Entre los productos crudos frescos de mayor consumo en el estado se encuentra la carne para hamburguesa (Almeida *et al.*, 2015)

En los últimos años, las personas buscan alimentos naturales o mínimamente procesados (Ibrahim-Hemmat *et al.*, 2016). Lo anterior debido a que a algunos conservadores sintéticos, utilizados en la industria alimentaria, se les han atribuido efectos cancerígenos y teratogénicos, como los nitritos y el glutamato monosódico (Castaño *et al.*, 2010), por lo que se han buscado aditivos naturales alternativos que presenten acción antimicrobiana y antioxidante (Amany *et al.*, 2010; Bender-Bojali y Bárcenas-Pozos, 2013). Existe una gran variedad de ingredientes naturales que aparte de brindar estas propiedades contribuyen con la salud del consumidor; entre ellos se encuentran los aceites esenciales (AE) y oleorresinas (OL) de origen vegetal.

Los AE, también llamados aceites volátiles o etéreos, son líquidos oleosos aromáticos obtenidos a partir de materia orgánica como flores, brotes, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera y frutas (Burt, 2004; Bender-Bojali y Barcenás-Pozos, 2013). Los AE son conocidos por sus propiedades antisépticas, antimicrobianas y pueden usarse en la conservación de alimentos. Por otra parte, las OL también son aditivos naturales obtenidas de especias o de diferentes variedades de chiles (Berke, 2012; Álvarez *et al.*, 2014). Los aceites esenciales y las oleorresinas son utilizados comúnmente como aditivos para dar aroma y sabor a los productos cárnicos frescos y cocinados, aunque también pueden utilizarse en la conservación de los mismos por sus propiedades antisépticas, antimicrobianas y antioxidantes (Bakkali *et al.*, 2008; Cavazza *et al.*, 2015; Cosic *et al.*, 2010; Fernández y Trujillo, 2007).

Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antioxidante y antimicrobiana de los AE de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y de la OL del chile chipotle (*Capsicum annum*) en carne de hamburguesa, durante su vida en anaquel.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### **Producción Nacional y Estatal de Carne de Bovino**

La ganadería bovina en México representa una de las principales actividades del sector agropecuario, con una producción promedio mensual de 600 000 mil ton de carne en canal, únicamente superada por el pollo (SIAP, 2019).

En el año 2019 el estado de Chihuahua produjo 98 645 ton de carne de bovino en canal (SIAP, 2019), situación por la cual, el Estado se posicionó en el noveno lugar de producción de carne a nivel nacional (SIAP, 2019).

### **Carne**

La carne se define como la estructura muscular estriada (acompañada o no de tejido conectivo hueso, grasa, fibras nerviosas y vasos linfáticos y sanguíneos) procedente de animales de abasto sanos (incluye; bovinos, ovinos, porcinos, caprinos, equinos, aves, animales de caza y mamíferos marinos) sacrificados en condiciones higiénicas y declarados aptos para el consumo humano (NOM, 2004). Lawrie (1988) menciona que a pesar de que los componentes principales de la carne varían en función de la especie, raza, sexo, edad y régimen alimenticio, estos pueden agruparse en los siguientes rangos; agua (65 – 80 %), proteína (16 – 22 %) y grasa (1 – 15%). La carne también tiene pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas no proteicas (aminoácidos libres, péptidos, nucleótidos, etc.), minerales de elevada



biodisponibilidad (hierro y zinc), vitaminas (piridoxina (B6), cianocobalamina (B12), retinol (A) y tiamina (B1)) y carbohidratos.

### **Productos Cárnicos**

Los productos cárnicos (PC) son aquellos productos alimenticios preparados total o parcialmente con carne o vísceras (permitidas para consumo humano, Mira, 1998). Estos se han elaborado desde la antigüedad, sin embargo, en un inicio su objetivo era conservar la carne por periodos más largos de tiempo (Mira, 1998). Existe una gran variedad de PC tales como los; cocidos, crudos, curados, desecados (secos o salados), empanados, fritos, madurados, marinados (o en salmuera) y procesados (NOM, 2018). De acuerdo a la normatividad la carne de hamburguesa se considera un PC crudo, que goza de gran aceptación entre la población nacional (Gómez *et al.*, 2013; NOM, 2018).

### **Aceites Esenciales**

Los aceites esenciales (AE) también llamados aceites volátiles o etéreos, son líquidos oleosos aromáticos extraídos por fermentación, destilación o solventes orgánicos de materia vegetal como; flores, semillas, hojas, ramas, frutas, raíces, etc., (Burt, 2004; Viuda-Martos *et al.*, 2010; Hyldgaard *et al.*, 2012).

En la actualidad se conocen aproximadamente 3000 aceites esenciales de los cuales 300 son comercializados principalmente en la industria agronómica y alimentaria (Burt, 2004).

Los AE son mezclas complejas que pueden contener entre 20 – 60 componentes a concentraciones diferentes. Se caracterizan porque dos o tres componentes principales están en concentraciones altas (entre el 20 al 70 %) en comparación con los otros compuestos presentes (Bakkali, 2008). Por lo anterior, los componentes principales determinaran las propiedades biológicas del AE.

Dentro de los compuestos principales que se encuentran en los AE en mayor proporción están los terpenos y terpenoides, los componentes aromáticos y alifáticos, todos caracterizados por un bajo peso molecular (Croteau *et al.*, 2000; Pichersky *et al.*, 2006).

Los terpenos son isoprenos insolubles en agua que constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (Ávalos y Pérez-Urria, 2009). La biosíntesis de los terpenos, carotenoides y esteroides (Figura 1) parte del isopentenil-difosfato (IPP) encontrado en el citoplasma y/o su isómero el dimetilalil difosfato (DMAPP) encontrado en los cloroplastos. La biosíntesis consiste en la conjugación cabeza – cola de dos o más moléculas de IPP y / o DMAPP que da como resultado moléculas de terpenos tales como; monoterpenos (moléculas más representativas que constituyen el 90 % de los AE) y sesquiterpenos (Ávalos y Pérez-Urria *et al.*, 2009). Además, con la conjugación del isopreno también se pueden obtener diterpenos, triterpenos y tetraterpenos. (Ávalos y Pérez-Urria *et al.*, 2009).

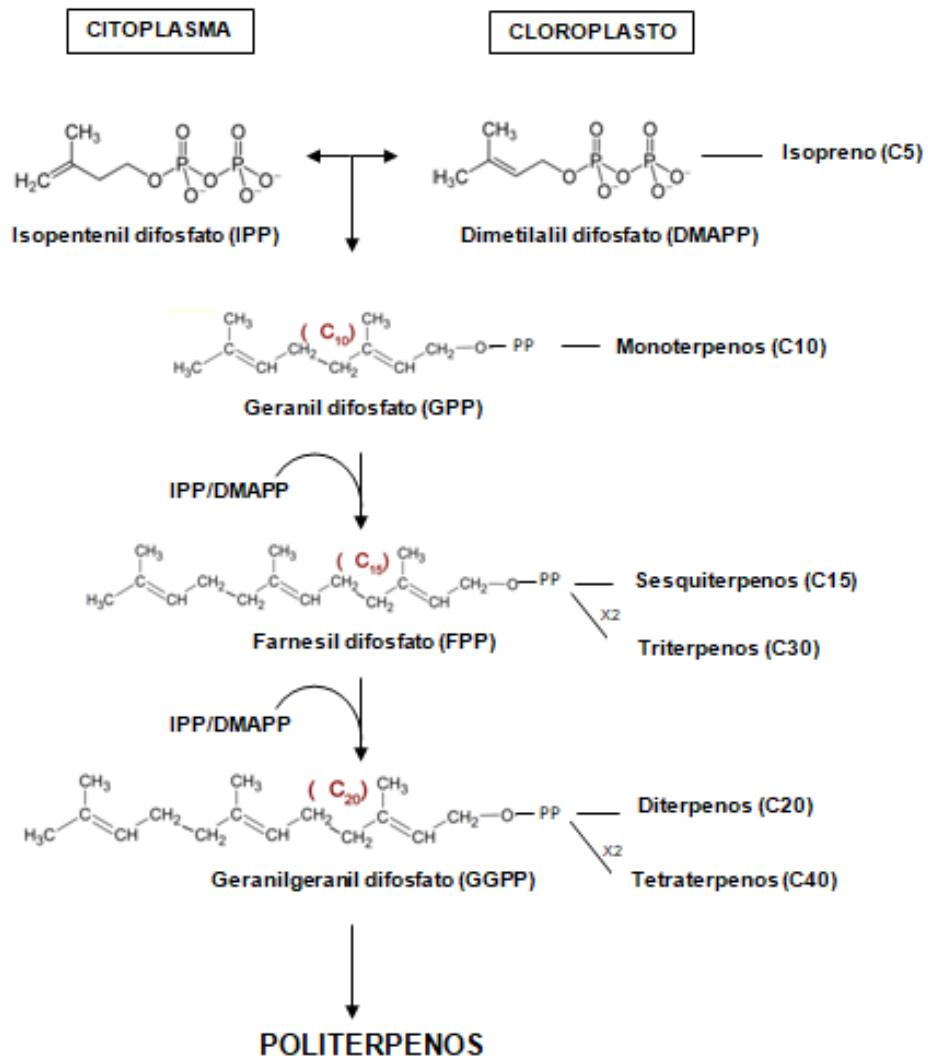


Figura 1. Biosíntesis de terpenos y su clasificación según las unidades de isopreno que contienen (Ávalos y Pérez-Urria *et al.*, 2009)

Se ha demostrado que, gracias a la presencia de los terpenos, los AE (ej. orégano, romero, tomillo, ajo y albahaca) poseen actividad antibacteriana y antifúngica (Ouattara *et al.*, 1997) contra microorganismos asociados con la carne, incluidas las bacterias Gram negativas (G-) y Gram positivas (G+) (Karabagias y Badeka, 2011). Además, los compuestos encontrados en menor concentración pueden tener efectos sinérgicos con otros componentes del mismo aceite o en combinación con otro AE, que da como resultado propiedades antibacterianas más eficientes (Marino *et al.*, 2001; Burt, 2004).

Los AE solos o en combinación con otros AE comúnmente son utilizados como ingredientes aromáticos y mejoradores del sabor, sin embargo, también son una alternativa como conservadores naturales por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Mimica-Dukic *et al.*, 2003; Bozin *et al.*, 2006; Goulas y Kontominas, 2007).

Aunque se ha observado buena actividad antimicrobiana para muchos AE, también se han identificado algunas limitaciones en la aplicación de estos en la carne y productos cárnicos, debido a la interacción de algunos de sus componentes con los ingredientes de la formulación (Juven *et al.*, 1994; Skandamis y Nychas, 2000)

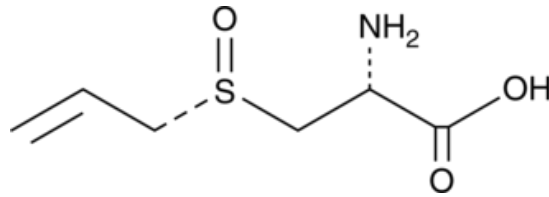
### **Aceite Esencial de Ajo (AEA)**

El ajo (*Allium sativum*) pertenece al género *Allium* y es originario del centro de Asia. Este es utilizado principalmente en la industria de los alimentos para modificar su aroma y sabor. Además, es apreciado por sus propiedades

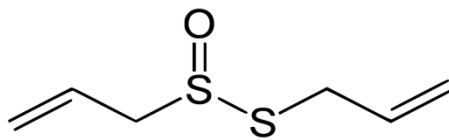
antimicrobianas, antioxidantes y por sus efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular e inmune (Harris *et al.*, 2010), efectos que han sido asociados a los componentes azufrados.

Los principales compuestos azufrados (Figura 2) son; aliina, alicina, ajoeno, trisulfuro de dialilo, salilcisteina, vinilditiinas, entre otras. Como principal agente antimicrobiano y antioxidante en el ajo se encuentra la alicina que es el precursor del aroma y sabor característico de este cuando se trituran los bulbos (López, 2007; Bender-Bojali y Barcenás-Pozos, 2013).

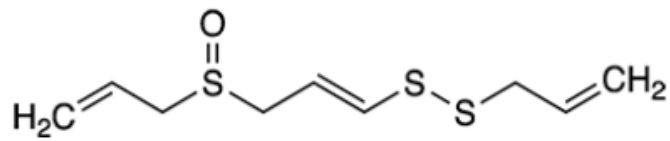
La actividad antimicrobiana de los compuestos azufrados derivados del ajo ha sido ampliamente investigada (Leuschner y Lelsch, 2003). Se considera que la alicina tiene actividad antimicrobiana ya que modifica la biosíntesis de los lípidos y síntesis de RNA de los microorganismos y disminuye el perfil de lípidos de los mismos (Rahman, 2007). De esta forma, la alicina inhibe a más de 300 microorganismos, incluyendo; Gram +, Gram -, organismos ácido – alcohol resistentes y hongos. Específicamente, Michalczyk *et al.* (2015) y Ibrahim-Hemmat *et al.* (2016) encontraron efecto inhibitorio del AEA contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*, en productos cárnicos.



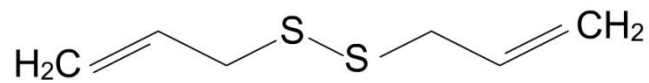
Aliina



Alicina



Ajoeno



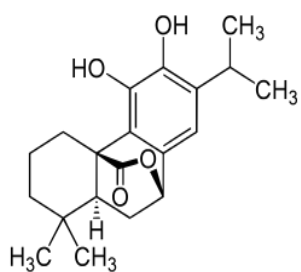
Disulfuro de dialilo

Figura 2. Principales compuestos azufrados encontrados en el ajo (Ávalos y Pérez-Urria *et al.*, 2009).

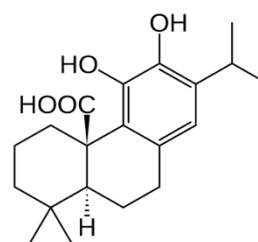
De los principales componentes que contiene el ajo con actividad antioxidante significativa se encuentran los compuestos azufrados, el selenio y los aminoácidos libres, en especial la cisteína, glutamina, isoleucina y metionina (López, 2007). El ajo tiene una capacidad antioxidante muy potente, debido a que muchos de sus componentes activos son eficaces para inhibir la formación de radicales libres y reforzar el mecanismo de captación de radicales endógenos, además aumentan las enzimas antioxidantes celulares como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa y protegen a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación causada por los radicales libres (Bender-Bojali y Barcenaz-Pozos, 2013). La alicina actúa como antioxidante al reaccionar con las enzimas que tienen grupos tiol libres, atrapando radicales libres, en especial radicales hidroxilo. Amany *et al.* (2010) encontraron valores bajos de Malonaldehído (MDA) en carne de bovino adicionada con AEA, lo que indicó una alta capacidad antioxidante de los componentes del AEA.

### **Aceite Esencial de Romero (AER)**

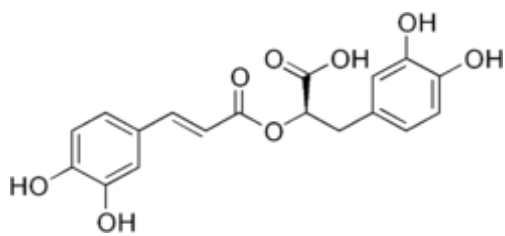
El romero (*Rosmarinus officinalis*) es una planta aromática medicinal que pertenece al género *Rosmarinus*, que cuenta con propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Luqman *et al.*, 2007). Aunque las principales estructuras que conforman al AER son el carnosól, ácido carnosico, rosmanol y ácido rosmarínico (Figura 3), también se encuentran otros compuestos como rosmaridifenol, epirosmanol, isorosmanol y rosmarinquinona, entre otros. Vegara *et al.*, 2011 mencionan que la concentración elevada de ácido carnósico es la responsable de la actividad antimicrobiana.



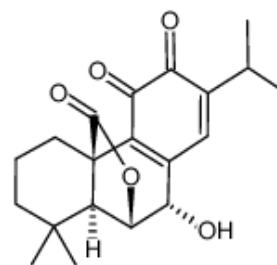
Carnosol



Acido carnósico



Acido rosmarinico



Rosmanol

Figura 3. Estructura de los principales componentes del aceite esencial de romero (Ávalos y Pérez-Urria *et al.*, 2009).



Sin embargo, Wu *et al.*, 2011 lo atribuyen a un efecto sinérgico del ácido carnósico, ácido rosmarinico y carnosól. Aunque existen estudios sobre la actividad antimicrobiana del romero, son escasos los trabajos publicados así como el número de microorganismos evaluados.

Sirocchi *et al.* (2016) investigaron el efecto antimicrobiano del AER en carne de res, encontrando que puede inhibir el crecimiento de bacterias psifcrófilas, *Pseudomonas*, *Brochothrix* y de enterobacterias

El carnosól y el ácido carnósico son los componentes activos del AER con mayor actividad antioxidante (Bozin *et al.*, 2017). No obstante, los datos con respecto al mecanismo de acción de los componentes del romero no son abundantes y se están buscando nuevos métodos para determinarlos (Bozin *et al.*, 2017). Investigaciones recientes sobre la actividad antioxidante del AER en carne de pollo almacenada a 4 °C y 18 °C por 3 días mostraron valores de MDA significativamente bajos a comparación del control, manteniendo valores muy similares desde el primer muestreo hasta el día 3 llegando a 0.055 MDA/kg (Stojanovic *et al.* 2018).

## **Oleorresinas**

Las OL son sustancias líquidas o viscosas obtenidas por extracción con solventes orgánicos. Se extraen de especias o de diferentes partes de plantas finamente molidas, principalmente chiles del genero *Capsicum* (Berke, 2012). El género *Capsicum* se considera un alimento originario de América y existen más de doscientas variedades, la terminología del género *Capsicum* es confusa, y

se usa indistintamente para el pimiento, chili, chile, chilli, ají, «páprika» y *Capsicum* (Bosland, 1996).

Las OL de chiles tienen componentes lipofílicos como; mono, di y triglicéridos, ácidos grasos libres, pigmentos (carotenos con estructura hidrocarbonada o xantófilas con oxígeno), aceites esenciales, resinas ácidas y sus ésteres, terpenos (y sus productos de oxidación o polimerización), ceras, esteroides vegetales y en mayor o menor medida, capsaicinoides (Fernández-Trujillo, 2007). Los capsaicinoides son un grupo de amidas ácidas derivadas de la vainillilamina, que se sintetizan y se acumulan en el tejido de la placenta en la planta (Cázares-Sánchez *et al.*, 2005) Se conocen más de 20 diferentes capsaicinoides cuya estructura química consiste en un núcleo fenólico unido mediante un enlace amida a un ácido graso (Figura 4). La porción fenólica es la vainillilamina, esta se forma a partir de la fenilalanina, mientras el ácido graso se forma a partir de aminoácidos de cadena lateral ramificada, ya sea valina o leucina (Zamski *et al.*, 1987).

Las diferencias estructurales de los diversos capsaicinoides residen en la naturaleza de la cadena lateral, que puede ser de 9 u 11 carbonos de largo, con un número variable de enlaces dobles colocados en diferentes posiciones (Vázquez-Flota *et al.*, 2007).

Los principales capsaicinoides (Figura 5) son; dihidrocapsaicina, capsaicina, norhidrocapsaicina homohidrocapsaicina homocapsaicina (Barbero *et al.*, 2014).

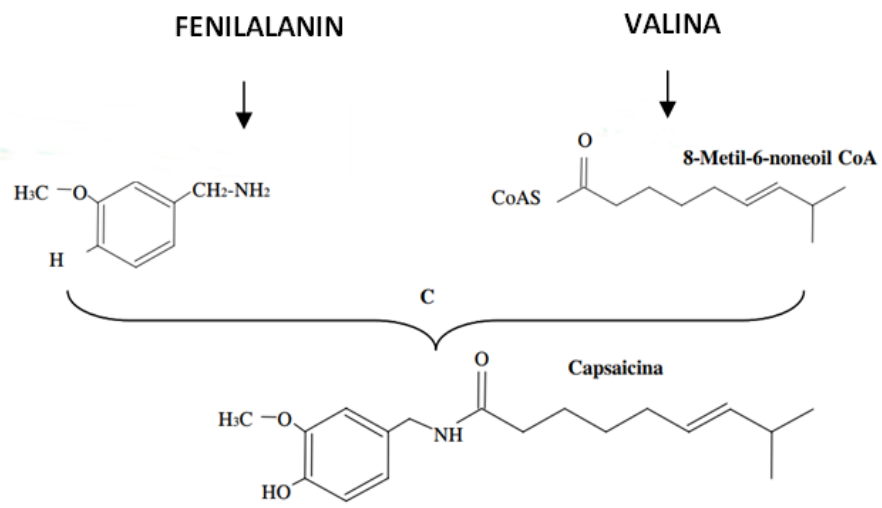
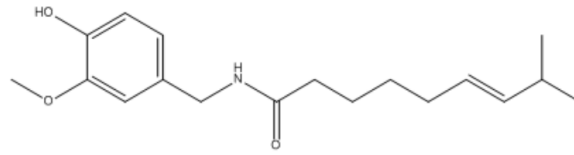
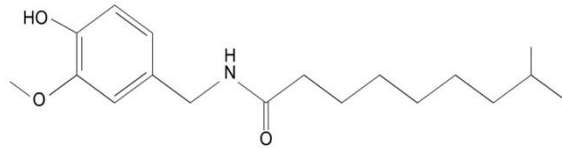


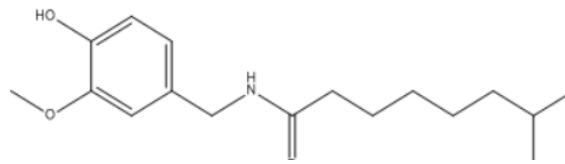
Figura 4. Biosíntesis de los capsaicionides encontrados en los chiles *Capsicum* (Vázquez-Flota *et al.*, 2007).



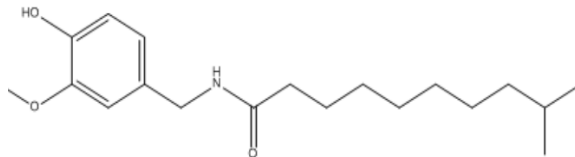
Capsaicina



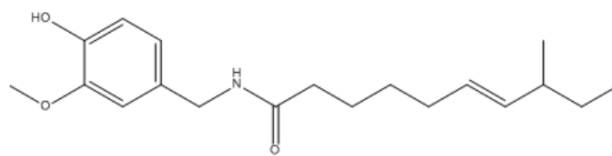
Dihidrocapsaicina



Norhidrocapsaicina



Homohidrocapsaicina



Homocapsaicina

Figura 5. Estructura de los principales capsaicinoides encontrados en oleoresina de chiles (Vázquez-Flota *et al.*, 2007).

Los capsicinoides encontrados en las oleorresinas de *Capsicum* son compuestos muy estables y por lo general no se descomponen, incluso durante el procesamiento a altas temperaturas y durante largos periodos de almacenamiento (Berke, 2012).

La importancia de las OL radica en la alta concentración de principios activos que presenta; sin embargo, en las variedades del género *Capsicum* también su interés se centra en la capsaicina y dihidrocapsaicina, debido a la pungencia que presentan (Govindarajan et al., 1977), y a que constituyen alrededor del 77 – 98 % del contenido total de capsicinoides (Restrepo-Gallego, 2006).

De acuerdo con Restrepo- Gallegos, (2006) las ventajas del uso de OL contra productos similares en polvo son:

1. Económicas. Las tasas de reemplazo pueden ser de hasta 100 kg del producto en polvo, por 1 o 2 kg de oleorresina, dependiendo de la concentración de ésta última.
2. Uniformidad. Los ingredientes activos en las OL se mantienen estandarizados.
3. Calidad. Son productos naturales y libres de residuos de disolventes dañinos para el ser humano, tampoco presentan contaminación microbiana, debido a la función de sus componentes.

4. Cumplimiento con las especificaciones. Clasificadas como productos GRAS (Generalmente reconocidos como seguros, por sus siglas en inglés) por la FDA, lo que permite su libre adición dentro de las formulaciones alimenticias.

5. Mayor vida de anaquel. La alta concentración de las OL y el hecho de ser prácticamente libres de agua, aseguran la inocuidad del producto, con la consecuente inhibición del crecimiento microbiano y la oxidación.

El rendimiento de las oleorresinas de *Capsicum* depende del color del pimiento original, y es muy variable según la especie con la que se elabore y otros factores tales como el solvente utilizado para su extracción, existiendo con esto variaciones de acuerdo a la casa comercial y origen de la materia prima (Fernández- Trujillo, 2007). Las oleorresinas de las diferentes variedades de chiles se utilizan para impartir sabores, aromas y colores en diversos productos de origen animal tales como; chorizos, salchichas, mortadelas, etc.

### **Oleorresina de Chile Chipotle**

Entre las especies domesticadas del género *Capsicum*, *C. annuum* es la más conocida y de mayor importancia económica ya que presenta una distribución más grande en todo el mundo, por lo general estos chiles se consumen crudos o cocidos y se han utilizado como aditivos en la industria alimentaria (Aguirre-Hernández y Muñoz-Ocotero, 2015).

Según Bosland y Votava (2000) en la actualidad, México tiene un gran número de variedades pertenecientes a esta especie, siendo la variedad

Jalapeño la más importante en términos de producción y consumo (SIAP-SAGARPA, 2019).

El chile chipotle (también conocido como chilpotle) resulta de la deshidratación con humo y calor de leña (ahumado) del chile jalapeño rojo, muy popular debido a su sabor un poco dulce (NMX-FF-108-SCFI-2007; González-Zamora *et al.*, 2013; Aguirre-Hernández y Muñoz-Ocotero, 2015). La palabra chipotle deriva del Náhuatl “chili” que se refiere a fruto picante y “poc̄tli” que significa ahumado. México es uno de los principales productores de chile jalapeño y el principal productor a nivel internacional de chile chipotle (Aguilar-Rincón *et al.*, 2010).

Los principales compuestos encontrados en el chile chipotle son los capsaicinoides y se encuentran en diferentes cantidades dependiendo, sobre todo, del genotipo, etapa de desarrollo, condiciones del cultivo y maduración del fruto (Singh *et al.*, 2014). Este chile presenta una variedad de capsicinoides tales como norhidrocapsicina, homodihidrocapsicina y hoomocapsicina, aunque los componentes pungentes en mayor cantidad son la capsicina y la dihidrocapsicina (Usman *et al.*, 2014).

La oleorresina de chipotle (OLC) se ha aplicado en muchos alimentos para impartir sabor y aroma, sin embargo estudios recientes le han atribuido propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Cavazza *et al.*, 2015). Las propiedades antioxidantes se han asociado con la inhibición de la peroxidación de los lípidos (Grande *et al.*, 2011), incluso se ha demostrado que la capsicina

es más eficaz que varios antioxidantes sintéticos. De igual manera se ha observado que el género *Capsicum*, es una buena fuente de compuestos antimicrobianos contra bacterias de importancia alimentaria tales como; *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* (Careaga *et al.*, 2003; Omolo *et al.*, 2014).

Lo anteriormente citado apoya la idea de proponer el uso de la OLC como agente antibacteriano natural en un alimento como lo es la carne fresca, ya que su susceptibilidad a la descomposición en comparación con los productos cárnicos procesado es mayor (Tipsrisukond *et al.*,1998).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antioxidante y antimicrobiana de los AE de *Rosmarinus officinalis* y *Allium sativum* y de la OL del chile chipotle (*Capsicum annum*) en carne de hamburguesa, durante su vida en anaquel.



## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Localización del Área de Estudio**

El proyecto se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Productos de Origen Animal ubicado en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

### **Origen de la Materia Prima**

Se utilizaron 10 kg de pulpa negra (músculo *Semimembranosus*) provenientes de la empresa Beef International S.A. de C.V. El ajo, romero y chile chipotle se obtuvieron de la cadena comercial Operadora Futurama S.A. de C.V. (Alsuper).

### **Extracción de Aceites Esenciales y Oleorresinas**

Los AE y la OL se elaboraron en el Laboratorio de Química I de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Los AEA, AER y la OLC se extrajeron con solventes orgánicos por medio de agitación a una temperatura de 150 °C (OLC - 60 min; AEA – 24 h; AER – 3 h). Para la extracción de AEA y OLC se añadió etanol al 70 (Duran *et al.*, 2007) y 80 %, respectivamente (Restrepo *et al.*, 2007; Ogaz, 2017) y ciclohexano al 96 % para el AER. Posteriormente se filtraron las muestras y los solventes fueron eliminados con un rotavapor. Para el AEA y la OLC se utilizó una temperatura de 60 °C y para el AER fue de 40 °C.

## **Descripción de los Tratamientos**

Se elaboraron seis tratamientos, los cuales se describen a continuación: T1) control; T2) AEA 1 %; T3) AER 1%; T4) OLC 0.5 %; T5) AEA 1 % + OLC 0.5 % y T6) AER 1 % + OLC 0.5 %. Las variables se midieron a los días 1, 8 y 15 por triplicado a excepción del análisis microbiológico el cual se realizó por duplicado. El análisis proximal únicamente fue medido al día 1 de estudio.

## **Elaboración de las Hamburguesas**

La molienda de la carne congelada (-5 °C) se realizó en un molino Torrey (M-12, CP 3/4). La carne molida se mezcló con sal y agua para lograr una concentración de 10 ml agua:1 g sal:100 g de carne y así generar la mezcla base. Posteriormente los AE y OL fueron añadidos en las concentraciones correspondientes: AEA 1.0 % (p/p), AER 1.0 % (p/p), OLC 0.5 % (p/p), AEA 1 % + OLC 0.5 % (p/p), y T6) AER 1 % + OLC 0.5 % (p/p). Finalmente, se moldearon hamburguesas de 150 g, las cuales fueron empacadas en bolsas de polietileno y almacenadas a 4 °C.

## **Color**

El color de las hamburguesas se midió con un espectrofotómetro Minolta® (Konica, CR-410, Japón) utilizando la técnica del sistema Cielab para L\*, a\* y b\*. L\* es un indicador de luminosidad (de negro a blanco), a\* indica la intensidad del color rojo, los valores abarcan del verde (cifras negativas) al rojo (cifras positivas) y b\* es la intensidad del amarillo, comprende desde el azul (valores negativos) hasta el amarillo (valores positivos). Además, se calculó la

diferencia de color (simbolizada como  $\Delta E^*$ ) de las hamburguesas para cada uno de los tratamientos usando el promedio de las lecturas de los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del tratamiento control como referencia y por medio de la siguiente fórmula, (Ramírez-Navas y Stouvenel, 2012).

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_{ref}^*)^2 + (a^* - a_{ref}^*)^2 + (b^* - b_{ref}^*)^2}$$

dónde:

$\Delta E$  = Diferencia de color

$L^*$  = Indicador de luminosidad (de negro a blanco)

$a^*$  = Tendencia al rojo

$b^*$  = Tendencia al amarillo

## **pH**

El pH se midió según la metodología de Honikel (1998), con un potenciómetro (Thermo Scientific™, Orion versaStar).

## **Composición Química**

El análisis químico proximal se realizó de acuerdo a las regulaciones respectivas de la AOAC. La humedad se determinó por secado a 100 °C (AOAC 2007.04), cenizas por incineración (AOAC 920.153), proteína por el método Kjeldahl (AOAC 981.10) y grasa por Mojonnier (AOAC 2007.04).

## **Oxidación de Lípidos**

Se realizó por la metodología de Falzgraf *et al.* (1995), con ligeras modificaciones, donde 10 g de muestra se mezclaron con 20 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 10 %. Las muestras se centrifugaron a 1500 g durante 30 min a 4 °C y el sobrenadante se filtró a través de un papel filtro No. 1. Posteriormente 2 ml del filtrado se mezclaron con 2 ml de TBA 20 mM, previo a la lectura de las muestras se realizó una curva de calibración generada a partir de una solución de trabajo de TEP 4.73 mM. Se tomaron volúmenes crecientes de la solución (0 a 30 µl), 5 ml de TBA y 5 ml de agua. Tanto la curva como las muestras se agitaron 1 min en vórtex. La absorbancia fue leída a 531 nm con un espectrofotómetro (Shimadzu UV – 1800 120V). Los valores obtenidos se expresan como mg de MDA/kg de carne.

## **Análisis Microbiológico**

Las muestras de carne fueron diluidas 1:10 en diluyente estéril (Maximum Recovery Diluent, MRD, CM0733, Oxoid, Basingstoke, RU), a partir de esta solución se hicieron diluciones seriadas. Las muestras se inocularon por duplicado en los agares correspondientes. Cuenta total en placa (AOAC 990.12) en agar Plate Count Agar (PCA, CM0325, Oxoid, Basingstoke, RU), *Staphylococcus aureus* (AOAC 2003.07) en agar Baird Parker (BP, 11723503, BD BIOXON<sup>®</sup>, Cuautitlán Izcalli, México) enriquecido con yema de huevo y telurito (S1058JAA, BD Difco<sup>®</sup>, Cuautitlán Izcalli, México), coliformes totales (AOAC 991.14) en agar Rojo Bilis Violeta (RBV, 70188, Fluka, Spruce, EUA),

mohos y levaduras (AOAC 997.02) en agar papa dextrosa, *Salmonella* (NOM-114-SSA1-1994) en agar Xilosa, Lisina y Tergitol 4 (XLT4, R459802, Remel®), *Brochothrix thermosphacta* (AOAC 303–306) en agar Estreptomicina Talio Acetato Actidione (STAA, CM0881, Oxoid®, Basingstoke, RU), bacterias ácido lácticas (NOM-243-SSA1-2010) en agar de Man, Rogosa Sharpe (MRS, 110660, MERCK®, Darmstadt, Alemania) y *Pseudomas* spp. (ISO 13720-2011) en agar Ceftrimida, Fucidin, Cefalosporinas (CFC, CM0559, Oxoid®, Basingstoke, RU) enriquecido con suplemento SR0103E (Oxoid®, Basingstoke, RU). Los medios inoculados se incubaron a 32 °C a excepción de *B. thermosphacta*, mohos y levaduras, los cuales fueron incubados a 25 °C. Los resultados se expresaron en UFC/g.

### **Análisis Sensorial**

El análisis sensorial se llevó a cabo mediante una prueba de aceptabilidad evaluada al primer día de elaboración de la carne de hamburguesa por un panel de 50 consumidores, utilizando una escala lineal no estructurada (9: me gusta mucho y 0: me disgusta mucho) (Anzaldúa, 1994). Los panelistas probaron, en orden aleatorio, una muestra de cada una de las variaciones de producto; y evaluaron color, sabor, olor, y apariencia general. Los consumidores se dividieron en Clústeres para poder encontrar relación (convergencias y divergencias) entre sus preferencias (XLSTAT Addinsoft 2020) Como resultado se obtuvieron tres Clústeres, el Clúster 1 conformado por 24 consumidores y los Clústeres 2 y 3, conformados por 12 consumidores cada uno. Además, se realizó un Análisis de Correspondencia (XLSTAT Addinsoft

2020) donde los resultados fueron categorizados en 5 estratos (estrato 1, puntuación de 0 - 2; estrato 2, >2 - 4; estrato 3, >4 - 6; estrato 4, >6 - 8; estrato 5, >8).

### **Análisis Estadístico**

Para evaluar el efecto del AEA, AER, OLC, AEA + OLC y AER + OLC, el tiempo de almacenamiento y su interacción, se realizó un diseño completamente al azar, utilizando un análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente una prueba de Tukey para comparación múltiple de medias (SAS 9.1<sup>®</sup> 2004), utilizando un  $\alpha=0.05$  para considerar efecto o diferencia significativa.

Para evaluar las características fisicoquímicas (grasa, proteína, humedad y cenizas) se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} ,$$

Donde:

$y_{ij}$  = Es la *j*-ésima observación en el *i*-ésimo tratamiento

$\mu$  = Es la media general de la variable de interés

$\tau_j$  = Es el efecto del *i*-ésimo tratamiento

$\varepsilon_{ij}$  = Es el *j*-ésimo error aleatorio del modelo, en el *i*-ésimo tratamiento

Las variables de color, pH, oxidación lipídica y actividad antimicrobiana se midieron a través del tiempo y se evaluaron con el siguiente modelo:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + P_j + \tau P_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

Donde:

$y_{ijk}$  = variable de respuesta medida la  $k$ -ésima repetición dentro del  $i$ -ésimo tratamiento en el  $j$ -ésimo tiempo

$\mu$  = media general

$\tau_i$  = efecto del  $i$ -ésimo tratamiento

$P_j$  = efecto del  $j$ -ésimo tiempo

$\tau P_{ij}$  = efecto de la interacción entre el  $i$ -ésimo tratamiento y el  $j$ -ésimo tiempo:

$\varepsilon_{ij}$  = error aleatorio de la  $k$ -ésima repetición dentro del  $i$ -ésimo tratamiento en el  $j$ -ésimo tiempo

En ambos modelos se consideró el supuesto de que los errores se encuentran idéntica e independientemente distribuidos, de manera normal, con media cero y varianza  $\sigma^2$ , es decir,  $\varepsilon_{ij} \sim IIN(0, \sigma^2)$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Color

El Cuadro 1 muestra los valores de los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  medidos a través del tiempo, así como la diferencia de color ( $\Delta E^*$ ) entre ellos, tomándose como referencia el tratamiento control (T1).

El parámetro luminosidad ( $L^*$ ) no mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, si hubo cambios significativos a través del tiempo ( $P < 0.05$ ) donde el día 1 fue diferente de los días 8 y 15 en todos los tratamientos.

En el parámetro  $a^*$  los valores positivos indican una tendencia al color rojo y los negativos al verde. En este parámetro se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ). Los tratamientos T4 y T6 fueron significativamente similares ( $P > 0.05$ ), pero estadísticamente diferentes ( $P < 0.05$ ) de T1, T2 y T3, mientras que T5 no fue diferente a ningún de ellos. Los T4, T5 y T6 estaban adicionados con OLC y obtuvieron los valores más altos de  $a^*$ , en específico, de estos tres tratamientos, el T4 registró los valores más altos de  $a^*$ ; con  $13.29 \pm 1.15$ ,  $10.89 \pm 1.32$  y  $12.30 \pm 0.73$  a los días 1, 8 y 15, respectivamente; es importante mencionar que este tratamiento únicamente estaba adicionado con OLC.



Cuadro 1. Parámetros (media ± desviación estándar) de color L\*, a\* y b\* a través del tiempo en hamburguesas (carne molida de res) adicionada con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*)

Parámetro	Día	Tratamientos <sup>1</sup>					
		T1	T2	T3	T4	T5	T6
L*	1	31.73 ± 1.19 <sup>aB</sup>	30.52 ± 1.43 <sup>aB</sup>	31.27 ± 1.43 <sup>aB</sup>	31.55 ± 1.75 <sup>aB</sup>	30.27 ± 1.36 <sup>aB</sup>	30.70 ± 1.14 <sup>aB</sup>
	8	32.34 ± 1.40 <sup>aA</sup>	32.57 ± 0.78 <sup>aA</sup>	32.00 ± 1.32 <sup>aA</sup>	31.68 ± 1.32 <sup>aA</sup>	31.98 ± 2.75 <sup>aA</sup>	32.13 ± 1.87 <sup>aA</sup>
	15	31.47 ± 1.04 <sup>aA</sup>	31.39 ± 1.14 <sup>aA</sup>	32.88 ± 0.78 <sup>aA</sup>	31.56 ± 0.96 <sup>aA</sup>	31.42 ± 0.86 <sup>aA</sup>	33.50 ± 0.77 <sup>aA</sup>
a*	1	12.17 ± 2.90 <sup>bA</sup>	11.62 ± 2.37 <sup>bA</sup>	10.55 ± 1.25 <sup>bA</sup>	13.29 ± 1.15 <sup>aA</sup>	11.37 ± 1.34 <sup>bA</sup>	11.53 ± 3.38 <sup>abA</sup>
	8	8.33 ± 1.34 <sup>bB</sup>	8.76 ± 1.08 <sup>bB</sup>	8.05 ± 1.59 <sup>bB</sup>	10.89 ± 1.32 <sup>aB</sup>	9.10 ± 1.32 <sup>bB</sup>	10.28 ± 1.02 <sup>abB</sup>
	15	10.6 ± 1.02 <sup>bA</sup>	11.42 ± 0.81 <sup>bA</sup>	11.06 ± 0.80 <sup>bA</sup>	12.30 ± 0.73 <sup>aA</sup>	10.73 ± 0.52 <sup>bA</sup>	11.80 ± 1.16 <sup>abA</sup>
b*	1	6.95 ± 0.56 <sup>aB</sup>	6.64 ± 0.59 <sup>aB</sup>	6.72 ± 0.56 <sup>aB</sup>	8.35 ± 1.04 <sup>aB</sup>	7.40 ± 0.60 <sup>aB</sup>	7.59 ± 0.74 <sup>aB</sup>
	8	10.66 ± 1.19 <sup>aA</sup>	10.82 ± 0.84 <sup>aA</sup>	10.52 ± 2.56 <sup>aA</sup>	10.60 ± 2.56 <sup>aA</sup>	11.11 ± 0.98 <sup>aA</sup>	11.60 ± 0.99 <sup>aA</sup>
	15	12.13 ± 0.95 <sup>aA</sup>	11.88 ± 1.00 <sup>aA</sup>	11.28 ± 1.32 <sup>aA</sup>	8.96 ± 1.66 <sup>aA</sup>	9.26 ± 0.41 <sup>aA</sup>	11.40 ± 0.76 <sup>aA</sup>
ΔE*	1	-	1.74 ± 0.57 <sup>bA</sup>	2.06 ± 0.87 <sup>bA</sup>	3.65 ± 1.16 <sup>aA</sup>	3.22 ± 1.16 <sup>aA</sup>	3.66 ± 1.55 <sup>aA</sup>
	8	-	1.8 ± 0.76 <sup>bA</sup>	2.28 ± 0.98 <sup>bA</sup>	3.72 ± 1.06 <sup>aA</sup>	3.06 ± 1.45 <sup>aA</sup>	3.42 ± 2.04 <sup>aA</sup>
	15	-	2.49 ± 1.14 <sup>bA</sup>	2.23 ± 0.91 <sup>bA</sup>	3.65 ± 1.45 <sup>aA</sup>	3.67 ± 0.48 <sup>aA</sup>	3.30 ± 1.47 <sup>aA</sup>

<sup>1</sup>L\* = luminosidad, a\* = verde (-) y rojo (+), b\* = azul (-) y amarillo (+). ΔE\* = Diferencia de color calculado de acuerdo a  $\Delta E^* = \sqrt{(L^* - L^*_{ref})^2 + (a^* - a^*_{ref})^2 + (b^* - b^*_{ref})^2}$

<sup>1</sup>T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo 1 %, T3 = aceite esencial de romero 1 %, T4 = oleorresina de chile chipotle 0.5 %, T5 = aceite esencial de ajo 1 % + oleorresina de chile chipotle 0.5 %, T6 = aceite esencial de romero 1 % + oleorresina de chile chipotle 0.5 %

<sup>a,b,c</sup> = Literales diferentes en la misma fila indican diferencia significativa (P < 0.05) entre tratamientos

<sup>A,B,C</sup> = Literales diferentes en la misma columna indican diferencia significativa (P < 0.05) a través del tiempo

Con respecto al tiempo, en todos los tratamientos no se encontraron diferencias significativas entre los días 1 y 15 ( $P > 0.05$ ); sin embargo el día 8 sí mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) respecto a los otros dos días. Al día 8, todos los tratamientos mostraron valores menores de  $a^*$ .

En relación al parámetro  $b^*$  (valores positivos indican tendencia al color amarillo y valores negativos tendencia al azul), no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0.05$ ) y, a través del tiempo, no se presentaron diferencias entre los días 8 y 15 ( $P > 0.05$ ) en todos los tratamientos, pero sí hubo diferencia estadística ( $P < 0.05$ ) entre los días 8 y 15, y el día 1, siendo en todos los casos el valor menor a este día. La adición de extractos de aceites esenciales u oleorresinas a la carne en las diferentes concentraciones previamente descritas, no provocó cambios significativos en la diferencia de color ( $\Delta E$ ) ( $P > 0.05$ ). Estos resultados concuerdan con aquellos reportados por Michalczyk *et al.* (2015) y Stojanović-Radić *et al.* (2018), quienes sugirieron que estos aceites no presentan pigmentos que provoquen un cambio importante en el color del producto al cual es añadido.

No hubo cambios de color ( $\Delta E$ ) significativos ( $P > 0.05$ ) a través del tiempo para ninguno de los tratamientos. Sin embargo, los tratamientos T2 y T3 presentaron diferencias de color menores ( $P < 0.05$ ) que los tratamientos T4, T5 y T6.

Los valores  $\Delta E$  mayores a 2.7 son percibidos por el ojo humano, de acuerdo a la escala de Ramírez-Navas y Stouvenel (2012). Por lo tanto, los cambios de

color ( $\Delta E$ ) de T4, T5 y T6 se apreciaron desde el día 1 ( $3.65 \pm 1.16$ ,  $3.22 \pm 1.16$  y  $3.66 \pm 1.55$  respectivamente) y continúa esta diferencia significativa a lo largo del tiempo ( $3.72 \pm 1.06$ ,  $3.06 \pm 1.45$  y  $3.42 \pm 2.04$ ; d 8 y  $3.65 \pm 1.45$ ,  $3.67 \pm 0.48$  y  $3.30 \pm 1.47$ ; d 15).

Estos cambios se pudieran asociar con los carotenoides y capsaicinoides de la OLC. Los carotenoides son químicamente tetraterpenoides, pigmentos terpenoides con 40 átomos de carbono (C40), con diversos grupos terminales, que provocan propiedades cromóforas variadas, como el color rojo captado por el ojo humano (Topuz y Ozdemir, 2007). La OLC también presenta en su estructura capsaicinoides, siendo los más importantes la hidrocapsaicina y la capsaicina, esta última es el capsaicinoide predominante y pigmento rojo, natural en las plantas de Chile (Restrepo-Gallego, 2006).

## **pH**

El pH (Cuadro 2) de las hamburguesas estuvo dentro de un rango de  $5.43 \pm 0.007$  a  $5.59 \pm 0.086$ . El pH más bajo se registró en los tratamientos T1 y T4 ( $5.43 \pm 0.007$  y  $5.43 \pm 0.015$ , respectivamente) al día 1. El pH más elevado lo obtuvieron los tratamientos T4 y T5 ( $5.59 \pm 0.086$  y  $5.59 \pm 0.002$ , respectivamente) al día 15. El tratamiento y el tiempo no afectaron significativamente el pH ( $P > 0.05$ ). A pesar de las diferencias en pH, todos los valores se consideran aceptables pues entran dentro del rango que va de 5.3 a 5.6 con un óptimo de 5.5 para carne de hamburguesa (Belitz *et al.*, 1985; Zausnabar *et al.*, 2016).

Cuadro 2. Valores de pH (media  $\pm$  desviación estándar) a través del tiempo en hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*)

Tratamientos <sup>1</sup>	Días		
	1	8	15
T1	5.43 $\pm$ 0.007 <sup>Aa</sup>	5.46 $\pm$ 0.008 <sup>aA</sup>	5.51 $\pm$ 0.007 <sup>aA</sup>
T2	5.46 $\pm$ 0.009 <sup>Aa</sup>	5.51 $\pm$ 0.007 <sup>aA</sup>	5.57 $\pm$ 0.004 <sup>aA</sup>
T3	5.46 $\pm$ 0.008 <sup>aA</sup>	5.51 $\pm$ 0.008 <sup>aA</sup>	5.55 $\pm$ 0.014 <sup>aA</sup>
T4	5.43 $\pm$ 0.015 <sup>Aa</sup>	5.48 $\pm$ 0.009 <sup>aA</sup>	5.59 $\pm$ 0.086 <sup>aA</sup>
T5	5.45 $\pm$ 0.006 <sup>Aa</sup>	5.49 $\pm$ 0.019 <sup>aA</sup>	5.59 $\pm$ 0.002 <sup>aA</sup>
T6	5.44 $\pm$ 0.006 <sup>Aa</sup>	5.47 $\pm$ 0.008 <sup>aA</sup>	5.58 $\pm$ 0.005 <sup>aA</sup>

<sup>1</sup> T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo 1 %, T3 = aceite esencial de romero 1 %, T4 = oleorresina de chile chipotle 0.0 %, T5 = aceite esencial de ajo 1 % + oleorresina de chile chipotle 0.5 %, T6 = aceite esencial de romero 1 % + oleorresina de chile chipotle 0.5 %.

<sup>a,b</sup> = Literales diferentes entre columnas muestran diferencia significativa (P < 0.05) entre tratamientos

<sup>A,B</sup> = Literales diferentes entre líneas muestran diferencia significativa (P < 0.05) a través del tiempo

Los resultados concuerdan con Kirkpinar *et al.* (2014), quien no encontró una diferencia estadística en el pH en carne de pollo al utilizar AE como conservadores. De igual manera Sánchez *et al.* (2008) menciona que la prolongación de la vida útil no se ha observado en carne con pH elevado (> 6), por lo cual es importante en el estudio pues el pH se mantuvo dentro del rango normal.

### **Composición Química de la Carne**

La FAO (2019) indica que el contenido de proteína en carne de bovino puede variar desde 16.5 % a 22.3 %, los valores de grasa van desde 1.8 % a 28.0 %, cenizas puede ir desde 0.8 % hasta 3.0 % y el contenido humedad de 54.7 % a 75.0 %. De igual manera Valero *et al.* (2010) mencionaron que el contenido de proteína es de 22 %, el de grasa de 4.1 % a 15 %, humedad de 68 % a 72 % y cenizas de 1 % a 3.5 %, siendo muy similares estos valores a los obtenidos en el presente trabajo (Cuadro 3), donde se observó que no hubo diferencia significativa ( $P > 0.05$ ). Es importante mencionar que los valores varían cuando la carne es procesada, pues dependen del tipo de corte, la cantidad de grasa añadida, y los ingredientes de se añadan en la formulación (FAO, 2019).

En los resultados de este trabajo se muestran valores de proteína que van de  $20.63 \pm 0.87$  a  $21.74 \pm 1.32$ , grasa de  $10.63 \pm 0.5$  a  $11.11 \pm 1.07$ , humedad de  $70.62 \pm 1.06$  a  $71.69 \pm 1.23$  y cenizas de  $2.22 \pm 0.35$  a  $2.44 \pm 0.14$ , todos encontrándose dentro de los valores antes mencionados en la literatura (Valero *et al.* 2010; FAO, 2019).

Cuadro 3. Composición química (media  $\pm$  desviación estándar) de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*)

Tratamiento <sup>1</sup>	Grasa	Proteína	Humedad	Ceniza
T1	11.6 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	21.74 $\pm$ 1.32 <sup>a</sup>	70.69 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	2.44 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
T2	11.06 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	21.8 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>	70.62 $\pm$ 1.77 <sup>a</sup>	2.3 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>
T3	10.7 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>	21.29 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>	71.26 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>	2.36 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>
T4	11.11 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	21.55 $\pm$ 0.96 <sup>a</sup>	71.62 $\pm$ 1.06 <sup>a</sup>	2.3 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
T5	10.63 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	20.63 $\pm$ 0.87 <sup>a</sup>	70.7 $\pm$ 1.35 <sup>a</sup>	2.29 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>
T6	11.11 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>	20.8 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>	71.69 $\pm$ 1.23 <sup>a</sup>	2.22 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo 1 %, T3 = aceite esencial de romero 1 %, T4 = oleorresina de chile chipotle 0.5 %, T5= aceite esencial de ajo 1 %+ oleorresina de chile chipotle 0.5 %, T6= aceite esencial de romero 1 % + oleorresina de chile chipotle 0.5 %.

<sup>a,b</sup> = Literales diferentes entre líneas muestran diferencia significativa (P < 0.05) entre tratamientos

Los resultados concuerdan con Lemay *et al.* (2002) y Mukhtar *et al.* (2018) quienes al hacer el análisis de composición química de la carne de bovino adicionado con diferentes aceites esenciales no encontraron diferencia significativa entre estas. Michalczyk *et al.* 2015 mencionan que los AE y las OL no afectan el producto en términos químicos ya que los componentes químicos no afectan a la cadena de aminoácidos que conforman las proteínas cárnicas. Otro factor importante fue que la mezcla de carne de hamburguesa utilizada para el estudio fue la misma en todos los tratamientos.

### **Oxidación de Lípidos**

El Cuadro 4 muestra los resultados de la oxidación lipídica de las muestras de los seis tratamientos a través del tiempo (1, 8 y 15); encontrándose que la oxidación lipídica entre tratamientos se vio afectada significativamente ( $P < 0.05$ ).

El mayor grado de oxidación de lípidos se registró en los tratamientos T1 y T5 ( $0.71 \pm 0.032$ ,  $0.89 \pm 0.011$ ,  $1.6 \pm 0.034$  y  $0.67 \pm 0.037$ ,  $0.92 \pm 0.010$  y  $1.43 \pm 0.21$  a los días 1, 8 y 15, respectivamente). Mientras que aquellos más bajos lo presentaron el T4 con  $0.13 \pm 0.035$  y  $0.78 \pm 0.084$  y T6 con  $0.13 \pm 0.02$  y  $0.078 \pm 0.083$  (días 1 y 15 respectivamente).

En los T4 y T6 fue evidente la reducción de la oxidación lipídica (valores más bajos de MDA) en las hamburguesas, resultados que se pueden asociar a la inclusión y combinación de OLC y AER.

Cuadro 4. Oxidación de lípidos (MDA/ kg de carne, media  $\pm$  desviación estándar) a través del tiempo en hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*)

Tratamiento <sup>1</sup>	Días		
	1	8	15
T1	0.71 $\pm$ 0.032 <sup>Ac</sup>	0.89 $\pm$ 0.011 <sup>ab</sup>	1.6 $\pm$ 0.034 <sup>aA</sup>
T2	0.36 $\pm$ 0.057 <sup>cC</sup>	0.60 $\pm$ 0.025 <sup>cb</sup>	1.16 $\pm$ 0.01 <sup>ca</sup>
T3	0.47 $\pm$ 0.007 <sup>bB</sup>	0.83 $\pm$ 0.09 <sup>bB</sup>	1.06 $\pm$ 0.02 <sup>ba</sup>
T4	0.13 $\pm$ 0.035 <sup>dC</sup>	0.59 $\pm$ 0.012 <sup>dB</sup>	0.78 $\pm$ 0.084 <sup>dA</sup>
T5	0.67 $\pm$ 0.037 <sup>aC</sup>	0.92 $\pm$ 0.010 <sup>ab</sup>	1.43 $\pm$ 0.21 <sup>aA</sup>
T6	0.13 $\pm$ 0.02 <sup>dC</sup>	0.48 $\pm$ 0.014 <sup>dB</sup>	0.78 $\pm$ 0.083 <sup>dA</sup>

<sup>1</sup> T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo 1 %, T3 = aceite esencial de romero 1 %, T4 = oleorresina de chile chipotle 0.5 %, T5= aceite esencial de ajo 1 % + oleorresina de chile chipotle 0.5 %, T6= aceite esencial de romero 1 % + oleorresina de chile chipotle 0.5 %.

<sup>a,b,c</sup> Literales diferentes entre filas indican diferencia significativa (P < 0.05) entre tratamientos

<sup>A,B,C</sup> Literales diferentes entre columnas indican diferencia significativa (P < 0.05) a través del tiempo



El romero y la salvia son las plantas con mayor contenido de antioxidantes (Chipault *et al.*, 1952). En el AER los compuestos que principalmente son responsables de la actividad antioxidante son el ácido carnósico y el carnosol (Velasco y Williams, 2011) aunque también se han aislado otros antioxidantes como ácidos fenólicos, flavonoides, pigmentos naturales (capsaicina y curcumina) y terpenos (rosmanol, epirosmanol e isorosmanol) (Cuvelier, *et al.*, 1994; Arouma *et al.*, 1996,).

El ácido carnósico es un activador de radicales peróxilo, que inhibe la formación de hidroxiperóxido y previene su descomposición (Ávila-Sosa *et al.*, 2011). El poder del AER para inhibir la peroxidación lípica en productos cárnicos ha sido reportado anteriormente por Cetin *et al.* (2017), Karpinska-Tymoszczczyk (2014) y Mohamed *et al.* (2011), los estudios coinciden en que las muestras tratadas con el romero tienen valores estadísticamente más bajos de MDA que las muestras no tratadas. De igual manera Borella *et al.* (2019) y Pires *et al.* (2017) demostraron que 0.03 % de AER es suficiente para mantener la estabilidad oxidativa de un producto congelado por 20 días.

Los frutos del género *Capsicum* tienen carotenoides en su estructura, que imparten características crómoformas y antioxidantes (Topuz y Ozdemir, 2007). Este género también está compuesto por capsaicinoides; como capsaicina y dihidrocapsaicina, los cuales tienen una importante capacidad antioxidante, cuya potencia depende de; número de enlaces dobles conjugados, grupos ceto y presencia de anillos ciclopentano (Salimath *et al.*, 1986). Los capsaicinoides en la carne actúan como extintor de oxígeno singulete o como agente de ruptura en una

cadena específica y reaccionan con los radicales libres bajo condiciones de oxidación lipídica (Carbalho *et al.*, 2015). Por lo anterior, reduce de la oxidación lipídica en condiciones aerobias a través del tiempo Wojciak *et al.*, (2011).

Los chiles *Capsicum* también tienen concentraciones variables de otros compuestos dependiendo de la variedad, por ejemplo, los chiles rojos tienen mayor cantidad de vitamina E (VitE) que los chiles verdes (Daood *et al.*, 1996; Hornero-Méndez *et al.*, 2000). La VitE al igual que los capsaicinoides es un donador de electrones al competir por el sustrato sobre radicales peroxilo (Georgantelis *et al.*, 2007), por esta razón, en frutos rojos la inhibición de la oxidación lipídica es muy elevada (Conforti *et al.*, 2007).

Los diterpenos fenólicos como el ácido carnósico y el carnosol (componentes del AER), cuando son combinados con compuestos que presentan una estructura química similar producen un efecto sinérgico, y actúan como terminadores de cadena de radicales libres y quelantes de especies reactivas de oxígeno (Jordán *et al.*, 2014; Gema *et al.*, 2018), lo cual podría explicar los resultados presentados en el tratamiento T6 (AER y OLC).

A pesar de los resultados obtenidos, es importante mencionar que además de actuar como antioxidantes, los carotenoides pueden actuar como antagonistas o pro-oxidantes, esto dependiendo de varios factores que incluyen condiciones de almacenamiento, presencia de otros antioxidantes y pro-oxidantes en alta presencia de oxígeno (Boon *et al.*, 2009), como ocurrió en el caso del T5 ( $0.67 \pm 0.037$ ,  $0.92 \pm 0.010$ ,  $1.43 \pm 0.21$ ), el cual presentó valores de MDA muy cercanos

al control ( $0.71 \pm 0.032$ ,  $0.89 \pm 0.01$ ,  $11.6 \pm 0.034$ ) ambos a los días 1, 8 y 15 respectivamente, indicando una baja actividad antioxidante por parte del AEA y del OLC.

### **Análisis Microbiológico**

Todas las muestras adicionadas con AE y OLC presentaron actividad antimicrobiana (Cuadro 5). La cuenta total de aerobios fue estadísticamente diferente ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos. En el T1 ( $2.59 \pm 0.9$ ,  $3.14 \pm 0.02$ ,  $5.25 \pm 0.14 \log_{10}\text{UFC/g}$ ) se registraron los conteos más altos, mientras que en el T6 ( $1.58 \pm 0.22$ ,  $2.6 \pm 0.17$ ,  $4.35 \pm 0.26 \log_{10}\text{UFC/g}$ ) los más bajos, una tendencia similar se observó a través del tiempo.

*Staphylococcus aureus* tuvo un patrón particular de crecimiento, en todos los tratamientos se observó un incremento del día 1 al 8; sin embargo, al día 15, en los tratamientos 2, 3, 5 y 6 los conteos se presentaron por debajo del límite de detección.

No se observó diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos para *S. aureus*, pero si a través del tiempo ( $P < 0.05$ ). El T2 tuvo el conteo más alto a los días 1 y 8 ( $1.31 \pm 0.19$  y  $1.5 \pm 0.01 \log_{10}\text{UFC/g}$ , respectivamente).

El crecimiento de *Salmonella spp.* no fue afectado ni por los tratamientos y ni por el tiempo ( $P > 0.05$ ). Los conteos de *Salmonella* estuvieron en todos los tratamientos por debajo del nivel de detección.

Cuadro 5. Conteo de microorganismos ( $\log_{10}$ UFC/g, media  $\pm$  desviación estándar) de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*)

Microorg	Día	Tratamientos <sup>1</sup>					
		T1	T2	T3	T4	T5	T6
CTA	1	2.59 $\pm$ 0.9 <sup>ab</sup>	1.82 $\pm$ 0.17 <sup>bb</sup>	1.6 $\pm$ 0.14 <sup>bb</sup>	1.82 $\pm$ 0.02 <sup>bb</sup>	1.75 $\pm$ 0.24 <sup>bb</sup>	1.58 $\pm$ 0.22 <sup>bb</sup>
	8	3.14 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	2.37 $\pm$ 0.28 <sup>bb</sup>	2.77 $\pm$ 0.11 <sup>bb</sup>	3.3 $\pm$ 0.47 <sup>bb</sup>	2.43 $\pm$ 0.12 <sup>bb</sup>	2.6 $\pm$ 0.17 <sup>bb</sup>
	15	5.25 $\pm$ 0.14 <sup>aA</sup>	4.48 $\pm$ 0.0 <sup>bA</sup>	4.7 $\pm$ 0.06 <sup>bA</sup>	4.8 $\pm$ 0.10 <sup>bA</sup>	4.52 $\pm$ 0.39 <sup>bA</sup>	4.35 $\pm$ 0.26 <sup>bA</sup>
<i>S. aureus</i>	1	1.26 $\pm$ 0.21 <sup>aA</sup>	1.31 $\pm$ 0.19 <sup>aA</sup>	1.08 $\pm$ 0.09 <sup>aA</sup>	0.85 $\pm$ 0.58 <sup>aA</sup>	1.01 $\pm$ 0.68 <sup>aA</sup>	0.60 $\pm$ 0.58 <sup>aA</sup>
	8	1.37 $\pm$ 0.27 <sup>aB</sup>	1.5 $\pm$ 0.01 <sup>aB</sup>	1.38 $\pm$ 0.09 <sup>aB</sup>	1.35 $\pm$ 0.11 <sup>aB</sup>	1.32 $\pm$ 0.09 <sup>aB</sup>	1.37 $\pm$ 0.25 <sup>aB</sup>
	15	1.02 $\pm$ 0.35 <sup>aC</sup>	ND <sup>aC</sup>	ND <sup>aC</sup>	0.79 $\pm$ 0.56 <sup>aC</sup>	ND <sup>aC</sup>	ND <sup>aC</sup>
<i>Salmo</i>	1	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>Aa</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>
	8	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>Aa</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>
	15	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>
<i>Pseudom</i>	1	1.16 $\pm$ 0.13 <sup>ab</sup>	1.06 $\pm$ 0.61 <sup>bb</sup>	0.37 $\pm$ 0.40 <sup>bb</sup>	1.10 $\pm$ 0.63 <sup>bb</sup>	1.00 $\pm$ 0.58 <sup>bb</sup>	1.00 $\pm$ 0.58 <sup>bb</sup>
	8	2.51 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	1.56 $\pm$ 0.03 <sup>bb</sup>	2.05 $\pm$ 0.23 <sup>bb</sup>	2.44 $\pm$ 0.33 <sup>bb</sup>	2.25 $\pm$ 0.49 <sup>bb</sup>	2.43 $\pm$ 0.36 <sup>bb</sup>
	15	3.25 $\pm$ 0.02 <sup>aA</sup>	2.17 $\pm$ 0.06 <sup>bA</sup>	2.68 $\pm$ 0.14 <sup>bA</sup>	2.51 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	2.28 $\pm$ 0.08 <sup>bA</sup>	2.58 $\pm$ 0.09 <sup>bA</sup>

UFC = Unidades formadoras de colonias; Microorg = Microorganismo; CTA = Cuenta total aerobia; *S. aureus* = *Staphylococcus aureus*; *Salmo* = *Salmonella* spp.; *Pseudom* = *Pseudomonas* spp. <sup>1</sup> T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo, T3 = aceite esencial de romero, T4 = oleorresina de chile chipotle, T5 = aceite esencial de ajo + oleorresina de chile chipotle, T6 = aceite esencial de romero + oleorresina de chile chipotle.

ND = No detectado, por abajo del nivel de detección

<sup>a,b,c</sup> Literales diferentes entre filas indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos

<sup>A,B,C</sup> Literales diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) a través del tiempo

Cuadro 5. Conteo de microorganismos ( $\log_{10}$ UFC/g, media  $\pm$  desviación estándar) de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*). Continuación

Microorg	Día	Tratamientos <sup>1</sup>					
		T1	T2	T3	T4	T5	T6
<i>B. therm</i>	1	ND <sup>aB</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>Bb</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>bB</sup>
	8	1.99 $\pm$ 0.11 <sup>aB</sup>	ND <sup>bB</sup>	1.54 $\pm$ 0.82 <sup>bB</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>bB</sup>
	15	3.24 $\pm$ 0.13 <sup>aA</sup>	2.5 $\pm$ 0.08 <sup>bA</sup>	ND <sup>bA</sup>	0.27 $\pm$ 0.13 <sup>bA</sup>	0.5 $\pm$ 0.08 <sup>bA</sup>	ND <sup>bA</sup>
M&L	1	ND <sup>aB</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>Bb</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>abB</sup>	ND <sup>abB</sup>
	8	ND <sup>aB</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>Bb</sup>	ND <sup>bB</sup>	ND <sup>abB</sup>	ND <sup>abB</sup>
	15	1.24 $\pm$ 0.03 <sup>aA</sup>	0.52 $\pm$ 0.20 <sup>bA</sup>	0.3 $\pm$ 0.24 <sup>bA</sup>	0.22 $\pm$ 0.28 <sup>bA</sup>	1.07 $\pm$ 0.18 <sup>abA</sup>	0.82 $\pm$ 0.11 <sup>abA</sup>
BAL	1	0.6 $\pm$ 0.58 <sup>aB</sup>	ND <sup>abB</sup>	ND <sup>Bb</sup>	0.6 $\pm$ 0.58 <sup>abB</sup>	ND <sup>abB</sup>	ND <sup>abB</sup>
	8	0.92 $\pm$ 0.78 <sup>aB</sup>	0.6 $\pm$ 0.58 <sup>abB</sup>	ND <sup>Bb</sup>	ND <sup>abB</sup>	0.6 $\pm$ 0.58 <sup>abB</sup>	ND <sup>abB</sup>
	15	1.6 $\pm$ 1.02 <sup>aA</sup>	0.99 $\pm$ 0.67 <sup>abA</sup>	0.87 $\pm$ 0.30 <sup>bA</sup>	1.15 $\pm$ 0.35 <sup>abA</sup>	0.85 $\pm$ 0.58 <sup>abA</sup>	1.22 $\pm$ 0.20 <sup>abA</sup>
Colif total	1	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>Aa</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>
	8	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>Aa</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>
	15	0.77 $\pm$ 0.70 <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	0.43 $\pm$ 0.73 <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>	ND <sup>aA</sup>

UFC = Unidades formadoras de colonias; Microorg = Microorganismo; *B. therm* = *Brochothrix thermosphacta*; M&L = Mohos y levaduras; BAL = Bacterias ácido lácticas; Colif total = Coliformes totales.<sup>1</sup> T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo, T3 = aceite esencial de romero, T4 = oleorresina de chile chipotle, T5 = aceite esencial de ajo + oleorresina de chile chipotle, T6 = aceite esencial de romero + oleorresina de chile chipotle.

ND = No detectado, por abajo del nivel de detección

<sup>a, b, c</sup> Literales diferentes entre filas indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos

<sup>A, B, C</sup> Literales diferentes entre columnas indican diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) a través del tiempo

Para *Pseudomonas spp.* se observó diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) solo en el tratamiento T1 y a través del tiempo únicamente el día 15 fue diferente ( $P < 0.05$ ). El T1 mostró los conteos más altos ( $1.16 \pm 0.13$ ,  $2.51 \pm 0.08$  y  $3.25 \pm 0.02 \log_{10}\text{UFC/g}$ ) y el T3 los más bajos ( $0.37 \pm 0.4$ ,  $2.05 \pm 0.23$  y  $2.68 \pm 0.14 \log_{10}\text{UFC/g}$ , días 1, 8 y 15, respectivamente).

*Brochothrix thermosphacta* estuvo por debajo del nivel de detección al día 1 en todos los tratamientos y a partir del día 8 se detectó crecimiento únicamente en los tratamientos T1 ( $1.99 \pm 0.11$ ) y T3 ( $1.54 \pm 0.82$ ). Para el día 15 hubo crecimientos en los tratamientos T1, T2, T4 y T5 ( $3.24 \pm 0.13$ ,  $2.5 \pm 0.08$ ,  $0.27 \pm 0.13$ ,  $0.5 \pm 0.08$  respectivamente). En el tratamiento T6 no se observó crecimiento de *B. thermosphacta*, existiendo diferencia estadística ( $P < 0.05$ ) a través del tiempo.

Mohos y levaduras (M&L) no presentaron crecimiento a los días 1 y 8; existiendo diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) a través del tiempo. Para el día 15 se observó desarrollo de M&L, teniendo los valores más altos el T1 con  $1.24 \pm 0.03 \log_{10}\text{UFC/g}$  y los más bajos el T4 con  $0.22 \pm 0.28 \log_{10}\text{UFC/g}$  no obstante no se vio diferencia significativa entre tratamientos ( $P > 0.05$ ).

Para BAL si se observaron diferencia estadística ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos y a través del tiempo. El tratamiento T1 mostró crecimiento a los días 1, 8 y 15 ( $0.6 \pm 0.58$ ,  $0.92 \pm 0.78$  y  $1.6 \pm 1.02 \log_{10}\text{UFC/g}$ , respectivamente) siendo también los conteos más altos, en los demás tratamientos se observó

crecimiento uno o dos días, presentando los conteos más bajos el tratamiento T5 al día 8 y 15 ( $0.6 \pm 0.58$  y  $0.85 \pm 0.58 \log_{10}\text{UFC/g}$ , respectivamente).

De igual manera coliformes totales mostraron diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) únicamente a través del tiempo, siendo diferente el día 15, donde se apreció crecimiento solo en el tratamiento T1 con  $0.77 \pm 0.70$  y en el tratamiento T3 con  $0.43 \pm 0.76 \log_{10}\text{UFC/g}$ .

Estos resultados están sincronizados con Ibrahim-Hemmat *et al.* (2016), Sirocchi *et al.* (2016) y Cerecedo *et al.* (2016) quienes investigaron el efecto de los AE y OL como conservadores en los alimentos, encontrando una alta actividad antimicrobiana del AEA, AER y OLC, ya que estos ejercieron un papel antibacteriano significativo contra microorganismos de interés alimentarios tales como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, *Brochothrix thermosphacta* y *Salmonella*, en condiciones aerobias y a una temperatura de 4°C.

En el caso del AEA se ha encontrado gran variedad de compuestos como enzimas, aminoácidos y algunos minerales que contribuyen con su actividad antimicrobiana (Bhandari, 2012). Sin embargo, los más importantes son los compuestos organosulfurados y sus precursores (alicina, disulfuro de dialilo y ajoeno), que inhiben el crecimiento de una gran variedad de patógenos (Salem *et al.*, 2010), ya que estos compuestos reaccionan con la cisteína, inactivando las enzimas que contienen grupos tiol (proteasas o alcohol deshidrogenasas) o afectando el metabolismo de lípidos (Pranoto *et al.*, 2005), también se ha visto que inhiben la respiración microbiana, modifica la síntesis

de RNA (Rahman, 2007) e incrementa la permeabilidad de la membrana plasmática, lo cual resulta en la muerte celular después de la fuga masiva de iones (Burt, 2004; Stojanovic-Radic *et al.*, 2018; Hyldgard *et al.*, 2012).

De igual manera el AER presenta importantes propiedades contra microorganismos patógenos y de descomposición, ya que sus componentes principales son terpenos y terpenoides (Realini y Marcos, 2014), los cuales por su carácter lipofílico se introducen en las cadenas de lipopolisacáridos de la membrana y generan poros. Este daño puede llegar hasta el citoplasma bacteriano comprometiendo algunas funciones vitales de la célula, además la presencia de grupos OH en la estructura de sus componentes produce cierta toxicidad a algunas bacterias (Ultee *et al.*, 2002).

Otro factor de interés que contribuyó en los resultados fue la presencia de capsaicina y dihidrocapsaicina, ambas presentes en frutos del género *capsicum* y las cuales se encontraban en las muestra de los tratamientos T4, T5 y T6. Estos dos componentes generan una distorsión e interrupción en la estructura, y por tanto, afectan la funcionalidad de la membrana citoplasmática (Serio *et al.*, 2014), también actúan principalmente contra bacterias Gram +, pues su función está relacionada con un daño específico al peptidoglicano (Nascimento *et al.*, 2014). Esto podría explicar porque hubo una disminución en los conteos de *Staphylococcus aureus*, *Brochotrix thermosphacta* y BAL.

Jayasena *et al.* (2013) reportaron que existe un efecto sinérgico entre los AE y OL al ser utilizados juntos, ya que sus componentes generan una actividad



más grande en contra de ciertas cepas, como ocurrió en los tratamientos 5 y 6. Existen estudios que demuestran un efecto antifúngico de la capsaicina, debido a que puede generar un cambio en la estructura de las cepas y lograr que deje de producir ciertas toxinas (Ochratoxin A en *Aspergillus*) y/o compuestos que le dan funciones específicas (Kollia *et al.*, 2019).

### **Análisis Sensorial**

El color, olor y sabor son atributos importantes que influyen en la percepción que los consumidores tienen de determinado alimento, además determinan si un producto se seguirá consumiendo. En el presente estudio se tomaron en cuenta dichos atributos para evaluar sensorialmente la carne de hamburguesa adicionada con AE y OL.

La Figura 6 presenta el análisis del atributo apariencia general, donde se puede apreciar una correspondencia entre el tratamiento T2 y el nivel de respuesta 5 (me gusta mucho), siendo esta la mayor relación en comparación con los demás tratamientos. Para el resto de los niveles de apariencia general y tratamientos no se observó una relación de correspondencia tan acentuada.

El análisis de correspondencias para el atributo olor (Figura 7), muestra que el tratamiento T2 tuvo una fuerte relación con la respuesta 5 (me gusta mucho), también se aprecia una leve correspondencia de los tratamientos T4 y T1 con la respuesta 2 (me disgusta poco), siendo claramente negativo para estos dos tratamientos.

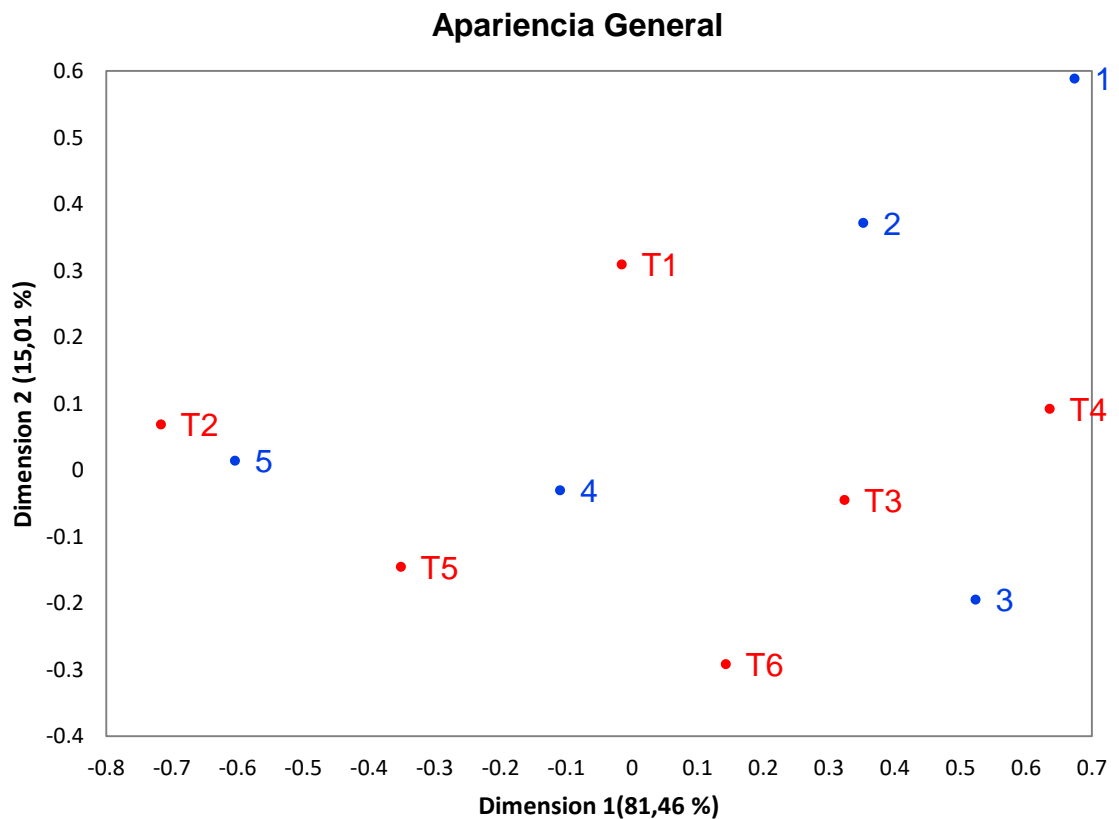


Figura 6. Correspondencia entre tratamientos y niveles de respuesta del atributo apariencia general de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*).

T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo, T3 = aceite esencial de romero, T4 = oleorresina de chile chipotle, T5= aceite esencial de ajo + oleorresina de chile chipotle, T6= aceite esencial de romero + oleorresina de chile chipotle. 1: me disgusta mucho; 2: me disgusta poco; 3: ni me gusta, ni me disgusta; 4: me gusta; 5: me gusta mucho.

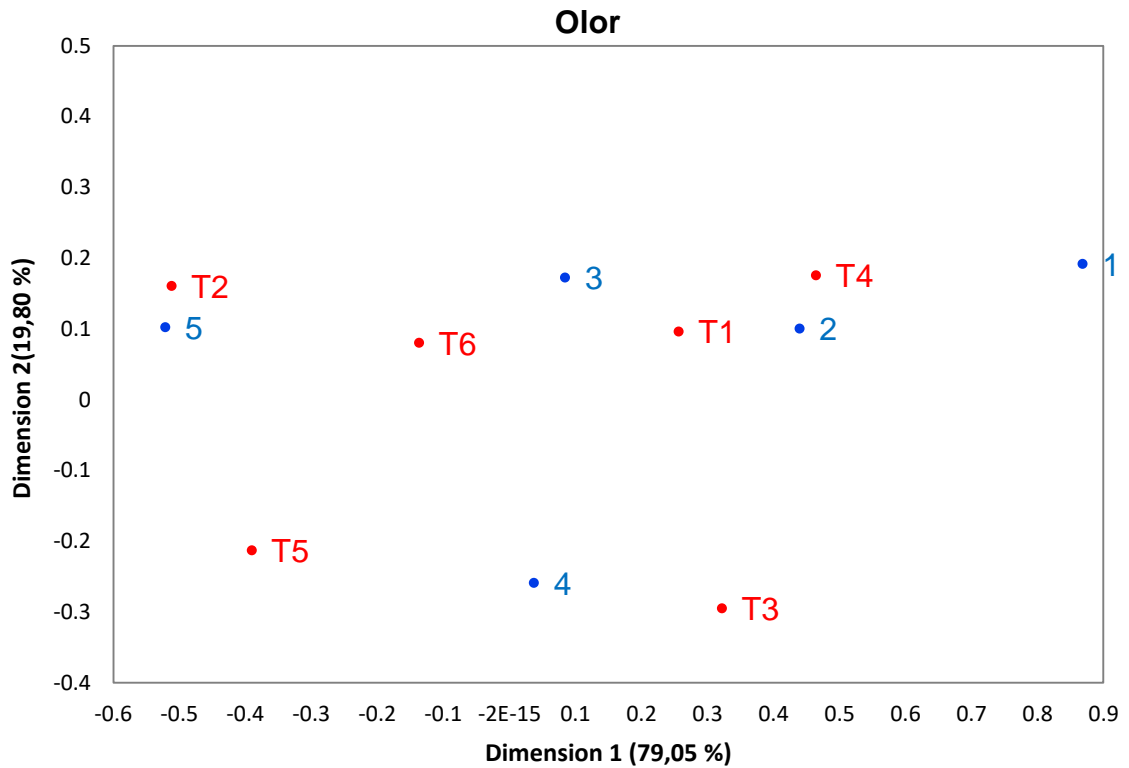


Figura 7. Correspondencia entre tratamientos y niveles de respuesta del atributo olor de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*).

T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo, T3 = aceite esencial de romero, T4 = oleorresina de chile chipotle, T5= aceite esencial de ajo + oleorresina de chile chipotle, T6= aceite esencial de romero + oleorresina de chile chipotle. 1: me disgusta mucho; 2: me disgusta poco; 3: ni me gusta, ni me disgusta; 4: me gusta; 5: me gusta mucho.

En la categoría sabor (Figura 8), se puede observar la correspondencia del tratamiento T2 con la respuesta 5 (me gusta mucho), también se aprecia la cercanía del tratamiento T5 con la respuesta 4 (me gusta), aunque con menor intensidad que la asociación anterior.

Finalmente, en color (Figura 9) se sigue presentando el patrón de correspondencia del tratamiento T2 con el nivel de respuesta 5 (me gusta mucho). De igual manera que en el atributo de sabor, se aprecia una relación entre el tratamiento T5 y la respuesta 4 (me gusta), que en este caso es más alta. La respuesta 1 (me disgusta mucho) no se encontró relacionada de forma clara con ninguno de los tratamientos.

El Análisis Clúster permitió identificar grupos (clústeres) de consumidores con preferencias similares en su interior y diferenciados entre ellos. Así, se identificaron 3 clústeres: el Clúster 1 (C1), conformado por 24 consumidores, y los clústeres 2 y 3 (C2 y C3), conformados por 12 consumidores cada uno.

En el Cuadro 6 se pueden observar las medias de la valoración de los consumidores de manera global y por clústeres. De manera global se aprecian diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos. El tratamiento T2 muestra los valores más altos y el tratamiento T4 los más bajos para los cuatro atributos, especialmente, sabor.

En el C1 se observa que el tratamiento T2 fue el mejor evaluado en términos de apariencia y sabor ( $7.48 \pm 1.95$  y  $7.55 \pm 1.87$ ), y el tratamiento T6 en color y olor ( $7.82 \pm 1.27$  y  $7.40 \pm 1.82$ ).

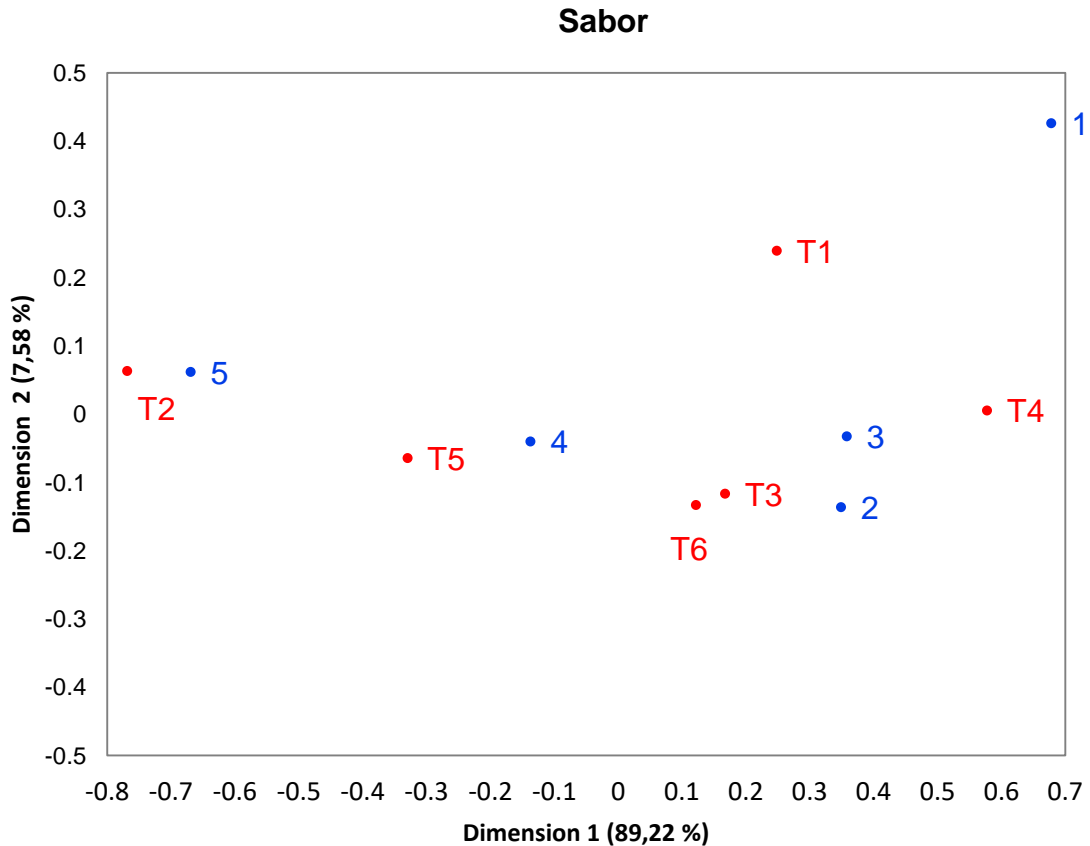


Figura 8. Correspondencia entre tratamientos y niveles de respuesta del atributo sabor de de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*).

T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo, T3 = aceite esencial de romero, T4 = oleorresina de chile chipotle, T5= aceite esencial de ajo + oleorresina de chile chipotle, T6= aceite esencial de romero + oleorresina de chile chipotle. 1: me disgusta mucho; 2: me disgusta poco; 3: ni me gusta, ni me disgusta; 4: me gusta; 5: me gusta mucho.

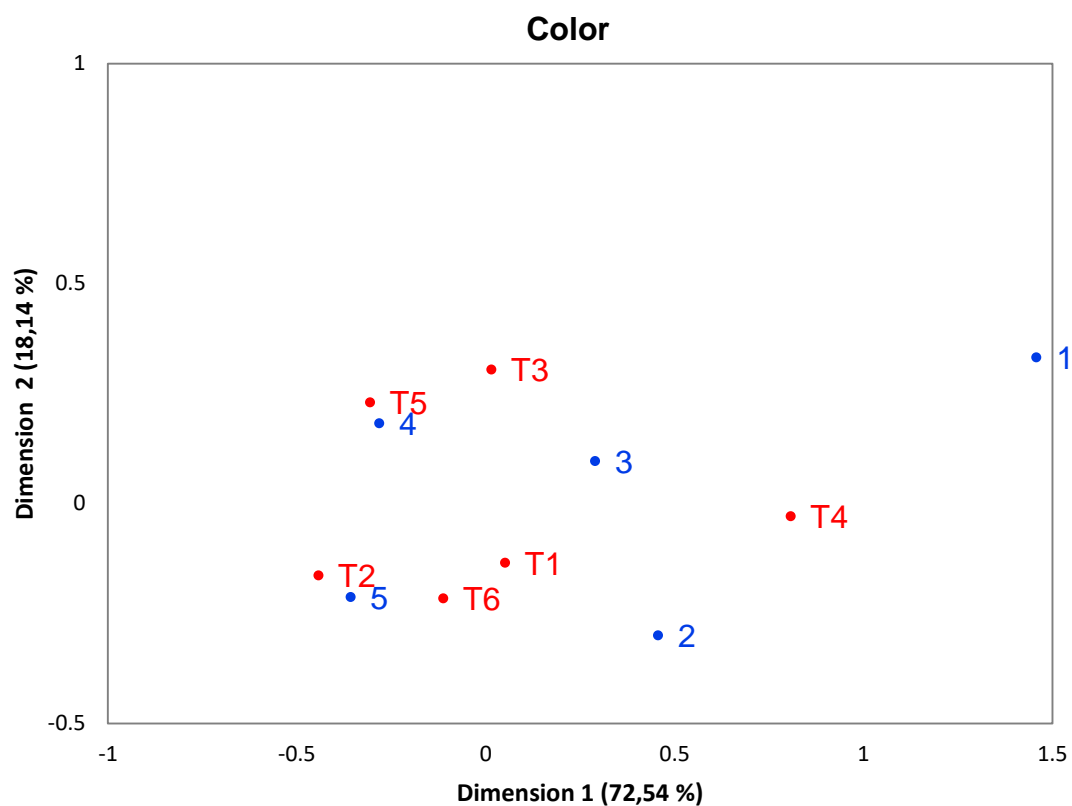


Figura 9. Correspondencia entre tratamientos y niveles de respuesta del atributo color de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*).

T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo, T3 = aceite esencial de romero, T4 = oleorresina de chile chipotle, T5= aceite esencial de ajo + oleorresina de chile chipotle, T6= aceite esencial de romero + oleorresina de chile chipotle. 1: me disgusta mucho; 2: me disgusta poco; 3: ni me gusta, ni me disgusta; 4: me gusta; 5: me gusta mucho.

Cuadro 6. Evaluación de atributos sensoriales de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*)

Grupo	Trat	Atributos			
		Color	Olor	Sabor	Ap. General
Global	T1	6.07± 2.17 <sup>b</sup>	5.77± 2.30 <sup>ab</sup>	5.40± 2.46 <sup>a</sup>	6.22± 2.51 <sup>ab</sup>
	T2	7.15±2.01 <sup>b</sup>	7.22± 1.97 <sup>c</sup>	7.61±1.75 <sup>c</sup>	7.67± 1.60 <sup>c</sup>
	T3	6.38± 2.05 <sup>b</sup>	5.93± 2.20 <sup>ab</sup>	5.53± 2.17 <sup>ab</sup>	6.06± 2.02 <sup>ab</sup>
	T4	4.84± 2.05 <sup>a</sup>	5.13± 2.39 <sup>a</sup>	4.73± 2.04 <sup>a</sup>	5.11± 1.97 <sup>a</sup>
	T5	6.82± 1.55 <sup>b</sup>	7.29± 1.53 <sup>c</sup>	6.73±2.06 <sup>bc</sup>	7.11± 1.66 <sup>bc</sup>
	T6	6.71± 2.0 <sup>b</sup>	6.38± 2.21 <sup>bc</sup>	5.78± 2.21 <sup>ab</sup>	6.42± 1.74 <sup>b</sup>
C1	T1	6.46±1.91 <sup>bc</sup>	6.50±1.88 <sup>b</sup>	6.23±2.09 <sup>b</sup>	7.50±1.59 <sup>b</sup>
	T2	7.07±2.11 <sup>bc</sup>	7.28±1.91 <sup>b</sup>	7.48±1.95 <sup>b</sup>	7.55± 1.87 <sup>b</sup>
	T3	6.97±1.75 <sup>bc</sup>	6.67±1.93 <sup>b</sup>	6.39±2.13 <sup>b</sup>	6.71±1.91 <sup>b</sup>
	T4	4.32±2.26 <sup>a</sup>	4.58±2.47 <sup>a</sup>	3.97±2.05 <sup>a</sup>	4.30±2.07 <sup>a</sup>
	T5	6.23±1.62 <sup>b</sup>	6.74±1.59 <sup>b</sup>	6.13±2.17 <sup>b</sup>	6.29±1.68 <sup>b</sup>
	T6	7.82±1.27 <sup>c</sup>	7.40±1.82 <sup>b</sup>	6.49±2.45 <sup>b</sup>	7.20±1.57 <sup>b</sup>
C2	T1	6.92±1.41 <sup>bc</sup>	6.49±2.45 <sup>bcd</sup>	6.30±1.70 <sup>b</sup>	6.84±1.60 <sup>bc</sup>
	T2	7.42±1.74 <sup>c</sup>	7.12±2.05 <sup>cd</sup>	7.98±1.06 <sup>c</sup>	8.03±0.99 <sup>c</sup>
	T3	5.42±1.83 <sup>ab</sup>	4.78±1.98 <sup>ab</sup>	4.23±1.80 <sup>a</sup>	4.78±2.11 <sup>a</sup>
	T4	5.38±1.84 <sup>ab</sup>	5.14±2.05 <sup>abc</sup>	4.71±1.06 <sup>a</sup>	5.44±1.25 <sup>ab</sup>
	T5	7.83±1.19 <sup>c</sup>	8.15±0.88 <sup>d</sup>	7.66±1.62 <sup>bc</sup>	8.14±0.86 <sup>c</sup>
	T6	4.64±1.65 <sup>a</sup>	4.04±1.53 <sup>a</sup>	4.27±1.78 <sup>a</sup>	5.28±1.90 <sup>a</sup>
C3	T1	4.36±2.54 <sup>a</sup>	3.45±1.37 <sup>a</sup>	2.68±1.89 <sup>a</sup>	2.82±1.69 <sup>a</sup>
	T2	7.08±2.16 <sup>b</sup>	7.18±2.19 <sup>b</sup>	7.53±1.94 <sup>c</sup>	7.58±1.50 <sup>bc</sup>
	T3	6.07±2.57 <sup>ab</sup>	5.48±2.50 <sup>ab</sup>	4.96±1.86 <sup>b</sup>	5.95±1.61 <sup>b</sup>
	T4	5.46±1.43 <sup>ab</sup>	6.33±2.21 <sup>b</sup>	6.41±1.64 <sup>bc</sup>	6.53±1.28 <sup>bc</sup>
	T5	7.08±1.14 <sup>b</sup>	7.63±1.49 <sup>b</sup>	7.11±1.91 <sup>bc</sup>	7.85±1.33 <sup>c</sup>
	T6	6.37±1.93 <sup>ab</sup>	6.53±1.68 <sup>b</sup>	5.77±1.71 <sup>bc</sup>	5.85±1.20 <sup>b</sup>

Trat = tratamientos; T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo, T3 = aceite esencial de romero, T4 = oleorresina de chile chipotle, T5= aceite esencial de ajo + oleorresina de chile chipotle, T6= aceite esencial de romero + oleorresina de chile chipotle.

Clusterés de consumidores: C1 = clúster 1; C2 = clúster 2; C3 clúster 3; Ap. General = apariencia general

<sup>a, b, c</sup> Literales diferentes entre columnas para un mismo clúster de consumidores o evaluación global indican diferencia significativa (P < 0.05) entre tratamientos.

Al igual que en los resultados globales se observan los valores más bajos en el tratamiento T4. En el C2, el tratamiento T5 obtuvo la puntuación más alta para los atributos color, olor y apariencia general ( $7.83 \pm 1.19$ ,  $8.15 \pm 0.88$  y  $8.14 \pm 0.86$ , respectivamente), mientras que el sabor fue mejor evaluado en el T2 ( $7.98 \pm 1.06$ ).

Para este mismo clúster, el tratamiento T6 obtuvo la puntuación más baja. En el C3 se aprecian los valores más altos en el tratamiento T5 para el olor ( $7.63 \pm 1.49$ ), y en el tratamiento T2 ( $7.53 \pm 1.94$  y  $7.58 \pm 1.50$ ) para sabor y apariencia general. Ambos tratamientos (T5 y T2) tuvieron la puntuación más alta de color. El tratamiento T1 dentro del C3 presentó las evaluaciones más bajas en todos los atributos

De forma general, se observa en todos los atributos una mejor puntuación para el tratamiento T2, seguido del tratamiento T5, siendo el tratamiento T4 el de evaluación más baja.

Para poder apreciar mejor la variación multidimensional en los resultados globales se realizó un Análisis de Componentes Principales (Figura 10), en el que se puede apreciar la ubicación, de los distintos atributos evaluados y de los clústeres identificados. Los tres clústeres mostraron una puntuación positiva similar para el T2 con relación a los atributos apariencia, sabor y olor, estando estos muy cercanos a los resultados globales (para toda la muestra de consumidores). Sin embargo en los tratamientos con evaluación más baja, los resultados de los clústeres fueron diferentes.



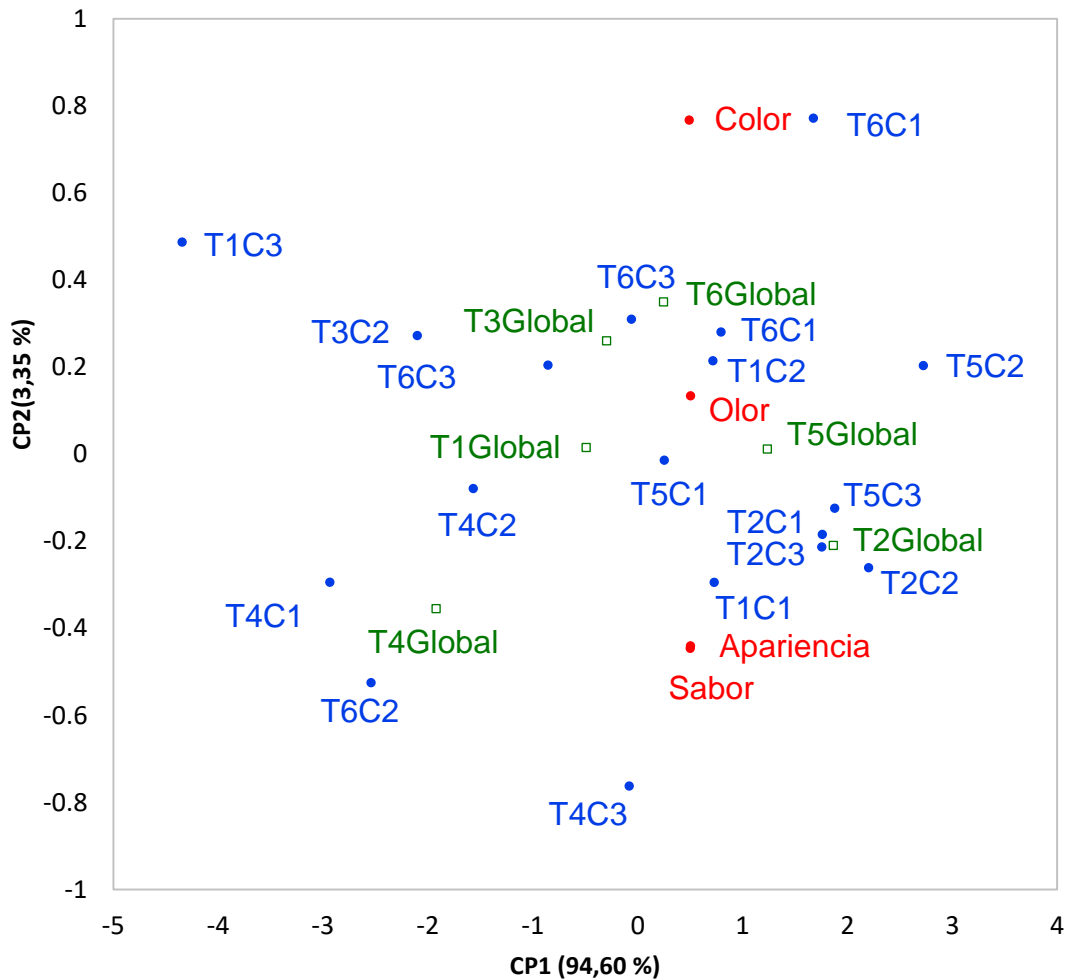


Figura 10. Componentes principales para resultados globales y los tres clusters (C1: Cluster 1; C2: Cluster 2; C3: Cluster 3) generados a partir de los datos de la evaluación sensorial de hamburguesas (carne molida de res) adicionadas con aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ajo (*Allium sativum*) y oleorresinas de chile chipotle (*Capsicum annum*).

T1 = control, T2 = aceite esencial de ajo, T3 = aceite esencial de romero, T4 = oleorresina de chile chipotle, T5= aceite esencial de ajo + oleorresina de chile chipotle, T6= aceite esencial de romero + oleorresina de chile chipotle. 1: me disgusta mucho; 2: me disgusta poco; 3: ni me gusta, ni me disgusta; 4: me gusta; 5: me gusta mucho. CP1= Componente principal 1; CP2 = Componente principal 2.

El C1 mostró una puntuación más baja en el tratamiento T4, el C2 en el tratamiento T3 y el C3 en el tratamiento T1. Estos resultados, podrían explicar porque en los resultados globales el tratamiento T4 tiene los valores más bajos, ya que el C1 tuvo el mayor número de consumidores y son aquellos quienes tuvieron mayor desagrado hacia este tratamiento.

Araujo *et al.* (2018) investigaron la adición de AEA en productos cárnicos y notaron una aceptabilidad mayor (70%) en las muestras que no lo contenían. El AEA comúnmente es usado en los alimentos como conservante, pero además cumple con la función de reducir los atributos sensoriales negativos generados durante el almacenamiento como puede ser el enranciamiento (Abubakar, 2009). Por otro lado Ntzimani *et al.* (2010) y Jridi *et al.* (2015) también evidenciaron que la adición de AER (0.2 % y 500 ppm, respectivamente) modificaba positivamente los atributos sensoriales de carne de pollo y pavo.

Las OL de algunas plantas de chiles ricas en carotenoides y fenoles se han descrito como alargadores de vida útil en los alimentos. Al mismo tiempo, estos compuestos al unirse con los componentes de la carne favorecen mecanismos que podrían contribuir a la mejora de las características sensoriales de la misma (Lima *et al.*, 2013).

Los AE solos o en combinación con algún otro aditivo como las OL a bajas concentraciones no dañan los atributos sensoriales de la carne (Días *et al.*, 2015), incluso podrían mejorar el sabor, olor y el color de los productos cárnicos (Mathenjwa *et al.*, 2012; Saad *et al.*, 2019). Estas investigaciones

sustentan los resultados obtenidos en el presente estudio, donde el AEA (T2) AER+OLC (T6) de forma global mejoraron la percepción de los consumidores hacia los diferentes atributos sensoriales en la carne de hamburguesa.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

El estudio realizado permitió identificar la capacidad y eficiencia de los extractos de la oleorresina y los aceites esenciales. Se evidenció que los AEA, AER y la OLC modifican positivamente la actividad antioxidante y tienen actividad antimicrobiana, que alarga la vida en anaquel de la carne de hamburguesa. De igual manera existe una mayor aceptación de la carne por los consumidores al adicionarlos con AEA, AER y OLC.

Para futuras investigaciones, se recomienda evaluar el efecto de concentraciones menores de oleorresina de chipotle para comprobar si aumenta la aceptabilidad por parte de los consumidores, y comprobar si mantiene sus propiedades antioxidantes. De igual manera podría estudiarse si al adicionar los aceites esenciales a concentraciones mayores en los alimentos se mantienen, aumentan o disminuyen sus beneficios microbiológicos y antioxidantes.

## LITERATURA CITADA

- Aguilar-Rincón, V. H., T. Corona-Torres, P. López-López, L. Latournerie-Moreno, M. Ramírez-Meraz, H. Villalón-Mendoza y J. A. Aguilar-Castillo. 2010. Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, ITConkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 1-114.
- Aguirre-Hernandez, E. y V. Muñoz-Ocotero. 2015. El chile como alimento. Rev Ciencia. 16-23.
- Al-Hijazeen, M. y M. Al-Rawashdeh. 2017. Preservative effects of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) on quality and storage stability of chicken meat patties. Food Sci Technol. 1–8.
- Almeida, C., R. Soto, R. Garcia, P. Garcia y D. Ruiz. 2015. Gran distribución y fast food, transgresores de los nuevos comportamientos alimentarios en México. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Zacatecas.
- Alvarez-Parrilla, E., G. Mercado-Mercado, L.A. De la Rosa, J.A. Lopez-Diaz, A. Wall-Medrano y G:A. Gonzalez-Aguilar. 2014. Antioxidant activity and preservation of pork meat lipid oxidation using traditional Mexican condiments (pasilla dry pepper, achiote, and mole sauce). Food Sci Technol. 34: 371-378.
- Amany, S., A. Reham y A. Gehan. 2010. Studies on antimicrobial and antioxidant efficiency of some essential oils in minced beef. J Ame Sci. 6.
- Anzaldúa-Morales, A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Aruoma, O.I., J.P. Spencer, R. Rossi, R. Aeschbach, A. Khan, N. Mahmood, A. Muñoz, A. Murcia, J. Butler y B. Halliwell. 1996. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herbs. Food Chem Toxicol. 34: 449-456.
- AOAC Official Method 991.14. 2005. Coliform and *Escherichia coli* counts in food. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, vol II. Food composition additives, natural contaminants. Maryland, USA.
- AOAC Official Method 990.12. 2005. Plate count agar in food. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, vol II. Food composition additives, natural contaminants. Maryland, USA.
- AOAC Official Method 997.02. 2000. Yeast and mold counts in foods. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, vol II. Food

composition additives, natural contaminants. Maryland, USA.

AOAC Official Method 2003.07 Para el recuento de *Staphylococcus aureus* en Alimentos Procesados Preparados Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, vol I. Food composition, additives, natural contaminants. Maryland, USA.

AOAC Official Method 920.153. 2005. Proteína en productos carnicos. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, vol II. Food composition, additives, natural contaminants. Maryland, USA.

AOAC Official Method 2007.04. 2007. Fat, Moisture, and Protein in Meat and Meat Products. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, vol II. Food composition, additives, natural contaminants. Maryland, USA.

AOAC Official Method 920.153. 2005. Ash of meat. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th edition, vol II. Food composition, additives, natural contaminants. Maryland, USA.

Armenteros, M. 2010. Reducción de sodio en lomo y jamón curados. Efecto sobre la proteolisis y las características sensoriales. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

Avalos, A. y E. Perez-Urria. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Reduccion (Biología) Serie fisiologia vegetal. 2: 119-145.

Avila-Sosa, R., A. R. Navarro-Cruz, O. Vera-Lopez, R. M. Davila-Marquez, N. Melgoza-Palma y R. Meza-Pluma. 2011. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revision de sus usos no culinarios. Ciencia y Mar. 15: 23-36.

Babu, A., A. Sundari, J. Indumathi y R. MSravanthi. 2011. Study on the antimicrobial activity and minimum Inhibitory concentration of essential oils of spices. Vet World. 4: 311.

Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck y M. Idamomar. 2008. Biological effects of essential oils – A review. Food Chem Toxicol. 46: 446-475.

Banerjee, S. K., Pulok K. Mukherjee y S. K. Maulik. 2003. Garlic as an antioxidant: The good, the bad and the ugly. Phyto Res. 17: 97–106.

Barbero, G.F., A.G. Ruiz, A. Liazid, M. Palma, J.C. Vera y C.G. Barroso. 2014. Evolution of total and individual capsaicinoids in peppers during ripening of the cayenne pepper plant (*Capsicum annum* L.). Food Chem. 153: 200-206.

Bernardes, W. A, R. Lucarini, M. G. Tozatti, L. G. B. Flauzino, M. G. M Souza, I. C. C. Turatti, M. L. Andrade, C. Silva, H. G. Martins, A. A. da Silva Filho

- y W. R. Cunha. 2010. Antibacterial activity of the essential oil from *rosmarinus officinalis* and its major components against oral pathogens. *J Biosci.* 65: 588–93.
- Belitz, D. 1985. Correlation gap mechanism for Tc degradation in high-temperature superconductors. *J Phys F.* 15: 2315-2331.
- Berke, T. G. 2012. *Capsicum cultivars*. Seminis vegetable seeds, USA, and S.C. shieh, AVRDC: The World Vegetable Center, Taiwan.
- Bender-Bojalil, D. B. y M. E. Bárcenas. 2013. El Ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 1: 25–36.
- Bhandari, P. R. 2012. Garlic (*Allium sativum* L.): A review of potential therapeutic applications. *Int J of Green Pharm.* 2:118.
- Borella, T. G., M. M. Peccin, J. M. Mazon, S. Souza, R. L. Cansian y M. B. Alvarado. 2019. Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) antioxidant in industrial processing of frozen-mixed hamburger during shelf life. *J Food Process Preserv.* 1-9.
- Bosland, P.W. y E.J. Votava. 2013. Peppers: Vegetable and spice capsicum. *J Crop Hortic Sci.* 41: 101 - 103.
- Bosland PW. 1996. Capsicums: Innovative uses of an ancient crop en J. Janick, (Ed.) *Progress in new crops.* 479-487.
- Bozin, B, N., I. Mimica-Dukic y E. Jovin. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus Officinalis* L. and *Salvia Officinalis* L., *Lamiaceae*) essential oils. *J Agric Food Chem.* 55: 7879-7885.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential. *Int J Food Microbiol.* 94: 223– 253.
- Careaga, M., E. Fernández, L. Dorantes, L. Mot., M. E. Jaramillo y H. S. Hernandez. 2003. Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. *International Journal of Food Microbiology.* 83: 331–335.
- Carvalho, A. V., R. A. Mattietto, A. Oliveira, R. Almeida, K. S. Moresco y T. C. Souza. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity of pepper (*Capsicum* sp.) genotypes. *J Food Sci Technol.* 52: 7457-7464.
- Casella, S., M. Leonardi, B. Melai, F. Fratini y L. Pistelli. 2013. The role of diallyl sulfides and dipropyl sulfides in the *in vitro* antimicrobial activity of the essential oil of garlic, *Allium sativum* L., and leek, *Allium porrum* L. *Phytother Res.* 27: 380-383.

- Castaño, P. H. , G. Ciro, J.E. Zapata M y S.L. Jimenez. 2010. Actividad bactericida del extracto etanolico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interes aimnetario. *Vitae*. 17: 149-154.
- Cavazza, A., S.Corti, C. Mancinelli, C. Bignardi y C. Corradini. 2015. Effect of the addition of chili pepper powder on vegetable oils oxidative stability. *J Am Oil Chem. Soc.* 92: 1593–1599.
- Cázares-Sánchez, E., P. Ramírez-Vallejo, F. Castillo-González, M. SotoHernández, T. Rodríguez-González y J. L. Chávez-Servia. 2005. Capsaicinoides y preferencia de uso en diferentes morfotipos de chile (*Capsicum annum* L.) del centro-oriente de Yucatán. *Agrociencia*. 39: 627-638.
- Cerecedo- Cruz, L., E.Azuara –Nieto, A.J. Hernández-Álvarez, C.R. González-González and G. Melgar-Lalanne. 2018. Evaluation of the oxidative stability of chipotle chili (*Capsicum anuum* L.) oleorresins in avocado oil. *Inter. J. Fat Oil*. 69: 1-12.
- Cetin, I., D. Yesilbag, S. S. Cengiz y D. Belenli. 2017. Effects of supplementation with rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) volatile oil on growth performance, meat MDA level and selected plasma antioxidant parameters in quail diets. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 23: 283-288.
- Chatterjee, S., M. Asakura, N. Chowdhury, S. Basu Neogi, N. Sugimoto, S. Haldar, S. A. Prasad, A. Hinenoya, S. Aoki y S. Yamasaki. 2010. *Capsaicin*, a potential inhibitor of cholera toxin production *in vibrio cholerae*. *FEMS Microbiol Letters*. 306: 54–60.
- Chipault, J., G. Mizuno, J. Hawkins y W. Lundberg. 1952. The antioxidant properties of natural spices. *J Food Sci*. 17: 46- 55.
- Chung, L. Y. 2006. The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide. *J Med Food*. 9: 205–13.
- Conforti, F., G. A. Statti y F. Menichini. 2007. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. *Food Chem*. 102: 1096-1104.
- Ćosić, J., K. Vrandečić, J. Postić, D. Jurković y M. Ravlić. 2010. *In vitro* antifungal activity of essential oils on growth of phytopathogenic fungi. *J Poljoprivreda*. 16: 25–28.
- Croteau, R., T.M. Kutchan y N.G. Lewis. 2000. Natural products (secondary metabolites). *Biochem Mol Biol Plants*. 45: 1250-1318.
- Cuvelier, M-E., C. Berset y H. Richard. 1994. Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem*. 42: 665-669.



- Daood, H. G., M. Vinkler, F. Markus, E. A. Hebshi y P. A. Biacs. 1996. Antioxidant vitamin content of spice red pepper (paprika) as affected by technological and varietal factors. *Food Chem.* 55: 365-372.
- Elsebaie, E M, S. Y. A. Elsanat y M. S. Gouda. 2013. Studies on antimicrobial and antioxidant efficiency of glasswort (*Salicornia fruticosa*) herb juice and methanolic extract in minced beef. *Int J Mod Agr.* 2: 691–700.
- Erkan, N., G. Ayranci y E. Ayranci. 2008. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chem.* 110: 76–82.
- Fernández-Trujillo, J.P.2007. Extracción convencional de oleoresina de pimenton dulce I. Generalidades, composición, proceso e innovaciones y aplicaciones. *Grasas y aceites.* 58: 252-263.
- FAO, Food and Agriculture Organization. 2019. Departamento de agricultura y protección del consumidor. Producción y sanidad animal. Composición de la carne. En:[http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr\\_composition.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html)
- Georgantelis, D., G. Blekas, P. Katikou, I. Ambrosiadis, y D. Fletouris. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and alfa-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during storage of beef burgers. *Meat Sci.* 75: 256–264.
- Gómez, L., E. Ponce-Alquicira, R. Ernlund, M.S. Rubio. 2013. Efecto de antimicrobianos naturales sobre la estabilidad físico-química, microbiológica y sensorial de hamburguesas de res mantenidas en refrigeración. *Rev Mex Cienc Pecu.* 4: 255-270.
- González-Zamora, A., E. Sierra-Campos, J.G. Luna-Ortega, R. Pérez-Morales, J.C. Rodríguez-Ortiz y J.L. Garcia-Hernandez. Characterization of different *Capsicum* varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. *Molecules.* 18: 13471-13486.
- Goulas, A. E. y M.G. Kontominas. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): biochemical and sensory. *Food Chem.* 100: 287-296.
- Govindarajan, V. S., Shanthi, N., y Dhanaraj, S. 1977. Evaluation of spices and oleoresins. II. Pungency of Capsicum by scoville heat units-a standardized procedure. *J of Food Sci and Tech.* 14: 28-34.
- Grande, M.J., R. Lucas, M.C. Lopez, R. Perez y A. Galvez. 2011.

- Bioconservacion de alimentos carnicos. Dialnet. 24: 111-123.
- Harris, J.C., S.L. Cottrell, S. Plummer y D.Lloyd. 2001. Antimicrobial properties of *Allium sativum* (garlic). *Appl Microbiol Biotechnol.* 57: 282-286.
- Hendel, N, L. Larous y L. Belbey. 2016. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its *in vitro* inhibitory effect on *Penicillium digitatum*. *Int Food Res.* 23: 1725–1732.
- Hyltdgaard, M., T. Mygind y R. L. Meyer. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol.* 3: 1-24.
- Honikel, K.O. 1998 Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* 49: 447-457.
- Hornero-Méndez, D. R. Gómez-Ladrón de Guevara y I. Mínguez-Mosquera. 2000. Carotenoid Biosynthesis Changes in Five Red Pepper (*Capsicum annum* L.) Cultivars during Ripening. *Cultivar Selection for Breeding. J Agric Food Chem.* 48: 3857-3864.
- ISO 13720:2010. Carne y productos cárnicos. Recuento de *Pseudomonas spp.* presuntas.
- Ibrahim-Hemmat, I., A. El Sabagh-Rasha, A. El-Roos-Nahla y A. El Fattah-Hend. 2016. Antimicrobial effect of some essential oils on *Staphylococcus aureus* in minced meat. *J Benha Vet Med.* 30: 183-191.
- Jayasena, D. D. y Ch. Jo. 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends Food Sci Technol.* 34: 96-108.
- Juven, B.J., J. Kanner, F. Schved y H. Weisslowicz. 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J Appl Bacteriol.* 76: 626-631.
- Karabagias, A. y M.G. Badeka. 2011. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Sci.* 88: 109-116.
- Karpinska-Tymoszczyk M. 2008. Effect of the addition of ground rosemary on the quality and shelf-life of turkey meatballs during refrigerated storage. *Brit Poultry Sci.* 49: 742-750.
- Kipkpinar, F., H.B. Unlu, M. Serdaroglu y G.Y. Turp. 2014. Effects of dietary oregano and garlic essential oils on carcass characteristics, meat composition, colour, pH and sensory quality of broiler meat. *Brit Poultry Sci.* 55: 157-166.
- Kollia, E., Ch. Proestos, P. Zoumpoulakis y P. Markaki. 2019. Capsaicin, an

inhibitor of Ochratoxin A production by *Aspergillus* section *Nigri* strains in grapes (*Vitis vinifera* L.). J Food Aditiv Contam. Part A: 1-13.

- Lawrie, R.A. 1998. Ciencia de la carne. Editorial Acribia, S.A. Tercera edición.
- Lemay, M. J., J. Choquette, P. J. Delaquis, C. Gariépy, N. Rodrigue y L. Saucier. 2002. Int J food Micro. 78: 217-226.
- Leuschner. R.G.K. y V. Lelsch, 2003. Antimicrobial effects of garlic, clove and red hot chilli on *Listeria monocytogenes* in broth model systems and soft cheese. Int J Food Sci Nut. 54: 127–133.
- Loizzo, M. R., M. Bonesi, A. Serio, C. Chaves-López, T. Falco, A. Paparella, F. Menichini y R. Tundis. 2017. Application of nine air-dried *Capsicum annum* cultivars as food preservative: micronutrient content, antioxidant activity, and foodborne pathogens inhibitory effects. Int J Food Prop. 20: 899–910.
- López, M. T. 2007. El ajo, propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. Fitoterapia. 26: 78-81.
- Luqman, S., G.R. Gaurav, M.P. Darokar, A.Kalra, S.P.S. Khanuja. 2007. Potencial of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. Alternative Therapies. 13: 54-59.
- Marino, M., C. Bersani y G. Comi. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. Int J Food Microbiol. 67: 187-195.
- Meilgaard, M., G. V. Civille, y B. T. Carr. 1991. Sensory evaluation techniques, 2da edition. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Michalczyk, M., R. Macura, J. Banas, I. Tesarowicz y I. Maciejaszek. 2015. Effect of adding oregano essential oil, garlic and tomato preparations separately and in combination on the stability of vacuum-packed minced pork during storage. Annals Animal Sci. 15: 221–35.
- Mimica-Dukic, N., B. Bozin, M. Sokovic, B. Mihajilovic y M. Matavulj. 2003. Antimicrobial and antioxidant ctivities of three mentha spcecies essential oils. Planta Med. 69: 413-419.
- Mira, J. 1998. Compendio de ciencia y tecnología de la carne. Riobamba: AASI.
- Mohameda HMH, Mansour HA, Farag MD. 2011. The use of natural herbal extracts for improving the lipid stability and sensory characteristics of irradiated ground beef. Meat Sci. 87: 33–39.
- Mukhtar, S., T. Zahoor, MA. Ranhawa, R. Iqbal, A. Shabbir, A. Llaqat y S. Ahsan. 2018. Synergystic effect of chitosan and clove oil on raw poultry meat. J Food Proce Tech. 9: 1-5.

- NMX-FF-108-SCFI-2007. Productos alimenticios – chile chipotle ó chilpotle (capsicum annum) – especificaciones y métodos de prueba. En: <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2007/nmx-ff-108-scfi-2007.pdf>. Mayo 2019.
- NOM-213-SSA1-2002. NORMA Oficial Mexicana, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- NOM-114-SSA1-1994: Norma Oficial Mexicana. Bienes y servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos.
- NOM-194-SSA1-2004. NORMA Oficial Mexicana, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos.
- NOM-194-SSA1-2004. NORMA Oficial Mexicana, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos.
- NOM-243-SSA1-2010. NORMA Oficial Mexicana. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
- NOM-213-SSA1-2018. Norma oficial mexicana, productos y servicios. Productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Omolo, M. A., Z. Wong, A. K. Mergen, J. C. Hastings, N. C. Le, H. A. Reiland, K. A. Case y D. J. Baumler. 2014. Antimicrobial Properties of Chili Peppers. *J Infect Dis Ther.* 2: 145.
- Ouattara, B., R.E. Simard, R.A. Holley, G.J. Piette y A. Begin. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *Int J Food Microbiol.* 37: 62- 155.
- Pfalgraf, A., M. Frigg, H. Steinhart. 1995. Alfa-Tocopherol Contents and Lipid Oxidation in Pork Muscle and Adipose Tissue during Storage. *J Agric Food Chem.* 43: 1339-1342.
- Pichersky, E., J.P. Noel y N. Dudareva. 2006. Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Sci.* 310: 808-811.
- Pires, M. A., P. E. S. Munekata, N. D. M. Villanueva, F. G. Tonin, J. C. Baldin, Y. J. P. Rochas, L. T. Carvalho, I. Rodrigues y M. A. Trindade. 2017. The antioxidant capacity of rosemary and green tea extracts to replace the carcinogenic antioxidant (BHA) in chicken burgers. *J Food Qual.* 1-6.

- Pranoto, Y., V. M. Salokhe, y S. K. Rakshit. 2005. Physical and antibacterial properties of alginate based edible film incorporated with garlic oil. *Food Res Int.* 38: 267- 272.
- Rahman, M.S. 2007. Allicin and other functional active components in garlic: health benefits and bioavailability. *Int J Food Prop.* 10: 245–268.
- Ramírez-Navas, J. S. y A. Rodríguez De Stouvenel. 2012. Characterization of colombian quesillo cheese by spectrophotometry. *Rev. Fac Quim Farm.* 19: 178-185.
- Realini, C.E., B. Marcos. 2014. Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Sci.* 98: 404-419.
- Restrepo-Gallego, M. 2006. Oleorresinas de *Capsicum* en la Industria Alimentaria. *Rev Lasallista Inv.* 3: 43-47.
- Rivera-Corona, A. S. y A. C. Sobal Méndez. 2007. Actividad antioxidante y antimicrobiana de oleorresina de chile chipotle (*Capsicum annum*) elaboradas con aceite de aguacate. *U Niversidad V Eracruzana.* 100.
- Skandamis, P. N., y G. J. Nychas. 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physicochemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *J Applied Microbiol.* 91: 1011–1022.
- Tillan, J.I., A. Benitez, I. Hernandez y C. Carrillo. 2007. Actividad antiartrítica del jarabe de *Allium sativum* L. *Rev Cubana Plant Med.* 12.
- Tipsrisukond, N., L.N. Fernando, y A.D. Clarke. 1998. Antioxidant effects of essential oil and oleoresin of black pepper from supercritical carbon dioxide extractions in ground pork. *J Agr Food Chem.* 46: 4329-4333.
- Topuz, A., F. Ozdemir. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annum* L.) grown in Turkey. *J. Food Comp Anal.* 20: 596–602.
- Totosaus, A. y T. Ariza Ortega. 2016. Meat and meat products as a source of bioactive peptides. *Nacameh.* 10: 49-58.
- Tsigarida, E., P. Skandamis y G-J. E. Nychas. 2000. Behaviour of *Listeria Monocytogenes* and autochthonous flora on meat stores under aerobic, vacuum and modified atmosphere packaging conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5 °C. *J Appl Microbiol.* 89: 901-909.
- Ultee, A., M. H. J. Bennik, y R. Moezelaaar. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol.* 68: 1561-1568.

- Salem-Amany, M., A. Amine-Reham y S. Gehan, 2010. Studies on Antimicrobial and Antioxidant Efficiency of Some Essential Oils in Minced Beef. *J Am Sci.* 6.
- Salimath, B.P., C. S. Sundaresh y L. Srinivas. 1986. Dietary components inhibit lipid peroxidation in erythrocyte membrane. *Nutr. Res.* 6: 1171–1178.
- Sanchez, D. E. M., L., S. Rojas-Pérez, N. N. Agüero-Batista y M. Vidaurreta. 2016. Investigaciones actuales del empleo de *Allium sativum* en medicina present research on the use of *Allium sativum* in medicine. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta.* 41: 1-9.
- Sanchez, A., G. R. Torrescano, J.P. Camou, N.F. Gonzalez y G. Hernandez. 2008. Sistemas de conservacion para prolongar la vida util de la carne y los productos carnicos. *Nacameh.* 2: 124-159.
- SIAP, 2018. Producción ganadera en México. Junio 2010. En <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>. Consultado Mayo 2019.
- SIAP, 2019. Producción ganadera en México. Febrero 2019. En <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>. Consultado Mayo 2019.
- SIAP-SAGARPA. 2019. Boletín de la Leche. En [http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche\\_Septiembre2016.pdf](http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Septiembre2016.pdf) consultado 27 septiembre del 2017. Chile
- Sienkiewicz, M., M. Łysakowska, M. Pastuszka, W. Bienias y E. Kowalczyk. 2013. The potential of use Basil and rosemary essential oils as effective antibacterial agents. *Molecules.* 18: 9334–51.
- Singh, P., D.S. Cheema, M.S. Dhaliwal, y N. Garg. 2014. Heterosis and combining ability for earliness, plant growth, yield and fruit attributes in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) involving genetic and cytoplasmic-genetic male sterile lines. *Sci Hort.* 168:175-188.
- Sirocchi, V., F. Devlieghere, N. Peelman, G. Sagratini, F. Maggi, S. Vittori y P. Ragaert. 2017. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat. *Food Chem.* 221: 1069–76.
- Stojanović, R., Z. M. Pejčić, N. Joković, M. Jokanović, M. Ivić, B. Šojić, S. Škaljac, P. Stojanović y T. Mihajilov-Krstev. 2018. Inhibition of *Salmonella enteritidis* growth and storage stability in chicken meat treated with Basil and Rosemary Essential Oils Alone or in Combination. *Food Control.* 90: 332–43.
- Usman, M.G., M.Y. Rafii, M.R. Ismail, M.A. Malek y M.A. Latif. 2014. Heritability and genetic advance among chili pepper genotypes for heat tolerance

and morphophysiological characteristics. J Sci world.1-14.

- Valero, T., S. Del pozo, E. Ruiz, J. M. Avila y G. Varela. 2010. Guia nutricional de la carne. Fundación española de la nutrición. Federacion madrileña de detallistas de la carne. 1-76.
- Vazquez-Flota, F., M. Miranda-Ham, M. Monforte-Gonzalez, G. Gutierrez-Carbajal, C. Velazquez-Garcia y Y. Nieto-Pelayo. 2007. La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. Rev Fitotec Mex.30: 353-360.
- Vegara, S., L. Funes, N. Martí, D. Saura, V. Micol y M. Valero. 2011. Bactericidal activities against pathogenic bacteria by selected constituents of plant extracts in carrot broth. Food Chem. 128: 872–877.
- Velasco, V. y P. Williams. 2011. Improving meat quality through natural antioxidants. Chil J Agr Res. 71: 313-322.
- Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. Fernandez-Lopez, y J.A. Perez- Alvarez 2010. Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. Food Control, 21: 436-443
- Wojciak, K. M. y Z. J. Dolatowski, A. Okon. 2011. The effect of easter plant extract addition on the oxidative stability of meat products. Acta Sci Technol Aliment. 10: 175-188.
- Wu, G.D., J. Chen, Ch. Hoffmann, K. Bittinger, Y-Y. Chen, S.A. Keilgaugh, M. Bewtra, D. Knights, W.A. Walters, R. Knight, R. Sinha, E. Gilory, K. Gupta, R. Baldassano, L. Nessel, H. Li, F.D. Bushman y J.D. Lewis. 2011. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. Sci. 334: 105-108.
- Zamski, E., O. Shoham, D. Palevitch y A. Levy. 1987. Ultrastructure of capsaicinoid-secreting cells in pungent and nonpungent red pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. Bot. Gazz. 148:1-6.

