

UNIVERSIDAD TÉCNICA NACIONAL

SEDE ATENAS

ÁREA DE TECNOLOGÍA

CARRERA EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

EVALUACIÓN DE LOS EXTRACTOS DE ROMERO (*ROSMARINUS
OFFICINALIS L*) Y DE OLIVA (*OLEA EUROPEA L*), COMO
ALTERNATIVAS NATURALES PARA CONSERVAR EL COLOR DE LA
CARNE MOLIDA DE RES

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO
DE LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS

YENNIFER ALPÍZAR BERMÚDEZ

CÉDULA 1-1495-0897

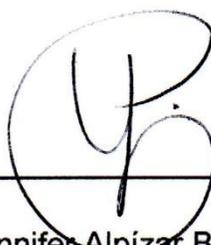
ATENAS, COSTA RICA

2016

DECLARACIÓN JURADA

Yo Yennifer Alpizar Bermúdez portadora de la cédula de identidad número 1-1495-0897, estudiante de la Universidad Técnica Nacional, (UTN) en la carrera de Ingeniería en Tecnología de Alimentos, conocedora de las sanciones legales con que la Ley Penal de la República de Costa Rica castiga el falso testimonio y el delito de perjurio que pueda ocasionarse ante la Directora de Carrera y quienes constituyen el Tribunal Examinador de este trabajo de investigación, juro solemnemente que este trabajo de investigación es una obra original respetando las leyes y que ha sido elaborada siguiendo las disposiciones exigidas por la Universidad Técnica Nacional, UTN así como con los derechos de autor.

En fe de lo anterior, firmo en el cantón de Atenas, a los tres días del mes de setiembre del dos mil dieciséis.



Yennifer Alpizar Bermúdez

Cédula: 1-1495-0897

TRIBUNAL EXAMINADOR

AGRADECIMIENTO

A mis padres, porque todos mis esfuerzos y recompensas son gracias a los valores y al amor que me han dado. Por ellos soy una mejor persona cada día.

Mi familia es quien me ha apoyado en todos mis retos y me motiva a seguir adelante.

Soy privilegiada por todo lo que Dios me regala cada día.

“La familia es la primera y fundamental escuela de la humanidad”

Juan Pablo II

INDICE GENERAL

DECLARACIÓN JURADA	ii
TRIBUNAL EXAMINADOR.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
INDICE DE FIGURAS	vii
INDICE DE TABLAS	viii
RESUMEN EJECUTIVO	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1 Definición del objeto en estudio	11
1.2 Justificación	11
1.3 Antecedentes	13
1.4 Objetivos	14
1.4.1 Objetivo general.....	14
1.4.2 Objetivos específicos	14
1.5 Hipótesis	15
1.6 Alcance y limitaciones.....	15
1.6.1 Alcances	15
1.6.2 Limitaciones	16
II. MARCO TEÓRICO	17
2.1 Carne molida.....	17
2.2 Color de la carne.....	18
2.3 Extractos naturales	20
2.3.1 Romero (<i>Rosmarinus Officinalis L</i>)	21
2.3.2 Oliva (<i>Olea Europea L</i>)	22
2.3.3 Actividad antimicrobiana de los extractos naturales	22

2.4 Bacterias psicrófilas	23
2.5 Análisis sensorial de la carne.....	23
III. MARCO METODOLÓGICO.....	25
3.1 Enfoque de la investigación	25
3.2 Tipo de estudio.....	25
3.2.1 Exploratorio.....	25
3.2.2 Descriptiva	26
3.3 Sujetos	26
3.4 Fuentes de información.....	26
3.5 Descripción de instrumentos	26
3.5.1 Análisis químicos	26
3.5.2 Análisis microbiológico.....	29
3.5.3 Análisis sensorial	31
IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS	33
4.1 Análisis químicos	33
4.2 Análisis microbiológico.....	39
4.3 Análisis sensorial	40
4.4 Análisis de costos	43
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
5.1 Conclusiones.....	45
5.2 Recomendaciones	46
VI. REFERENCIAS	47
VII. GLOSARIO.....	51
VIII. APÉNDICES.....	52
IX. ANEXOS	53

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción química de la carne fresca, para desarrollar los diferentes pigmentos que la componen	19
Figura 2. Estructura química básica de los flavonoides	21
Figura 3. Ecuaciones utilizadas para conocer los porcentajes de mioglobina, oximioglobina y metamioglobina en una muestra de carne.....	29
Figura 4. Porcentaje de oximioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.3% con los extractos de romero y oliva, durante los días uno y cuatro	33
Figura 5. Porcentaje de oximioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.6% con los extractos de romero y oliva, durante los días uno y cuatro	34
Figura 6. Porcentaje de oximioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.9% con los extractos de romero y oliva, durante los días uno y cuatro	35
Figura 7. Porcentaje de mioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.3%, 0.6% y 0.9% con los extractos de oliva y romero, durante los días uno y cuatro.....	36
Figura 8. Porcentaje de metamioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.3%, 0.6% y 0.9% con los extractos de oliva y romero, durante los días uno y cuatro.....	37
Figura 9. Nivel de agrado de los panelistas al realizar la degustación de una muestra de carne molida de res cocida, dosificada al 0.6% con el extracto de romero	40
Figura 10. Nivel de agrado de los panelistas al realizar la degustación de una muestra de carne molida de res cocida, dosificada al 0.6% con el extracto de oliva	41

INDICE DE TABLAS

Tabla1. Unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) de las muestras control, romero y oliva, para los días uno y cuatro.....	39
Tabla2. Evaluación de diferencia significativa en la muestra de carne molida aplicada con el extracto de romero, utilizando la tabla de Tukey	42
Tabla3. Evaluación de diferencia significativa en la muestra de carne molida aplicada con el extracto de oliva, utilizando la tabla de Tukey	43

RESUMEN EJECUTIVO

La industria alimentaria promueve un cambio de paradigma respecto a la calidad de los productos, en pro de la elaboración de alimentos saludables, por lo que fija sus metas en la búsqueda de ingredientes naturales, para utilizarlos como reemplazo de los aditivos que actualmente son utilizados.

Dado que con el paso del tiempo los consumidores han mejorado la conciencia respecto a la influencia de la alimentación en la salud humana; de igual manera en la necesidad de adquirir alimentos naturales, basados en etiquetas limpias.

Es importante destacar que la industria alimentaria requiere del uso continuo de aditivos para formular productos de alta calidad; por lo tanto, la producción de cárnicos se ve altamente favorecida con estos ingredientes.

En este caso, se realizó un estudio exploratorio y descriptivo, con la finalidad de evaluar los extractos naturales de romero *Rosmarinus Officinalis L* y de oliva *Olea Europea L*, de manera que puedan ser utilizados como ingredientes naturales para mantener el color de la carne molida de res, por lo que se analizaron distintas dosificaciones de uso al 0.3%, 0.6% y 0.9%, para determinar entre ellas la más adecuada. Se estudió además el efecto de estos extractos en la inhibición del crecimiento de bacterias psicrófilas, que pudieran crecer en ambientes donde se almacena la carne.

Junto con esto se evaluó la utilización de los extractos naturales de romero y oliva y su efecto en la percepción del sabor, con la finalidad de conocer la aceptación del consumidor.

El estudio se realizó en muestras de carne molida de res, ya que este corte es uno de los más adquiridos por los consumidores de Costa Rica; los mismos se estudiaron por cuatro días, dada la rotación que esta posee.

Se establecieron entonces diversas etapas para el proceso de la investigación, tales como: la espectrofotometría de absorción en la carne molida, para conocer los

pigmentos de mioglobina, oximioglobina y metamioglobina presentes en la muestra; el conteo manual de bacterias psicrófilas y el análisis sensorial en escala de aceptación hedónica. Una vez obtenidos los resultados, se ingresaron al programa de datos Excel, para ser tabulados y expresados mediante gráficos y tablas, con sus respectivos análisis.

Después de implementada la propuesta se obtuvieron resultados positivos en cuanto al contenido de oximioglobina en la muestra; esto al utilizar el extracto de oliva en cantidades superiores al 0.6% con la finalidad de retardar la oxidación del pigmento de oximioglobina. Se comprobó también el efecto positivo del romero dosificado al 0.6%, al inhibir el crecimiento de bacterias psicrófilas. Al aplicar el panel de aceptación del perfil de sabor todos estos resultados estuvieron acorde con la aceptación de los consumidores participantes.

La investigación se realizó como requisito de la investigadora para obtener el título de Licenciatura en Ingeniería en Tecnología de Alimentos, de la Universidad Técnica Nacional (UTN).

I. INTRODUCCIÓN

En el primer capítulo aparece el objeto en estudio y su respectivo cuestionamiento, seguido de la justificación donde se argumentan las causas por las que se desea llevar a cabo la investigación, así como la necesidad del uso de ingredientes naturales en la industria cárnica.

También se destacan algunos antecedentes relacionados con el objeto de investigación, además se citan los objetivos por lograr, la hipótesis, los alcances y las limitaciones que se generan en el estudio.

1.1 Definición del objeto en estudio

Se delimita como objeto en estudio el efecto que los extractos de romero (*Rosmarinus Officinalis L*) y de oliva (*Olea Europea L*), poseen al mantener el pigmento de oximioglobina en la carne molida de res, durante cuatro días; lo que conlleva al siguiente cuestionamiento:

¿Podrán los extractos de romero (*Rosmarinus Officinalis L*) y de oliva (*Olea Europea L*), ayudar a mantener el color en la carne molida de res durante cuatro días?

1.2 Justificación

Existen materias primas utilizadas para brindar atributos deseables a la carne procesada, entre los que se citan el color, la vida útil, la inhibición del crecimiento microbiológico y el incremento del rendimiento. Actualmente muchos de los ingredientes que se usan con este propósito, no pueden ser utilizados para producir alimentos que se desean declarar como saludables. Debido a esto, la industria cárnica debe recurrir a ingredientes naturales, que sustituyan los nitritos, fosfatos, lactatos y otros utilizados habitualmente. (Williams, 2014)

Dado que cada vez el consumidor con más frecuencia se inclina por la compra de productos que contribuyan a su salud, se da la tendencia a producir etiquetas limpias, donde se destaque la pureza de los ingredientes.

Se puede decir que en el mercado costarricense se ha generado la necesidad de desarrollar productos sin aditivos, para poder continuar con las exportaciones. Por su parte los mercados norteamericano, asiático y europeo se inclinan cada vez más por exigir la importación de alimentos que el consumidor esté dispuesto a adquirir. (Landaeta, 2013).

Debido a que en la industria cárnica se requiere conservar las cualidades de los productos, sin lugar a duda, la propuesta del uso de los extractos naturales es una opción innovadora, de manera que se pueda prescindir de las alternativas sintéticas.

Cabe destacar que la carne es uno de los alimentos más susceptibles al deterioro, debido al proceso de elaboración que conlleva y a su alto contenido de agua y nutrientes disponibles. De ahí que tienda a ser más perecedera, propensa a la contaminación microbiológica y a sufrir pérdida de color que su fuente de origen. (Restrepo, 2001).

Es importante mencionar que la carne molida es uno de los productos más consumidos por los costarricenses, principalmente al almuerzo. Los locales de compra favoritos de este producto son las carnicerías, por hallarse en mayor calidad y fresca. (Corporación ganadera CORFOGA, 2001, p. 3-5)

Por tanto, es que se desea promover una mejora en la calidad de la carne molida de res, la cual puede llegar a ser usada por la industria cárnica, donde los extractos naturales puedan utilizarse para conservar el color de la carne molida, que oferta en distintas carnicerías y comercios.

Surge entonces la iniciativa de estudiar los extractos naturales de romero y oliva, que se presume podrían ser utilizados como ingredientes para mantener las propiedades de color e inhibición microbiológica de la carne molida de res.

Se propone realizar una comparación entre los extractos de romero y oliva, como alternativas naturales para conservar el color de la carne molida de res, debido

a la elevada cantidad de compuestos fenólicos y a la efectividad antimicrobiana que poseen.

1.3 Antecedentes

Dada la propuesta de llevar a cabo una investigación referente a los usos que se le da a los extractos de romero y oliva, como opciones naturales para preservar el color de la carne molida de res, se argumentan aspectos relacionados con el tema.

Grandes empresas productoras de ingredientes alimentarios han enfocado sus investigaciones en la búsqueda de extractos naturales para conservar el color en los alimentos, como el caso de Naturex. Esta compañía desarrolló un producto a base de cebolla y acerola, para mantener el color rojo intenso en la carne, cuya efectividad se probó en salchichas de cerdo refrigeradas. El resultado de los extractos naturales utilizado fue tan satisfactorio como el de los antioxidantes sintéticos Butil-hidroxianisol (BHA) y Butil-hidroxitolueno (BHT) de uso frecuente. (Food News, 2016)

En una investigación llevada a cabo en la Universidad de Zaragoza, se demostró que algunos antioxidantes provenientes de plantas de romero, orégano y té verde, inhibieron la oxidación de la mioglobina, preservando así el color rojo brillante de la carne fresca. Dicho estudio destacó que el orégano y el romero mostraron efectividad al hacer que se incrementa el tiempo de conservación del color y el olor de la carne fresca hasta en un 200%; además de mantener el recuento microbiano por debajo de los límites permisibles. (Roncalés, 2003).

Según Contexto Ganadero (2013), el uso de extractos naturales de uva, romero y orégano en aplicaciones al 0.02%, ayudaron a la estabilidad oxidativa y del color en tortas de hamburguesas de carne bovina y porcina congelada. Se concluyó además que dichos extractos en dosis más altas podrían eventualmente tener mayor efectividad.

Al contraponer la efectividad del extracto de romero contra Butil-hidroxianisol (BHA) y Butil-hidroxitolueno (BHT), se determinó la inhibición del crecimiento

microbiológico de patógenos en rangos de 0.8-1.1 mg/ml, a favor del extracto natural. (Monroy, 2009).

Dado un amplio estudio de la oleuropeina, componente principal de la oliva que se caracteriza por sus propiedades antimicrobianas, se demostró su capacidad de inhibir los microorganismos y las bacterias patógenas, tales como el *Staphylococcus aureus*. También se comprobó que este extracto inhibe la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. (Laboratorios Da Vinci,1999).

El extracto de oliva se comparó con el ácido ascórbico, aplicado en jamones para evitar el efecto oxidativo, lo que dio un resultado positivo a partir del día dos, que se mantuvo hasta el día diez. En este mismo estudio se mencionó la efectividad de la oliva en tortas de pollo, donde se conservó la muestra por cuarenta y dos días y se observó la estabilización en el color. (Handary , 2016).

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar los extractos de romero (*Rosmarinus Officinalis L.*) y oliva (*Olea Europea L*), en la carne molida de res, para mantener el color, con el fin de utilizarlos como alternativa natural en la industria cárnica.

1.4.2 Objetivos específicos

- a) Comparar el efecto de los extractos de romero y oliva en los pigmentos de oximioglobina, mioglobina y metamioglobina de la carne molida de res, para evidenciar su resultado en la conservación del color deseable.
- b) Determinar el nivel óptimo de aplicación de cada extracto, utilizando la técnica de espectrofotometría de absorción, para mostrar diferencias significativas en el contenido de oximioglobina.
- c) Observar la inhibición de microorganismos psicrófilos en la carne molida de res, utilizando los extractos naturales en estudio como agentes antimicrobianos.

- d) Conocer la percepción del sabor, mediante un estudio de aceptación hedónica de la carne molida de res cocida con extractos de romero y oliva.

1.5 Hipótesis

Los extractos de romero (*Rosmarinus Officinalis L*) y oliva (*Olea Europea L*) aplicados en dosis óptimas a la carne molida de res, influyen de manera positiva al mantener el pigmento de oximioglobina hasta por cuatro días, e inhibir el crecimiento microbiológico de bacterias psicrófilas, sin interferir en la percepción de sabores residuales.

1.6 Alcances y limitaciones

Entre los alcances y limitaciones encontradas al momento de realizar la investigación, se pueden citar:

1.6.1 Alcances

La investigación se destaca por su importancia a la industria cárnica, al ofrecer una propuesta natural aplicable para mantener el color de la carne molida de res, que además evite el crecimiento de bacterias psicrófilas y pueda utilizarse en el desarrollo de nuevos desarrollos.

El producto se ofrece principalmente a supermercados y carnicerías que mantienen la carne en cámaras de refrigeración, visibles para el consumidor, y que requieren mantener el color rojo de la carne molida de res hasta por cuatro días, a temperaturas de refrigeración. Además, se expone una alternativa 100% natural que beneficien la salud del consumidor.

Este documento se pone a disposición de estudiantes, profesores, empresarios y demás lectores interesados en la Ingeniería en Tecnología de Alimentos, que deseen ampliar conocimientos relacionados con el efecto de los extractos naturales de romero y oliva, aplicados en la carne molida de res. También puede ser un insumo valioso a antecedentes o investigaciones en futuros proyectos referentes al tema en estudio.

1.6.2 Limitaciones

Entre las limitaciones se destaca la falta de infraestructura universitaria, laboratorios de microbiología y de análisis sensorial son limitaciones importantes a la hora de desarrollar los objetivos para cumplir con cada actividad propuesta.

De igual manera existe la carencia de reactivos para llevar a cabo los análisis de espectrofotometría de absorción y determinación de pigmentos en la carne.

Se menciona también la falta de recursos financieros por parte de la investigadora, para comprar los servicios y materiales, que deben ser cubiertos por la por la estudiante.

II. MARCO TEÓRICO

El marco teórico conlleva definiciones relacionadas con el objeto de estudio y su ámbito: se encuentra el concepto de carne molida, de coloración, del uso de extractos naturales, específicamente el romero y la oliva, y de su funcionalidad microbiológica y sensorial; todo necesario para tener una noción general del tema en estudio.

2.1 Carne molida

Se entiende por carne molida, también conocida como carne picada, a aquella que es dividida finamente por procedimientos mecánicos, mediante la molienda, y que es apta para el consumo humano. Esta se puede clasificar según la cantidad de grasa que contiene y de acuerdo al tipo de corte que se utilice. (Reglamento Técnico Centroamericano, etiquetado de la carne, 2007).

Para mantener la carne molida en óptimas condiciones de consumo humano, se recomienda almacenarla a temperaturas de refrigeración (4°C) y utilizarla en un rango máximo de cuatro días a partir de su fecha de fabricación. Esto ayuda a mantener las condiciones organolépticas y microbiológicas apropiadas para su consumo. (USDA, 2011).

Cabe resaltar que la carne molida tiende a presentar mayor contaminación que otros cortes por el proceso de molienda, debido a los microorganismos que pueden estar presentes en su superficie. Hay que considerar que cuando esta se almacena en condiciones aerobias, es más propensa a contaminarse con bacterias causantes de decoloración. (Galván, 2011).

Según un estudio publicado en el año 2013 por la Corporación Ganadera CORFOGA, el consumo de carne molida en Costa Rica se encuentra entre los cinco tipos de cortes más preferidos por los costarricenses, lo que se debe a su bajo precio, la calidad y su fácil preparación.

2.2 Color de la carne

Es importante destacar que la percepción del color es un atributo visual compuesto de componentes cromáticos y acromáticos. Al momento en que la luz blanca es absorbida en una sustancia, ciertos componentes presentes reaccionan y por ende se refleja el color. (Braña, 2011).

Dicho color resulta de la combinación de varios factores que se unen; ubicados entre la gama de amarillos, verdes, azules o rojos. Esto se describe en la longitud de onda de la radiación de la luz, ya que la carne posee pigmentos que son detectados por los niveles de absorbancia. (Harold Hedrick, 1989).

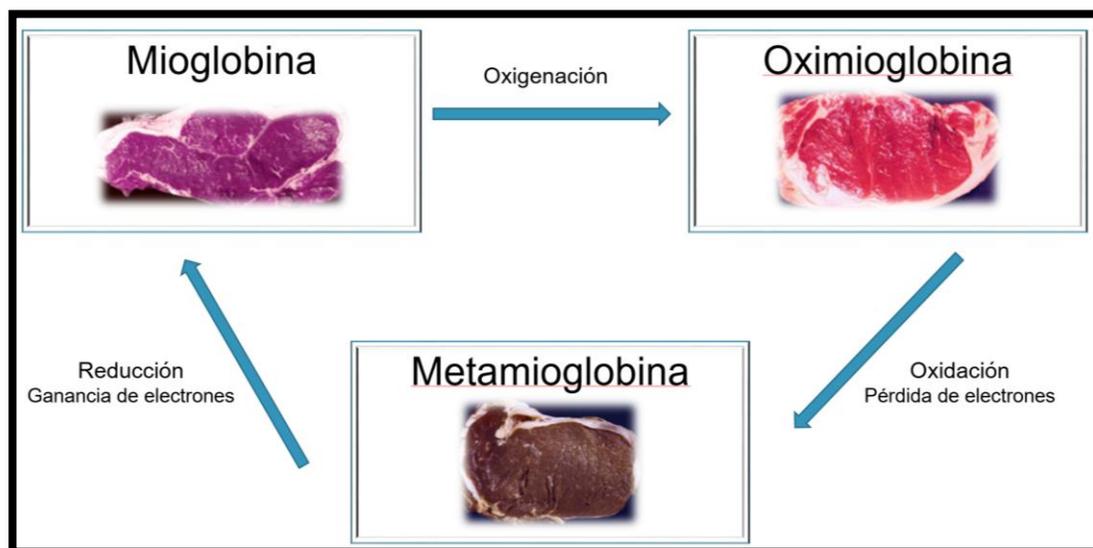
El color de la carne está relacionado con factores post-mortem como el pH y la temperatura, aunque también es importante considerar aspectos ante-mortem como la edad, la alimentación, el músculo y la genética del animal. En el caso de la res post-mortem el contenido de mioglobina puede variar desde 0.3% al 1%. (Braña, 2011).

De manera más específica, el compuesto responsable de dar el color rojo a la carne es la mioglobina, una proteína soluble en agua, formada por 8 α hélices, de la cual un grupo hemo contiene un átomo de hierro situado en el centro del núcleo; ahí se encuentra un enlace disponible para unirse con oxígeno diatómico, monóxido de carbono, agua y óxido nítrico, mismo que determina el color de la carne a través de cuatro formas químicas de transformación de la mioglobina: deoximioglobina, oximioglobina, carboximioglobina y metamioglobina. (American Meat Science Association, 2012).

Por su parte, la deoximioglobina corresponde al pigmento púrpura típico de la carne fresca, esta contiene iones de hierro disponibles que se someten a la oxigenación y desarrollan un color rojo brillante, formando como consecuencia la oximioglobina. Cuando la oximioglobina absorbe los iones de hierro se forma la metamioglobina, que provoca un color café indeseado en la carne. Todas estas interacciones se ven afectadas por el pH y la temperatura. (American Meat Science Association, 2012).

En la siguiente figura se muestra la reacción química, descrita en los tres párrafos anteriores, para una mejor interpretación.

Figura 1. Reacción química de la carne fresca, para desarrollar los diferentes pigmentos que la componen



Fuente: Elaboración propia, 2016.

Cuando se trata de medir el color en la carne existen diversas maneras de hacerlo, entre las que se contemplan la visual y la instrumental. Con la finalidad de desarrollar resultados más exactos, es preciso acudir a los métodos instrumentales. (Braña, 2011).

Para desarrollar métodos instrumentales se utilizan comúnmente los espectrofotómetros, que proyectan un haz de luz monocromática sobre la muestra y miden la cantidad que se absorbe en distintas longitudes de onda, lo que permite generar curvas de absorción o de transmitancia. La cantidad de luz reflejada por la muestra se define como porcentaje de reflectancia difusa, a la misma longitud de onda de un estándar de referencia blanco. (Braña, 2011).

Se menciona además el método de conservación del color a través de la técnica de atmósfera modificada, para mantener el rojo típico de la carne fresca. Este consiste en reemplazar el aire del empaque por un gas, generalmente oxígeno, nitrógeno o dióxido de carbono, para así controlar la atmósfera del empaque donde

se almacena la carne. El gas que se adiciona, crea una composición que cambia con el tiempo, pero puede verse afectadas por factores fisiológicos, ambientales y por la permeabilidad del material de empaque. (Gómez, 2007).

2.3 Extractos naturales

A lo largo de la historia de la industria alimentaria se han utilizado varios aditivos sintéticos para mantener las propiedades en la carne. Pese a esto, han sido ampliamente cuestionados por la seguridad del consumidor, lo que ha generado que la mayoría de ellos estén restringidos por las entidades regulatorias correspondientes.

Entre los compuestos sintéticos que conservan el color se encuentran el nitrito de sodio, que actúa con la mioglobina para formar el nitrosil-hemocromo, que da el color rosado característico en los productos curados. También el ácido eritórico, ácido ascórbico, bisulfito de sodio y glucono delta lactona promueven esta acción de preservación del color. (Restrepo, 2001).

Los aditivos se caracterizan por presentar efectividad en sus resultados, aplicándolos en pequeñas dosis a un bajo costo, logrando una alta estabilidad; sin embargo, se investigan posibles consecuencias nocivas para la salud humana. (Gómez P, 2009).

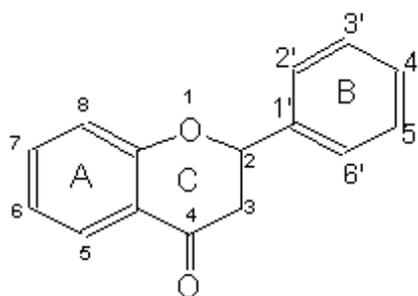
Por otra parte, según la agencia de estudios de mercado Mintel, se afirma que tanto los consumidores como las entidades regulatorias a nivel mundial, están enfocados en que los productos alimenticios sean cada vez más naturales y que además realcen las propiedades de los alimentos. Se dice que desde el año 2015, como consecuencia de las tendencias en la industria alimentaria, se observa un fuerte impacto en el auge de las etiquetas limpias. (Mintel, 2015).

Con el fin de sustituir los ingredientes sintéticos, se han estudiado los extractos naturales, que contienen en su estructura gran cantidad de compuestos fenólicos, carotenoides y tocoferoles. Estos son obtenidos de diferentes fuentes

alimentarias como de las legumbres, las frutas y principalmente de las hierbas. (Universidad Nacional de Catamarca, 2008).

Algunos extractos naturales poseen un efecto prooxidante, por el desempeño de los flavonoides en la muestra. Este resultado puede generarse por el incremento de grupos hidroxilos que eventualmente podrían ocasionar reacciones tóxicas. La característica de la muestra antioxidante o prooxidante se relaciona directamente con la estabilidad del radical formado por el flavonoide activo. (Cavia, 2010).

Figura 2. Estructura química básica de los flavonoides



Fuente: The Green Labs, 2015.

2.3.1 Romero (*Rosmarinus Officinalis* L)

El romero es una hierba que se compone de ácidos fenólicos, flavonoides, aceites esenciales, ácidos triterpénicos y alcoholes triterpénicos; cuya cantidad de componentes puede variar según las condiciones del suelo, la ubicación geográfica de la planta y el clima de cultivo. (Ávila, 2011).

Esta hierba ha generado interés por lo que ha sido fuente de estudio de numerosas investigaciones, dadas las propiedades antioxidantes y antimicrobianas que posee. Estos atributos se deben al alto contenido de compuestos polifenólicos, que puede actuar de distintas maneras, entre las que se enumeran la búsqueda de radicales libres, que inician con las reacciones de oxidación y continúan con la inactivación de iones metálicos. (Monroy, 2009).

Cabe resaltar que el romero se destaca por su efectividad al compararlo con antioxidantes como el Butil-hidroxianisol (BHA) y Butil-hidroxitolueno (BHT), al inhibir la oxidación de la carne. (Universidad Nacional de Catamarca, 2008).

El extracto de romero como antioxidante, identificado con E392, tiene un uso permitido de 150 miligramos por kilogramo en carne, cuando el contenido de materia grasa sea superior al 10%. En el caso de contener un porcentaje no superior a 10, se establece el uso de 15 miligramos por kilogramo. (Reglamento de la Unión Europea, 2013)

En Costa Rica no existe un límite de uso para los extractos naturales, únicamente se restringen los de fuentes sintéticas.

2.3.2 Oliva (*Olea Europea L*)

La oliva es una hierba que pertenece a la familia Oleaceae, proveniente de arbustos de tamaño mediano y de climas calientes. Existen más de treinta especies, donde la única con fruto comestible es la *Olea Europea L*. (Universidad Nacional de Catamarca, 2008).

El extracto de *Olea Europea L*, comprende especies distribuidas en las regiones templadas del planeta. Éste extracto ha sido estudiado ampliamente por su alto contenido de polifenoles, entre ellos el hidroxitirosol. (Fuentes, 2004).

Respecto a la restricción de uso del extracto de oliva, no se registran limitantes en su uso, tanto a nivel nacional como internacional.

2.3.3 Actividad antimicrobiana de los extractos naturales

La carne fresca, por su alto contenido de nutrientes y por la actividad de agua disponible, se considera entre los alimentos más perecederos de la industria alimentaria; esto se debe a que el músculo de la carne es estéril en su interior, pero una vez que se somete a cortes o reducción del tamaño por medio de la molienda, se da la contaminación. De aquí que el recuento microbiano se incrementa en carnes picadas, ya que estas poseen una gran área superficial, que genera condiciones ideales para el crecimiento de bacterias aerobias, principalmente. (Restrepo, 2001).

Los microorganismos presentes en la carne pueden darse por infección del animal vivo o por invasión pos-mortem, siendo esta última más común. La contaminación de bovinos y porcinos después del sacrificio y enfriamiento es variable y puede ser de 10^1 a 10^5 mesófilos aeróbicos por centímetro cuadrado. (Restrepo, 2001).

Los cortes frescos de carne retienen el color unas horas después de la matanza, cuando la comercialización es adecuada. Pese a esto, la decoloración se puede presentar más aceleradamente ya sea por la actividad enzimática muscular o por el crecimiento microbiano. El crecimiento microbiológico también influye en la desestabilización del color, ya que en algunos casos aparecen microorganismos aerobios que lo revierten. Además, se puede dar la aparición de microorganismos productores de dióxido de carbono, provocando colores verdes en la carne; inclusive pueden presentarse bacterias proteolíticas que utilicen como alimento el pigmento presente, por lo que se separa la globina. (Uyagüe, 2007).

2.4 Bacterias psicrófilas

Las bacterias se clasifican según su temperatura de crecimiento en psicrófilas, psicrótrofas, mesófilas y termófilas. Las bacterias psicrófilas por su parte crecen a una temperatura óptima de 15°C y por debajo de 25°C . (University of Arkansas System, 2000).

Uno de los microorganismos de deterioro que se asocia al daño de alimentos refrigerados son los psicrófilos, debido a que la resistencia que estos tienen a temperatura ambiente es nula. Además, se mantienen presentes en ambientes con temperaturas constantes, como las cámaras de refrigeración. (Lizano, 2013).

2.5 Análisis sensorial de la carne

El análisis sensorial de alimentos se lleva a cabo con la ayuda de los sentidos, el cual implica el uso de herramientas estandarizadas que contribuyen con la confiabilidad de las respuestas. Esta técnica es ampliamente utilizada en empresas que desean evaluar la calidad de sus productos. (Barda, 2010).

El color es una de las características más importantes para el consumidor al adquirir la carne, ya que califica este parámetro como atributo de calidad. Es importante mencionar que el análisis sensorial puede abarcar la evaluación de uno o más atributos, según lo que se requiera. (American Meat Science Association , 2012)

La percepción sensorial de los alimentos se puede ver modificada por el sabor de extractos naturales que se adicionen, ya que la cantidad requerida para generar un efecto tanto a nivel microbiológico como para conservar el color, demanda la utilización de cantidades altas del extracto. (Lizano, 2013).

III. MARCO METODOLÓGICO

El presente capítulo explica la metodología con la cual se realiza la investigación, cuyo contenido obedece a temas correspondientes al enfoque, el tipo, las fuentes y los sujetos de investigación, además de la descripción de instrumentos utilizados para realizar las pruebas químicas, microbiológicas y sensoriales.

3.1 Enfoque de la investigación

Entre los distintos tipos de investigación, se destaca según Gómez (2006), el enfoque cuantitativo, ya que se generan datos estadísticos, donde se registran un número de repeticiones, en este caso para conocer los porcentajes de cada uno de los pigmentos del color de la carne molida de res.

Además, se analizan los recuentos bacterianos en unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) de cada muestra, con el objetivo de evidenciar la funcionalidad de los extractos evaluados, desde el punto de vista microbiológico utilizando la técnica de conteo manual con la plantilla D Mode 50 micro litros (4).

La investigación conlleva también el desarrollo de un análisis sensorial, donde se cuantifica la información para conocer si existen diferencias significativas en las muestras en estudio.

3.2 Tipo de estudio

Por la naturaleza de este estudio, se lleva a cabo una investigación exploratoria, ya que se desea examinar un tema poco estudiado del cual se tienen muchas consultas. Además, se estudia de manera descriptiva, debido a que se desean especificar las propiedades, las características y los aspectos importantes del objeto en estudio. (Gómez, 2006).

3.2.1 Exploratorio

Se desea analizar el efecto de los extractos de romero y oliva para mantener el color rojo en la carne molida de res y a la vez reducir el crecimiento de bacterias psicrófilas.

3.2.2 Descriptiva

Se realiza una descripción del procedimiento a seguir para lograr obtener resultados confiables, que estandaricen el proceso en cada repetición.

3.3 Sujetos

Como parte del apoyo teórico se reciben recomendaciones de profesionales en las áreas de industria cárnica, microbiología de alimentos y análisis sensorial.

Se llevan a cabo encuestas de análisis sensorial para aceptación hedónica con la ayuda de quince panelistas consumidores. (Ver apéndice 1).

3.4 Fuentes de información

Se indaga en fuentes diversas, respecto a temas relacionados, la composición química de la carne, el análisis sensorial de alimentos; la microbiología de la carne y los reglamentos referentes a los aditivos alimentarios, entre ellos el Reglamento Técnico Centroamericano para Aditivos Alimentarios (RTCA). También se examinan documentos y revistas en línea sobre etiquetas limpias y cómo esta tendencia afecta a los consumidores.

3.5 Descripción de instrumentos

Se estudian parámetros químicos, microbiológicos y sensoriales de los extractos de romero y de oliva, para ser evaluados en la carne molida de res.

Las pruebas químicas se llevan a cabo en el Laboratorio de Química de las instalaciones de la Universidad Técnica Nacional, ubicada en Balsa de Atenas. En cuanto a las pruebas de análisis microbiológicos se realizan en un laboratorio privado especializado en microbiología de alimentos.

3.5.1 Análisis químicos

El análisis químico llevado a cabo se basa en el método de espectrofotometría de absorción, desarrollado por la Universidad Autónoma Metropolitana de México. (Pérez, 2013).

Este se repite por cuatro veces en cada extracto en estudio, para un total de treinta y seis evaluaciones. Además, se utilizan cuatro lotes de producción estandarizados con 10% de grasa, todos de un mismo proveedor, uno para cada repetición. Las evaluaciones se realizan el día uno y día cuatro.

3.5.1.1 Materiales:

- a) Espectrofotómetro de absorción Génesis 10S VIS.
- b) Agua destilada.
- c) pH-metro Hanna instrument HI 2231.
- d) Beaker de 200ml.
- e) Diez espátulas.
- f) Balanza analítica, modelo ADAM PW254.
- g) Refrigeradora.
- h) Bolsas plásticas transparentes de polietileno de baja densidad.
- i) Papel filtro Whatman #1.
- j) Tres embudos de filtración.
- k) Carne molida de res 10% de grasa.
- l) Extracto de *Rosmarinus Officinalis L*, con una concentración mínima de 30% de polifenoles.
- m) Extracto de *Olea Europea L*, con una concentración mínima de 30% de polifenoles.

3.5.1.2 Procedimiento:

- a) Preparación de la carne:
 - a. Se toman tres beaker de 200 mililitros y se agregan 50 gramos de carne molida a cada uno.
 - b. Se agrega respectivamente 0.3%, 0.6% y 0.9% del extracto de romero y 10% de agua destilada sobre el peso de la carne y se mezclan manualmente hasta dispersar.
 - c. Este mismo procedimiento se realiza para la preparación de las muestras del extracto de oliva y para el control.

- d. Se mide el pH a cada muestra y se almacena en refrigeración a 4°C, en bolsa plástica transparente de polietileno de baja densidad.
- b) Análisis de color:
- a. Se mezclan uniformemente en un beaker de 200 mililitros, 10 gramos de carne molida preparada con el extracto para cada dosificación, con 90 gramos de agua destilada.
 - b. Se mezcla la muestra manualmente durante 40 segundos y se deja reposar por cinco minutos.
 - c. Se filtra la muestra con un papel filtro Whatman #1 y un embudo de filtración. El resto de la carne sin preparar se coloca en una bolsa plástica de polietileno de baja densidad y se almacena en refrigeración para ser evaluada el día cuatro.
 - d. Se evalúan paralelamente en el espectrofotómetro de absorción las tres muestras del extracto de romero filtradas junto con una muestra control referente a la carne molida sin extracto.
 - e. Se colocan en una celda de espectrofotómetro, obteniendo el espectro de absorbancia entre 480 a 650nm. De esto resultan los valores de absorbancia a 503, 525, 557 y 582 nm, utilizando como blanco agua destilada.
 - f. Una vez obtenidos los valores, se calcula el contenido porcentual de mioglobina (%Mb), oximioglobina (%OMb) y metamioglobina (%MetMb) con ayuda de las tres ecuaciones especificadas en la siguiente figura:

Figura 3. Ecuaciones utilizadas para conocer los porcentajes de mioglobina, oximioglobina y metamioglobina en una muestra de carne

1° ecuación: %Mb= 1.594 (A557/A525) + 0.552 (A503/A525) – 0.534 (A582/A525) – 1.329

2° ecuación: %OMb= 0.722 (A582/A525) - 1.432 (A557/A525) – 1.659 (A503/A525) + 2.599

3° ecuación: %MetMb= 0.159 (A582/A525) –0.085 (A557/A525) +1.262 (A503/A525) – 0.52

Donde: A= abosorbancia reflejada en el valor de la longitud de onda.

%Mb= porcentaje de mioglobina

%OMb= porcentaje de oximioglobina

%MetMb= porcentaje de metamioglobina

Fuente: Pérez, 2013.

- g. Al finalizar la evaluación del romero, se procede a realizar el mismo procedimiento para el extracto de oliva.
- h. En el día cuatro, se repite el procedimiento anterior.

3.5.2 Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos se realizan para las aplicaciones de romero y oliva únicamente al 0.6%, debido a las limitaciones definidas en la presente investigación. Además, este análisis se corre por duplicado para las muestras romero, oliva y control.

3.5.2.1 Materiales:

- a) Cámara de flujo laminar Clean Bench.
- b) Alcohol.
- c) Cuatro placas petri plásticas de 100mm con agar de agua peptonada bufferizada esteril.
- d) Bolsas plásticas transparentes de polietileno de baja densidad.
- e) Agua peptonada estéril.
- f) Balanza Smart dilutor.
- g) Homogenizador Masticator IUL
- h) Pipeta 3M.

- i) Refrigeradora.
- j) Inoculadora de placas, modelo Eddyjet 2.
- k) Plantilla para conteo manual.
- l) Carne molida de res 10% de grasa.
- m) Extracto de *Rosmarinus Officinalis L*, con una concentración mínima de 30% de polifenoles.
- n) Extracto de *Olea Europea L*, con una concentración mínima de 30% de polifenoles.

3.5.2.2 Procedimiento:

- a) En una bolsa plástica transparente de polietileno de baja densidad se pesan 50 gramos de carne molida de res con 0.6% del extracto de romero y 100 mililitros de agua peptonada estéril.
- b) Se introduce la muestra al homogenizador por 30 segundos a temperatura ambiente.
- c) Una vez homogenizada la muestra se toma 1 mililitro del líquido y con ayuda de una pipeta se toma la muestra y se deposita en un frasco almacenador. Este procedimiento se lleva a cabo en la cámara de flujo laminar.
- d) La carne restante se almacena en refrigeración a 8°C.
- e) Para la distribución de la muestra en la placa petri, se coloca el frasco almacenador en la máquina inoculadora de placas y se procede a distribuir en espiral 50 microlitros de mayor a menor en la placa, generando una dilución de 1 en 10.
- f) Se colocan las placas en refrigeración a 8°C por diez días.
- g) El día cuatro se saca de la cámara de refrigeración la carne con el extracto y se repite el procedimiento anterior.
- h) Una vez transcurridos los diez días para cada una de las muestras se procede a hacer el conteo manual de las unidades formadoras de colonia por gramo (UFG/g), con la plantilla D Mode 50 micro litros (4), y se utiliza la zona 3c+3b+3a.
- i) El mismo procedimiento se realiza para la oliva.

3.5.3 Análisis sensorial

Se realiza con quince panelistas elegidos al azar no entrenados divididos entre hombres y mujeres.

Se trabaja una prueba afectiva de aceptación en escala de 1 a 7, siendo 1 la menor aceptación y 7 el mayor agrado, donde el panelista indica el gusto que tiene hacia la muestra evaluada y puede agregar comentarios. (Apéndice 1).

En la interpretación de resultados se utiliza la escala de Tukey para diferencia significativa con un nivel de confianza del 5%. (Anexo 1).

3.5.3.1 Materiales:

- a) Carne molida de res 10% de grasa.
- b) Extracto de *Rosmarinus Officinalis L*, con una concentración mínima de 30% de polifenoles.
- c) Extracto de *Olea Europea L*, con una concentración mínima de 30% de polifenoles.
- d) Cocina.
- e) Tenedor.
- f) Sartén
- g) Balanza.
- h) Termómetro.
- i) Vajilla desechable.
- j) Agua potable.
- k) Aceite.
- l) Sal.
- m) Servilletas.

3.5.3.2 Procedimiento:

- a) Se pesan 500 gramos de carne molida de res y se agrega 0.6% del extracto de romero.

- a) La muestra anterior se mezcla uniformemente por un minuto de manera manual y se almacena en refrigeración a 5°C por cuatro días.
- b) Posteriormente se saca la muestra de refrigeración y se le agregan 10 gramos de sal y se mezclan uniformemente por un minuto.
- c) Se coloca la muestra en el sartén con 20 gramos de aceite y se cocina hasta que la temperatura interna de la carne alcance 75°C.
- d) Se repite el procedimiento anterior con el extracto de oliva.
- e) Una vez preparadas las dos muestras se procede a llevar a cabo el análisis sensorial.
- f) Procedimiento para el desarrollo del panel sensorial:
 - a. A cada panelista se le da una muestra con 15 gramos de carne previamente preparada y se le facilita la hoja de evaluación, detallada en el Apéndice 1.
 - b. Posteriormente se retira la muestra inicial y se entrega la siguiente aplicada con el otro extracto.
 - c. Las evaluaciones se realizan por triplicado.

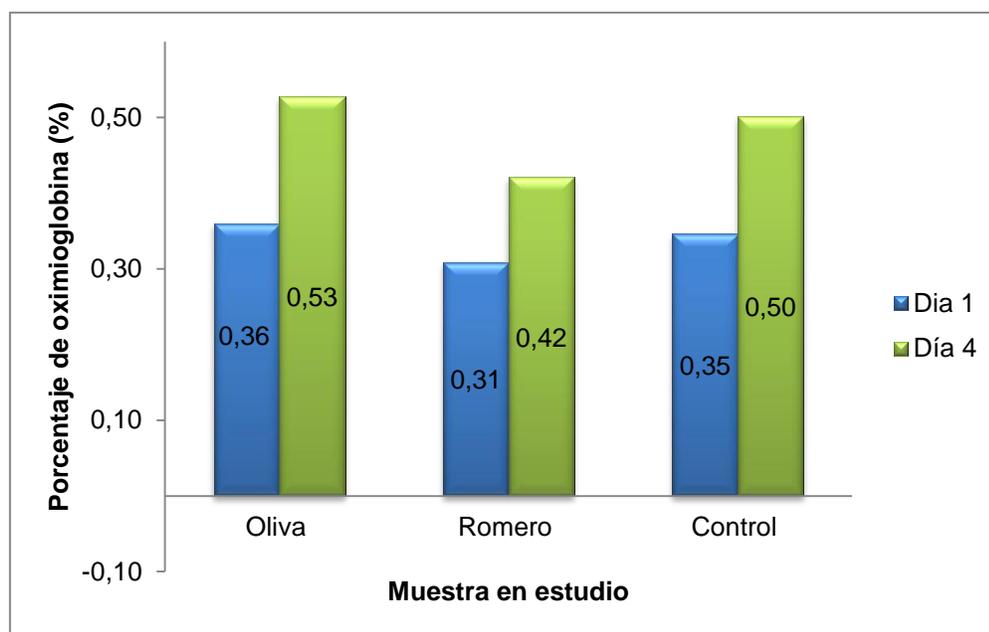
IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Este capítulo contiene información registrada mediante gráficos y tablas, acorde a los resultados obtenidos en las pruebas experimentales. De esta manera se analiza la cantidad de cada uno de los pigmentos del color en la carne, utilizando diversos porcentajes de aplicación en los extractos de romero y oliva. Además, se evidencia la inhibición de bacterias psicrófilas y la aceptación del sabor por parte de los consumidores. Por último, se realiza un análisis general de costos.

4.1 Análisis químicos

En el presente apartado se expresan de forma gráfica los principales hallazgos en relación a los porcentajes de cada pigmento, oximioglobina, mioglobina y metamioglobina evaluados en muestras de carne molida de res, durante el día uno y día cuatro.

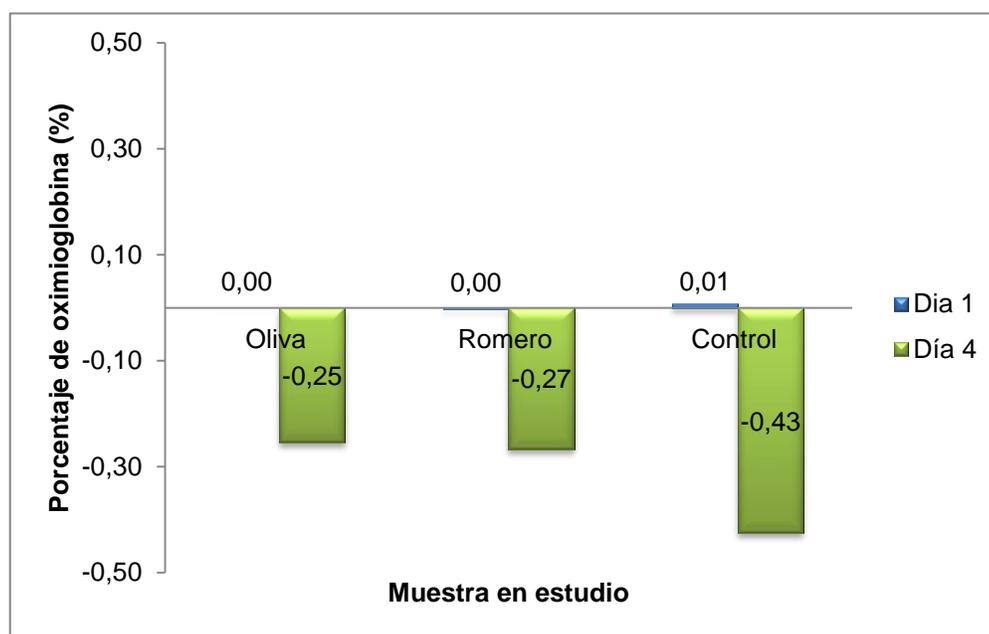
Figura 4. Porcentaje de oximioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.3% con los extractos de romero y oliva, durante los días uno y cuatro



Fuente: Elaboración propia, 2016.

Se puede observar en la Figura 4. un incremento en el contenido de oximioglobina para la muestra dosificada con extracto de oliva en relación a la muestra control de un 0.06% para el día cuatro. Por otra parte, no se evidenció diferencia significativa entre la muestra dosificada con romero comparado con la muestra control, considerando entonces que la dosificación utilizada fue poco favorable.

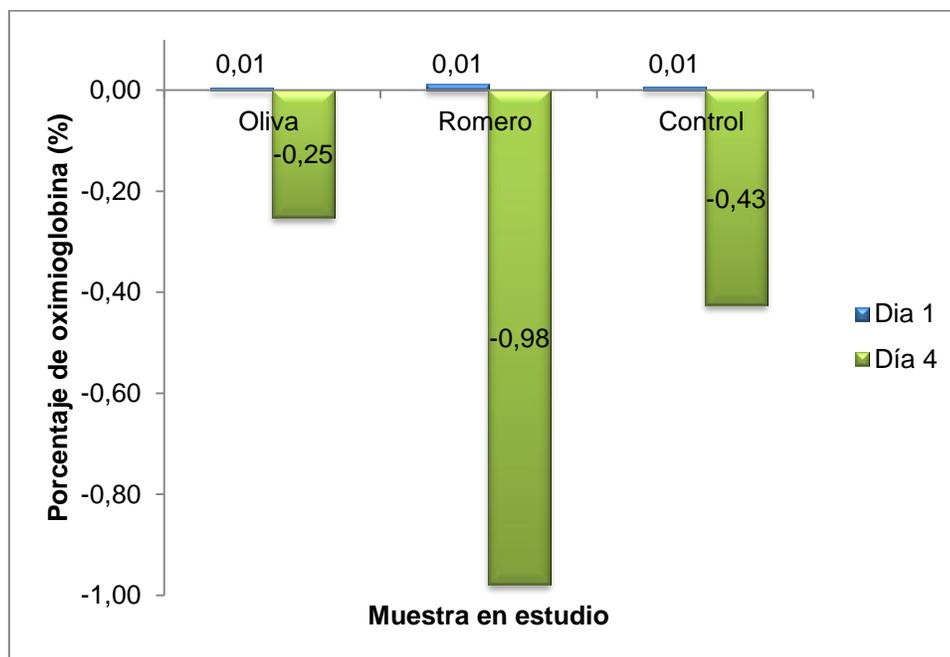
Figura 5. Porcentaje de oximioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.6% con los extractos de romero y oliva, durante los días uno y cuatro



Fuente: Elaboración propia, 2016.

Para la dosificación de los extractos de romero y oliva al 0.6%, se observó una disminución considerable en el porcentaje de oximioglobina en la muestra de carne molida de res. En la aplicación del extracto de oliva el acercamiento al punto cero fue mayor que en la muestra control en un 0.18%, por lo que se asume que se pudo dar un efecto tardío de la migración en la oximioglobina hacia los otros pigmentos de la carne. En el caso del romero, el efecto se mantuvo positivo respecto al control, pero ligeramente menos cercano que la oliva.

Figura 6. Porcentaje de oximioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.9% con los extractos de romero y oliva, durante los días uno y cuatro

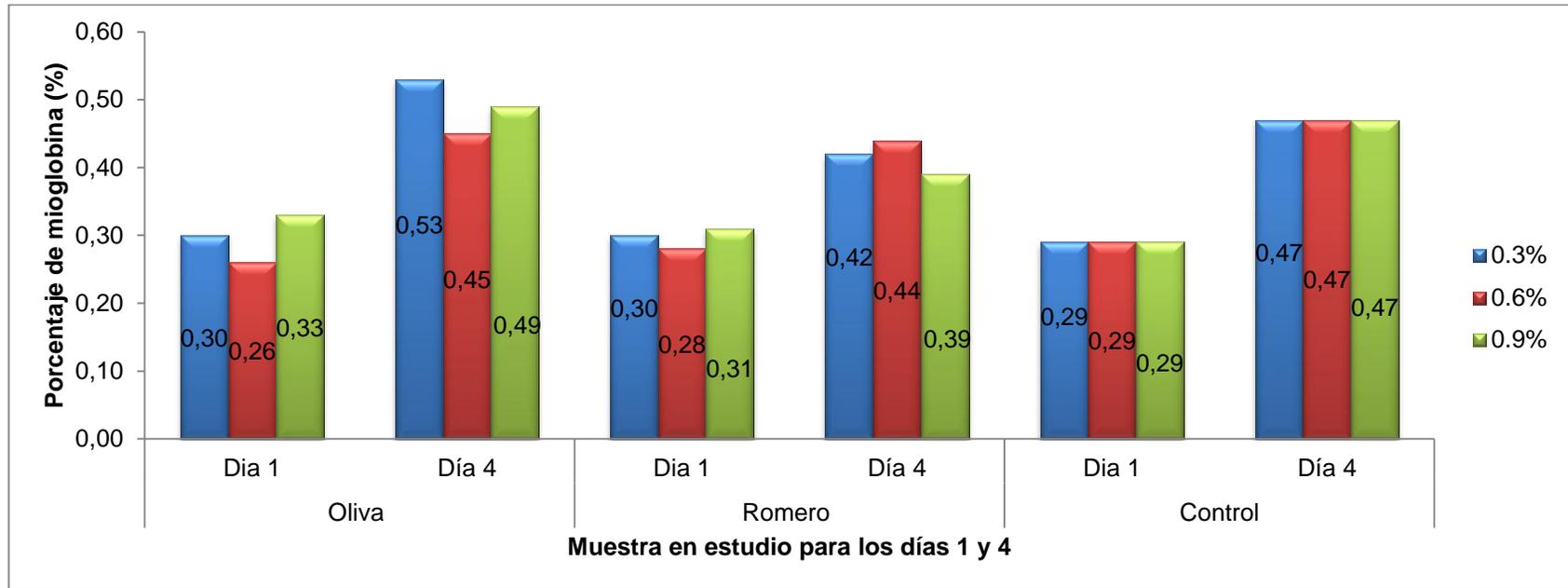


Fuente: Elaboración propia, 2016.

Al aplicar el extracto de oliva al 0.9% a la carne molida de res, se observó a los cuatro días, que tardó más en oxidarse respecto a la muestra control. Es posible que en aplicaciones superiores al 0.9% la oximioglobina aumente considerablemente con el paso del tiempo, hasta llegar valores superiores al punto cero.

En cuanto al romero, el contenido de oximioglobina se alejó en un 0.55% de la muestra control. Con esto se evidenció como lo indica Cavia, 2010, que algunos extractos al aplicarse en cantidades excesivas pueden producir un efecto prooxidante, llegando a oxidar la muestra, inclusive más de lo que pudiera presentarse en el control.

Figura 7. Porcentaje de mioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.3%, 0.6% y 0.9% con los extractos de oliva y romero, durante los días uno y cuatro

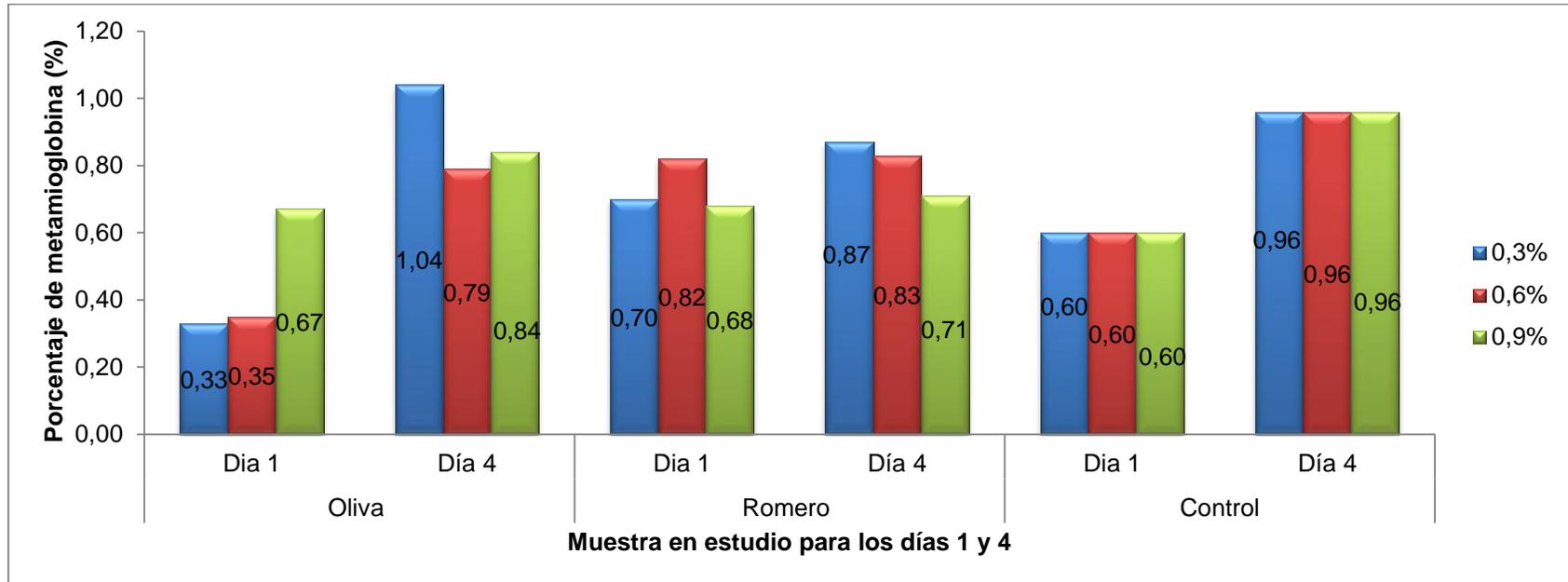


Fuente: Elaboración propia, 2016.

Según la Figura 7, en las muestras de carne molida de res a las que se les aplicó el extracto de oliva, dosificado al 0.3% y al 0.6%, se pudo observar un aumento de la mioglobina, al comparar el día cuatro respecto al día uno. En cuanto a la aplicación al 0.9% la mioglobina incrementó al pasar de 0.33% a 0.49% durante los días de observación. Respecto al extracto de romero, los resultados de mioglobina en las distintas dosificaciones, al 0.3%, 0.6% y 0.9%, se mantuvieron constantes para el día uno en rangos de 0.28% a 0.31% y para el día cuatro de 0.38% a 0.44%.

Es importante mencionar que ambos extractos en estudio se mantuvieron en valores muy similares respecto al control, por lo tanto no se asume una diferencia considerable en la mioglobina presente en las muestras de carne molida.

Figura 8. Porcentaje de metamioglobina presente en una muestra de carne molida de res, dosificada al 0.3%, 0.6% y 0.9% con los extractos de oliva y romero, durante los días uno y cuatro



Fuente: Elaboración propia, 2016.

En la muestra de oliva se observó una disminución de la metamioglobina respecto a la muestra control a partir de la dosificación al 0.6%, logrando de esta manera, al cuarto día, evidenciar la aparición tardía del color café indeseable. Las muestras aplicadas con el extracto de romero mostraron el mismo efecto, inhibiendo el desarrollo de la metamioglobina, pero en menor efectividad que la oliva.

Se observa como el comportamiento entre cada una de las dosificaciones porcentuales resultó muy similar, tanto para el romero como para la oliva, ya que el contenido de metamioglobina aumentó considerablemente el día cuatro respecto al día uno.

4.2 Análisis microbiológico

En la Tabla 1, se presentan los resultados que muestran las unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) de las muestras del control, romero y oliva, para los días uno y cuatro.

Se tomó como única cantidad de aplicación del extracto al 0.6% dados los resultados obtenidos en los análisis químicos, al mostrar que un efecto positivo puede generarse a partir del 0.6%. Además, la limitante económica y disponibilidad de laboratorios, imposibilitó el desarrollo de las pruebas dosificando al 0.3% y 0.9%.

Tabla1. Unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g) de las muestras control, romero y oliva, para los días uno y cuatro

Muestra en estudio	Día 1	Día 4
Control	1.9×10^5 UFC/g	3.9×10^6 UFC/g
Romero	1.8×10^5 UFC/g	8.4×10^3 UFC/g
Oliva	1.7×10^5 UFC/g	3.7×10^6 UFC/g

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Una vez realizado el análisis de bacterias psicrófilas a la carne molida de res, se observó que al día uno las tres muestras en estudio presentaron recuentos muy similares respecto a la muestra control.

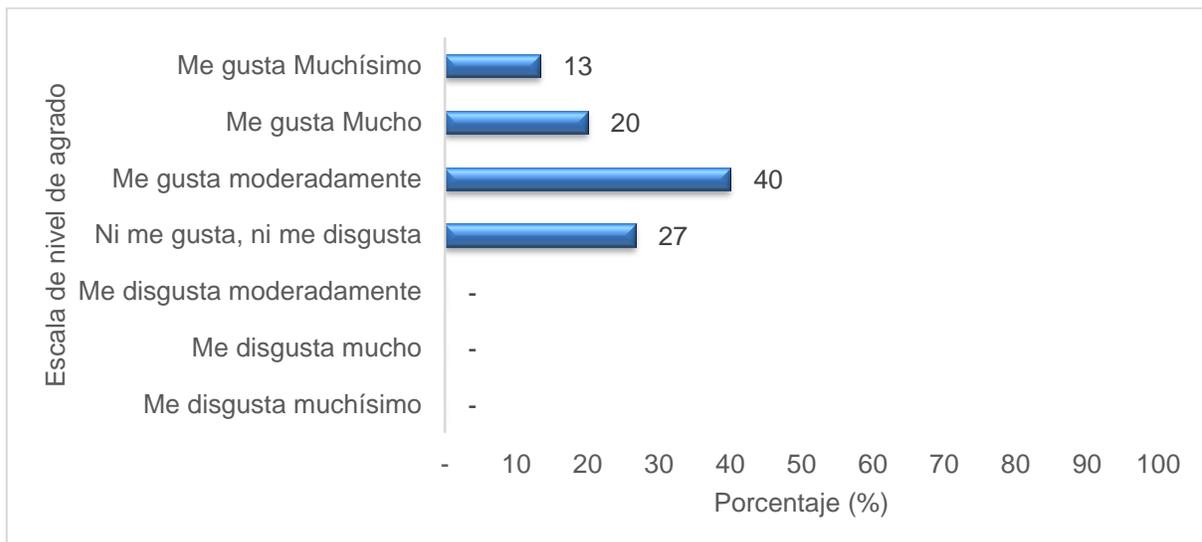
Transcurridos los cuatro días de estudio, se presentó una disminución considerable de la carga bacteriana en la muestra preparada con el extracto de romero. Esta reducción en el romero de más de 1.7×10^5 UFC/g, evidenció que este extracto natural logró inhibir el crecimiento de psicrófilos en un lapso de cuatro días, tiempo aproximado de la rotación de la carne molida en los expendios.

En cuanto al extracto de oliva, la inhibición microbiológica que obtuvo fue nula, ya que la propagación de UFC/g aumentó considerablemente respecto al valor del día uno, asemejando su comportamiento a la muestra control.

4.3 Análisis sensorial

Una vez realizado el panel de análisis sensorial, se pudo determinar la percepción de sabor por parte de los panelistas hacia las muestras de carne molida de res, aplicada con los extractos de romero y oliva al 0.6%. La información fue recopilada mediante la herramienta de evaluación detallada en el Apéndice 1, la cual se interpretó a través de figuras y comentarios. Además, se presentan tablas tabuladas mediante la herramienta de Tukey. (Anexo 1).

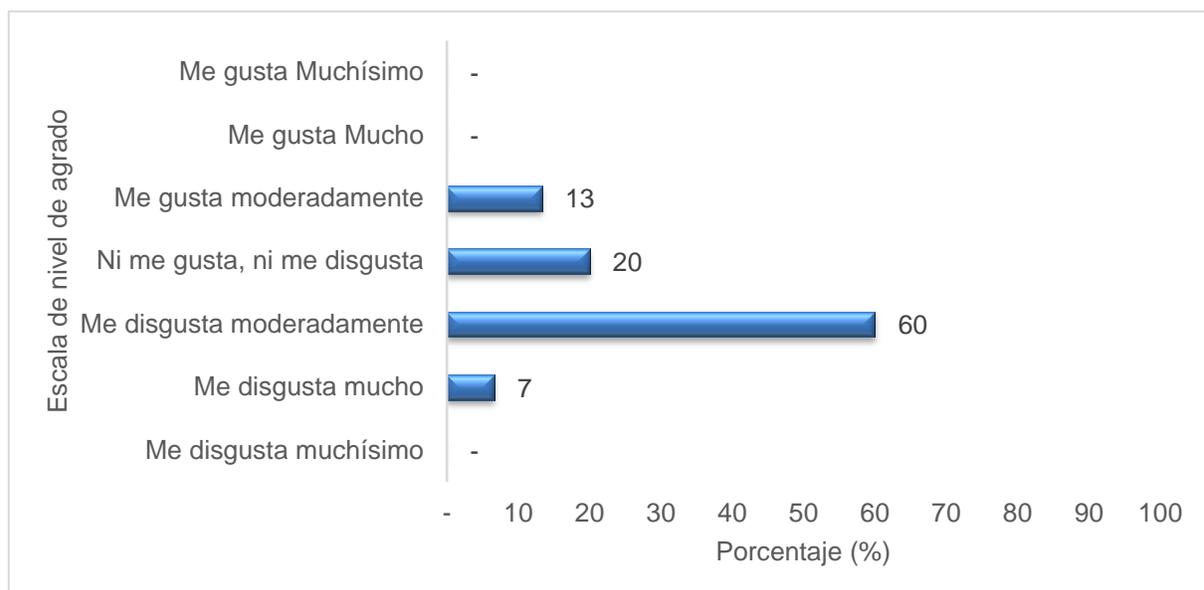
Figura 9. Nivel de agrado de los panelistas al realizar la degustación de una muestra de carne molida de res cocida, dosificada al 0.6% con el extracto de romero



Fuente: Elaboración propia, 2016.

Al degustar la muestra con el extracto de romero, un 40% de los panelistas respondió “me gusta moderadamente”, mientras que la puntuación más baja fue un “ni me gusta ni me disgusta” con un 27%. Se destaca entre los comentarios de los panelistas que “el sabor en la muestra es igual al de la carne cocida, únicamente agregando algún tipo de condimentación podría ser suficiente para consumirla”.

Figura 10. Nivel de agrado de los panelistas al realizar la degustación de una muestra de carne molida de res cocida, dosificada al 0.6% con el extracto de oliva



Fuente: Elaboración propia, 2016.

Según la escala de nivel de agrado, se observó que ninguno de los panelistas seleccionó “me disgusta muchísimo”, “me gusta mucho” o “me gusta muchísimo”. “Me disgusta mucho” obtuvo un 7% de las respuestas y el atributo con más aciertos corresponde a “me disgusta moderadamente” con un 60%.

Respecto a los comentarios obtenidos por parte de los panelistas se puede mencionar “un sabor difícil de distinguir, ligeramente amargo”. Pese a esto indicaron que ese sabor podría enmascarse con algunos condimentos que se puedan agregar al momento de cocinar la carne.

Una vez tabulados los intervalos de variación estimada para cada una de las muestras, en quince panelistas, se identificaron cinco resultados confiables para continuar con el análisis del extracto de romero y siete para el extracto de oliva.

Tabla2. Evaluación de diferencia significativa en la muestra de carne molida aplicada con el extracto de romero, utilizando la tabla de Tukey

Panelista	Romero, I muestra	Romero, II muestra
2	12	8
5	19	15
8	19	21
12	12	15
15	11	16
Intervalo de variación	8	13
Puntuación total de la muestra	73	75
Intervalo de PT	2	
Intervalo de iV	21	
Tukey por diferencia significativa	32.13	

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Con base en la Tabla 2, se identificó como el resultado final de la muestra aplicada con el extracto de romero fue mayor que el valor de la tabla de Tukey para una diferencia significativa total, lo cual argumentó que no hubo diferencia en las muestras en estudio, lo que genera un 95% de confianza.

Tabla3. Evaluación de diferencia significativa en la muestra de carne molida aplicada con el extracto de oliva, utilizando la tabla de Tukey

Panelista	Oliva, I muestra	Oliva, II muestra
2	7	9
5	12	13
6	12	8
8	10	7
10	7	9
11	7	9
12	4	7
Intervalo de variación	8	6
Puntuación total de la muestra	59	62
Intervalo de PT	3	
Intervalo de iV	14	
Tukey por diferencia significativa	20.86	

Fuente: Elaboración propia, 2016.

Con un comportamiento similar a la muestra del extracto de romero, el extracto de oliva no presentó diferencia significativa en los resultados del análisis sensorial respecto al sabor.

4.4 Análisis de costos

Basado en las muestras facilitadas por los proveedores se solicitó el precio de venta para las cantidades mínimas en ambos extractos. Relacionando el costo con la aplicación del producto al 0.6%, por ser la dosis que mejores resultados obtuvo en los análisis, se evidenció un aumento en el costo por más de un 100%.

Lo anterior demuestra que la aplicación conlleva a un alto costo de aplicación, sin embargo, una cantidad menor a la recomendada en este estudio podría dar resultados poco satisfactorios.

Es importante mencionar que, si estos precios se comparan con sustancias sintéticas usadas actualmente para conservar el color, el alto costo podría verse afectado de manera negativa. (Marques, 2010).

No obstante, se conoce que, como parte de las necesidades del consumidor, existe la posibilidad de pagar más por productos saludables, ya que según lo afirma Mintel, el mercado está dispuesto a adquirir alimentos que beneficien la salud inclusive si es necesario pagar montos más altos. (Mintel , 2015).

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Después de llevar a cabo la presente investigación y analizar la información obtenida, se logran fundamentar algunas conclusiones, que hacen referencia a los resultados para cada una de las pruebas aplicadas. Se citan también recomendaciones que pueden ser aporte a futuros temas relacionados con el presente documento.

5.1 Conclusiones

Se concluye que la utilización del extracto de oliva en dosificaciones a partir del 0.6%, fue suficiente para mantener el pigmento proveniente de la oximioglobina en la carne molida de res.

El extracto de romero no presentó un efecto positivo al utilizarlo en dosis al 0.6% y 0.9%, por lo que, únicamente puede ser aplicado en cantidades bajas no superiores al 0.3%.

El extracto de oliva resultó ser más efectivo respecto al extracto de romero para conservar la oximioglobina en la carne molida de res, por lo tanto, se considera que tiene mayor capacidad antioxidante en esta aplicación.

El incremento de la metamioglobina en las muestras de carne se comportó inversamente proporcional al pigmento de la oximioglobina. A mayor reducción de oximioglobina, se da mayor oxidación de la metamioglobina en la carne.

El extracto de romero aplicado al 0.6% en la carne, logró inhibir el crecimiento de bacterias psicrófilas hasta en más de 1.7×10^5 UFC/g, mientras el extracto de oliva, tuvo un efecto en la inhibición de psicrófilos nulo.

La percepción de sabor de la carne molida de res con adición de los extractos de romero y oliva dosificada al 0.6% fue aceptable para los consumidores, al evidenciar que no existió diferencia significativa en los resultados respecto a una muestra control.

Al utilizar los extractos naturales de romero y oliva en la carne molida, pudo evidenciarse un incremento en el costo, esto se puede justificar ante el consumidor resaltando los efectos positivos de la utilización de ingredientes naturales en los alimentos.

5.2 Recomendaciones

Realizar pruebas de espectrofotometría de absorción con el extracto de oliva en dosis mayores al 0.9%, para experimentar si en aplicaciones más altas el efecto de conservación del color aumenta.

Utilizar muestras control de los pigmentos puros de la carne, como referencia para llevar a cabo el método por espectrofotometría de absorción.

Llevar a cabo análisis microbiológicos en porcentajes de aplicación cercanos al 0.3%, para conocer la efectividad en dosis menores y así ahorrar costos.

Preparar muestras con los extractos aplicados en platillos básicos terminados, como por ejemplo tortas de carne, que pudieran representar diferencias de sabor en productos terminados.

Realizar la evaluación sensorial con un número mayor de panelistas, que puedan dar valores más significativos en el estudio.

Evaluar mezclas dosificando el extracto de romero y de oliva, para conocer el efecto que pudiera darse al mantener la oximioglobina y a la vez inhibir el crecimiento de bacterias psicrófilas.

Correr pruebas de análisis sensorial donde el panelista pueda evaluar el atributo del color mediante una escala de aceptación.

VI. REFERENCIAS

- American Meat Science Association . (Diciembre de 2012). *American Meat Science Association* . Recuperado el 13 de Febrero de 2016, de http://www.meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/Hot-Topics/2012_12_meat_clr_guide.pdf?sfvrsn=0
- Ávila, R. (2011). Romero, una revisión de sus usos no culinarios . *Ciencia y Mar* , 23-33.
- Barda, N. (2010). Análisis sensorial de los alimentos. *Fruticultura y diversificación*, 34-37.
- Braña, D. (Octubre de 2011). *Asociación Nacional de Establecimientos TIF A.C.* Recuperado el 28 de Diciembre de 2015, de <http://anetif.org/files/pages/0000000034/03-manual-de-analisis-de-calidad-en-muestras-de-carne.pdf>
- Cavia, M. (2010). Características antioxidantes y efectos sobre biomarcadores de estrés oxidativo del zumo de pomelo desamargado por tecnología enzimática y por tratamiento con resinas de intercambio. España, Burgos .
- Contexto Ganadero. (18 de Noviembre de 2013). *Contexto Ganadero*. Recuperado el 27 de Enero de 2016, de <http://www.contextoganadero.com/blog/aprenda-retrasar-la-desnaturalizacion-de-los-carnicos-congelados>
- Copacabana runners. (2015). *Copacabana runners*. Obtenido de <http://www.copacabanarunners.net/esp-ldl.html>
- Corporación ganadera CORFOGA. (2001). *Corfoga.org*. Obtenido de http://www.corfoga.org/images/public/documentos/pdf/revista/ticos_prefieren_carne_molida.pdf
- Corporación Ganadera CORFOGA. (Setiembre de 2013). *Corporación Ganadera CORFOGA*. Obtenido de <http://corfoga.org/2012/wp-content/uploads/2013/07/Estudio-de-Consumo-Uso-y-Actitudes-de-la-Carne-de-Res-2013.pdf>
- Ecured. (2016). *Ecured*. Obtenido de http://www.ecured.cu/Longitud_de_onda
- Food News . (11 de Mayo de 2016). *Food News Latam* . Recuperado el 07 de Julio de 2016, de <http://www.foodnewlatam.com/5591-soluci%C3%B3n-natural-y-eficaz-para-conservar-el-color-en-los-preparados-de-carne.html>
- Fuentes, I. (2004). Propiedades antioxidantes del hidroxitirosol procedientes de la hoja de olivo *Olea Europea L.* *Fitoterapia* , 139-147.

- Galván, A. (2011). Estudio comparativo sobre los microorganismos presentes en la carne molida provenientes de una cadena de supermercados y mercados en el Municipio de Ecatepec. . *Nacameh*, 1-9.
- Gómez. (2007). Tecnologías de empaques en atmósferas modificadas. *Temas selectos de la ingeniería de alimentos* , 66-79.
- Gómez, M. (2006). *Introducción a la metodología de la investigación científica*. Córdoba: Brujas.
- Gómez, P. (2009). Residuos de la industria olivícola, los antioxidantes, posibilidades de aprovechamiento . *Revista de Divulgación Técnica, Agrícola y Agroindustrial* , 2-8.
- Handary . (2016). Food & beverage label-friendly solutions for shelf-life extension. *Handary* , 25-26.
- Harold Hedrick, E. A. (1989). *Principles of meat science* . Estados Unidos : Kendall Hunt .
- Harold, H. (1989). *Principles of meat science*. Estados Unidos : Kendall Hunt .
- Hernández, E. (Junio de 2005). *Universidad Nacional Abierta y a Distancia* . Recuperado el 08 de Marzo de 2016, de file:///C:/Users/GENERAL/Downloads/767925145.4902Evaluacion%20sensorial.PDF
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2010). *Carne y productos cárnicos, carne molida*. Recuperado el 29 de Diciembre de 2015, de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1346.2010.pdf>
- Laboratorios Da Vinci. (1999). Olivir, extracto de hoja de olivo . *Natura Medicatrix*, 40-43.
- Landaeta, M. F. (19 de Febrero de 2013). Etiquetas limpias son tendencia y una clave para exportar. *El Financiero* , págs. http://www.elfinanciero.com/pymes/Etiquetas-limpas-tendencia-clave-exportar_0_207579867.html.
- Lizano, I. (2013). *Efecto de la aplicación de los aceites esenciales de jamaica, hojas de canela y orégano en la preservación de carne de res*. San José.
- Marques, A. (15 de Octubre de 2010). *Antioxidante natural vs antioxidante sintético*. Obtenido de *É Alimentación*: <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/17845-antioxidante-natural-vs-antioxidante-sintetico>
- Mintel . (Noviembre de 2015). *Mintel* . Obtenido de <http://www.mintel.com/>

- Monroy, A. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de romero y chile ancho y su aplicación en un batido cárnico. *Nacameh*, 22-29.
- Pérez, M. (2013). *Universidad Autónoma Metropolitana* . Recuperado el 19 de Junio de 2015, de <http://www.izt.uam.mx/ceu/publicaciones/MTC/carnes.pdf>
- Reglamento de la Unión Europea. (26 de Julio de 2013). Utilización de extractos de romero en determinados productos de carne y pescado con bajo contenido de grasa. .
- Reglamento Técnico Centroamericano, etiquetado de la carne . (22 de Marzo de 2007). *Sistema Costarricense de Información Jurídica*. Obtenido de http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=60086&nValor3=80378&strTipM=TC
- Reglamento Técnico Centroamericano. Alimentos y bebidas procesadas. Aditivos alimentarios . (2012). Obtenido de <http://www.mspas.gob.gt/files/Descargas/Servicios/NuevoRenovacion%20RegistroSanitario/RTCAAditivosAlimentarios.pdf>
- Restrepo, D. (Julio de 2001). *Universidad Nacional de Colombia*. Recuperado el 28 de Diciembre de 2015, de <http://decarnes.wikispaces.com/file/view/Libro+de+carnes.pdf>
- Roncalés, P. (26 de Noviembre de 2003). *Eroski Consumer* . Recuperado el 17 de Enero de 2016, de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2003/11/26/9574.php>
- Seija. (2008). *Etiopatogenia microbiológica*. Obtenido de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>
- The Green Labs . (04 de Octubre de 2015). *The Green Labs* . Obtenido de <http://www.thegreenlabs.com/extracts/que-son-flavonoides/>
- Umaña, E. (08 de Julio de 2014). Tema 6, pruebas analíticas discriminativas. . *Material para el curso Análisis Sensorial de Alimentos*. Atenas , Alajuela, Costa Rica .
- Universidad Nacional de Catamarca. (2008). *Editorial unca*. Obtenido de <http://www.editorial.unca.edu.ar/Publicacione%20online/DIGITESIS/Tesis%20de%20Gomez/pdf/Capitulo%201.pdf>
- University of Arkansas System . (Marzo de 2000). *First Nations Development Institute* . Recuperado el 12 de Febrero de 2016, de <http://www.firstnations.org/sites/documents/Introduction-to-Food-Microbiology-A.pdf>

USDA. (Julio de 2011). *USDA*. Recuperado el Diciembre 12 de 2015, de http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/c4c10e58-8880-4d52-ac12-4a1585e1237b/Carne_Molida_Res.pdf?MOD=AJPERES

Uyagüe, J. (2007). Estabilidad del color de la carne fresca . *Nacameh*, 67-74.

Williams, B. (01 de Marzo de 2014). *Ingredientes útiles para etiquetas limpias*. Obtenido de <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/68618-ingredientes-utiles-etiquetas-limpias>

VII. GLOSARIO

Aditivo alimentario: sustancia que no se consume normalmente como un alimento por sí misma ni se usa como ingrediente típico del alimento, cuya adición intencional al alimento para un fin tecnológico en la fabricación, elaboración, tratamiento, envasado, empaque, transporte o almacenamiento provoque, o pueda esperarse razonablemente que provoque directa o indirectamente, el que ella misma o sus subproductos lleguen a ser complemento del alimento o afecten sus características. (Reglamento Técnico Centroamericano. Alimentos y bebidas procesadas. Aditivos alimentarios , 2012)

Lipoproteínas de baja densidad: transportan el colesterol por el cuerpo, para que sea utilizado por distintas células. Está asociado con enfermedades cardiovasculares y se conoce como colesterol malo. (Copacabana runners, 2015)

Longitud de onda: distancia real recorrida por una onda que no siempre coincide con la distancia del medio o de las partículas en que se propaga la onda. (Ecured, 2016)

Nivel de significancia: Porcentaje que indica el nivel de probabilidad de error en un estudio de análisis sensorial. (Umaña, 2014)

Staphylococcus aureus: patógeno que produce infecciones humanas a causa de toxinas que pueden encontrarse en alimentos contaminados. (Seija, 2008)

Tukey: tablas utilizadas para calcular una única diferencia crítica para realizar comparaciones entre medidas. (Umaña, 2014)

VIII. APÉNDICES

Apéndice 1. Formato utilizado para pruebas de agrado de sabor en panel sensorial.

NOMBRE: _____ FECHA: _____

Frente a usted se presenta una muestra de carne molida de res, por favor pruebela y marque con una X el cuadro que está junto a la frase que mejor describa su opinión sobre el **sabor**.

- Me gusta muchísimo
- Me gusta mucho
- Me gusta moderadamente
- Ni me gusta ni me disgusta
- Me disgusta moderadamente
- Me disgusta mucho
- Me disgusta muchísimo

Comentarios:

Gracias.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Tabla de Tukey. Factores por los que debe multiplicarse el intervalo de variación para calcular la diferencia significativa total.

NIVEL DE SIGNIFICANCIA: 5%								
Replicados	Número de tratamientos							
	2	3	4	5	6	7	8	9
2	3.43	2.37	1.78	1.40	1.16	1.00	0.67	0.78
3	1.91	1.44	1.13	0.94	0.80	0.70	0.62	0.56
4	1.63	1.25	1.01	0.84	0.72	0.63	0.57	0.51
5	1.53	1.19	0.96	0.81	0.70	0.61	0.55	0.50
6	1.50	1.18	0.95	0.80	0.69	0.61	0.55	0.49
7	1.49	1.17	0.95	0.80	0.69	0.61	0.55	0.50
8	1.49	1.17	0.96	0.81	0.70	0.62	0.55	0.50
9	1.50	1.18	0.97	0.82	0.71	0.62	0.56	0.51
10	1.52	1.20	0.98	0.83	0.72	0.63	0.57	0.52
11	1.54	1.27	0.99	0.84	0.73	0.64	0.58	0.52
12	1.56	1.23	1.00	0.85	0.74	0.65	0.59	0.53
13	1.58	1.25	1.02	0.86	0.75	0.66	0.59	0.54
14	1.60	1.26	1.03	0.87	0.76	0.67	0.60	0.55
15	1.62	1.28	1.05	0.89	0.77	0.68	0.61	0.56
16	1.64	1.30	1.06	0.90	0.78	0.69	0.62	0.56
17	1.66	1.31	1.08	0.91	0.79	0.70	0.63	0.57
18	1.68	1.33	1.09	0.92	0.80	0.71	0.64	0.58
19	1.70	1.34	1.10	0.93	0.81	0.72	0.65	0.59
20	1.72	1.36	1.11	0.93	0.82	0.73	0.65	0.59