



Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

TESIS

**“ACTIVIDAD CONSERVADORA DEL ACEITE ESENCIAL DE
ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR: APAZA GONZALES, Rocio Pamela

ASESOR: ING. DURAND SANCHEZ, Eduardo

LIMA – PERÚ

2016

Se dedica este trabajo a mis padres por haberme dado todo en esta vida y por haber estado en los momentos de triunfos y fracasos y a mi esposo por haberme ayudado en todo momento durante toda mi carrera profesional.

Se agradece por su contribución para el desarrollo de esta tesis a mis padres por su gran apoyo incondicional.

Un especial agradecimiento a mi esposo Danny Flores Verjel, por aportar sus conocimientos metodológicos en la realización de este trabajo de investigación.

RESUMEN

El presente estudio de investigación, buscó calcular la vida útil de la hamburguesa de carne de res después de habersele aplicado aceite esencial de romero, efectuando una descripción integral cada 7 días y estableciendo sus diferencias; asimismo permitió evaluar la característica sensorial, es decir, el sabor de la hamburguesa de carne de res, para lo cual se realizó previamente un análisis microbiológico a efectos de determinar presencia bacteriana como *Staphylococcus aureus*, aerobios mesófilos, *E. coli* y/o *Salmonella sp*, que permitiera establecer la calidad sanitaria de las hamburguesas muestra, para poder ser degustadas por una población de 30 panelistas no entrenados, quienes manifestaron su agrado o desagrado al sabor del producto a través de una escala hedónica; finalmente se buscó determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* en las hamburguesas de carne de res en una cantidad superior al límite máximo permitido.

Todo este trabajo se llevó a cabo en un periodo de almacenamiento de 21 días por lo cual se aplicaron diferentes métodos de ensayos microbiológicos. Los resultados obtenidos, evidenciaron: 1) Que el aceite esencial de romero, alargó la vida útil de la hamburguesa de carne de res en relación a la muestra de hamburguesa que no contaba con dicho elemento; 2) Que de la prueba sensorial hedónica se determinó que las hamburguesas de carne con 0.05ml y 0.1 ml de aceite de romero tienen buena aceptabilidad para los encuestados y que el producto influido por menores concentraciones de aceite esencial de romero es de mayor agrado del consumidor; y finalmente, 3) Que luego del análisis microbiológico se estableció que las hamburguesas de carne de res no tienen presencia de *Staphylococcus aureus* a pesar de la manipulación directa a la que estuvieron expuestas desde su elaboración, ya que los resultados obtenidos evidenciaron su ausencia, por lo que no

se trasgrede lo dispuesto por la Norma Técnica Sanitaria; pero dicho análisis microbiológico sí verificó la presencia microbiana de *E. coli*, y aerobio mesófilos, y en mayores concentraciones en las muestras no influida por aceite esencial de romero, por lo que con estos resultados no se puede decir categóricamente que el aceite esencial de romero tiene actividad conservadora en hamburguesas de carne de res para *Staphylococcus aureus*, al evidenciarse su ausencia, pero se puede presumir que sí hay posibilidad de un efecto conservador o inhibitorio respecto de otras especies bacterianas.

ABSTRACT

This research study sought to estimate the life of hamburger beef after being applied rosemary essential oil, making a comprehensive description every 7 days and establishing their differences; also allowed evaluating the sensory characteristic, the taste of the burger beef, for which a microbiological analysis was previously performed in order to determine bacterial presence as *Staphylococcus aureus*, aerobic mesophilic bacteria and *E. coli*, that would establish the sanitary quality of the burgers sample to be tasted by a population of 30 untrained panelists, who expressed their like or dislike the taste of the product through a hedonic scale; finally he sought to determine the presence of *Staphylococcus aureus* in beef burgers in an amount greater than the maximum allowable limit.

All this work was carried out in a storage period of 21 days which different methods of microbiological tests The results were applied, they showed: 1) The essential oil of rosemary, lengthened the life of hamburger meat res in relation to the sample of hamburger that did not have that element; 2) That the hedonic sensory test was determined that the beef burgers with 0.05 ml and 0.1 ml of rosemary oil have good acceptability for respondents and that the product affected by lower concentrations of essential oil of rosemary is most welcome consumer ; and finally, 3) that after microbiological analysis established that the hamburger beef have no presence of *Staphylococcus aureus* despite direct manipulation that were exposed from development because the results showed his absence, what is not transgresses the provisions of the Health Technical Standard; but this microbiological examination itself verified the microbial presence of *E. coli* and mesophilic aerobic, and higher concentrations in the samples are not influenced by rosemary essential oil, so these results can not

say categorically that the essential oil rosemary has conservative activity in beef burgers for *Staphylococcus aureus*, when it became apparent his absence, but it can be assumed that there is possibility of a conservative or inhibitory effect with respect to other bacterial species.

ÍNDICE

CARÁTULA.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTARCT.....	VI
INTRODUCCION.....	XVII
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	19
1.2 Formulación del Problema	21
1.2.1 Problema General.....	21
1.2.2 Problemas específicos.....	21
1.3 Objetivos de la investigación.....	22
1.3.1 Objetivo General.....	22
1.3.2 Objetivos Específicos.....	22
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	23
1.4.1 Hipótesis General.....	23
1.4.2 Hipótesis Específicas.....	23

1.5	Justificación e Importancia de la Investigación:.....	24
1.5.1	Justificación de la investigación	24
1.5.2	Importancia de la Investigación.....	25
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO		27
2.1	Antecedentes de la Investigación.....	27
2.1.1	Antecedentes Nacionales.....	27
2.1.2	Antecedentes Internacionales.....	28
2.2	Bases Teóricas.....	33
2.2.1	Aceite Esencial.....	33
2.2.2	Clasificación.....	33
2.2.3	Características físicas de los Aceites Esenciales.....	35
2.2.4	Características Químicas de los Aceites Esenciales.....	36
	2.2.4.1 No Terpenoides.....	36
	2.2.4.2 Terpenoides.....	36
2.2.5	Extracción y Aislamiento.....	37
2.2.6	Usos de los Aceites Esenciales.....	39
	2.2.6.1 Industria Alimentaria.....	39
	2.2.6.2 Industria Farmacéutica.....	40
	2.2.6.3 Industria de Cosméticos.....	40

2.2.6.4	Industria de productos de uso veterinario.....	40
2.2.6.5	Desodorantes Industriales.....	41
2.2.6.6	Industria tabacalera.....	41
2.2.6.7	Biocidas e insecticidas.....	41
2.2.7	Conservación Generalidades.....	42
2.2.8	Conservadores Químicos de la Carne.....	43
2.2.9	Derivados cárnicos	44
2.2.9.1	Hamburguesas.....	44
2.2.10	Historia del Romero.....	46
2.2.10.1	El Romero.....	47
2.2.10.2	Composición Química del Romero.....	48
2.2.10.3	Propiedades del Romero.....	49
2.2.10.4	Mecanismo de acción.	52
2.2.10.5	Reacciones adversas.....	52
2.2.10.6	Efectos de la oxidación sobre la calidad de la carne.....	53
2.2.10.7	Efectos de los antioxidantes para productos cárnicos.....	56
2.2.10.8	Clasificación de los antioxidantes para productos cárnicos..	59
2.2.10.9	Antioxidantes naturales para productos cárnicos.....	60

2.3	Definición Términos Básicos.....	65
2.3.1	Aditivos.....	65
2.3.2	conservación de los alimentos.....	65
2.3.3	Crecimiento Microbiano.....	65
2.3.4	Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA).....	66
2.3.5	<i>Staphylococcus aureus</i>	66
2.3.6	Antioxidantes.....	67
2.3.7	Antioxidantes endógenos.....	67
2.3.8	Antioxidantes exógenos.....	67
2.3.9	Actividad antimicrobiana.....	68
2.3.10	Actividad antibacteriana.....	68
2.3.11	Bacteria anaerobia.....	68
2.3.12	Extracto etanólico.....	68

CAPITULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....69

3.1.	Tipo de Investigación.....	69
3.1.1	Método.....	69
3.1.2	Técnica.....	70
3.1.3	Diseño.....	70

3.2	Población y Muestreo de la Investigación.....	70
3.2.1	Población.....	70
3.2.2	Muestra.....	70
3.2.3	Tipo de muestra.....	71
3.3	Variables e Indicadores.....	71
3.4	Técnica e Instrumentos de recolección de Datos.....	72
3.4.1	Técnicas.....	72
3.4.1.1	Análisis Microbiológicos.....	74
3.4.1.2	Análisis Sensorial.....	75
3.4.1.3	Determinación de la vida útil.....	76
3.4.2	Instrumentos.....	77

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1	Resultados.....	78
4.2	Análisis e Interpretación de Resultados.....	87
	DISCUSION.....	89
	CONCLUSIONES.....	92
	RECOMENDACIONES.....	93
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94
	ANEXO.....	105
	ANEXO 1: FOTOGRAFÍAS	105
	ANEXO 2: ENCUESTA.....	109
	ANEXO 3: MATRIZ DE CONSISTENCIA.....	110

INDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: FORMULACIÓN DE HAMBURGUESAS DE CARNE DE RES.....	73
TABLA N° 2: ESCALA HEDÓNICA DE 5 PUNTOS.....	76
TABLA N° 3: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PARA <i>Staphylococcus aureus</i> DURANTE 21 DÍAS.....	78
TABLA N° 4: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO COMPLETO A LOS 21 DÍAS DE TRATAMIENTO.....	79
TABLA N° 5: ENCUESTA DEL ANÁLISIS SENSORIAL, ES DECIR, EL SABOR UTILIZANDO LA ESCALA HEDÓNICA DE 5 PUNTOS (VER TABLA 2)	80
TABLA N° 6: RESULTADO DEL PRIMER DÍA DE TRATAMIENTO.....	83
TABLA N° 7: RESULTADO A LOS 7 DÍAS DE TRATAMIENTO.....	84
TABLA N° 8: RESULTADO A LOS 14 DÍAS DE TRATAMIENTO.....	85
TABLA N° 9: RESULTADO A LOS 21 DÍAS DE TRATAMIENTO.....	86

INDICE DE FIGURAS

FIGURA Nº 1: ELABORACIÓN DE LAS HAMBURGUESAS DE CARNE DE RES...72

FIGURA Nº 2: EVALUACION SENSORIAL DE LA MUESTRA Nº 2 CON 0.05 ml DE
ACEITE ESENCIAL DE *Rosmarinus officinalis*.....81

FIGURA Nº 3: EVALUACION SENSORIAL DE LA MUESTRA Nº 3 CON 0.1 ml DE
ACEITE ESENCIAL DE *Rosmarinus officinalis*.....82

ABREVIATURAS

AER	:	Aceite esencial de romero
NTS	:	Norma Técnica Sanitaria
BHT	:	Hidroxitolueno butilado (Butilhidroxitolueno)
BHA	:	Hidroxianisol butilado hidroxibutilanisol
OMS	:	Organización mundial de la salud.
UNMSM	:	Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
AOAC	:	Asociación Oficial de Químicos Analíticos.
ICMSF	:	la International Commission on Microbiological Specifications for Foods.
UFC	:	Unidad Formadora de Colonia
M1	:	Hamburguesas sin aceite esencial de romero
M2	:	Hamburguesas con 0.05 ml de aceite esencial de romero
M3	:	Hamburguesas con 0.1 ml de aceite esencial de romero
ml	:	Mililitros.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento y el empleo de los aceites esenciales se remontan a tiempos antiguos. Los aceites esenciales, son productos químicos que forman las esencias odoríferas de un gran número de vegetales. Éstos son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter, aceites vegetales y minerales. Generando una alternativa en la utilización de estos, y en especial por la creciente preferencia de productos orgánicos y la continua preocupación del consumidor por preservar su salud. ⁶²

El romero se ha utilizado desde hace mucho tiempo como especia y condimento. Los aceites esenciales de este han generado interés en la industria alimentaria a raíz de sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas.¹²

Los productos cárnicos son susceptibles de dos principales formas de deterioro: el microbiológico y el oxidativo, empleándose con mucha frecuencia nitritos y antioxidantes sintéticos para prevenir el daño ocasionado por las reacciones de oxidación y el crecimiento microbiano; es el empleo de nitritos el que conduce a la formación de N-nitrosaminas en productos cárnicos. Las N-nitrosaminas son potentes carcinógenos y mutagénicos, por lo cual el uso de nitritos en productos cárnicos ha sido tema de controversia en las últimas décadas. ⁶²

Es por ello que el presente estudio de investigación tuvo como objetivo calcular la vida útil de la hamburguesa de carne de res, después de haberle aplicado el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*), en un periodo de almacenamiento de 21 días lo que permitiría el empleo de un elemento natural para la conservación de hamburguesas de carne de res; asimismo se evaluó la característica sensorial de la

hamburguesa de carne de res, específicamente el sabor, al haberse aplicado el aceite esencial de romero, buscando su aceptabilidad en su aplicación al consumo humano; y finalmente se buscó determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* en las hamburguesas de carne de res sobre los límites máximos permitidos, al encontrarse continuamente expuestos a situaciones y elementos contaminantes. Es así que se buscó demostrar que la vida útil de la hamburguesa de carne de res se alarga o mantiene después de habersele aplicado el aceite esencial de romero (AER), asimismo se buscó demostrar que el aceite esencial de romero aplicado en la elaboración de hamburguesa de carne de res altera la característica sensorial del sabor, incluso en menores cantidades.

Para tal fin, se aplicaron diferentes métodos de ensayos como: 1) Análisis microbiológicos, mediante el cual se emplean métodos normalizados por organizaciones con credibilidad internacional (como la Asociación Oficial de Químicos Analíticos - AOAC 2003, o la International Commission on Microbiological Specifications for Foods - ICMSF 2000, normas como las aprobadas por Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM - "Criterios Microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano"; y 2) Análisis sensorial, por la que se analizó el sabor a través de una escala hedónica.

De esta forma se espera contribuir al empleo de un producto natural que atenúe los posibles daños que ya de por sí genera el consumo de productos muy arraigados en el mercado como lo son las hamburguesas de carne de res.

CAPÍTULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

Los productos cárnicos son susceptibles de dos principales formas de deterioro: el microbiológico y el oxidativo, empleándose con mucha frecuencia nitritos y antioxidantes sintéticos para prevenir el daño ocasionado por las reacciones de oxidación y el crecimiento microbiano. El empleo de nitritos conduce a la formación de N-nitrosaminas en productos cárnicos¹. Las N-nitrosaminas son potentes carcinógenos y mutágenos, existiendo una asociación entre estas sustancias y el cáncer gástrico², por ejemplo; por lo cual el uso de nitritos en productos cárnicos ha sido tema de controversia en las últimas décadas.

Debido a los reportes de efectos adversos para la salud por uso de aditivos sintéticos, las tendencias en el mercado se orientan cada vez más a la producción y comercialización de alimentos naturales que empleen antioxidantes naturales. Es por esto que, tanto los tecnólogos de alimentos, como los científicos se interesaron en el uso de estas sustancias, debido a sus beneficios adicionales en la salud, como en la prevención de enfermedades³.

Los antioxidantes de origen natural se cuentan las vitaminas E, C y A, sustancias formadas durante el procesamiento de los alimentos y extractos obtenidos de los tejidos de distintas plantas como la vid, y aromáticas como el orégano y el tomillo, vegetales que poseen en su composición principios

activos con potencial acción antioxidante y conservante, por lo que pueden ser extraídos y utilizados en la producción de alimentos libres de aditivos sintéticos. En la cocina, su incorporación permite sazonar alimentos con menores dosis de sal³.

Existen diversas aplicaciones de compuestos derivados de romero (*Rosmarinus officinalis*) en la ciencia de alimentos⁴. Cottone estudió la estabilidad del extracto del romero en filetes de pescado y carne picada durante el almacenamiento congelado, retardando su proceso de oxidación y estabilizando los ácidos grasos poliinsaturados⁵. Faixova y Faix evaluaron la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de romero *in vitro* e *in situ* en un producto cárnico, hallando efecto en *S. aureus*, *L. monocytogenes* y *Salmonella tiphymurium*, así como actividad antioxidante similar a los sintéticos, por lo que puede usarse como aditivos para disminuir la oxidación de lípidos⁶.

Las carnes de hamburguesa son susceptibles al ataque microbiano debido a diversos factores (potencial redox, pH, disponibilidad de nutrientes, procesamiento), siendo necesario considerar las condiciones de almacenamiento. Fernández y col. Realizaron recuentos de microorganismos como *Staphylococcus aureus*, y coliformes en este producto⁷.

Tomando en cuenta la importancia de la conservación de la carne para consumo humano dentro de la fabricación de productos alimenticios como las hamburguesas, y el hecho de que el romero ha demostrado tener un efecto antioxidante y antimicrobiano en diversos tipos de carne, se plantea como

problema: ¿Cuál es la actividad conservadora del aceite esencial de romero aplicado en la preparación de hamburguesa de carne?

1.2 Formulación del problema:

1.2.1 Problema General

¿Cuál es la actividad conservadora del aceite esencial de romero aplicado en la preparación de hamburguesa de carne de res?

1.2.2 Problema Específico

- ¿Cuál es la vida útil de la hamburguesa de carne de res después de haber aplicado el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*). ?
- ¿Cuál es la característica sensorial del sabor de la hamburguesa de carne de res después de haber aplicado el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*)?
- ¿Cuál es el límite máximo permitido para *Staphylococcus aureus* en las hamburguesas de carne de res?

1.3 Objetivos de la Investigación

1.3.1 Objetivo General

Determinar la actividad conservadora del aceite esencial de romero aplicado en la preparación de hamburguesa de carne de res.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Calcular la vida útil de la hamburguesa de carne después de haber aplicado el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*).
- Evaluar la característica sensorial el sabor, de la hamburguesa de carne de res después de haber aplicado el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*).
- Determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* en las hamburguesas de carne de res en una cantidad superior al límite máximo permitido

1.4. Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

El aceite esencial romero es eficiente en la conservación de hamburguesa de carne de res.

1.4.2 Hipótesis Secundaria

- El aceite esencial de romero aplicado en la elaboración de hamburguesa de carne de res alarga la vida útil.
- El aceite esencial de romero aplicado en la elaboración de hamburguesa de carne de res altera la característica sensorial, el sabor.
- Hay presencia de *Staphylococcus aureus* en la hamburguesa de carne de res en una cantidad superior al límites máximos permitido.

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

1.5.1 Justificación de la Investigación

Existen muchos aceites esenciales tales que sus componentes principales (terpenos) les permiten ser utilizados en la industria alimentaria como saborizantes para todo tipo de bebidas y alimentos. Los aceites esenciales ricos en terpenos y compuestos fenólicos poseen alta actividad antimicrobiana, así como poder antioxidante. Algunas hierbas o especias con estas propiedades incluyen a la pimienta, la albahaca, el laurel, el clavo, la canela, la cúrcuma, el eucalipto, el extracto de semilla de toronja, el orégano, la paprika, el rábano, el romero, la salvia, el tomillo, la valeriana, el estragón, entre otras más.

No obstante, su uso está relacionado con las industrias de alimento, farmacéutica, cosmética y aplicaciones de tipo terapéutico. Poco a poco el uso de estas sustancias conservadoras de uso natural se abre camino y empieza a formar parte de procesos importantes como su función antioxidante y conservantes en alimentos, especialmente en los cárnicos, lácteos y panificación, etc.

Las hamburguesas de carne constituyen uno de los tipos de comida rápida más populares en nuestro país, por lo que es necesaria una

adecuada preservación antes de su distribución comercial. Esto es debido principalmente a la competitividad en el mercado actual, que obliga a las empresas dedicadas a este rubro a optimizar el uso de sus materias primas, a veces extendiendo su vida útil mediante el uso de antioxidantes. Ante las evidencias científicas sobre los efectos negativos de los antioxidantes sintéticos y los nitritos, se hace necesaria la realización de estudios que aborden la temática de los antioxidantes naturales, dentro de los cuales se incluye al aceite esencial del romero (*Rosmarinus officinalis*).

1.5.2 Importancia de la Investigación

Aunque algunas personas ya usan la popular hierba de romero para sazonar, esta combinación puede ser más común en un futuro cercano ya que los fabricantes de alimentos responden cada vez más a la demanda del consumidor de productos más naturales.

En la actualidad, dos de los aditivos más comunes utilizados para conservar la carne son BHT hidroxitolueno butilado (Butilhidroxitolueno) y BHA o hidroxianisol butilado (hidroxibutilanisol) .pero los estudios han relacionado el BHT Y BHA con el cáncer y con la hiperactividad, lo que hace que algunos consumidores eviten los productos que los contiene.

En un estudio realizado en 2006, los aceites de romero y salvia obtuvieron mejores resultados en la prevención del deterioro oxidativo y la pérdida de ácidos grasos poliinsaturados en la carne de una combinación de BHA y BHT esto significa que el aceite esencial de romero puede ser uno de los mejores conservadores de alimentos naturales y en lugar de tener efectos secundarios perjudiciales, estos aceites esenciales naturales ofrecen beneficios para la salud.¹¹

Se espera que los resultados que se obtendrán de la presente investigación constituirán una base teórica importante para la realización de futuros estudios acerca del uso del romero, así como de otras alternativas naturales con efecto antioxidante en las carnes. Esto toma más importancia ahora que los estudios de la OMS han demostrado un riesgo de carcinogenicidad por el consumo de carnes rojas y procesadas, las cuales incluyen a las hamburguesas⁸.

CAPÍTULO II:

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la Investigación:

2.1.1 Antecedentes Nacionales

- En la tesis realizada por Taylor Pitágoras Purca Peña (2013) acerca de la **“EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE ROMERO (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) SOBRE FLORA SALIVAL”**, donde se empleó extracto etanólico de romero a concentraciones de 25 mg/ml, 50 mg/ml y 75 mg/ml contra microorganismos frecuentes en la flora salival y lo comparó con el control positivo de clorhexidina 0,12 % y el control negativo con agua destilada, llegando a la conclusión que el extracto etanólico de *R. officinalis* (romero), presenta una efectividad antibacteriana sobre flora salival y que a medida que aumenta la concentración del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (de 25 mg/ml a 75 mg/ml) se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición.¹⁴.

- El siguiente trabajo de investigación realizada por Isabel de María San Román Suárez y asesorada por Hilda Moroni Maketa (2013) **“ESTUDIARON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *ROSMARINUS OFFICINALES* (ROMERO) SOBRE CULTIVOS DE BACTERIAS ANAEROBIAS FRECUENTES EN PACIENTES CON BOLSA PERIODONTAL”** donde se concluyó que el extracto etanolito de *R. officinalis* presenta actividad antimicrobiana in vitro sobre cultivos de bacterias frecuentes en pacientes con enfermedad periodontal como la periodontitis crónica. Y que la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *R. officinalis* a 75 mg/ml es igual a la actividad antimicrobiana de la clorhexidina al 0,12 % por lo que se concluye que es efectivo usar sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con periodontitis crónica. Y a medida que se aumenta la concentración del extracto etanólico de *R. officinalis* (de 25 mg/ml a 75 mg/ml) se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición, sin embargo no se consigue superar la acción inhibitoria alcanzada por clorhexidina al 0,12 %.⁷⁰

2.1.2 Antecedentes Internacionales

- En la tesis realizada por Jennifer Gabriela Bautista Ardeano y asesorado por la Ing. Hilda Piedad Palma de Martini (2014) estudiaron **“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA APLICACIÓN DE**

UN ANTIOXIDANTE NATURAL A BASE DE EXTRACTO DE ROMERO (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) EN ACEITE PARA FREÍR” llevó a cabo un estudio durante varias semanas, el cual consistió en que a muestras de aceite con y sin antioxidante durante un intervalo de tiempo definido; se les midió el porcentaje de compuestos polares presentes, utilizando para ello el equipo TESTO 270. Dichas mediciones se realizaron en el laboratorio de investigación y desarrollo de la empresa Asesoría en Alimentos ASEAL, S .A. Los resultados obtenidos de dicho estudio, a un grado de confiabilidad del 95 % fueron los siguientes: se logró duplicar la vida útil del aceite, el cual luego de ser utilizado 8 días pasó a ser utilizado 15 días, sin afectar la calidad de fritura tanto en papas como en pollo; en términos de piezas de pollo, se logró freír un promedio 300-350 piezas de pollo, utilizando este antioxidante y que al aplicar antioxidante a base de romero al aceite utilizado en el proceso de fritura para pollo y papas, no proporciona ningún aroma o sabor característico ajeno al producto final obtenido.⁹.

- En la siguiente tesis realizada por María del Cisne Miranda Jumbo y Pinetta (2012) **“EVALUACIÓN DEL USO DE PROPÓLEO (PROPOLIS) Y ROMERO (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) COMO ANTIMICROBIANO EN DOS CORTES DE CARNE RES MEJORADA”** se llega a la conclusión que el extracto de romero retarda el crecimiento microbiano en aerobios mesófilos en dos músculos de res mejorados (*M. Rhomboideus*, *M. Abdominus*

obliquos) durante su almacenamiento en refrigeración con empaque termo encogible y al vacío. Y que la adición de extracto de romero y tintura de propóleo en alcohol no influyó en la fuerza de corte carne de res mejorada y los panelistas no detectaron ninguna diferencia. La tintura de propóleo en alcohol afectó en la luminosidad de los cortes de carne de res mejorados pero no en el color rojo ni amarillo, mientras que el romero no afectó en los valores de color. Y finalmente se concluye que la adición de extracto de romero y tintura de propóleo en alcohol aumentaron el rendimiento de cocción de dos cortes de res mejorados, sin embargo no tuvieron un efecto en el porcentaje de purga.¹⁰.

- Hernández y col (2008) en su artículo titulado **“EFECTO ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis* L.), DE SALVIA DE BOLITA (*BUDDLEIA PERFOLIATA* KUNTH) Y DE ORÉGANO MEXICANO (*LIPPIA SPP*) EN PASTAS CÁRNICAS”** incorporaron extractos etanólicos de romero, salvia y orégano seco en forma separada en concentración de 0.02% p/p a pastas cárnicas cuya composición fue carne cruda de cerdo, lardo, agua, cloruro de sodio, fosfato de potasio y un emulsificante comercial; con un almacenamiento a 4°C durante 72 horas. El extracto de romero presentó mayor cantidad de ácido carnósico (0.0883), menor concentración de fenoles totales (0.0832), de ácido rosmarínico (0.0272) y ácido 2-tiobarbitúrico o TBARS (0.1582) comparado con el orégano. Se concluyó que la eficiencia

antioxidante de los extractos no depende de la concentración de fenoles totales si no de la concentración de ácido carnósico, presentando así el extracto de romero mayor poder antioxidante que los de orégano y de salvia; sin embargo, los tres extractos pueden satisfacer la creciente demanda de aditivos naturales¹¹.

- En el siguiente artículo de investigación Agustín Monroy Vázquez ,Ignacio García Martínez ,otros (2009) titulado **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE EXTRACTO ETANÓLICOS DE ROMERO Y DE CHILE ANCHO Y SU APLICACIÓN EN UN BATIDO CÁRNICO”** determinaron la actividad antioxidante por la técnica del ABTS, comparándolo con oxidantes sintéticos, BHA y BHT. La actividad antimicrobiana de los extractos se determinó mediante la concentración mínima inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocitogenes* y *Salmonella typhi*. en los batidos cárnicos se determinó la rancidez oxidativa y la disminución del número de mesófilos y coliformes totales. Ambos extractos inhibieron el crecimiento de los microorganismos patógenos en rangos de 0.8-1.2 mg/mL de extracto. Se concluye que los extractos etanólicos de romero y de chile ancho en la formulación de productos cárnicos emulsionados puede ser una buena alternativa para mejorar la calidad nutricional de este tipo de alimentos, ya que retardan la rancidez de grasa y ayudan en el control microbiológico, dándole un extra al enriquecer su composición con estos ingredientes¹².

- Ardila y Vargas . (2009) publicaron el estudio titulado **“ENSAYO PRELIMINAR DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* FRENTE A *Clostridium perfringens*“**. En dicho estudio evaluaron la actividad antibacteriana frente a *Clostridium perfringens* (cepa ATCC: 13124) por el método de Kirby Bauer en agar SPS de los aceites esenciales o extractos vegetales obtenidos con solventes orgánicos de diferente polaridad a partir de *Allium sativum* (ajo), *Coriandrum sativum* (cilantro), *Eugenia Caryophyllata* (clavo de olor), *Origanum vulgare* (orégano), *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Thymus vulgaris* (tomillo), utilizando la vancomicina como control. Los extractos obtenidos por el método de lixiviación de *O. vulgare* y *T. vulgaris* no presentaron inhibición para este microorganismo; los demás extractos vegetales sí la presentaron, obteniéndose concentraciones bacteriostáticas mínimas que oscilaron entre 16 y 63 µl/ml. El extracto etanólico y el aceite esencial de *E. caryophyllata* fueron los que presentaron una menor concentración inhibitoria mínima (250 µl/ml)¹³.

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Aceite Esencial

Un aceite esencial o esencia (ambos términos se consideran sinónimos) como una parte del metabolismo de un vegetal, compuesto generalmente por terpenos, que están asociados o no a otros componentes, la mayoría de ellos volátiles, y generan en conjunto el olor de dicho vegetal. Iremos desglosando esta definición para comprenderla mejor y ver sus excepciones.⁶²

Mezcla de componentes volátiles producto del metabolismo secundario de las plantas en cuya composición interviene una porción de hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que responden a la fórmula (C_5H_8) junto con otros compuestos casi siempre oxigenados (alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y compuestos fenólicos) que son los que transmiten a los aceites el aroma que los caracteriza.⁶³

2.2.2 Clasificación

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes

mayoritarios. De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas.

Las Esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los Bálsamos son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, Benjuí, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc. Las Oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, balata, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavel, etc.).

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos. Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos. Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencia de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalool, o la esencia de anís enriquecida con anetol. Los aceites esenciales sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por la combinación de sus componentes los cuales son la mayoría de las veces producidos por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, fresa, etc.). Desde el punto de vista químico y a pesar de su composición compleja con diferentes tipos de sustancias, los aceites esenciales se pueden

clasificar de acuerdo con el tipo de sustancias que son los componentes mayoritarios.

Según esto los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpenoides (p.ej. hierbabuena, albahaca, salvia, etc.). Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpenoides (p.ej. copaiba, pino, junípero, etc.). Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales fenilpropanoides (p.ej. clavo, canela, anís, etc.).⁶⁴

2.2.3 Características físicas de los Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son volátiles y son líquidos a temperatura ambiente. Recién destilados son incoloros o ligeramente amarillos. Su densidad es inferior a la del agua (la esencia de sazafrán o de clavo constituyen excepciones). Casi siempre dotados de poder rotatorio, tienen un índice de refracción elevado. Son solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos habituales, como éter o cloroformo, y alcohol de alta gradación. Son liposolubles y muy poco solubles en agua, pero son arrastrables por el vapor de agua.

2.2.4 Características Químicas de los Aceites Esenciales

Los componentes de los aceites se clasifican en no Terpenoides y Terpenoides.

2.2.4.1. No Terpenoides: En este grupo tenemos sustancias alifáticas de Cadena corta, sustancias aromáticas, sustancias con azufre y sustancias nitrogenadas. No son tan importantes como los terpenoides en cuanto a sus usos y aplicaciones.

2.2.4.2 Terpenoides: Son los más importantes en cuanto a propiedades y comercialmente. Los terpenos derivan, de unidades de isopreno (C5) unidas en cadena. Los terpenos son una clase de sustancia química que se halla en los aceites esenciales, resinas y otras sustancias aromáticas de muchas plantas, como los pinos y muchos cítricos. Principalmente encontramos en los aceites monoterpenos (C10), aunque también son comunes los sesquiterpenos (C15) y los diterpenos (C20). Pueden ser alifáticos, cíclicos o aromáticos. ⁶⁵ Según los grupos funcionales que tengan pueden ser:

- Alcoholes (mentol, bisabolol) y fenoles (timol, carvacrol).
- Aldehídos (geranial, citral) y cetonas (alcanfor, thuyona).

- Ésteres (acetato de bornilo, acetato de linalilo, salicilato de metilo, compuesto antiinflamatorio parecido a la aspirina).
- Éteres (1,8 – cineol) y peróxidos (ascaridol)

2.2.5 Extracción y Aislamiento

Los aceites esenciales se pueden extraer de las muestras vegetales mediante varios métodos como son: expresión, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos.

En la expresión el material vegetal es exprimido para liberar el aceite y este es recolectado y filtrado. Este método es utilizado para el caso de las esencia de cítricos⁶⁴.

En la destilación por arrastre con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas, especialmente las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto

rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada.⁶⁴

En el método de extracción con solventes volátiles, la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles.⁶⁴

En el método de enflorado o enfleurage, el material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con un aceite vegetal. La esencia es solubilizada en el aceite vegetal que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla de aceite esencial y aceite vegetal la cual es separada posteriormente por otro medio físico-químico. Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa.⁶⁴

El método de extracción con fluidos supercríticos, es de desarrollo más reciente. El material vegetal cortado en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular

a través de la muestra un líquido supercrítico (por ejemplo bióxido de carbono líquido), las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el líquido supercrítico que actúa como solvente extractor y se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, y finalmente se obtiene una esencia pura. Aunque presenta varias ventajas como rendimiento alto, es ecológicamente compatible, el solvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia, sin embargo el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones.⁶⁴

2.2.6 Usos de los Aceites Esenciales

2.2.6.1 Industria Alimentaria

Se emplean para condimentar carnes preparadas, embutidos, sopas, helados, queso, etc. Los aceites más empleados por esta industria son el Cilantro, Naranja y Menta, entre otros. También son utilizados en la preparación de bebidas alcohólicas y no alcohólicas, especialmente refrescos. Con respecto a esta utilidad podemos citar las esencias extraídas del naranjo, limón, mentas e hinojo, entre otros. Estas esencias también se emplean en la producción de caramelos, chocolates y otras golosinas.

2.2.6.2 Industria Farmacéutica

Se usan en cremas dentales (aceite de menta e hinojo), analgésicos e inhalantes para descongestionar las vías respiratorias (eucalipto). El eucalipto es muy empleado en odontología. Son utilizados en la fabricación de neutralizantes de sabor desagradable de muchos medicamentos (naranjas y menta, entre otros).

2.2.6.3 Industria de Cosméticos

Esta industria emplea los aceites esenciales en la producción de cosméticos, jabones, colonias, perfumes y maquillaje. En este campo se pueden citar los aceites de geranio, lavanda, rosas y pachouli.

2.2.6.4 Industria de Productos de uso Veterinario

Esta industria emplea el aceite esencial de *Chenopodium ambrosoides* muy apreciado por su contenido de ascaridol, vermífugo. También requiere limoneno y mentol como insecticidas.

2.2.6.5 Desodorantes Industriales

Actualmente se ha desarrollado el uso de esencias para disimular el olor desagradable de algunos productos industriales como el caucho, los plásticos y las pinturas. La industria de las pinturas emplea limoneno como disolvente biodegradable. También se imparte olor a juguetes. En textiles, como enmascaradores de olores en tratamientos con mordientes antes y después del teñido. En papelería, para impregnar de fragancias cuadernos, tarjetas, papel higiénico, toallas faciales.

2.2.6.6 Industria Tabacalera

Demanda mentol para los cigarrillos mentolados.

2.2.6.7 Biocidas e Insecticidas

Existen esencias con propiedades bactericidas, como el tomillo, clavo, salvia, mentas, orégano, pino, etc. Otras son insecticidas:

- Contra hormigas: *Mentha spicata* (*spearmint*), Tanacetum y poleo.
- Contra áfidos: ajo, otros *Allium*, coriandro, anís, albahaca.

- Contra pulgas: lavanda, mentas, lemongrass, etc.
- Contra moscas: ruda, citronela, menta, etc.
- Contra piojos: *Mentha spicata*, albahaca, ruda, etc.
- Contra polilla: mentas, Hisopo, romero, eneldo, etc.
- Contra coleópteros: *Tanacetum*, comino, ajeno y tomillo
- Contra cucarachas: menta, ajeno, eucalipto, laurel, etc.
- Contra nemátodos: *Tagetes*, salvia, caléndula) ⁶⁵

2.2.7 Conservación Generalidades

La conservación de los alimentos, ha sido una tarea de capital importancia para el ser humano desde la alborada de la humanidad. En sus orígenes, el hombre era esencialmente cazador y recolector de frutos silvestres, y debía consumir sus alimentos prácticamente de inmediato, dedicando gran parte de su existencia a esta actividad. A medida que el hombre fue descubriendo algunas técnicas primitivas de conservación de alimentos, como por ejemplo el ahumado, la cocción al fuego y el secado al sol, la salazón, las fermentaciones alcohólicas de ciertos zumos de frutos, la conservación de alimentos en aceites y grasa animales y la fermentación láctica para la producción de quesos y leches acidas, entre otras. Se hizo posible la conservación de algunos alimentos por mayor tiempo. Esta evolución del hombre fue gradual, limitándose a la conservación de alimentos por las técnicas primitivas y

al consumo de alimentos frescos, incluyendo a los alimentos domesticados o alimentos semi procesado. La revolución industrial trajo grandes adelantos en la tecnología de la conservación de alimentos, por la aplicación de nuevos inventos como la caldera de vapor y maquinaria al procesamiento de alimento

2.2.8 Conservadores Químicos de la Carne

Las condiciones de uso de los conservantes están reglamentadas estrictamente en todos los países del mundo. Usualmente existen límites a la cantidad que se puede añadir de un conservante y a la de conservantes totales. Los conservantes alimentarios, a las concentraciones autorizadas, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan su proliferación. Por lo tanto solo son útiles con materias primas de buena calidad ⁷¹ Por otra parte los conservantes permiten disponer de una mayor variedad de alimentos fuera de estación o importarlos de sus país de origen; contribuyendo a mantener provista la despensa y reduciendo la frecuencia de compra.

Para conservar los alimentos de manera que tengan mayor duración desde su producción y comercialización hasta su consumo, se les puede pasteurizar, congelar, refrigerar, secar, salar, escarchar o acidular. Existen también conservantes químicos que son introducidos en la comida envasada. La elección del método de conservación se decide de

acuerdo con las variables que presente el alimento: la conservabilidad, el modo de producción, transporte, almacenamiento, entre otros, son los factores que determinarán el que se añada un elemento químico a un alimento. Sin embargo, la posible toxicidad de un conservante no es el criterio decisivo para añadirlo a un determinado alimento, sino algo de importancia secundaria o terciaria en el momento de la decisión comercial, siempre y cuando el elemento no esté prohibido o sea claramente cancerígeno.

Conservación química de la carne: este método de preservación ha perdido importancia en la actualidad, debido a que los conservadores químicos son considerados tóxicos protoplasmáticos inespecíficos y perjudiciales al consumidor ya que su efecto puede ser acumulativo inmediato.⁶⁶

Los fenómenos tóxicos que provocan los aditivos químicos en nuestros cuerpos ponen en riesgo el equilibrio del organismo.

2.2.9 Derivados cárnicos

2.2.9.1 Hamburguesas

La hamburguesa pudo haber surgido en distintas partes del mundo como producto de una necesidad de optimizar recursos en distintos pueblos y en distintas etapas de la historia. Una de las historia cuenta que la hamburguesa fue

originalmente un embutido grande, a base de carne de vacuno, elaborada en Hamburgo, y usualmente servido en lonchas que freían o asaban a la parrilla. Ahora se hace en todo el mundo, especialmente en Norte América, con forma de tortas planas. ⁶⁷

Se entiende por hamburguesa, el producto cárnico fresco, de forma plana, elaborado exclusivamente con carne vacuna picada, con un contenido graso promedio en el lote no mayor al veinte por ciento (20%), con o sin el agregado de antioxidantes, aromatizantes, saborizantes, especias, exaltadores de sabor, estabilizantes (únicamente fosfatos y polifosfatos), estabilizantes de color (excluyendo nitritos y nitratos) autorizados. No se admite el agregado de colorantes naturales y/o artificiales. En caso de utilizarse carnes distintas de la vacuna, deberá denominarse “Hamburguesa de...” seguidos de la denominación de la o de las especies que la componen ⁶⁸

La carne fresca que constituye la materia prima para la elaboración de hamburguesa, puede presentar cierta contaminación bacteriana, ya sea endógena (antes de la muerte del animal) o exógena, la cual se produce después de la muerte del animal, en los subsiguientes episodios de desangramiento, evisceración, y en la preparación del

camal, debido a la utilización de utensilios contaminados, condiciones higiénicas de la sala de matanza y del personal que allí labora. Obtenida la canal, ésta continúa expuesta a la contaminación bacteriana en los procesos de almacenamiento, refrigeración, transporte, distribución, industrialización y manipulación doméstica.⁶⁹

2.2.10 Historia del Romero

Rosmarinus officinalis ha sido utilizado desde la antigüedad como planta medicinal y para la obtención de aceites esenciales.³⁸ Se dice que los faraones egipcios hacían poner sobre sus tumbas un ramillete de romero para perfumar su viaje al país de los muertos.

Su aceite esencial fue obtenido por primera vez hacia el año 1330 por Ramón Llull y desde entonces, se emplea en perfumería. En el siglo XVI la reina Isabel de Hungría lo utilizó para tratar el reumatismo que padecía convirtiéndose, «el agua de la reina de Hungría», en uno de los remedios más famosos de la corte de Luis XIV. Los boticarios empleaban el romero en gran número de preparados pero en la actualidad sólo el aceite esencial está incluido en las farmacopeas.⁴⁵

2.2.10.1 El Romero

El romero (*R. officinalis* L.) es una planta mediterránea cuyo término se deriva del griego “(rhops y myrinos)” que significa “arbusto marino” por su crecimiento cercano a las costas¹⁵. Generalmente se encuentra de forma silvestre en zonas rocosas y arenosas cercanas al mar pero debido a su adaptabilidad y poca exigencia para cultivarse se reproduce con facilidad en otras zonas.

El romero pertenece a la familia Lamiaceae (Labiadas), es una planta arbustiva con tallos prismáticos, las hojas son estrechas, agudas y pequeñas, tienen forma de espigas de color verde brillante con márgenes revolutos y tallos leñosos y ramificados¹⁶. El tamaño varía de 0.5 a 1 metro de altura, florece dos veces al año en primavera y otoño, las flores se caracterizan por un color azul claro con pequeñas manchas violetas ¹⁷. El romero crece en nuestro país, costa, sierra y selva, hasta los 3,500 msnm, formando parte del sotobosque, en laderas de tierras bajas y en lugares secos¹⁸.

2.2.10.2 Composición Química del Romero

Los compuestos químicos del romero han sido agrupados de manera general por diversos autores en ácidos fenólicos, flavonoides, aceite esencial, ácidos triterpénicos y alcoholes triterpénicos^{19,20}.

El aceite esencial de romero es el componente más estudiado cualitativamente, identificándose principalmente la presencia de α -pineno, β -pineno, canfeno, ésteres terpénicos como el 1,8-cineol, alcanfor, linalol, verbinol, terpineol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, 3-octanona, isobanilacetato y β -cariofileno; los ácidos vanílico, caféico, clorogénico, rosmarínico, carnósico, ursólico, oleanólico, butilínico, betulínico, betulina, α -amirina, β -amirina, borneol, y acetato de bornilo^{21,22}.

En el caso de las hojas del romero prevalece un alto contenido de ácido rosmarínico y su derivado rosmaricina, también está presente el ácido carnósico que se caracteriza por ser inestable, su degradación se da por incremento de la temperatura y exposición a la luz; en presencia de oxígeno

puede oxidarse para formar carnosol, rosmanol, epirosmanol y 7- metil-epirosmanol^{23,24}.

2.2.10.3 Propiedades del Romero

Numerosos estudios han hallado efectos medicinales para el aceite esencial de romero: actividad antibacteriana^{25,26} actividad antiparasitaria²⁷, cito protectores a nivel de la membrana de eritrocitos²⁸, antiinflamatorio²⁹, crecimiento celular³⁰, cólicos menstruales²⁶, prevención cardiovascular³¹ y estimulador del sistema nervioso central³².

En relación a los beneficios del romero en la industria alimenticia, existen diversos estudios al respecto. El aceite esencial de romero ha demostrado tener un efecto antioxidante⁵, mientras que el extracto etanólico además de ser un antioxidante tiene actividad bacteriostática^{12,33}.

Rojas y Brewer (2007), estudiaron los efectos de la oleorresina de romero, en carne de res y cerdo cocida y refrigerada. Las carnes cocidas son

altamente susceptibles a la rancidez oxidativa que produce la degradación de la calidad y el sabor a recalentado. Antes del cocimiento, las reacciones de los radicales libres causan la auto oxidación en las carnes, cambiando el sabor, color y aroma de la carne. Después del cocimiento, la oleorresina de romero evitó la oxidación de lípidos y la formación de olores descritos como “pasado”, “húmedo”, “cartón”, “hierba” o “rancio”³³.

También se probó al extracto de romero como un antioxidante natural en salchichas de cerdo precocidas y congeladas crudas. Sebrabnek et al. (2005) comparó su eficacia con antioxidantes sintéticos. Los resultados del estudio mostraron que el extracto de romero a 2500 ppm tuvo un efecto similar al antioxidante sintético en salchichas de puerco refrigeradas, precocidas congeladas y congeladas crudas, siendo en éste último producto más efectivo que el antioxidante comercial, sin perder sus características sensoriales³⁴.

Cottone en el año (2010), estudió la estabilidad del extracto del romero en filetes de pescado y carne picada durante el almacenamiento congelado. Los

resultados obtenidos mostraron que los antioxidantes naturales que constituyen el romero, retardaron el proceso de oxidación durante el almacenamiento, y estabilizaron los ácidos grasos poliinsaturados⁵.

La actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de romero en productos cárnicos fue estudiada por Faixova y Faix (2008). Los extractos *in vitro* e *in situ* mostraron efecto antimicrobiano en *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhimurium*, por otro lado se encontró actividad antioxidante parecida a los antioxidantes sintéticos, por lo que tienen la posibilidad de usarse como aditivos que son capaces de disminuir la oxidación de lípidos⁶. Romero et al. (2010), desarrollaron una aplicación de la combinación quitosano y aceites esenciales de romero al 1% sobre el crecimiento de *L. monocytogenes* en la superficie de calabazas (*Cucurbita moschata Dutch*), logrando inhibir el crecimiento de esta bacteria³⁵.

2.2.10.4 Mecanismo de acción.

Los polifenoles desempeñan un papel importante en la protección contra agentes patógenos, donde pueden retrasar el crecimiento debido a que cambian las condiciones del medio y penetran en la membrana celular de los microorganismos provocando lisis.

Se ha reportado que algunos ácidos orgánicos (ácido ascórbico, ácido rosmerico, ácido cafeico) son compuestos que inhiben el crecimiento de algunas bacterias. Algunos flavonoides tienen su participación en la inhibición debido a que estos generalmente se relacionan con la inhibición de síntesis de ADN y ARN y otras macromoléculas.²⁶

2.2.10.5 Reacciones adversas

El aceite esencial puede producir cefaleas, espasmos musculares, gastroenteritis, irritación del endotelio renal; en dosis altas puede resultar neurotóxico ⁴¹, convulsivante y abortivo. En uso tópico es rubefaciente, por lo que hay que evitar el

contacto con las mucosas y zonas de la piel alteradas⁵⁹.

Se aconseja no administrar el aceite esencial durante el embarazo, periodo de lactancia, en niños pequeños, pacientes con gastritis, úlceras gastroduodenales, síndrome del intestino irritable, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, hepatopatías, epilepsia, Parkinson u otras enfermedades neurológicas. No aplicar a personas con alergias respiratorias o con hipersensibilidad conocida a éste u otros aceites esenciales.²⁶

2.2.10.6 Efectos de la oxidación sobre la calidad de la carne³⁶

Para entender mejor el efecto de los antioxidantes en los productos cárnicos, es necesario explicar primero los mecanismos de oxidación de la carne. El oxígeno (O₂) constituye el punto de partida para un tipo de daño celular conocido como “estrés oxidativo”, consecuencia de un desequilibrio entre la producción de especies reactivas y los mecanismos de defensa antioxidantes³⁷ y que puede afectar tanto a lípidos como a proteínas.

Las especies reactivas del oxígeno (ROS) actúan sobre los lípidos poliinsaturados de las membranas produciendo pérdida de fluidez y lisis celular como consecuencia de la peroxidación lipídica. La peroxidación lipídica se inicia tras la abstracción de un átomo de hidrógeno en la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos poliinsaturados. En un ambiente aerobio se produce interacción del radical carbonilo (R-) con el O₂ dando lugar a la formación del ROO-. Posteriormente puede sustraer un nuevo H (reacción secuencial) y puede dar lugar al ROOH que por descomposición formará el radical alcoxilo (RO-). A este primer proceso acontece una serie de reacciones de propagación y terminación para finalmente dar lugar a productos más estables como el malodialdehído (MDA) ³⁸. Los cambios asociados a la oxidación lipídica constituyen la principal causa de deterioro de la carne y/o productos cárnicos, ya que provocan la aparición de olores y sabores desagradables y la alteración del color, y en general una reducción de la calidad organoléptica del producto. Así mismo dan lugar a una disminución del valor nutritivo de la carne y la generación de compuestos potencialmente nocivos para la salud

relacionados con el riesgo de padecer diversas patologías ³⁹. En este sentido, los radicales lipídicos, hidroperóxidos, malondialdehído (MDA) y productos específicos de la oxidación del colesterol juegan un papel importante en promover las reacciones oxidativas in vivo e iniciar reacciones perjudiciales con consecuencias nocivas para la salud. De hecho, la ingesta de lípidos oxidados se cree que tienen un gran impacto sobre la salud del consumidor, así como también ciertos productos procedentes de la oxidación de lípidos están involucrados en el desarrollo de enfermedades como el cáncer y la cardiopatía coronaria⁴⁰.

Las proteínas también son susceptibles de sufrir daño oxidativo el cual provoca modificaciones en determinados aminoácidos, fragmentación de la cadena péptida, agregaciones, entrecruzamientos y/o un incremento de la susceptibilidad a la proteólisis⁴¹. De hecho, estudios recientes sostienen que los procesos oxidativos que afectan a las proteínas conducen a la formación de agregados proteicos lo que podría tener un efecto sobre la digestibilidad de la proteína. Al igual que la oxidación lipídica, la oxidación de las proteínas

puede llevar a una disminución significativa del valor nutritivo de la carne y/o productos cárnicos en términos de disponibilidad de aminoácidos esenciales y digestibilidad de las proteínas oxidadas⁴². Además, las principales consecuencias sobre la calidad de la carne y productos cárnicos se aprecian en el color y la textura del producto⁴³.

2.2.10.7 Efectos de los antioxidantes para productos cárnicos

En las últimas décadas se han desarrollado diversas estrategias para prevenir el deterioro oxidativo en productos de origen cárnico mediante el empleo de antioxidantes. La mayoría de estas estrategias se han centrado en limitar el acceso del oxígeno a los componentes de la carne susceptibles de sufrir fenómenos de oxidación como lípidos y proteínas. Al mismo tiempo se han desarrollado nuevos métodos de almacenamiento como el envasado al vacío o el envasado en atmósfera modificada con el fin de prevenir la aparición de fenómenos de oxidación en el producto final ^{44,45}. Una forma de reducir la aparición de fenómenos de oxidación en

la carne y/o los productos cárnicos es el uso de antioxidantes. El término “antioxidante” se atribuye generalmente “a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato”⁴⁶.

Los antioxidantes tienen diferentes mecanismos de acción, unos actúan de forma preventiva, impidiendo la formación de los radicales libres y/o especies reactivas, mientras que otros actúan de forma reparativa, inhibiendo la acción de los radicales libres y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas⁴⁷.

Para extender la vida útil de la carne, la adición de antioxidantes presenta las siguientes capacidades:

- Aumentar la estabilidad del color, principalmente por evitar la transición prematura de mioglobina a metamioglobina.

- Mantener las condiciones organolépticas, evitar o ralentizar el enranciamiento de la grasa. Acción especialmente importante en carne procedente de animales a los que se les han suplementado ácidos grasos poliinsaturados, los más fácilmente oxidables.
- Evitar el oscurecimiento (o pérdida de color) inducido por radicales libres generados por acción de luz a la que es expuesta la carne en las condiciones de venta. Esta acción no es atribuible a todos los antioxidantes, pero sí a los de naturaleza polifenólica y a los extractos de plantas, que tienen la capacidad de captar la radiación ultravioleta.
- Ampliar la resistencia al crecimiento bacteriano, pues los antioxidantes de naturaleza polifenólica poseen frecuentemente actividad antimicrobiana.

2.2.10.8 Clasificación de los antioxidantes para productos cárnicos

Tradicionalmente los antioxidantes se han dividido en dos grupos: antioxidantes primarios o eliminadores de radicales y antioxidantes secundarios o que previenen la oxidación.

Los antioxidantes primarios son capaces de inhibir la iniciación y propagación de las reacciones de oxidación mediante la inactivación de los radicales libres ($L\cdot$, $LO\cdot$ y $LOO\cdot$) que participan en las reacciones oxidativas, convirtiéndolos en productos estables. En este grupo se encuentran principalmente los compuestos fenólicos (AH) que pueden donar un átomo de hidrógeno o un electrón al radical libre convirtiéndolo en un producto estable (LH , LOH y $LOOH$)⁴⁸. Asimismo, el antioxidante como consecuencia de esta reacción se oxida a su vez formándose un radical estable que no propaga la reacción de oxidación ($A\cdot$).

Los antioxidantes secundarios son compuestos que actúan impidiendo o disminuyendo la formación de radicales libres. Los más utilizados son agentes

quelantes de metales como el EDTA (ácido etilendiaminico-tetracético) o el ácido cítrico⁴⁹.

Otra forma de clasificar los antioxidantes es de acuerdo a su fuente, en compuestos endógenos producidos por el organismo que incluyen los mecanismos enzimáticos del organismo (superóxido-dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión y la coenzima Q-) o compuestos exógenos suministrados con la ingesta de alimentos como es el caso de las vitaminas E, C y A.

2.2.10.9 Antioxidantes naturales para productos cárnicos

Los extractos de plantas ricos en compuestos fenólicos parecen ser los mejores candidatos para su uso como antioxidantes en productos cárnicos ya que se obtienen fácilmente a partir de fuentes naturales y además evitan la aparición de fenómenos oxidativos. Las propiedades antioxidante de dichos compuestos se han probado con éxito tanto en sistemas modelo como en productos cárnicos ^{50,51}.

Destaca en los estudios más recientes, el empleo de extractos de romero, debido a la presencia de carnosol, rosmanol, isorosmanol y rosmaridifenol, compuestos con elevado poder antioxidante. De hecho, se ha utilizado con éxito en carnes procesadas como las hamburguesas de vacuno, en las cuales el romero mostró una gran capacidad antioxidante además de cierto efecto antimicrobiano⁵². También se ha comprobado la actividad antioxidante de aceites esenciales de romero en productos cárnicos cocidos elaborados a partir de materia prima de cerdo Ibérico, dicha actividad fue similar a la del BHT⁵³. Este hecho sugiere la posibilidad de que estos antioxidantes naturales pudieran ser usados como alternativa al uso de antioxidantes sintéticos en productos cárnicos. Sin embargo, estos efectos no fueron tan acusados en productos cárnicos cocidos elaborados a partir de materia prima de cerdo blanco e incluso el empleo de estos antioxidantes naturales dio lugar a un ligero efecto prooxidante. Con lo cual, la presencia de un cierto contenido de antioxidantes endógenos en la materia prima podría influir sobre la actividad de los antioxidantes naturales añadidos directamente al producto ⁵⁴.

También se ha comprobado que las plantas que contienen licopeno, como el tomate y el pimiento rojo poseen una importante actividad antioxidante^{55,56}. Compuestos extraídos a partir de aceites esenciales de orégano, borraja y salvia también han sido estudiadas por su potencial antioxidante. Estos compuestos también suelen mostrar actividad antimicrobiana que los hace útiles para mejorar la seguridad alimentaria del producto mediante la inhibición del crecimiento de patógenos alimentarios.

Estudios recientes han demostrado la actividad antioxidante de diferentes hierbas silvestres entre las que se encontraban el orégano, la salvia, el tomillo, la canela, la albahaca, la pimienta blanca y negra. Estas hierbas incorporadas en forma de extractos a la carne de cerdo previenen la oxidación lípidica⁵⁷. Asimismo, se demostró que los compuestos tipo terpeno-fenoles aislados de dichas especias y/o hierbas aromáticas poseían gran capacidad antioxidante, siendo especias como el romero, la salvia, el clavo y el orégano las más eficaces frente a las reacciones de oxidación. Algunos de los principios activos que poseen estas

especias son; carnosol, ácido rosmarínico, rosmaridifenol en el romero, el eugenol en el clavo, vainillina de vainas de vainilla, el ácido ferúlico en la pimienta negra, la capsaicina y capsantina en la pimienta de cayena y en las guindillas, entre otros. De estos compuestos, el máximo interés se dirige hacia el ácido rosmarínico, componente natural del romero y de efectos antioxidantes comparables a los del BHA y BHT, a los que actualmente se le atribuyen efectos nocivos para la salud del consumidor ^{58,59}.

Por otro lado, Estévez y col.⁵¹ han logrado identificar recientemente los mecanismos involucrados en las interacciones entre proteínas y compuestos fenólicos. Según estos autores, los compuestos fenólicos podrían ejercer acciones antioxidantes o pro-oxidantes sobre las proteínas, en función de su estructura química, la concentración en el producto, el estado oxidativo del mismo así como la estructura y características de las proteínas. De hecho, en sistemas cárnicos cocidos el uso de compuestos fenólicos ya había sido usado con éxito para inhibir la oxidación de proteínas ⁵⁰.

Asimismo, un estudio reciente evaluó la capacidad antioxidante de extractos de frutas silvestres

mediterráneas (*Arbutus unedo*, L., *Crataegus monogyna*, L., *Rosa canina*, L. y *Rubus ulmifolius*, Schott) en productos cárnicos cocidos de cerdo (hamburguesas de cerdo). El empleo de estos extractos naturales como antioxidantes mejoró la estabilidad oxidativa del producto reduciendo las reacciones de oxidación de lípidos y proteínas ^{60,61}. De todos ellos *Arbutus unedo* L., *Rubus ulmifolius*, S y *Rosa canina*, L. demostraron tener una intensa actividad antioxidantes siendo esta atribuida a su elevado contenido en compuestos fenólicos. Así pues, el empleo de extractos naturales de frutas silvestres mediterráneas no sólo permite reducir las reacciones de oxidación en el producto, sino que también mejora su estabilidad oxidativa y prolonga su vida útil manteniendo sus propiedades organolépticas inalterables durante más tiempo. Por lo tanto, queda demostrado mediante diferentes estudios los efectos antioxidantes de los compuestos fenólicos presentes en extractos de frutas, verduras y especias, sobre los procesos degradativos de lípidos y proteínas de la carne y productos cárnicos.

2.3 Definición Términos Básicos

2.3.1 Aditivos

Son sustancias que se añaden a los alimentos (embutidos, envasados, enlatados) para mejorar su presentación y demás cualidades (sabor, aromas, colores.), así como para incrementar el período de conservación.

2.3.2 conservación de los alimentos:

Es conjunto de procesos realizados con el objeto de garantizar la vida y e higiene de los alimentos, teniendo ciertas condiciones y realizar ciertos tratamientos para que sea posible su conservación.

2.3.3 Crecimiento Microbiano

Cuando se siembran microorganismos en un medio de cultivo apropiado, los mismos comienzan a dividirse activamente empleando los nutrientes que le aporta al medio de cultivo para "fabricar" nuevos microorganismos. Este proceso continúa hasta que algún nutriente del medio de cultivo se agota (sustrato limitante) y el crecimiento se detiene.

2.3.4 Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA)

Enfermedad de carácter infeccioso o tóxico que es causada, o que se cree que es causada, por el consumo de alimentos o de agua contaminada.

2.3.5 *Staphylococcus aureus*

Pertenece al género *Staphylococcus* de la familia Micrococcaceae. Las especies del género *Staphylococcus* son gram positivo de 0,5-1 um de diámetro inmóviles aerobios y anaerobios facultativos, no forman esporas y generalmente no están encapsuladas. Los *Staphylococcus* presentan un color amarillos dorado característico debido a la producción de carotenoides durante su crecimiento de ahí su nombre que deriva de la palabra latina con la que se designa el oro ⁷²

El *Staphylococcus aureus* es la especie más patógena y virulenta para el hombre, es un oportunista que se encuentra habitualmente formando parte de la microbiota normal de la piel, nariz, boca, faringe, tracto intestinal, y vagina sin causar enfermedades, siendo la localización más frecuente la fosa nasal. También se encuentra como comensal o causante de infecciones, en animales de distintas especies (mamíferos y aves principalmente).

La eliminación de portadores nasales puede reducir la incidencia de infecciones por *S. aureus*.⁷³

2.3.6 Antioxidantes

Un antioxidante es aquella sustancia que presenta bajas concentraciones respecto a la de un sustrato oxidable (bio molécula) que retarda o previene su oxidación.

Los antioxidantes que se encuentran naturalmente en el organismo y en ciertos alimentos pueden bloquear parte de este daño debido a que estabilizan los radicales libres. Son sustancias que tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células, siempre en conjunto para proteger a los diferentes órganos y sistemas. Existen diferentes tipos de oxidantes.

2.3.7 Antioxidantes endógenos

Mecanismos enzimáticos del organismo (superóxidodismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión y la coenzima Q-). Algunas enzimas necesitan cofactores metálicos como selenio, cobre, zinc y magnesio para poder realizar el mecanismo de protección celular.⁷⁴

2.3.8 Antioxidantes exógenos

Son introducidos por la dieta y se depositan en las membranas celulares impidiendo la lipoperoxidación (vitaminas E y C y del caroteno)⁷⁴

2.3.9 Actividad antimicrobiana

Acción de una o más sustancias que impiden o no, el desarrollo de los microorganismos como bacterias, hongos, protozoos y virus.

2.3.10 Actividad antibacteriana

Es la acción que ejerce una sustancia en el desarrollo o crecimiento de las bacterias.

2.3.11 Bacteria anaerobia

Bacteria que se desarrolla en condiciones donde existe una mínima o nula cantidad de oxígeno, como una bolsa periodontal.

2.3.12 Extracto Etanólico

Consiste en poner en contacto la droga con un disolvente (en este caso alcohol etanólico), en proporción variable, capaz de solubilizar los principios activos.

CAPÍTULO III:

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

- Descriptivo porque se precisó cómo se manifestó el aceite esencial de romero frente a un determinado fenómeno.

- Prospectivo porque la recolección se realizó después de evaluarse la vida útil de las hamburguesas de carne, el efecto conservante del aceite esencial romero y el posible cambio sensorial.

- Longitudinal porque se realizó en un determinado periodo de modo que permitió hacer interferencias con respecto a las variables.

3.1.1 Método

Deductivo porque se cogió de lo general y lo llevó a lo individual, al hecho correcto. Donde las bases científicas obtenidas debidamente del romero fundamentaron el proyecto que se realizó.

3.1.2 Técnica

Cuantitativa

3.1.3 Diseño

Experimental

3.2 Población y Muestreo de la investigación

3.2.1 Población

Constituida por aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) 100% puro, siendo adquirido en el establecimiento comercial AROMAS DEL PERÚ del distrito de Breña. El aceite esencial de romero se utilizó en la elaboración de hamburguesas de carne de res.

Muestra

- Hamburguesa con aceite esencial de romero.
- Hamburguesa sin aceite esencial.

3.2.2 Tipo de muestra

La muestra es no probabilística porque los panelistas fueron seleccionados en función de su accesibilidad y a criterio personal e intencional del investigador.

3.3 Variables e Indicadores

VARIABLES	INDICADORES
Aceite esencial de romero	Concentración del aceite esencial de romero
Actividad Conservadora	UFC.
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Calidad sensorial

3.4 Técnica e Instrumentos de recolección de datos

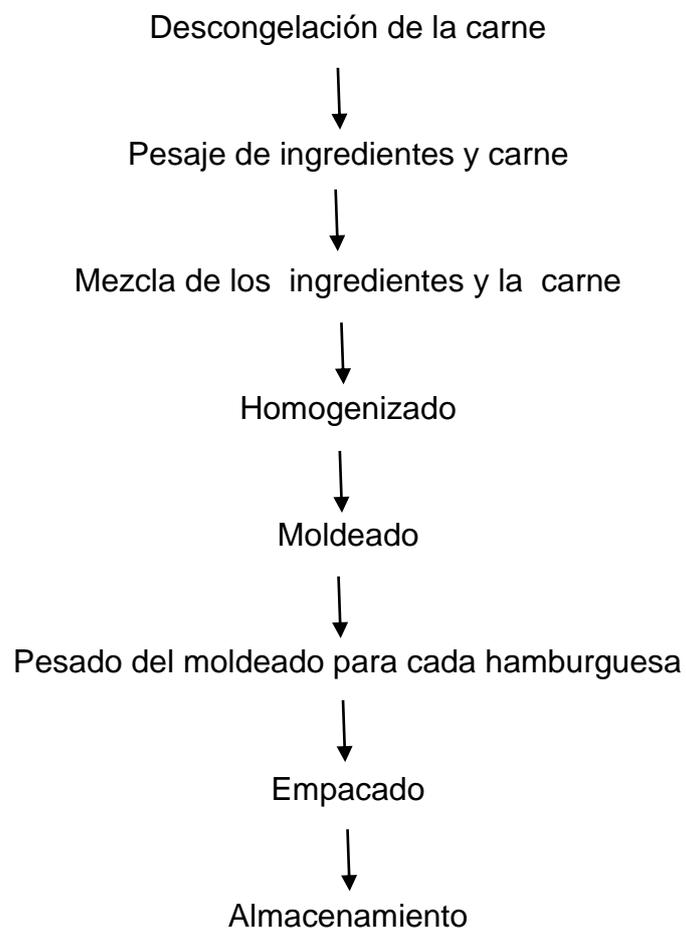
3.4.1 Técnica

FORMULACIÓN DE HAMBURGUESA DE CARNE DE RES

Elaboración del producto

Se elaboró con carne de res útil para la obtención de una pasta siguiendo este procedimiento.

FIGURA 1: ELABORACIÓN DE LA HAMBURGUESA DE CARNE DE RES



Procedimiento

- Descongelación: se llevó a cabo con agua potable a temperatura ambiente.
- Dosificación: se pesó los ingredientes de acuerdo a la siguiente formulación

TABLA N° 1: FORMULACIÓN DE HAMBURGUESA DE CARNE DE RES

INGREDIENTES	FORMULACIÓN (g)
Carne de res	1250
sal	90
Pan molido	700
Cebolla roja	400
Tomate	400
Ajo	30
Huevo	1000
Pimienta	3
Glutamato	3
Aceite esencial de romero	ml /g

Fuente: elaboración propia

Valor total de la muestra expresados 3950 g

- Homogenizado: se realizó en forma manual durante 15 a 20 minutos .en un tazón plástico, donde está la carne de res adicionándole poco a poco los ingredientes siguientes.
- Para el moldeado: se efectuó manualmente, de manera que quede pareja la muestra, se le adicionó a algunas muestras el aceite esencial en diferentes concentraciones.
- Pesado del moldeado para cada hamburguesa: se realizó el pesado de cada hamburguesa de carne de res aproximadamente 50 g en una balanza estéril.
- Empacado: se utilizó bolsas plásticas de polietileno (PE).
- Almacenamiento y congelación: se almaceno en cuartos de congelación a -18°C.

Se adicionó aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*), en una proporción de 0.05 ml y 0.1 ml que corresponde a cada hamburguesa de carne de res de 50 g

3.4.1.1 Análisis Microbiológicos

La calidad de las hamburguesas de carne de res tuvo un seguimiento durante 21 días, desde el día de su elaboración y posteriormente a los 7, 14 y 21 días, evaluándose las muestras que no tienen aceite esencial de romero y las muestras que sí la contienen en diferentes concentraciones, en el laboratorio

CERTILAB para realizarle un análisis microbiológico para hallar la presencia de *Staphylococcus aureus* utilizando métodos estandarizados, la AOAC 2003.07:2005 y LA ICMSF 2000.

3.4.1.2 Análisis Sensorial

Para evaluar la característica sensorial, es decir, el sabor, las hamburguesas de carne de res luego de ser tratadas con aceite esencial de romero y después de 21 días de almacenamiento fueron sometidas a un análisis sensorial, para lo cual se realizó previamente un análisis microbiológico completo a efectos de determinar presencia bacteriana como *Staphylococcus aureus*, aerobios mesófilos, *E. coli* y/o *Salmonella sp*, entre otros, que permitiera establecer la calidad sanitaria de las hamburguesas, para poder ser degustadas por una población de 30 panelistas no entrenados, de edades entre la 25 a 67 años, con grado de capacitación superior, quienes manifestaron su agrado o desagrado al sabor del producto con concentraciones diferentes a través de una escala hedónica de 5 puntos; que se muestra en la tabla N° 2.

TABLA Nº 2: ESCALA HEDÓNICA DE 5 PUNTOS

ESCALA	PUNTUACION	CALIFICACION FINAL EQUIVALENCIA
Me gusta mucho	5	Muy buena o excelente aceptabilidad
Me gusta	4	Buena aceptabilidad
Ni me gusta ni me disgusta	3	Regular aceptabilidad
No me gusta	2	Mala aceptabilidad
Me desagrada mucho	1	Muy mala aceptabilidad

Fuente laboratorio CERTILAB

El panel de catadores estuvo formado por amas de casas del distrito de Breña.

3.4.1.3 Determinación de la vida útil del producto con aceite esencial de romero

Para evaluar la vida útil de las hamburguesas de carne res sin aceite esencial y con aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) en diferentes concentraciones, en el lapso que transcurre entre su elaboración y su consumo se efectuó una descripción integral de color, olor, textura y otros cada 7 días y estableciendo sus diferencias entre ellas.

3.4.2 Instrumentos

Encuesta

La encuesta se realizó para ayudar a obtener información directa como ayuda en el estudio de investigación y poder obtener datos con más certeza.

La encuesta consiste en una evaluación hedónica de 5 puntos para determinar el nivel de agrado de las hamburguesas de carne de res, dentro de la escala hedónica están las preguntas como: “me desagrada mucho” con una puntuación de 1, “no me gusta” con una puntuación de 2, “ni me gusta ni me disgusta” con puntuación de 3, “me gusta” con puntuación de 4 y finalmente “me gusta mucho” con puntuación de 5, cada panelista marco con un aspa (x) la opción que más le parece .

CAPÍTULO IV:

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

Análisis microbiológicos

Los resultados obtenidos son reportados en la siguiente tabla

TABLA N° 3: ANALISIS MICROBIOLÓGICO PARA *Staphylococcus aureus* DURANTE 21 DIAS

DIAS	RESULTADOS			UNIDADES
	M1: Sin AER	M2: con 0.05ml de AER	M3: con 0.1ml de AER	
DÍA 1	< 10	< 10	< 10	UFC/g
DÍA 7	< 10	< 10	< 10	UFC/g
DÍA 14	< 10	< 10	< 10	UFC/g
DÍA 21	< 10	< 10	< 10	UFC/g

Fuente: laboratorio CERTILAB

La tabla N° 3 presenta el resultado final del análisis microbiológico de laboratorio, donde se obtuvo que en las tres muestras de hamburguesas de carne de res, (sin aceite esencial de romero, con 0.05 ml, y 0.1 ml de aceite esencial de romero) no se encontró presencia de *Staphylococcus aureus* a pesar de la manipulación directa a la que estuvieron expuestas desde su elaboración.

TABLA N° 4: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO COMPLETO A LOS 21 DÍAS DE ALMACENAMIENTO

ANÁLISIS	RESULTADOS			UNIDADES
	M1: Sin AER	M2 : con 0.05ml de AER	M3 : con 0.1ml de AER	
<i>Staphylococcus aureus</i>	< 10	< 10	< 10	UFC/g
aerobios mesófilos	3 94x10	3 84x10	3 34x10	UFC/g
<i>E. coli</i>	40	40	20	UFC/g
<i>Salmonella sp.</i>	ausencia	ausencia	ausencia	/25 g

Fuente: elaboración propia

La Tabla N° 4 presenta el resultado final del análisis microbiológico completo donde se verificó la ausencia microbiana de *Salmonella sp.* y la presencia microbiana de *E. Coli* y aerobio mesófilos, y sobre todo en mayores concentraciones en las muestras no influida por aceite esencial de romero.

ANALIS SENSORIAL

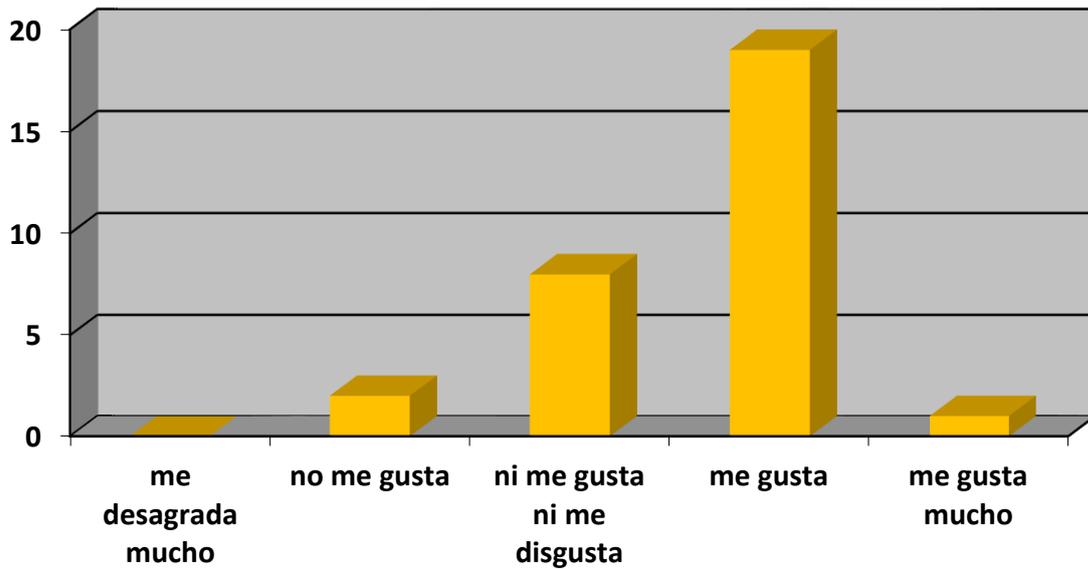
Los resultados obtenidos del análisis microbiológico completo a efectos de determinar presencia bacteriana como *Staphylococcus aureus*, aerobios mesófilos, *E. coli* y/o *Salmonella sp*, entre otros, para poder ser degustadas se muestra en la tabla N° 4

TABLA N° 5: ENCUESTA DEL ANALISIS SENSORIAL, ES DECIR, ELSABOR UTILIZANDO LA ESCALA HEDONICA DE 5 PUNTOS (VER TABLA 2)

		M 2	M 3
ESCALA	PUNTUACION	PUNTUACION TOTAL	PUNTUACION TOTAL
Me gusta mucho	5	1	1
Me gusta	4	19	13
Ni me gusta ni me disgusta	3	8	13
No me gusta	2	2	3
Me desagrada mucho	1	0	0

La tabla N° 5 muestra los resultados de la encuesta realizada a 30 panelista quienes manifestaron su nivel de agrado

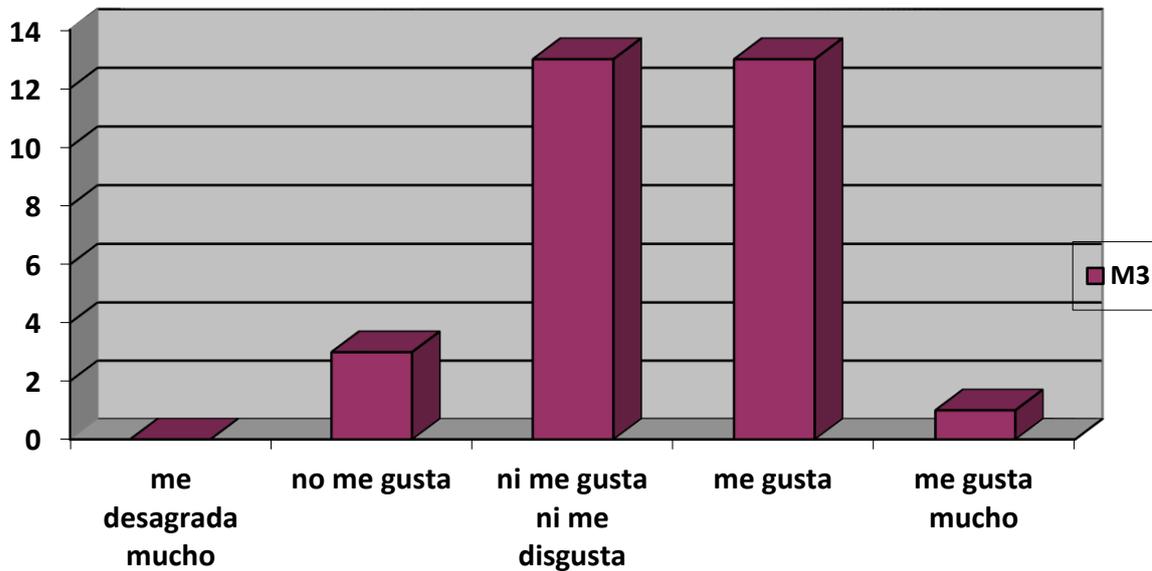
FIGURA N° 2: EVALUACION SENSORIAL DE LA MUESTRA N° 2 CON 0.05 ml DE ACEITE ESENCIAL *Rosmarinus officinalis*.



Fuente: elaboración propia

La FIGURA N° 2 se evidencia que un grupo mayoritario opta por la opción “ME GUSTA” cuando las hamburguesas de carne de res tiene una mínima aplicación de aceite esencial de romero (0.05 ml).

FIGURA N° 3 EVALUACION SENSORIAL DE LA MUESTRA N° 3 CON 0.1 ml DE ACEITE ESENCIAL *Rosmarinus officinalis*



Fuente: elaboración propia

En la figura N° 3 se evidenció que hubo una disminución poco significativa en la cantidad de personas que optaron por “Me Gusta” respecto de las hamburguesas de carne de res con una aplicación mayor de aceite esencial de romero. Si bien es cierto una mayor concentración de aceite de romero genera un disgusto en los participantes, en términos cuantitativos no es un porcentaje elevado por lo que se puede deducir aún permanece un agrado a dicho sabor en una buena cantidad de encuestados.

En la figura N° 2 se evidencio la buena aceptabilidad de las hamburguesas con 0.05 ml de aceite esencial de romero en comparación con la muestra N° 3 que tiene una regular aceptación

**DETERMINACION DE LA VIDA UTIL DEL PRODUCTO CON ADICION DE ACEITE
ESENCIAL DE ROMERO (Rosmarinus officinalis)**

TABLA N° 6: RESULTADO AL DÍA 1 DE TRATAMIENTO

CARACTERÍSTICAS				
Tratamiento	Olor	Color	Textura	Otros
M1:sin AER	Normal a producto cárnico	Normal	Consistenci a normal	Ninguna
M2: Con 0.05 ml de AER	Normal a producto cárnico	Normal de hamburguesa de carne	Consistenci a normal	Ninguna
M3: Con 0.1 ml de AER	Normal a producto cárnico	Normal de hamburguesa de carne	Consistenci a normal	Ninguna

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 6 muestra la descripción integra de olor, color, textura y otros, que se realizó a las muestras de hamburguesas de res.

TABLA N° 7: RESULTADO A LOS 7 DÍAS DE TRATAMIENTO

CARACTERISTICAS				
TRATAMIENTO	OLOR	COLOR	TEXTURA	OTROS
M1:sin AER	Normal a producto cárnico	Normal	Consistencia normal	Ninguna
M2: Con 0.05 ml de AER	Normal a producto cárnico	Normal de hamburguesa de carne	Consistencia normal	Ninguna
M3: Con 0.1 ml de AER	Normal a producto cárnico	Normal de hamburguesa de carne	Consistencia normal	Ninguna

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 7 muestra una descripción íntegra de olor, color, textura, y otros que se realizó a las muestras de hamburguesas de res, no mostrando algún cambio significativo

TABLA N° 8: RESULTADO A LOS 14 DÍAS DE TRATAMIENTO

CARACTERISTICA				
TRATAMIENTO	OLOR	COLOR	TEXTURA	OTROS
M1:sin AER	Normal a producto cárnico	Normal	Consistencia normal	Ninguna
M2: Con 0.05 ml de AER	Normal a producto cárnico	Normal de hamburguesa de carne	Consistencia normal	Ninguna
M3: Con 0.1 ml de AER	Normal a producto cárnico	Normal de hamburguesa de carne	Consistencia normal	Ninguna

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 8 muestra una descripción integra de olor, color, textura, y otros que se realizó a las muestras de hamburguesas de res, no mostrando algún cambio significativo

TABLA N° 9: RESULTADO A LOS 21 DÍAS DE TRATAMIENTO

CARACTERISTICAS				
TRATAMIENTO	OLOR	COLOR	TEXTURA	OTROS
M1: sin AER	Normal a producto cárnico	algo verdoso	consistencia blanda	Hay fluidos pero no hay descomposición
M2: Con 0.05 ml de AER	Normal a producto cárnico	Normal de hamburgues a de carne	Consistencia normal	Hay fluidos en la muestra pero no hay descomposición
M3: Con 0.1 ml de AER	Normal a producto cárnico	Normal de hamburgues a de carne	Consistencia normal	Hay fluidos en la muestra pero no hay descomposición

Fuente: elaboración propia

En la tabla N° 9 muestra una descripción integra de olor, color, textura y otros que se realizó a las muestras de hamburguesas de res sin aceite esencial de romero, con 0.05ml y 0.1 ml de aceite esencial, en donde la muestra que NO tiene aceite esencial de romero (M1) presenta cambios en el color y textura en comparación con las otras muestras que tiene aceite de romero.

ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

Luego del análisis microbiológico y análisis sensorial que se aplicaron en el presente estudio se lograron obtener los siguientes resultados:

a) Presencia de *Staphylococcus aureus* en las hamburguesas de carne.- Habiéndose aplicado un análisis microbiológico de laboratorio se obtuvo como resultado que en las tres muestras de hamburguesas de carne de res, (sin aceite de romero, con 0.05 ml, y 0.1 ml de aceite de romero) no se encontró presencia de *Staphylococcus aureus* a pesar de la manipulación directa a la que estuvieron expuestas desde su elaboración, ya que los resultados obtenidos evidenciaron su ausencia, por lo que de tal forma no se trasgrede lo dispuesto por la NTS; sin embargo cabe resaltar que dicho análisis microbiológico sí verificó la presencia microbiana de *E. Coli* y aerobio mesófilos, y sobre todo en mayores concentraciones en las muestras no influida por aceite esencial de romero; es en tal sentido, a la luz de estos resultados, que no se puede decir categóricamente que el aceite esencial de romero tiene actividad conservadora en hamburguesas de carne de res respecto del *Staphylococcus aureus*, ya que se determinó su ausencia, sin embargo de estos mismos resultados se evidencia un efecto conservador o inhibitorio respecto de otras especies bacterianas, por lo que se puede presumir dicha característica en el aceite esencial de romero.

b) Análisis sensorial de las hamburguesas de carne con aplicación de aceite esencial de romero.- Para esta comprobación se realizó un análisis sensorial a través de una escala hedónica de 5 puntos, verificándose la aceptabilidad de las hamburguesas de carne de res con diferentes concentraciones de aceite esencial de romero, y que el producto influido por menores concentraciones de aceite esencial de romero (0.05 ml)

presentó una buena aceptabilidad ya que no es afectado drásticamente el sabor de la hamburguesa de carne de res y el producto con 0.1 ml de aceite de romero presentó una regular aceptabilidad por lo que se puede deducir aún permanece un agrado a dicho sabor.

c) Vida útil del producto con influencia del aceite esencial de romero.- Finalmente a través de la observación directa se evidenció que el aceite esencial de romero, alargó la vida útil de la hamburguesa de carne de res por un tiempo de 40 días a la que se aplicó este aceite esencial, en comparación con la muestra de hamburguesa que no contaba con dicho elemento.

Los comentarios emitidos por los panelista, confirman que la concentración de aceite esencial de romero para la elaboración del producto es de 0.05ml ya que en general las hamburguesas de carne de res presentan la característica del sabor muy similar a las ya existentes en el mercado.

DISCUSIÓN

- Habiéndose realizado el análisis microbiológico correspondiente que determinó la presencia microbiana de *E. coli* y aerobios mesófilos, en las hamburguesas de carne de res y en mayores concentraciones en las muestras no influida por aceite esencial de romero, se observa a través de los resultados la actividad conservadora e inhibitoria del aceite esencial de romero para dichas bacterias ya mencionadas, resultado que es concordante con el estudio **Efectividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre flora salival** realizada por Taylor Pitágoras Purca Peña (2013) quien menciona que presenta una efectividad antibacteriana sobre flora salival y que a medida que aumenta la concentración del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (de 25 mg/ml a 75 mg/ml) se obtiene un mayor diámetro del halo de inhibición.
- De los resultados obtenidos del análisis microbiológico completo para determinar presencia microbiana de aerobios mesófilos y *E. coli* se evidencia que las hamburguesas de carne de res sin aceite esencial de romero tiene un mayor crecimiento de dichas bacterias en comparación con las hamburguesas influidas con aceite esencial de romero llegando a la conclusión que el aceite esencial de romero retarda el crecimiento microbiano de aerobios mesófilos y *E. coli* siendo concordante con la tesis realizada por Maria del Cisne Miranda Jumbo y Pinetta (2012) **“Evaluación del uso de propóleo (propolis) y romero (*rosmarinus officinalis*) como antimicrobiano en dos cortes de**

carne res mejorada” se llega a la conclusión que el extracto de romero retarda el crecimiento microbiano en aerobios mesófilos en dos músculos de res mejorados (*M. Rhomboideus*, *M. Abdominus obliquuos*) durante su almacenamiento en refrigeración con empaque termo encogible y al vacío. Y que la adición de extracto de romero y tintura de propóleo en alcohol no influyó en la fuerza de corte carne de res mejorada y los panelistas no detectaron ninguna diferencia. El romero no afectó en los valores de color. Y finalmente se concluye que la adición de extracto de romero y tintura de propóleo en alcohol aumentaron el rendimiento de cocción de dos corte de res mejorados.

- De esta forma por los resultados obtenidos en el análisis sensorial y determinación de vida útil se percibe que las hamburguesas de carne de res con menor concentración (0.05ml) de aceite de romero es de mayor agrado al consumidor, en comparación con la muestra de mayor concentración (0.1ml) de dicho elemento, ya que la característica del sabor con 0.05 ml de aceite de romero no son muy marcadas, siendo de mayor agrado; y finalmente a través de la observación directa se evidencia que el aceite esencial de romero, alarga la vida útil de la hamburguesa de carne de res por un tiempo de 40 días, en comparación con la muestra de hamburguesa que no contaba con dicho elemento, resultado comparable a lo señalado en el estudio **Evaluación del efecto de la aplicación de un antioxidante natural a base de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) en aceite para freír** donde se logró duplicar la vida útil del aceite de freír para pollo y papa, el cual luego de ser utilizado 8 días pasó a ser utilizado 15 días, y que al aplicar antioxidante a base de romero

al aceite utilizado en el proceso de fritura para pollo y papas, no proporciona ningún aroma o sabor característico ajeno al producto final obtenido.

- Finalmente los resultados obtenidos de la determinación de vida útil de las hamburguesas de carne de res ,a través de la observación directa se evidencio que las muestras que NO tiene aceite esencial de romero presentan cambios en el color y textura en comparación con las otras muestras que tiene aceite esencial de romero, de tal manera se concluye que el aceite esencial de romero retrasa la rancidez de las hamburguesas de carne de res, estos resultados son concordante con el estudio **“Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extracto etanólicos de romero y de chile ancho y su aplicación en un batido cárnico”** determinaron la actividad antioxidante por la técnica del ABTS, comparándolo con antioxidantes sintéticos, BHA y BHT. Se concluye que los extractos etanólicos de romero y de chile ancho en la formulación de productos cárnicos emulsionados puede ser una buena alternativa para mejorar la calidad nutricional de este tipo de alimentos, ya que retardan la rancidez de grasa y ayudan en el control microbiológico, dándole un extra al enriquecer su composición con estos ingredientes¹².

CONCLUSIONES

- El uso del aceite esencial de romero aplicado en las hamburguesas de carne alargó la vida útil del producto en comparación con las muestras que no tienen dicho elemento.
- La característica sensorial, es decir el sabor, de las hamburguesas de carne de res con 0.05ml y 0.1 ml de aceite esencial de romero son aceptadas por el consumidor, pero sin embargo se prefiere en menores concentraciones de aceite esencial de romero, ya que es de mayor agrado y no es afectado drásticamente en el sabor.
- No hubo presencia de *Staphylococcus aureus* en las hamburguesas de carne de res según análisis microbiológico, a pesar de la manipulación directa a la que estuvieron expuestas desde su elaboración hasta su consumo

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un estudio de análisis sensorial como olor, color, y sabor usando diferentes concentraciones de aceite esencial de romero e incluso realizar un cuadro comparativo con una muestra patrón para poder obtener mejores resultados en cuanto a su aceptación para el público consumidor.
- Con la finalidad de obtener mejores resultados respecto de la vida útil de la hamburguesa de carne de res y su nivel de deterioro, se recomienda realizar estudios en la elaboración de hamburguesa de carne con un almacenamiento de 4°C.
- De los resultados obtenidos se desprende la necesidad y por tanto la recomendación de continuar desarrollando más estudios de investigación acerca de este tema, que abarquen la evaluación de la actividad conservadora e inhibidora del romero frente a productos cárnicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Vargas del Río, L.M., Taborda Ocampo, G. (2006). "Nitrosaminas en productos cárnicos: formación e impacto". *Biosalud*, Vol. 5. pp. 101-131.
2. Jakszin P. Nitrosaminas y riesgo de cáncer gástrico. Instituto Catalán de Oncología. Tesis doctoral. 2006. Disponible en: <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/7167/tpj.pdf?sequence=1>
3. Argentina investiga. Tomillo y orégano;; conservantes naturales para carne de las hamburguesas. 15 de setiembre del 2014. Disponible en: http://argentinainvestiga.edu.ar/noticia.php?titulo=tomillo_y_oregano:_conservantes_naturales_para_carne_de_hamburguesas&id=2178#.VkPepFXhDct .
4. Avila R; Navarro AR; Vera O; Dávila RM; Melgoza N; Meza R. Romero (*Rosmarinus officinalis L.*): una revisión de sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar* 2011, XV (43): 23-36.
5. Cottone, E. Uso de extracto de romero en carnes. *Mundo Lácteo y Cárnico*, 2010: 2(1): 21-24.
6. Faixova, Z. & S. Faix. 2008. Biological effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) essential oil. *Folia Veterinaria*, 52(3): 135-139.
7. Fernández A, Izquierdo P, Valero K, Allara M, Piñero M, García A. Efecto del Tiempo y Temperatura de Almacenamiento Sobre la Calidad Microbiológica de Carne de Hamburguesa. *Rev. Cient. (Maracaibo)* v.16 n.4 Maracaibo jul. 2006

8. Organización Mundial de la Salud. Carcinogenicidad del consumo de carne roja y de la carne procesada. Octubre 2015. Disponible en: <http://www.who.int/features/qa/cancer-red-meat/es/>

9. Bautista JA. Evaluación del efecto de la aplicación de un antioxidante natural a base de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) en aceite para freír. Tesis para optar al grado de Ingeniero Químico. Universidad San Carlos, Guatemala, 2014. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1435_Q.pdf

10. Hernández E, Ponce E, Jaramillo ME, Guerrero I. Efecto antioxidante de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis* L.), de salvia de bolita (*Buddleia perfoliata* Kunth) y de orégano mexicano (*Lippia* spp) en pastas cárnicas. Tercera reunión nacional sobre orégano. Edición especial N° 1- 2008. Disponible en: [file:///C:/Users/Ross%20Angela/Downloads/19_Hernandez-hernandez%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Ross%20Angela/Downloads/19_Hernandez-hernandez%20(1).pdf)

11. Miranda Jumbo, MC; Pinetta Grajeda. M. Evaluación del uso de propóleo (*Propolis*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) como antimicrobiano en dos cortes de carne res mejorada. Tesis para optar al grado de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras, 2012.

12. Monroy A; García I; Totosaus A. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de romero y de chile ancho y su aplicación en un batido cárnico. NACAMEH Vol.3 N° 1pp. 21-32, 2009.

13. Ardila M, Vargas A, Pérez J, Mejía L. Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia*

caryophyllata, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. Biosalud. 2009 ene/dic; 8: 47-57.

14. Purca TP. Efectividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival. Tesis para optar al grado de cirujano dentista. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2013. Disponible en:

<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3092>

15. Alonso, J.R. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos, 2a. ed., Corpus, Buenos Aires, 2004. 545 pp.

16. Sardans, J., F. Roda & J. Peñuelas. Effects of water and nutrient pulse supply on *Rosmarinus officinalis* growth, nutrient content and flowering in the field. *Environmental and Experimental Botany*, 2005. 53(1): 1-11.

17. Khorshidi, J., M. Rahmat, F.T. Mohamed & N. Himan. Influence of drying methods, extraction time, and organ type on essential oil content of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Natural Science*, 2009. 7(11): 42-44.

18. Perú ecológico. Romero (*Rosmarinus officinalis*). Disponible en: http://peruecologico.com.pe/flo_romero_1.htm

19. Atti-Santos, C., M. Rossato & P. Fernandez. Physicochemical evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2005. 52(6):1035-1039.

20. Botsaris, A.S. Fitoterapia Chinesa e Plantas Brasileiras. Ícone, São Paulo, 234 pp, 1995.
21. Montes de Oca, R.G. Elaboración y control de comprimidos fitofarmacéuticos de ajeno (*Artemisia absinthium* L), romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) para combatir la menstruación dolorosa. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. 2010.
22. Tschinggerl, C. & F. Bucar. Investigation of the volatile fraction of rosemary infusion extracts. *Scientia Pharmaceutica*, 2010. 1(4): 483-492.
23. Peyman, S. & F.A. Reza. Rapid essential oil screening of *Rosmarinus officinalis* L., by hydrodistillation-head space solvent microextraction. *Journal of Flavour and Fragrance*, 2007. 10(5): 1002-1007.
24. Mierlici, I.D. Phytochemical study of some active principles with antioxidant action from the *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* species. *Analele Stiintifice ale Universitatii Alexandru Ioan Cuza. Génova Italia*. 2009.
25. Rozman, T. & B. Jersek. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta Agrícola Slovenia*, 2009. 93(1): 51-58.
26. Miresmailli, S. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Management Science*, 2006. 62(6): 366-371.

27. Abe, F. Yamauchi, T. Nagao, J. Finjo & H. Okabe. Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2002. 25(1):1485-1487.
28. Gholamreza, K. & H. Mohammad. Protective effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil against free radical. *Induced erythrocyte Lyss. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2005. 1(4): 231-236.
29. Asada, K., The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1999. 50: 601-639.
30. Cantrell, C.L., S.L. Richheimer & M.N. Gillian. 2005. Seco- Hinokol, a new abietane diterpenoid from *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Natural Products* 68(1):98-100.
31. Islamcevic, R. Determination of major phenolic acids, phenolic diterpenes and triterpenes in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by gas chromatography and mass spectrometry. *Acta Chimica Slovenica*, 2007. 54(1): 60-67.
32. Tsuji, M., K. Miyagawa, T. Takeuchi & H. Takeda. Pharmacological characterization and mechanisms of the novel antidepressive- and/or anxiolytic-like substances identified from *Perillae herba*. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 2008. 28(4): 159-167.
33. Rojas, M.C. & M.S. Brewer. Effect of natural antioxidants on oxidative stability of cooked, refrigerated beef and pork. *Journal of Food Science*, 2007. 72(4): S282–S288.

34. Sebranek, J.G., V.J.H. Sewalt, K.L. Robbins & T.A. Houser. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, 2005. 69(3), 289-296.
35. Romero, G.L., B.S. Bautista & N.L. Barrera. antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 2010. 28(1): 44-57.
36. Armenteros M; Ventanas S; Morcuende D; Estévez M; Ventanas J. Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne* N° 207, junio 2012, pp.63-73. Disponible en:
www.eurocarne.com/daal?a1=boletin_imagenes&a2=20705.pdf
37. Marx, J.L. (1987). Oxygen free radicals linked to many diseases. *Science*, 235:529-31.
38. stévez, M., Kylli, P., Puolanne, E., Kivikari, R. y Heinonen, M. (2008). Oxidation of skeletal muscle myofibrillar proteins in oil-in-water emulsions: interaction with lipids and effect of selected phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10933–10940.
39. Bou, R., Codony, R., Tres, A. y Decker, E.A. (2009). Dietary strategies to improve nutritional value, oxidative stability and sensory properties of poultry products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 8: 800- 822.

40. Verbeke, W., Van Oeckel, Warnants, N., Viaene, J. y Boucque, C.V. (1999). Consumer perception, facts and possibilities to improve acceptability of health and sensory characteristics of pork. *Meat Science*, 53: 77-99.
41. Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*, 89: 259-279.
42. Sante-Lhoutellier, V., Aubry, L., y Gatellier, P. (2007). Effect of oxidation on in vitro digestibility of skeletal muscle myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 13: 5343-5348.
43. Lund, M.N., Heinonen, M., Baron, C.P. y Estévez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55 1: 83-95.
44. Lund, M. N., Hviid, M. S., y Skibsted, L. H. (2007). The combined effect of antioxidants and modified atmosphere packaging on protein and lipid oxidation in beef patties during chill storage. *Meat Science*, 76: 226–233.
45. Pettersen, M. K., Mielnik, M. B., Eie, T., Skrede, G. y Nilsson, A. (2004). Lipid oxidation in frozen, mechanically deboned turkey meat as affected by packaging parameters and storage conditions. *Poultry Science*, 83: 1240–1248.
46. Halliwell, B. y Gutteridge, J. M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 186: 1–85.

47. Franco D, Moure A. Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Xunta de Galicia. Santiago de Compostela. Gráficas Garabal S.L., 2010.
48. Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaflo lu, B., Berker, K. I., y Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the Cuprac assay. *Review-Molecule*, 12: 1496-1547
49. Ordoñez, J.A., Cambero, M^a. I., Fernández, L., García, M^a. L., García de Fernando, G., De la Hoz, L. y Selgas, M^a. D. (1998). Capítulo III: Lípidos. En *Tecnología de los Alimentos*, Volumen I. Ed: Ordoñez, J.A. Editorial Síntesis, S.A. Madrid (España).
50. Vuorela, S., Salminen, H., Makela, M., Kivikari, R., Karonen, M. y Heinonen, M. (2005). Effect of plant phenolics on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8492–8497.
51. Estévez, M., Kylli, P., Puolanne, E., Kivikari, R. y Heinonen, M. (2008). Oxidation of skeletal muscle myofibrillar proteins in oil-in-water emulsions: interaction with lipids and effect of selected phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10933–10940.
52. Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torrescano, G., Beltrán, J.A., y Roncalés, P. (2001). The effects of ascorbic acid, taurine, carnosine and rosemary powder on colour and lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere. *Meat Science*, 58:421-429.

53. Estévez, M., Ventanas, S., Ramirez, R. y Cava, R. (2005). Influence of the addition of Rosemary essential oil on the volátiles pattern of porcine frankfurters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (21): 8317-8324.
54. Estévez, M., Ventanas, S. y Cava, R. (2007a). Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chemistry*, 100: 55–63.
55. Altan, A., McCarthy, K.L. y Maskan, M. (2008). Evaluation of snack foods from barley-tomato pomace blends by extrusion processing. *Journal of Food Engineering*, 84: 231-242.
56. Mitsumoto, M., O'Grady, M.N., Kerry, J.P. y Buckley, D.J. (2005). Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Science*, 69: 773-779.
57. Tanabe, H., Yoshida, M., y Tomita, N. (2002). Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Animal Science Journal*, 73: 389–393.
58. Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., y Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 3954-3962.
59. Estévez, M., Ramírez, R., Ventanas, S. y Cava, R. (2007b). Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté. *LWT Food Science and Technology*, 40 (1): 58–65.

60. Ganhão, R., Morcuende, D. y Estévez, M. Tryptophan depletion and formation of alpha-amino adipic and gamma-glutamic semialdehydes in porcine burger patties with added phenolic rich fruit extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 3541–3548.
61. Ganhão, R., Morcuende, D. y Estévez, M. Protein oxidation in cooked burger patties with added fruit extracts: influence on colour and texture deterioration during chill storage. (2010). *Meat Science*, 85: 402-409.
62. Bandoni, A. (Ed), *Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores*, 1ª edición, La Plata, 2000, p.p. 27.
63. Stashenko, E.; En: *Memorias del IV Congreso Nacional de fitoquímica*, Universidad Industrial de Santander, Escuela de Química, Bucaramanga, febrero de 1996, pp. 29-53.
64. Martínez A. aceites esenciales , facultad química farmacéutica Medellín febrero 2012 . disponible en:

<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>
65. Fernando M, *Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado*, 2002 1era edición pp 4-10.
66. Amerling, C. *Tecnología de la carne: antología*. De. EUNED, 2001

67. Ranken, M. D. Manual de industrias de la carne. Ed. Mundi-Prensa Libros, 2003
68. Lorena, Augusto C. La elaboración de carne picada y Hamburguesas super congeladas. 1999
69. Narváez, C.; parra, K.; Huerta, N.; Rodas, A. Evaluación del desempeño higiénico al procesar hamburguesas en una pequeña planta de Maracaibo. Rev. Científica FCV-LUZ. XI. 2001.
70. San Roman Suarez I. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal, universidad Nacional San Mayo de Marco 2013.
71. Cubero N., A. Monferrer, y J. Villalta. Aditivos Alimentarios, Mundi- presa Libros, 2002.
72. Borraz C., Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en hospitales españoles (2006)
73. lozano C. Epidemiología molecular de *Staphylococcus aureus* Resistente a meticilina del linaje CC398 de distintos orígenes :resistencia ,virulencia y contenido plasmidico , universidad de roja 2014.
74. Federación café , Antioxidantes y radicales libre disponible en :
<http://www.federacioncafe.com/Documentos/CafeYSalud/CafeYAntioxidantes/Radicales%20libres.pdf>

ANEXOS

ANEXO Nº 1: FOTOGRAFIAS

FOTO Nº 1: HAMBURGUESAS DE CARNE DE RES



FOTO Nº 2: HAMBURGUESA EN PROCESO DE DESCONGELACIÓN ADQUIRIENDO LA TEMPERATURA ADECUADA PARA PODER SER TRABAJADA



FOTO N° 3: PREPARACION DEL DILUYENTE “AGUA PEPTONADA”



FOTO N° 4: SE AGREGA 10 g DE MUESTRA (hamburguesa con 0.05 ml de AER) AL AGUA PEPTONADA



HAMBURGUESA
CON 0.05 ML DE AER

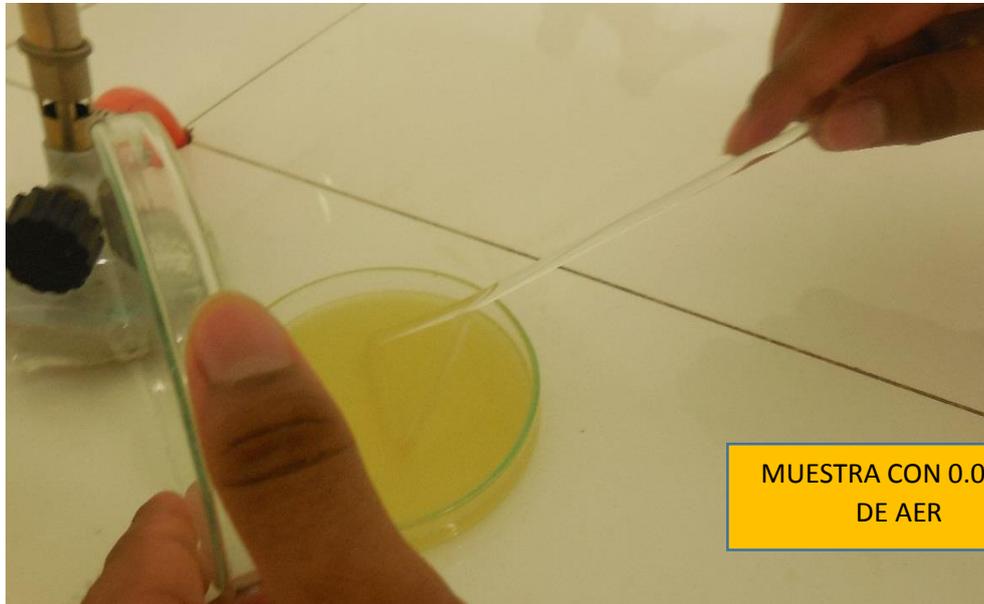
FOTO Nº 5: HAMBURGUESAS (MUESTRAS) DIGREGADAS



FOTO Nº 6: SIEMBRA DEL INOCULO (MUESTRA CON 0.05 ml de AER) SOBRE UN MEDIO BAIK PARKER



FOTO N° 7: EXTENSION DEL INOCULO (MUESTRA CON 0.05 ml de AER) CON LA ESPATULA DE DRIGALSKY



ANEXO N° 2: ENCUESTA

FICHA DE EVALUACION HEDÓNICA		
INDICACIÓN: MARQUE CON UNA X LA DESCRIPCION QUE UD MEJOR ASOCIE CON LA MUESTRA		
RESULTADOS DE LA EVALUACION		
	M 2	M 3
ME GUSTA MUCHO		
ME GUSTA		
NI ME GUSTA NI ME DISGUSTA		
NO ME GUSTA		
ME DESAGRADA MUCHO		

ANEXO N° 3 MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROYECTO DE TESIS: ACTIVIDAD CONSERVADORA DEL ACEITE ESENCIAL ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)

BACHILLER: APAZA GONZALES, Rocio Pamela

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿Cuál es la actividad conservadora del aceite esencial de romero aplicado en la preparación de hamburguesa de carne?</p> <p>Problemas Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Cuál es la vida útil de la hamburguesa de carne 	<p>Determinar la actividad conservadora del aceite esencial de romero aplicado en la preparación de hamburguesa de carne.</p> <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Calcular la vida útil de la hamburguesa 	<p>El aceite esencial de romero es eficiente en la conservación de hamburguesa de carne</p> <p>Hipótesis Específicas</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ El aceite esencial de romero aplicado en la 	<p style="text-align: center;">Tipo de investigación</p> <p>Descriptivo porque se precisó cómo se manifestó el aceite esencial de romero frente a un determinado fenómeno.</p> <p>Prospectivo porque la recolección se realizó después de evaluarse la vida</p>	<p>Método de investigación</p> <p>Deductivo porque se cogió de lo general y lo llevó a lo individual, al hecho correcto. Donde las bases científicas obtenidas debidamente del romero fundamentaron el proyecto que se realizó.</p>	<p>Variable Independiente (y)</p> <p>Y: Aceite esencial de romero.</p> <p>Indicadores :</p> <p>Y1: concentración del aceite esencial de romero.</p>	<p>Población</p> <p>Aceite esencial de romero</p> <p>Muestra</p> <p>-Hamburguesa con aceite esencial de romero.</p> <p>-Hamburguesa con aceite esencial de romero.</p>

<p>después de haber aplicado el aceite esencial de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)?</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ ¿Cuál es la característica sensorial del sabor de la hamburguesa de carne de res después de haber aplicado el aceite esencial de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)? ■ ¿Cuál es el límites máximos permitidos para <i>Staphylococcus aureus</i> en la hamburguesa de carne? 	<p>de carne después de haber aplicado el aceite esencial de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>).</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Evaluar la característica sensorial el sabor, de la hamburguesa de carne de res después de haber aplicado el aceite esencial de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>). ■ Determinar la presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en las hamburguesas de carne de res en una cantidad superior al límite máximo permitido 	<p>elaboración de hamburguesa de carne alarga la vida útil.</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ El aceite esencial de romero aplicado en la elaboración de hamburguesa de carne de res altera la característica sensorial, el sabor. ■ Hay presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en la hamburguesa de carne de res en una cantidad superior al límites máximos permitido. 	<p>útil de las hamburguesas de carne, el efecto conservante del aceite esencial romero y el posible cambio sensorial.</p> <p>Longitudinal porque se realizó en un determinado periodo de modo que permitió hacer interferencias con respecto a las variables.</p>	<p>Técnica</p> <p>Cuantitativa</p> <p>Diseño de la investigación</p> <p>Experimental</p>	<p>Variable dependiente(x)</p> <p>X: Actividad Conservadora</p> <p>Indicadores</p> <p>-UFC</p> <p>-<i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>-Calidad sensorial</p>	
---	--	--	---	--	---	--

