



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **FACULTAD DE VETERINARIA**

Extensión de la Vida Comercial de la Carne  
de Cordero mediante Suplementación Dietética  
con Extracto de Romero

**D. Rafael Serrano Espada**

**2014**



## **Agradecimientos**

En primer lugar, quiero dar las gracias al Dr. Sancho Bañón por confiar en mí para realizar este trabajo, por su tiempo y su paciencia durante la dirección de la Tesis y, en definitiva, por darme la oportunidad de ser Doctor. Siempre le estaré agradecido por ello.

También quiero mostrar mi agradecimiento a los miembros del IMIDA y de la empresa Nutrafur S.A. que han participado en el proyecto y, por supuesto, a todo el personal del Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Murcia. Principalmente a mis compañeros de despacho, los que estuvieron y los que están. La mayoría han contribuido, en mayor o menor medida, a la realización de esta Tesis, y de todos ellos he aprendido cosas que me han ayudado a mejorar personal y profesionalmente. Muchas gracias a todos.

En último lugar, siendo para mí la más importante, quiero dar las gracias a Marta, mi mujer, por estar siempre a mi lado, por reír conmigo en los buenos momentos y animarme en los malos, y por quererme, valorarme y soportarme mucho más de lo que merezco. A ella le dedico esta Tesis.



	Página
<b>1. ÍNDICE.....</b>	<b>1</b>
1.1. Índice de tablas.....	4
1.2. Índice de figuras.....	12
1.3. Abreviaturas.....	21
1.4. Tabla de unidades.....	23
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>24</b>
2.1. Introducción.....	24
2.2. Producción y consumo de cordero y perspectivas futuras.....	28
2.3. Normativa específica para la producción y el consumo de carne....	33
2.4. Calidad de la carne ovina.....	34
2.4.1. Atributos de calidad.....	36
2.4.2. Factores que afectan a la calidad.....	39
2.4.3. Métodos para evaluar la calidad de la carne cruda y cocinada.....	54
2.4.3.1. Físicos.....	54
2.4.3.2. Químicos.....	54
2.4.3.3. Microbiológicos.....	58
2.4.3.4. Sensoriales.....	62
2.4.4. Mecanismos de deterioro de la carne cruda y cocinada.....	57
2.4.4.1. Oxidación de la carne.....	57
2.4.4.2. Deterioro microbiológico.....	75
2.4.4.3. Deshidratación, retracción y otras alteraciones.....	77
2.5. Estrategias para extender la vida comercial de la carne.....	79
2.5.1. Aplicación de frío.....	81
2.5.2. Envasado y atmósferas protectoras.....	82
2.5.3. Iluminación.....	92
2.5.4. Irradiación.....	93
2.5.5. Uso de altas presiones hidrostáticas.....	95
2.5.6. Métodos combinados.....	96
2.5.7. Aditivos antioxidantes y antimicrobianos.....	97
2.5.8. Conservantes naturales.....	99

2.6.	Empleo de fitoquímicos en alimentación animal.....	103
2.6.1.	Plantas aromático medicinales (PAMs).....	108
2.6.2.	Romero y derivados.....	114
2.6.2.1.	Características botánicas y agronómicas.....	114
2.6.2.2.	Tipos de derivados y uso.....	116
2.6.2.3.	Principios activos antioxidantes y antimicrobianos..	122
2.6.2.4.	Biodisponibilidad de los principios activos.....	125
2.6.2.5.	Efectos beneficiosos para la salud.....	131
2.6.2.6.	Efectos conservantes sobre la carne.....	132
	➤ Uso de romero como aditivo en carne y derivados.....	132
	➤ Uso de romero como suplemento dietético para animales.....	136
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>143</b>
<b>4.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>144</b>
4.1.	Diseño experimental.....	144
4.2.	Extractos.....	145
4.3.	Dietas experimentales.....	148
4.4.	Cría de ovejas y corderos.....	150
4.5.	Sacrificio y obtención de canales.....	153
4.6.	Procesado de la carne cruda.....	153
4.7.	Procesado de la carne cocinada.....	154
4.8.	Toma de muestras.....	156
4.9.	Análisis físico-químico.....	156
4.10.	Análisis microbiológico.....	162
4.11.	Análisis sensorial.....	163
	4.11.1. Entrenamiento del panel de catadores.....	163
	4.11.2. Análisis sensorial descriptivo cuantitativo.....	165
4.12.	Análisis estadístico.....	168

---

<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>169</b>
5.1. Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg <sup>-1</sup> de extracto tipificado de romero 2:1 (ácido carnósico: carnosol).....	169
5.1.1. Deterioro y vida comercial de la carne cruda.....	169
5.1.2. Deterioro y vida comercial de carne cocinada.....	186
5.2. Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg <sup>-1</sup> de extracto tipificado de romero 1:1 (ácido carnósico: carnosol).....	200
5.2.1. Deterioro y vida comercial de la carne cruda.....	200
5.2.2. Deterioro y vida comercial de carne cocinada.....	215
5.3. Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 y 400 mg kg <sup>-1</sup> de extracto tipificado de romero 1:1 (ácido carnósico: carnosol).....	229
5.3.1. Deterioro y vida comercial de la carne cruda.....	229
5.3.2. Deterioro y vida comercial de carne cocinada.....	244
5.4. Correlaciones.....	258
5.4.1. Carne cruda.....	258
5.4.2. Carne cocinada.....	261
5.5. Comparativa de los ensayos primero, segundo y tercero.....	263
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>269</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>289</b>
<b>8. RESUMEN.....</b>	<b>290</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>291</b>

**1.1. Índice de tablas.**

	Página
<b>Tabla 1.</b>	
Composición porcentual del aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	118
<b>Tabla 2.</b>	
Perfil polifenólico de dietas suplementadas con distintas dosis de hoja de romero libre de aceite esencial.....	119
<b>Tabla 3.</b>	
Concentración de los principales compuestos polifenólicos presentes en diferentes extractos de hoja de romero (CA 1-CA 5 y RO) (% contenido absoluto).....	120
<b>Tabla 4.</b>	
Perfil polifenólico de carne cruda de cordero procedente de ovejas suplementadas dietéticamente con hoja de romero libre de aceite esencial.....	130
<b>Tabla 5.</b>	
Cuadro resumen de los estudios sobre suplementación dietética con romero realizados en ovino.....	141
<b>Tabla 6.</b>	
Contenido en ácido carnósico y carnosol ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) del los extractos de romero 1:1 y 2:1.....	148
<b>Tabla 7.</b>	
Composición del pienso base de ovejas y corderos.....	149
<b>Tabla 8.</b>	
Contenido ácido carnósico y carnosol ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) del pienso tras la adición de los extractos de romero 1:1 y 2:1.....	150



**Tabla 9.**

Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) del lomo (día 0 de almacenamiento) procedente de corderos con diferentes niveles de suplementación dietética con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1..... 169

**Tabla 10.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los parámetros físico-químicos y microbiológicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 173

**Tabla 11.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los parámetros físico-químicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 174

**Tabla 12.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la calidad microbiológica de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 175

**Tabla 13.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 181

**Tabla 14.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 182

**Tabla 15.**

Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) de las hamburguesas cocinadas (día 0 de almacenamiento) procedentes de corderos con diferentes niveles de suplementación dietética con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1..... 186

**Tabla 16.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la carne cocinada (hamburguesas) de cordero expuesta hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 188

**Tabla 17.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la oxidación de lípidos y el color objetivo de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 189

**Tabla 18.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 193

**Tabla 19.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la calidad sensorial de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 194

**Tabla 20.**

Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) del lomo (día 0 de almacenamiento) procedente de corderos suplementados dietéticamente con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1..... 200

**Tabla 21.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los parámetros físico-químicos y microbiológicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 203

**Tabla 22.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los parámetros físico-químicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 204

**Tabla 23.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la calidad microbiológica de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 205

**Tabla 24.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 211

**Tabla 25.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 212

**Tabla 26.**

Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) de las hamburguesas cocinadas (día 0 de almacenamiento) procedentes de corderos suplementados dietéticamente con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1..... 215

**Tabla 27.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la carne cocinada (hamburguesas) de cordero expuesta hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 217

**Tabla 28.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la oxidación de lípidos y el color objetivo de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 218

**Tabla 29.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 222

**Tabla 30.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la calidad sensorial de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 223

**Tabla 31.**

Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) del lomo (día 0 de almacenamiento) procedente de corderos suplementados dietéticamente con diferentes niveles de ER 1:1..... 229

**Tabla 32.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los parámetros físico-químicos y microbiológicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 232

**Tabla 33.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los parámetros físico-químicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 233

**Tabla 34.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la calidad microbiológica de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 234

**Tabla 35.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 240

**Tabla 36.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 241

**Tabla 37.**

Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) de las hamburguesas cocinadas (día 0 de almacenamiento) procedentes de corderos suplementados dietéticamente con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1..... 244

**Tabla 38.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la carne cocinada (hamburguesas) de cordero expuesta hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 246

**Tabla 39.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la oxidación de lípidos y el color objetivo de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 247

**Tabla 40.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA)..... 251

**Tabla 41.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la calidad sensorial de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 252

**Tabla 42.**

Coefficientes de correlación de Pearson (R) entre índices TBARS y POx, coordenadas CIELAB y atributos sensoriales, en carne cruda de cordero envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración..... 260

**Tabla 43.**

Coefficientes de correlación de Pearson (R) entre índice TBARS, coordenadas CIELAB y atributos sensoriales, en carne cocinada de cordero almacenada en aerobiosis y refrigeración..... 262

**Tabla 44.**

Comparación de efectos de los diferentes tratamientos dietéticos a base de extracto de romero realizados en corderos de engorde. Carne cruda envasada en atmósfera protectora..... 263

**Tabla 45.**

Resumen de resultados de los tres experimentos (Exp.) obtenidos en carne cruda de cordero..... 265

**Tabla 46.**

Comparación de efectos de los diferentes tratamientos dietéticos a base de extracto de romero realizados en corderos de engorde. Carne picada cocinada expuesta en condiciones de catering.....	266
---	-----

**Tabla 47.**

Resumen de resultados de los tres experimentos (Exp.) obtenidos en carne picada cocinada de cordero.....	268
--	-----

## 1.2. Índice de figuras.

<b>Figura 1.</b>	
Rendimiento de aceites esenciales de romero (g de aceite por 100 g) en diferentes zonas bioclimáticas de la Región de Murcia.....	28
<b>Figura 2.</b>	
Evolución del consumo de carne fresca de ovino y caprino en los hogares españoles (2006-2012).....	31
<b>Figura 3.</b>	
Evolución de las explotaciones de ovino en España (2007-2013).....	32
<b>Figura 4.</b>	
Estados de la mioglobina.....	38
<b>Figura 5.</b>	
Efecto de la dieta de corderos (pastoreo vs pienso en grano) sobre los principales grupos de compuestos volátiles detectados en carne cocinada.....	49
<b>Figura 6.</b>	
Reacciones del mecanismo de auto-oxidación de los lípidos.....	69
<b>Figura 7.</b>	
Medallones de lomo crudo de cordero con mioglobina en forma de oximioglobina y metamioglobina.....	75
<b>Figuras 8.</b>	
Contenido fenólico de hierbas frescas de la familia <i>Labiatae</i> .....	111
<b>Figuras 9.</b>	
Actividad antioxidante de hierbas frescas de la familia <i>Labiatae</i> .....	112
<b>Figura 10.</b>	
Planta de romero.....	115



<b>Figura 11.</b>	
Procesado industrial del romero.....	117
<b>Figura 12.</b>	
Esquema de extracción de seis extractos de romero diferentes (CA 1-CA 5 y RO).....	121
<b>Figura 13.</b>	
Estructura molecular de los principales compuestos antioxidantes aislados en romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	123
<b>Figuras 14.</b>	
Status antioxidante de carne cruda de cordero procedente de ovejas suplementadas dietéticamente con hoja de romero libre de aceite esencial.....	131
<b>Figuras 15.</b>	
Coordenadas cromáticas en carne cruda de corderos procedentes de ovejas alimentadas con hoja de romero libre de aceite esencial, almacenada en MAP (70/30 O <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> ) y refrigeración hasta 21 días.....	138
<b>Figuras 16.</b>	
Valores de oxidación lipídica y recuentos de aerobios mesófilos totales en carne cruda de corderos procedentes de ovejas alimentadas con hoja de romero libre de aceite esencial, almacenada en MAP (70/30 O <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> ) y refrigeración hasta 21 días.....	139
<b>Figuras 17.</b>	
Evolución de la oxidación lipídica en carne de cordero suplementado con distintos niveles de ácido carnósico, almacenada en refrigeración (4 °C) y envasada en atmósfera modificada (35/35/30 CO <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> /N <sub>2</sub> ) hasta 14 días.....	140

**Figura 18.**

Esquema del proceso de extracción del extracto de hoja de romero libre de aceite esencial..... 147

**Figura 19.**

Esquema del proceso de producción de los corderos..... 152

**Figura 20.**

Procesado de la carne de cordero, obtención de muestras y análisis realizados..... 155

**Figura 21.**

Ficha utilizada para el análisis sensorial de carne cruda de cordero..... 166

**Figura 22.**

Ficha utilizada para el análisis sensorial de carne cocinada de cordero..... 167

**Figuras 23.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los valores medios de TBARS y de tinte (C\*) de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 176

**Figuras 24.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los valores medios del ángulo de tono o matiz (H\* o Hue) y de los recuentos medios de bacterias aerobias mesófilas de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 177

**Figuras 25.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los recuentos medios de bacterias psicrófilas y de mohos y levaduras de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 178

**Figuras 26.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre las notas medias de color magro y olor propio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 184

**Figura 27.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre las notas media de olor rancio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 185

**Figura 28.**

Estimación del tiempo de vida útil de los lomos crudos procedentes de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1, de acuerdo con su pérdida de frescura..... 185

**Figuras 29.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre el valor medio de TBARS y tinte (C\*) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 190

**Figura 30.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre el valor medio del ángulo de tono (H\*) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 191

**Figuras 31.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre las notas medias de olor y sabor propios de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 196

**Figuras 32.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre las notas medias de olor y sabor rancio de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 197

**Figuras 33.**

Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre las nota medias de olor y sabor a recalentado de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 198

**Figura 34.**

Estimación del tiempo de vida útil de hamburguesas cocinadas de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1, de acuerdo con su pérdida de frescura..... 199

**Figuras 35.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los valores medios de TBARS y de tinte (C\*) de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 206

**Figuras 36.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los valores medios del ángulo de tono o matiz (H\* o Hue) y de los recuentos medios de bacterias aerobias mesófilas de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 207

**Figuras 37.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los recuentos medios de bacterias psicrófilas y de mohos y levaduras de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 208

**Figuras 38.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de color magro y olor propio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 213

**Figura 39.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de olor rancio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor..... 214

**Figura 40.**

Estimación del tiempo de vida útil de los lomos crudos procedentes de corderos suplementados con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1, de acuerdo con su pérdida de frescura..... 214

**Figuras 41.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre el valor medio de TBARS y tinte (C\*) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 219

**Figura 42.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre el valor medio del ángulo de tono (H\*) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 220

**Figuras 43.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de olor y sabor propios de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 225

**Figuras 44.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre las notas medias de olor y sabor rancio de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 226

**Figuras 45.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre las nota medias de olor y sabor a recalentado de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 227

**Figura 46.**

Estimación del tiempo de vida útil de hamburguesas cocinadas de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1, de acuerdo con su pérdida de frescura..... 228

**Figuras 47.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los valores medios de TBARS y POx de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 235

**Figuras 48.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los valores medios de tinte ( $C^*$ ) y del ángulo de tono o matiz ( $H^*$  o Hue) de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 236

**Figuras 49.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los recuentos medios de bacterias aerobias mesófilas y bacterias psicrófilas de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 237

**Figura 50.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los recuentos medios de mohos y levaduras de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 238

**Figuras 51.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de color magro y olor propio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 242

**Figura 52.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de olor rancio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor..... 243

**Figura 53.**

Estimación del tiempo de vida útil de los lomos crudos procedentes de corderos suplementados con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1, de acuerdo con su pérdida de frescura..... 243

**Figuras 54.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre el valor medio de TBARS y tinte (C\*) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 248

**Figura 55.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre el valor medio del ángulo de tono (H\*) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 249

**Figuras 56.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de olor y sabor propios de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 254

**Figuras 57.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de olor y sabor rancio de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 255

**Figura 58.**

Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las nota medias de olor y sabor a recalentado de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering..... 256

**Figura 59.**

Estimación del tiempo de vida útil de hamburguesas cocinadas de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1, de acuerdo con su pérdida de frescura..... 257

**Figura 60.**

Carne cruda de cordero procedente de corderos sin suplementar o suplementados con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1, almacenada 11 días en condiciones de venta al por menor..... 285



### 1.3. Abreviaturas.

3D	Tercera derivada.
a*	Coordenada a*: Rojo-verde.
ADN	Ácido desoxirribonucleico.
AEAC	Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity.
AENOR	Asociación Española de Normalización.
AMSA	American Meat Science Association.
AOAC	Association of Official Analytical Chemists.
ASTM	American Society for Testing and Materials.
b*	Coordenada b*: Amarillo-azul.
BHA	Butil-hidroxi-anisol.
BHT	Butil-hidroxi-tolueno.
BSA	Bovine serum albumin.
C*	Índice de saturación o Chroma.
CAT	Catalasa.
CE	Comunidad Europea.
COPs	Cholesterol oxidation products.
CRA	Capacidad de retención de agua.
DNPH	Dinitrofenilhidrazina.
ER	Extracto de romero.
EN	European Norme.
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations.
FDA	Foods Drugs Administration.
FLT	Flavonoides totales.
FRAP	Ferric reducing antioxidant power.
FT	Fenoles totales.
g	Gramo.
GC	Gas chromatography.
GRAS	Generally recognized as safe.
h	Hora.
H*	Tono o ángulo Hue.
HPLC	High performance liquid chromatography.
IFT	International Food Technology.
ISO	International Organization of Standardization.
L*	Coordenada L*: Luminosidad.
LSD	Least significant difference.
lx	Lux.
M	Molaridad.
MAGRAMA	Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.
MAP	Modified atmosphere packaging.
Mb	Mioglobina.

MbO <sub>2</sub>	Oximioglobina.
MDA	Malondialdehído.
MetMb	Metamioglobina.
min	Minuto.
Mpa	Megapascal.
MRS	Man Rogosa Sharpe agar.
N	Normalidad.
NF	Norme Française.
°C	Grados centígrados.
P	Probabilidad.
PAM	Planta aromático medicinal.
PCA	Plate count agar.
POx	Protein oxidation.
ppm	Partes por millón.
QDA	Quantitative descriptive analysis.
RB	Rose bengal agar.
RD	Real Decreto.
ROS	Reactive oxygen species.
RTS	Reglamentación Técnico Sanitaria.
rpm	Revoluciones por minuto.
s	Segundo.
SOD	Superóxido dismutasa.
TBA	Ácido tiobarbitúrico.
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances.
TCA	Ácido tricloroacético.
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity.
TEP	Tetra-etoxi-propano.
TLC	Thin liquid chromatography.
UA	Unidades arbitrarias.
ufc	Unidades formadoras de colonias.
UNE	Norma Española.
VOCs	Volatile organic compounds.
VRBG	Violet red bile glucose agar.
WOF	Warmed over flavor.
WOO	Warmed over odour.

#### 1.4. Tabla de unidades.

Parámetro	Unidades
Luminosidad L*	0-100 CIE
Rojo-verde a*	±60 CIE
Amarillo-azul b*	±85 CIE
Tinte C*	±85 CIE
Tono H*	0-360°
pH	0-14 -log H <sup>+</sup>
TBARS	mg MDA kg <sup>-1</sup>
POx	nmol carbonilos/mg proteína
Aerobios mesófilos totales	
Psicrófilos totales	
Enterobacterias	log ufc g <sup>-1</sup>
Mohos y Levaduras	
Color magro	
Color grasa	
Color cordero cocinado	
Exudados	
Olor propio	
Olor rancio	
Olor ácido	
Olor pútrido	
Olor moho	1-5 UA QDA
Olor cordero cocinado	
Olor rancio caliente	
Olor recalentado	
Sabor cordero cocinado	
Sabor rancio frío	
Sabor rancio caliente	
Sabor recalentado	
Terneza	
Jugosidad	
Frescura	1-5 UA

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

### 2.1. Introducción.

La carne es un alimento muy perecedero con una reducida capacidad de conservación. Los sistemas actuales de comercialización requieren de métodos cada vez más eficaces para asegurar la calidad de la carne sometida a una manipulación previa (fileteado, envasado, etc.) y expuesta durante largos periodos de tiempo en vitrinas refrigeradas. La Legislación Alimentaria no permite el uso de aditivos conservantes en la carne fresca. Por su parte, el envasado de la carne en atmósferas protectoras ricas en oxígeno y dióxido de carbono, una de las tecnologías de conservación más comunes para este tipo de alimentos, presenta el inconveniente de que intensifica la oxidación, con la consiguiente pérdida de calidad sensorial y la posible merma de salubridad de la carne.

Por tanto, preservar la calidad de la carne durante el mayor tiempo posible se ha convertido en un reto para los productores de carne. Una de las posibles estrategias a seguir consiste en aumentar la capacidad de conservación de la carne mediante la ingestión, por parte de los animales de abasto, de vegetales ricos en compuestos conservantes activos asimilables. Las técnicas de suplementación del pienso con conservantes vegetales han demostrado ser efectivas, ya que parte de estos principios activos antioxidantes y/o antimicrobianos se metabolizan y se depositan en el tejido muscular y adiposo (Govaris y col., 2004) durante el desarrollo del animal, proporcionando cualidades positivas a la carne.

Entre los posibles vegetales a utilizar, el uso de especies ricas en compuestos polifenólicos está suscitando un interés especial en base a su actividad antioxidante y antimicrobiana, la cual suele manifestarse de forma efectiva, tanto cuando dichos compuestos se encuentran incorporados en su soporte orgánico natural, como cuando son empleados en forma de extracto vegetal. Entre estas especies destaca el romero (*Rosmarinus officinalis* L.), planta aromática extensamente conocida perteneciente a la familia de las labiadas, utilizado de forma tradicional por sus propiedades antisépticas y

astringentes, así como aditivo alimentario “GRAS” (Generally Recognized As Safe) (Lopez-Bote y col., 1998), con numerosas aplicaciones en el mundo de la cocina, la medicina o la cosmética. A partir de la planta de romero fresco pueden obtenerse diversos derivados, tales como aceites esenciales, hoja libre de aceite esencial y extractos, susceptibles de ser utilizados como conservantes de origen natural.

La actividad antioxidante de los extractos de romero, tanto en sistemas lipofílicos, como hidrofílicos, ha sido ampliamente estudiada (Cao y col., 1993; Slinkard y Singleton, 1977; Robards y col., 1999; Okamura y col., 1994; Zheng y Wang, 2001; Lee y Shibamoto, 2002, Rababah y col., 2004; Del Baño y col., 2003). Ésta se deriva principalmente de su riqueza en compuestos de tipo polifenólico, siendo el ácido carnósico, ácido rosmarínico, carnosol, rosmanol, naringina y cirsimaritina los componentes fenólicos detectados a mayor concentración, presentando el rosmanol y ácido rosmarínico capacidades antioxidantes superiores a  $\alpha$ -tocoferol y BHT (Cuvelier y col., 1996). Otros compuestos polifenólicos presentes en el romero son el ácido gálico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido cumárico, hesperidina, luteolina, apigenina y genkwanina (Moñino y col., 2008). El ácido carnósico es el compuesto con actividad antioxidante y antimicrobiana presente de forma mayoritaria en el romero, si bien su uso en solitario como conservante natural proporciona peores resultados que cuando se emplea integrado en la matriz completa, ya que las diferentes sustancias presentes en la misma muestran comportamientos sinérgicos (Sáenz-López y col., 2002; Cuvelier y col., 1996), de ahí el interés de usar ratios de principios activos que mejoren la absorción y metabolización de los mismos.

Los beneficios derivados del empleo de extracto de romero como conservante natural en carne y productos cárnicos han sido probados en numerosos estudios (Murphy y col., 1998; Formanek y col., 2001; Ahn y col., 2002; Djenane y col., 2002; Sánchez y col., 2003; Fernández-López y col., 2005; McCarthy y col., 2001<sup>a</sup>; Nissen y col., 2004; Sebranek y col., 2005; Yu y col., 2002; Mielnik y col., 2003; Nassu y col., 2003); sin embargo, su efectividad depende de la manera en que son incorporados a la carne los polifenoles que lo

constituyen. Cuando la dieta del animal de abasto es suplementada con el extracto de romero y los polifenoles están presentes en el músculo procedentes del metabolismo animal (adición endógena), la carne muestra una mejor calidad y una mayor estabilidad oxidativa que cuando el extracto se añade directamente a la carne durante el proceso de elaboración del alimento (adición exógena) (Petrón y col., 2007; Moñino y col., 2008). Además, existe cierto riesgo de aparición de colores, sabores y olores anómalos cuando se adicionan vegetales ricos en polifenoles directamente a la carne (Bañón y col., 2007).

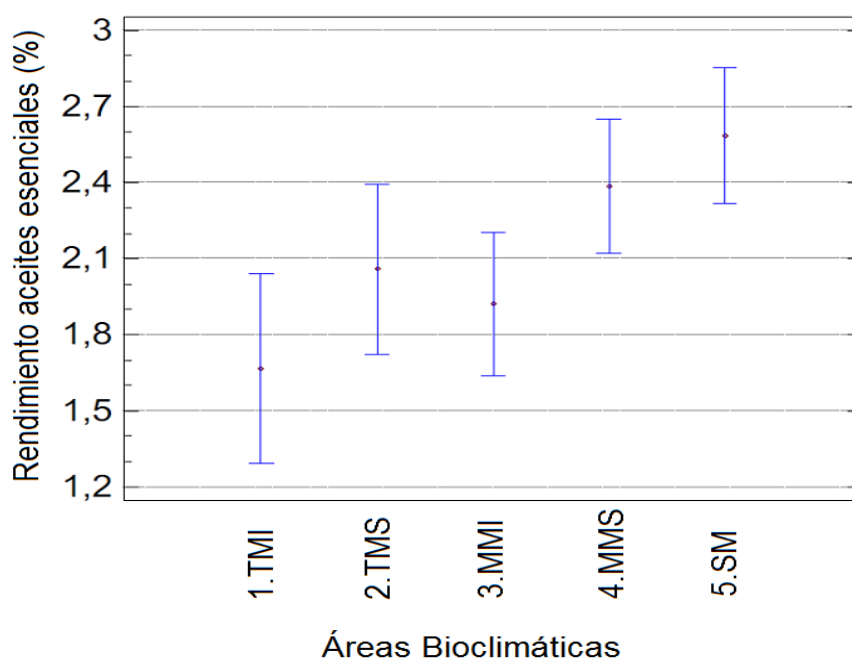
Estudios previos con ovejas gestantes y lactantes han mostrado que la suplementación de su dieta con subproductos del romero (hoja libre de aceite esencial) retrasa el deterioro del color de la carne fresca, ejerce un efecto protector de la oxidación de lípidos e inhibe el desarrollo de la microflora alterante, especialmente bacterias mesófilas, en carnes envasadas en atmósfera protectora y expuestas en refrigeración. Las cantidades de ácido carnósico y de otros polifenoles del romero alcanzadas en el músculo como resultado de la inclusión de la hoja de romero libre de aceite esencial en la dieta de las ovejas madres son suficientes para mejorar la capacidad antioxidante (Moñino y col., 2008) y aumentar el grado de conservación de la carne de cordero (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>). La incorporación de este subproducto de romero a la dieta confiere características positivas a la carne fresca, mejorando la apariencia y el olor de la misma (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>). Otros estudios complementarios (Nieto y col., 2011<sup>a</sup>) sugieren que los principios activos antioxidantes del romero continúan siendo activos tras el cocinado de la carne, ya que previenen el enranciamiento de ésta cuando es conservada en refrigeración y aerobiosis.

El empleo de romero en alimentación animal cuenta con el hándicap de la falta de homogeneidad del material vegetal. Las actividades antimicrobianas y antioxidantes del romero dependen, en primer lugar, de su contenido en aceites esenciales, el cual, a su vez, está influenciado por factores como el lugar de origen (Jamshidi y col., 2009; Jordán y col., 2013) (**Figura 1**), las condiciones medioambientales y agronómicas (Moghtader y Afzali, 2009), el momento de la cosecha (Celiktas y col., 2007), el estado de desarrollo de las plantas (Ruberto y Barata, 2000) y el método de extracción (Ramírez y col., 2006; Okoh y col.,

2010). Ello produce una gran variabilidad en la riqueza en aceite esencial y en el contenido en compuestos fenólicos, lo cual condiciona sus potenciales actividades antimicrobiana y antioxidante, y dificulta la estandarización de las dietas con romero de los animales de abasto, ya que las dosis de ingredientes activos incorporados pueden no ser suficientes para alcanzar el efecto conservante deseado.

De todo lo anterior se desprende el interés en realizar estudios sobre suplementación dietética con extractos “tipificados” de romero de composición conocida que permitan ofertar al ganadero un pienso enriquecido en principios activos de calidad y homogeneidad contrastada. Para ello, es muy importante determinar las dosis óptimas de extracto que permitan obtener una adecuada rentabilidad y garantizar la transmisión efectiva de los principios activos a los productos destinados a la alimentación humana (leche, carne y derivados), sin detrimento del rendimiento animal, con los objetivos de prolongar la vida comercial de la carne procesada según los sistemas de comercialización actuales (envasada, cocinada, etc.) y ofertar al consumidor un producto alimenticio más saludable. Además, podría representar una salida para aumentar la superficie cultivada de romero, cuya producción hasta la fecha está basada casi exclusivamente en la recolección en el monte y cuyo cultivo supondría una mejora económica de sectores agrícolas desfavorecidos de zonas rurales de secano.

**Figura 1.** Rendimiento de aceites esenciales de romero (g de aceite por 100 g) en diferentes zonas bioclimáticas de la Región de Murcia (Jordán y col., 2013).



1. TMI: Termo-Mediterráneo Inferior; 2. TMS: Termo-Mediterráneo Superior; 3. MMI: Meso-Mediterráneo Inferior; 4. MMS: Meso-Mediterráneo Superior; 5. SM: Supra-Mediterráneo.

## 2.2. Producción y consumo de cordero y perspectivas futuras.

La carne y los productos cárnicos representan una parte importante del patrón alimentario de los hogares españoles. Tanto los datos de consumo, como los datos de gasto en alimentos y bebidas, otorgan a la carne las cifras más elevadas en las demandas de los individuos. En las estadísticas sobre consumo aparecen asociados los datos relativos a las carnes de ovino y caprino, cuya presencia comercial en los mercados y en la restauración también se presenta bajo categorías similares, aun tratándose de especies distintas.

El ganado ovino es una especie básica en la ganadería mundial, encontrándose distribuida por todos los continentes para el aprovechamiento de su carne, leche, lana, cuero y estiércol. Según los datos publicados por la FAO,



el censo mundial de ovino ascendió en 2010 a casi 1.078 millones de cabezas, censo que se encuentra estabilizado en los últimos decenios, aunque con tendencia a la baja y repartido de forma desigual entre las diferentes zonas, siendo Asia (42,19%) y África (27,75%) las regiones con mayor importancia, seguidas por Europa (12,14%), Oceanía (9,34%) y América (8,58%). La producción de ovino en la Unión Europea alcanzó en 2010 cerca de 1,5 millones de toneladas, correspondientes a 130,8 millones de cabezas. La demanda anual de carne de ovino y caprino por parte del consumidor europeo durante el año 2011 se situó en 2,1 kg per cápita.

La explotación del ganado ovino en España ha tenido desde antiguo un fuerte arraigo, sobre todo en áreas montañosas en las que, en gran parte, se destina su uso a la producción cárnica. El sector ovino-caprino representa el 8% de la producción final ganadera, situándose nuestro país, con una producción de 135.000 Tm anuales (FAO, 2010), en segundo lugar como productor de carne de ovino dentro de la Unión Europea, por detrás de Reino Unido, y en decimoquinta posición a nivel mundial. El consumo de carne ovina y caprina en el hogar durante el año 2011 fue de 95.903 Tm en España, situándose al nivel de la media europea (2,1 kg año<sup>-1</sup> per cápita), lo cual supuso un gasto total de 997,3 millones de euros, cantidad a la cual habría que añadirle los 146,5 millones de euros de gasto correspondientes a la demanda extra-doméstica de 15,1 millones de kilogramos en el sector de la restauración. Cada español gastó 21,7 euros per cápita en carne de ovino y caprino y consumió 2,1 kg de este tipo de carne durante el año 2011; sobre el total de la familia de carnes, el ovino y el caprino representaron un 6,4% del gasto y un 4% del consumo.

La producción ovina se concentra en el centro de la península, en las dos Castillas, Extremadura y Aragón, con un clima continental que determina una producción de pastos escasa y estacional. En estas zonas la ganadería ovina ha sido siempre complementaria de una agricultura de secano muy extensiva, aprovechando los pastos naturales, barbechos y rastrojeras. Por el contrario, en las regiones cantábricas el ganado ovino juega un papel muy marginal. En Andalucía es muy importante el ovino, distinguiéndose dos zonas principales, el noroeste que corresponde a zonas adhesionadas donde predomina la oveja

Merina (norte de Huelva, Sevilla y Córdoba) y la zona oriental donde predomina la raza Segureña que aprovecha los pastos de zonas montañosas en altiplanos de Jaén, Granada y Almería. Esta raza también está presente de forma destacada en la Región de Murcia, donde representa un porcentaje elevado de las 525.375 cabezas que componen el censo de la cabaña ganadera de ovino (MAGRAMA, 2011). El ovino constituye una parte importante de la economía rural de las zonas más desfavorecidas de la Región de Murcia y tiene un papel destacado en la vertebración de los territorios, en el aprovechamiento de los recursos naturales y en el mantenimiento del modo de vida rural.

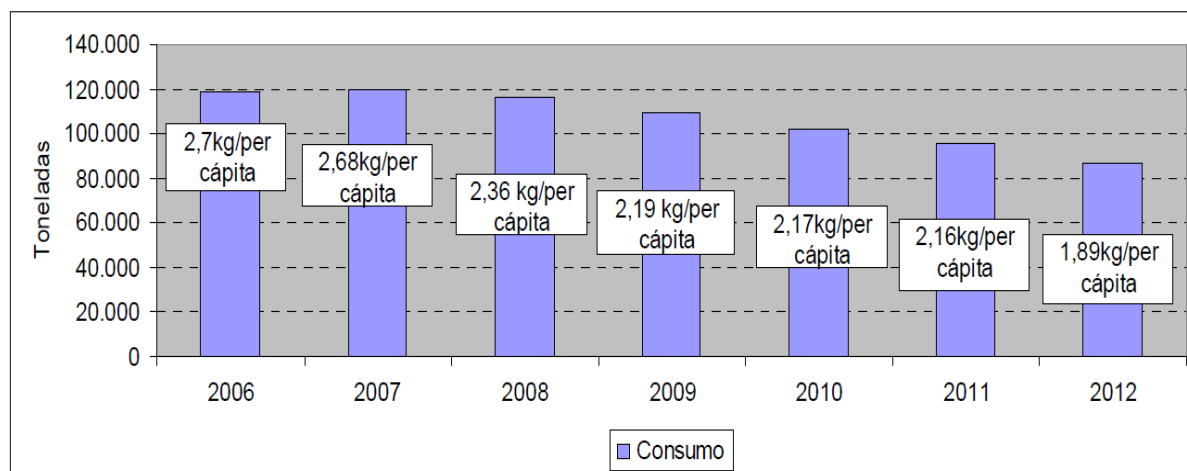
Tanto a nivel nacional, como europeo, la producción de cordero ha sufrido una fuerte reducción durante los últimos años. Concretamente en nuestro mercado, con carácter general, se observa una notable volatilidad en el consumo de este tipo de carne (**Figura 2**). En términos per cápita, los niveles de consumo medio de carne de ovino y caprino del año 2007 eran prácticamente similares a los existentes en el año 2000 (en torno a 2,7 kg), pero ha habido varios años en los que se ha consumido cerca de 6 kg por persona (por ejemplo, 5,9 kg en 2003). La cifra apuntada para el año 2012 fue sensiblemente inferior (1,9 kg). La carne de ovino acusa distintos fenómenos que repercuten, tanto en su demanda, como en su oferta. Por una parte, ante una situación de recesión y reducción de gasto, muchos hogares cambian el consumo de ovino y caprino por otro tipo de carnes con un precio más bajo como, por ejemplo, el pollo o el cerdo (efecto sustitución). Al mismo tiempo, los cambios en la demanda internacional de materias primas se han traducido en un incremento significativo del coste de producción como consecuencia del mayor gasto en la alimentación animal, estando actualmente el mercado de la carne en España orientado a la producción de carnes baratas, como las ya indicadas de cerdo y aves de corral, destinadas en parte a su transformación en productos cárnicos.

Además, la carne ovina presenta un intenso flavor característico no siempre apreciado por los consumidores. Otra característica asociada a la demanda de carne de ovino y caprino es la estacionalidad en el consumo per cápita y en la tasa de penetración (hogares que consumen este producto). La carne de cordero, en España, ha tenido tradicionalmente un patrón de consumo

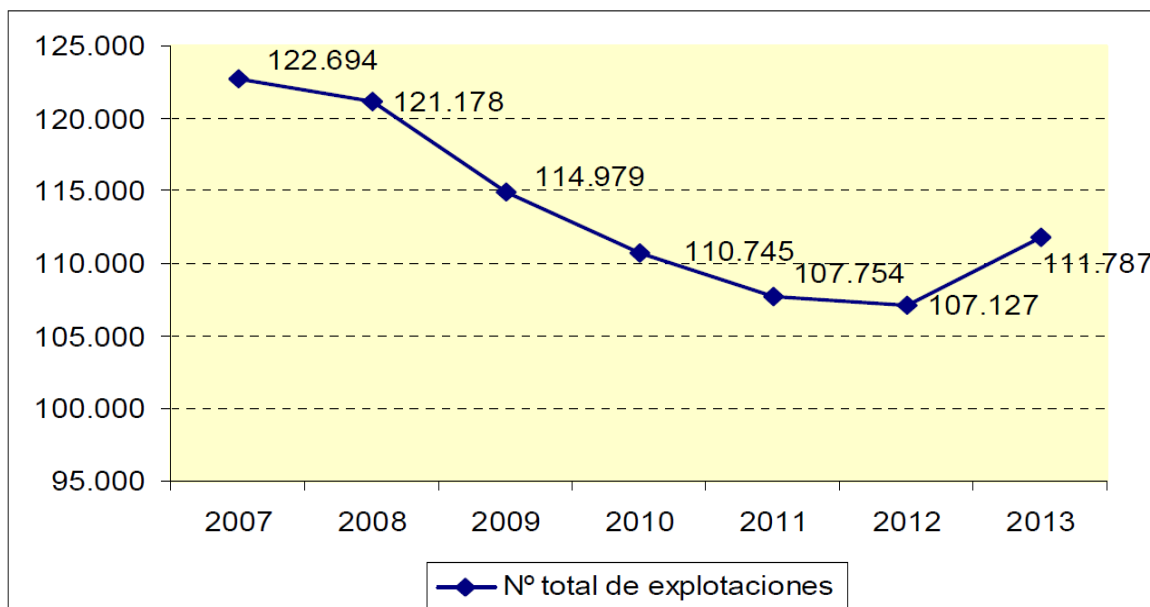
particular, centrado en fiestas y fechas navideñas. El mes de diciembre, asociado a las celebraciones navideñas, plantea el mayor consumo per cápita y la mayor tasa de penetración mientras que, por el contrario, los resultados más reducidos están localizados en el mes de agosto. Al mismo tiempo, evaluando conjuntamente consumo y precio, se observan oscilaciones en esta última variable especialmente relevantes en el mes de diciembre asociadas a los mayores niveles de demanda anteriormente comentados, período en el que no importa tanto el precio de la carne, sino la calidad y la imagen de la misma, asociadas principalmente al sabor, por lo que cualquier mejora en ese sentido puede marcar una ventaja comparativa a la hora de la comercialización (Martín, 2012).

El último dato disponible de censo total de ganado ovino (fuente SITRAN: Sistema Integral de Trazabilidad Animal) a 1 de enero de 2013 es de 16.609.069 cabezas, con una disminución del 4,5% respecto al 1 de enero de 2012. Sin embargo, según datos de la misma fuente, la cifra provisional de explotaciones de ovino aumentó un 4,3% entre los años 2012 y 2013, alcanzando en éste último un total de 111.787 explotaciones, rompiendo con la tendencia de reducción de los últimos años (MAGRAMA, 2013) (**Figura 3**).

**Figura 2.** Evolución del consumo de carne fresca de ovino y caprino en los hogares españoles (2006-2012) (MAGRAMA, 2013).



**Figura 3.** Evolución de las explotaciones de ovino en España (2007-2013) (MAGRAMA, 2013).



En los últimos diez años ha aumentado el potencial mercado de consumidores de carne ovina con la masiva llegada a España de inmigrantes musulmanes. Asimismo, la carne de cordero cuenta con un considerable mercado en el sector de la restauración, donde los márgenes comerciales son más amplios que en la venta directa. A esto hay que sumar que la producción ovina sustenta buena parte de la economía en amplias zonas rurales de nuestro país, incluyendo zonas de pastoreo, por lo que se beneficia de ayudas económicas de la administración que abaratan los costes de producción de la carne.

En lo referente a comercio exterior de carne de ovino-caprino también se ha observado un cambio de tendencia en los últimos años, con un balance final de exportaciones/importaciones positivo para nuestro sector, tanto en términos de cantidades, como en valor económico, manteniendo España un balance comercial exportador neto. Los principales destinatarios de las exportaciones españolas de carne de ovino y caprino han sido los Estados miembros de la Unión Europea con el 97% del total exportado, frente al 3% que se ha dirigido a terceros países.

Durante el año 2012 la actividad exportadora se ha recuperado significativamente del bache sufrido en 2009, donde hubo una caída del -18,7% de las exportaciones a la Unión Europea, en línea con la caída de la producción nacional. El valor de lo exportado en 2012 ha superado al conjunto de las importaciones totales de carne, incluidas las carnes procedentes de países terceros tales como Chile o Nueva Zelanda. El balance neto de las exportaciones de carne de ovino hasta septiembre de 2012 (135 millones de euros) ha presentado una cobertura positiva con respecto al valor de las importaciones, que sumaron el año pasado un total de 38 millones de euros.

La evolución de los intercambios totales de animales vivos entre 2011 y 2012 también ha reflejado un balance positivo, observándose un gran aumento (402%) de las exportaciones totales debido al notable aumento de los animales exportados a terceros países, y una disminución del 38% en lo referente a importaciones totales. Los principales destinos de exportación de ovinos y caprinos vivos en el año 2012 fueron: Francia (80%), Libia (8%), Italia (6,5%) y Líbano (3%) (MAGRAMA, 2013).

### **2.3. Normativa específica para la producción y el consumo de carne.**

La producción de carne está regulada por el Real Decreto 1376/2003, de 7 de noviembre, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción, almacenamiento y comercialización de las carnes frescas y sus derivados en los establecimientos de comercio al por menor, modificado por el Real Decreto 728/2011, de 20 de mayo.

En dicho Real Decreto se recogen las definiciones de carnes y productos cárnicos, los requisitos y condiciones que éstos deben cumplir durante las fases de manipulación, almacenamiento, conservación, transporte y venta, así como todo lo referente al envasado y etiquetado y al marcado sanitario. También vienen indicadas las definiciones de los establecimientos y dependencias autorizados para la producción, almacenamiento y comercialización de carnes y productos cárnicos, las condiciones y autorizaciones que deben cumplir dichos locales, y los autocontroles y controles oficiales a los que pueden ser sometidos.

## **2.4. Calidad de la carne ovina.**

La calidad de un alimento puede ser definida como “el conjunto de propiedades y características de un alimento, consecuencia de las exigencias previstas en las disposiciones obligatorias relativas a las materias primas o ingredientes utilizados en su elaboración, a los procesos utilizados en la misma, así como a la composición y presentación del producto final” (MAGRAMA, 2013). Sin embargo, ésta es una definición muy general de la misma, al ser la calidad un concepto muy subjetivo y complejo de medir.

La calidad de la carne comprende, entre otros aspectos, su composición química (valor nutricional) y sus características organolépticas (valor sensorial), tales como la ternura, color, sabor, olor y jugosidad, pero para el sector cárnico, entre otros, este concepto debe ser ampliado y matizado, añadiendo aspectos como el de calidad higiénica (presencia/ausencia de microorganismos patógenos y alterantes, toxinas, aditivos o residuos), calidad tecnológica (aptitud para el procesado), calidad nutricional (aminoácidos y ácidos grasos esenciales, vitaminas, hierro, etc.) e incluso aspectos como el bienestar animal o sistemas de producción (Wood y col., 1998).

En las sociedades desarrolladas, los centros de producción animal pueden estar situados lejos de los centros de consumo, a los que suelen llegar desde plataformas de distribución. Esto implica mayor cantidad de tiempo entre que la carne es producida y consumida. Cada vez es mayor la tendencia a distribuir la carne a través de grandes superficies en envases donde se presenta ya troceada o picada. De esta manera se evita la mano de obra especializada (carniceros), y aumenta la satisfacción del cliente, que no debe esperar colas para ser atendido. Así mismo, el ritmo de vida actual determina una mayor preferencia del consumidor por alimentos precocinados, generalmente conservados en refrigeración, en los que el tiempo y el esfuerzo de elaboración sean mínimos. Sin embargo, esta manipulación previa de la carne y de los derivados cárnicos acorta su vida útil, entendiendo ésta como el tiempo que se mantiene aceptable bajo determinadas condiciones de distribución, almacenamiento y visualización (Gyesley, 1991).

Las principales propiedades sensoriales por las cuales los consumidores juzgan la calidad de la carne y los productos cárnicos son la apariencia, la textura y el flavor (Gray y col., 1996). La apariencia es habitualmente utilizada como criterio de selección de la carne fresca, pues es la única propiedad de la carne que puede ser percibida por el consumidor cuando ésta se encuentra en un envase o en un expositor (Faustman y Cassens, 1990<sup>b</sup>). La iluminación en expositor de la carne envasada para la venta al por menor es esencial para su comercialización y presentación, pero es un factor que puede acelerar la decoloración de la carne, con la consecuente reducción de su vida útil (Kropf, 1998).

Algunas de las características propias de la carne (riqueza en macronutrientes y alto contenido en agua) le hacen ser considerada uno de los alimentos más perecederos. Uno de los principales objetivos de la industria cárnica es mantener la calidad primaria de la carne retardando al máximo su deterioro durante el período de comercialización. Los distintos tipos de envasado permiten extender el tiempo de vida útil de la carne hasta los 7 días mediante el empleo de MAP con elevados porcentajes de oxígeno y dióxido de carbono, o hasta los 14 días cuando el envasado es a vacío (Lorenzo y col., 2012).

Actualmente, además del uso de atmósferas protectoras, las estrategias para el control de los procesos de deterioro se orientan hacia la mejora de la estabilidad de la carne mediante el empleo de antioxidantes y antimicrobianos incorporados a los envases (Coma, 2008) y a la propia carne (Devatkal y Naveena, 2010), teniendo en cuenta que ésta se comercializa mayoritariamente refrigerada y sin transformar y que actualmente no está permitido el uso de aditivos para conservar la carne fresca, tal y como se indica en el Reglamento (CE) 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo.

### **2.4.1. Atributos de calidad.**

- Carne cruda.

La carne cruda de cordero se caracteriza por presentar un color rojo brillante e intenso, un nivel moderado de grasa infiltrada y un débil aroma a suero. Es una carne tierna y con escasa exudación gracias a su elevada CRA (Capacidad de Retención de Agua) (Onega y col., 2001), y es una fuente primaria de proteínas de alta calidad, lípidos, vitaminas y minerales, además, la carne de cordero tiene un elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)  $\omega$ -3, si la comparamos con la carne de ternera o cerdo. Estos ácidos grasos, aunque beneficiosos para la salud, actúan como sustratos en los procesos oxidativos de la carne (Abuja y col., 2001). Todas estas características de la carne de cordero la determinan como un producto con una corta vida útil (Williams, 1991).

La carne cruda tiene un ligero olor metálico debido a la presencia de hierro de la sangre y presenta un escaso contenido en componentes aromáticos, aunque sí contiene los precursores de éstos. Esto hace que sea su color lo que determine en gran medida su apariencia global, siendo el principal atributo mediante el cual el consumidor juzga su frescura y calidad antes de comprar, estableciéndose en base al mismo la aceptación o rechazo del producto, de ahí su gran importancia.

Los catadores pueden apreciar cambios en el flavor de un alimento, que en realidad no existen, cuando realizan pruebas de análisis sensorial a alimentos a los que se modifica el color sin que se vea afectada ninguna otra característica (Barbut, 2002). Esto demuestra la interrelación entre las diferentes características sensoriales de los alimentos.

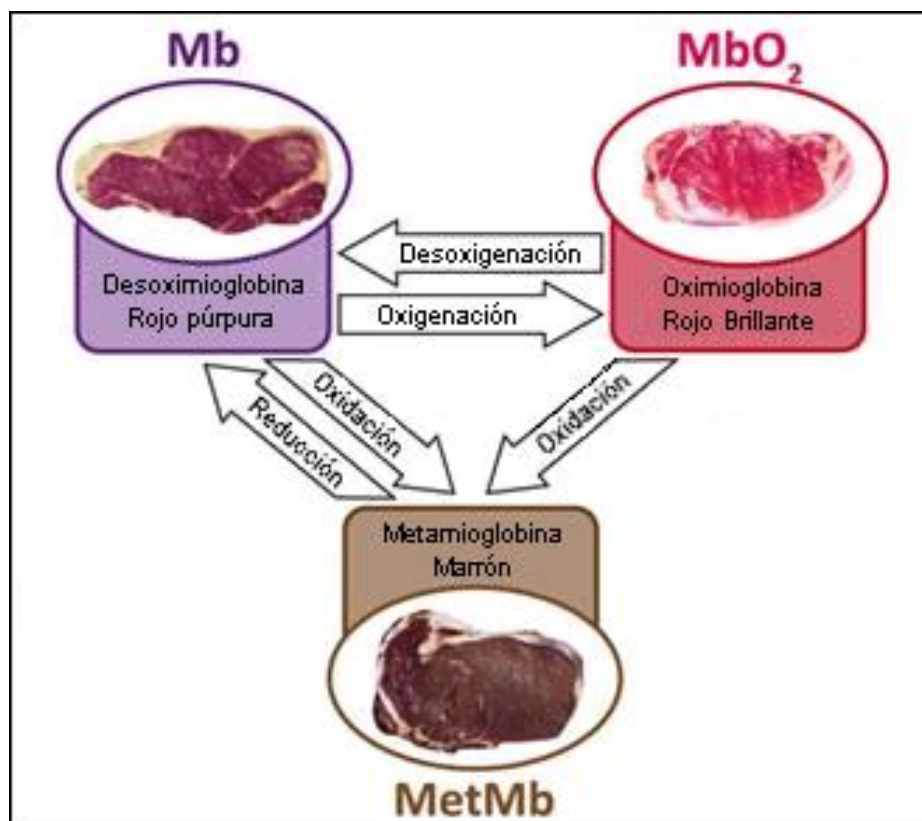
La responsable del color en la carne es una proteína hemínica, la mioglobina, principal pigmento de la carne de los animales de abasto. Su concentración y estructura química va a ser determinante en el color de la carne y los productos cárnicos. La molécula de mioglobina consta de un núcleo de hematina unido a un componente proteico tipo globulina (Lawrie, 1998). El grupo prostético de la hematina está formado por un átomo de hierro y un anillo



protoporfirínico, con cuatro anillos pirrólicos unidos en cuatro de los seis sitios de coordinación del átomo de hierro, el cual queda en posición central (Lehninger, 1982). El grupo hemo está unido a la apo-proteína en el quinto sitio de coordinación por una unión entre el átomo de hierro y un residuo de histidina, mientras que el sexto sitio está disponible para unir una gran variedad de ligandos (Faustman y Cassens, 1990<sup>a</sup>). La porción proteica de la globina confiere solubilidad al anillo pirrólico protegiéndole del acceso de agua y sus iones conjugados, OH<sup>-</sup> y H<sup>+</sup>, que provocarían una oxidación del hierro de la hematina (Shikama, 1990).

De manera general, en la carne cruda pueden encontrarse tres formas químicas de la molécula de mioglobina. Esto depende de si el hierro del núcleo de hematina, el hierro hemo, está en forma de ión ferroso reducido (Fe<sup>2+</sup>) o como ión férrico oxidado (Fe<sup>3+</sup>). Cuando el hierro hemo se encuentra en estado reducido o ferroso (Fe<sup>2+</sup>) y carece de un sexto ligando se denomina desoximioglobina, de color rojo púrpura, usándose comúnmente para este estado el término mioglobina. En esta forma ferrosa el hierro de la hematina puede combinarse con gases y en especial con el oxígeno formando la oximioglobina, pigmento responsable del color rojo brillante deseable de la carne fresca. Estas dos formas reducidas de la mioglobina, desoximioglobina y oximioglobina, pueden oxidarse rápidamente a metamioglobina, de color marrón pardo, donde el hierro hemo es convertido al estado férrico (Fe<sup>3+</sup>) y el agua ocupa el sexto sitio de coordinación (Faustman y Cassens, 1990<sup>a</sup>; Shikama, 1990) (**Figura 4**). Para mantener la estabilidad del color es necesario evitar la formación de metamioglobina y tratar que la mioglobina permanezca intacta.

Las tres formas de la mioglobina (desoximioglobina, oximioglobina y metamioglobina) son interconvertibles en la carne fresca mientras no se desnaturalice la parte proteica, por lo tanto, si se dan las condiciones para ello, durante la refrigeración de la carne puede producirse la evolución de las proporciones relativas de los distintos estados de la mioglobina, siendo este hecho determinante en el color de la carne durante su conservación (Van Laack y col., 1996).

**Figura 4.** Estados de la mioglobina.

Además de estas tres formas químicas de la mioglobina, en la carne podemos encontrar otra serie de pigmentos originados por las sales del curado, acción de microorganismos, etc. Por ejemplo, la nitrosomioglobina, pigmento responsable del color de los productos curados, el cual se forma con la reacción de la metamioglobina y el óxido nítrico procedente de los nitritos añadidos en las sales de curado (Möhler, 1982).

- Carne cocinada.

La carne cocinada de cordero presenta en general un color marrón claro y se caracteriza por ser tierna, poco elástica y muy jugosa, influyendo sobre su jugosidad, además del porcentaje de grasa infiltrada, su elevada CRA, la cual permite que su contenido en agua sea superior al de otras carnes (Onega y col., 2001). La carne de cordero presenta un flavor característico, generándose

durante el cocinado muchos de los compuestos responsables del mismo, entre sustancias aromáticas sápidas y potenciadoras del sabor, pudiendo llegar a provocar el rechazo del consumidor (Young y col., 1993).

Existen componentes aromáticos y sápidos comunes a todas las carnes y componentes específicos. Los primeros derivan del calentamiento de los componentes hidrosolubles de bajo peso molecular, tales como los azúcares, aminoácidos, péptidos, nucleótidos y compuestos nitrogenados; los segundos, son atribuidos a la cocción de los lípidos, principalmente los fosfolípidos y en menor medida los triacilgliceroles (Warriss, 2000). Los lípidos experimentan una degradación oxidativa liberando varios compuestos volátiles, tales como los aldehídos alifáticos y aldehídos insaturados y otros compuestos heterocíclicos determinados por el perfil de ácidos grasos de la carne.

Algunos ácidos grasos ramificados, tales como los ácidos 4-metiloctanoico y 4-metilnonanoico, están asociados con la producción del característico flavor de la carne de cordero y pueden ser el origen del desagrado mostrado por parte de algunos consumidores a este tipo de carne (Reineccius, 1994). La carne también puede desarrollar sabores anómalos como consecuencia del almacenamiento o la contaminación por agentes químicos y microorganismos, así como presentar sabores anómalos asociados al depósito de determinados compuestos químicos procedentes de la dieta (Ford y Park, 1980).

El flavor de la carne ovina ha sido objeto de diversos estudios científicos y algunas revisiones generales entre las que destacan los trabajos de Young y Braggins (2004), así como otras revisiones generales sobre el flavor de la carne (Mottram, 1994; Pegg y Sahidi, 2004; Calkins y Hodgen col., 2007).

#### **2.4.2. Factores que afectan a la calidad.**

Los factores que afectan a la calidad de la carne pueden agruparse en factores *antemortem*: genéticos (individuo, raza, cruce y sexo) y de cría (edad de sacrificio, dieta, explotación intensiva y extensiva, castración), y en factores *postmortem*: de matadero (sacrificio y obtención de canales) y de procesado de

la carne cruda y cocinada (manipulación, condiciones de conservación, características del cocinado).

La mayoría de las propiedades sensoriales y estructurales de la carne están relacionadas con factores de tipo genético, como el individuo, la raza, el cruce o el sexo. En la carne de animales pertenecientes a una misma comunidad genética pueden existir diferencias debidas a la variación de intensidad en los fenómenos digestivos y metabólicos de cada individuo, pero las diferencias suelen ser más acentuadas entre individuos de diferentes razas y cruces ovinos. Sin embargo, al ir la producción de una determinada raza ovina asociada a las particulares condiciones de cría de esa raza, muchas veces es difícil delimitar los efectos genéticos sobre la calidad de la carne, siendo necesario tener en cuenta patrones genéticos y especificaciones de producción.

El color es el atributo sensorial más importante en la carne cruda. Su estabilidad durante el almacenamiento puede verse afectada por numerosos factores, tanto inherentes al propio músculo, como ambientales. La temperatura, la humedad relativa, la iluminación, el crecimiento microbiano, la oxidación lipídica, la presión parcial de oxígeno, el estrés pre-sacrificio, el tipo de músculo, el sistema de explotación y manejo, y el tipo de alimentación son algunos de ellos. La interacción entre la mayoría de estos factores contribuye a favorecer la decoloración de la carne, siendo éste uno de los principales procesos a evitar de cara a prolongar su vida útil.

El factor más influyente en el color de la carne cruda, aparte del estado químico de la mioglobina, es la concentración de dicho pigmento (Madhavi y Carpenter, 1993). La cantidad de mioglobina presente en el músculo puede estar determinada a su vez por diversos factores tales como: el tipo metabólico de las fibras musculares, encontrándose un mayor contenido en mioglobina en los músculos con predominio de fibras oxidativas que en los músculos con mayor proporción de fibras glicolíticas (Cooper y col., 1970; García-Macías y col., 1996; Beattie y col., 1999); la aptitud o el grado de precocidad de la raza; la especie animal, siendo mayor en las especies ovina y bovina que en el cerdo o el pollo (Ashmore y Doerr, 1971); la edad del animal, siendo mayor en los animales adultos que en los más jóvenes (Warriss, 1990); el ejercicio muscular, con mayor

concentración a mayor actividad muscular (Barnard y col., 1970; Essén-Gustavson y col., 1989); el peso del animal en el momento del sacrificio, siendo mayor en animales con mayor peso; el sistema de explotación y manejo y el tipo de alimentación. La mayoría de estos factores pueden influir a su vez sobre el color y composición de la grasa (Asenjo y col., 2005).

El consumo de oxígeno *postmortem* por parte del tejido muscular también es determinante en el color de la carne (Ledward, 1992). Las enzimas musculares de las mitocondrias y del citosol celular son capaces de utilizar el oxígeno durante un considerable período de tiempo después del sacrificio del animal (Faustman y Cassens, 1990<sup>a</sup>). Cuando se corta la carne fresca se establece un equilibrio entre el oxígeno que difunde a través de los tejidos y la captación de esta molécula por estas enzimas (para su utilización en las cadenas respiratorias) y por la mioglobina para su transformación en oximioglobina (Bevilacqua y Zaritzky, 1986).

La formación de oximioglobina es fundamental, desde el punto de vista comercial, para la obtención del característico color rojo brillante asociado por el consumidor a una carne fresca, por lo que de manera general y sin tener en cuenta el resto de factores, cuanto mayor es el CTO (consumo tisular de oxígeno), menor será la estabilidad del color de la carne (Faustman y Cassens, 1990<sup>a</sup>; Ledward, 1991; Madhavi y Carpenter, 1993). Al igual que la actividad enzimática celular, el CTO es máximo en los momentos posteriores a la muerte del animal, disminuyendo su valor exponencialmente con el transcurso de la refrigeración hasta llegar a valores mínimos a los 7 días (Bendall y Taylor, 1972; Madhavi y Carpenter, 1993). Del mismo modo, los diferentes tipos metabólicos musculares muestran diferencias inherentes en la actividad respiratoria remanente.

Otro factor fundamental en la estabilidad del color en la carne cruda es la conservación de la actividad reductora con posterioridad a la muerte del animal. Los sistemas reductores del músculo, enzimas del sistema citocromo y la coenzima NADH, son capaces de reducir la molécula de metamioglobina a mioglobina (Echevarne y col., 1990; Lawrie, 1998). Del mismo modo que en el CTO, en la reducción de la metamioglobina están implicados sistemas

enzimáticos que todavía conservan la actividad residual. A diferencia del CTO, la actividad reductora favorece la estabilidad del color de la carne ya que es capaz de transformar la metamioglobina (Faustman y Cassens, 1990<sup>b</sup>; Madhavi y Carpenter, 1993). La actividad reductora puede variar en función de la especie animal y de la localización anatómica, siendo dicha actividad mayor en los músculos glicolíticos que en los oxidativos (Echevarne y col.,1990; Madhavi y Carpenter, 1993; Zhu y Brewer, 1998), lo que favorece la mayor estabilidad del color en los primeros (Madhavi y Carpenter, 1993).

La carne en contacto con aire va a acumular metamioglobina hasta establecer un “pseudoequilibrio” entre la velocidad de oxigenación de la mioglobina y la capacidad de reducción de la metamioglobina. Conforme transcurre el tiempo y aumenta el estado de oxidación de la carne, la capacidad de las enzimas reductoras comienza a decaer rompiendo el equilibrio a favor de la acumulación de metamioglobina hasta alcanzar el característico color marrón de la carne envejecida.

La oxidación de la grasa también influye en el deterioro de la calidad de la carne cruda. Los ácidos grasos poliinsaturados esterificados a fosfolípidos son el principal sustrato de la cadena de reacciones de oxidación mediada por radicales libres (Lillard, 1987; Pikul y Kummerow, 1990, 1991), por lo que existe una correlación directa entre los niveles musculares de ácidos grasos poliinsaturados y la susceptibilidad a la oxidación mostrada por la carne procedente de distintas especies (Tichivangana y Morrissey, 1985). Esta susceptibilidad a la oxidación también difiere entre las distintas especies debido a sus diferencias en la actividad del sistema endógeno de enzimas antioxidantes (Mei y col., 1994; Lee y col., 1996). Además, dentro de una misma especie animal, el contenido lipídico y la actividad de los enzimas antioxidantes endógenos varía en función del músculo (Barbut, 2002; Devore y Greene, 1983; Lee y col., 1996; Renerre y col., 1996; Renerre y col., 1999), al igual que los niveles de antioxidantes endógenos no enzimáticos (Jensen y col., 1998<sup>a</sup>; Renerre y col., 1999). Las fibras rojas contienen un mayor número de mitocondrias que proporcionan una mayor superficie de membrana, lo cual facilita la acumulación de antioxidantes asociados a las mismas.

Además de la especie, otros factores relacionados con el animal, como el sexo, el individuo o la edad influyen en la susceptibilidad de la carne a la oxidación lipídica, ya que, por ejemplo, al aumentar la edad, aumentan la concentración de pigmentos hemáticos y otras proteínas, así como la cantidad y saturación de la grasa (Gray y Pearson, 1987; Kim y col., 2002).

El hierro es el principal catalizador de las reacciones de oxidación de la carne, por lo que el potencial oxidativo lipídico de ésta también está influido por su contenido en pigmentos hemo. Así, la carne cruda de ternera y cordero tiene más tendencia a oxidarse que la carne de cerdo, pollo o pavo. En la carne cocida esta situación cambia, la carne de pollo y pavo pasan a ocupar el primer lugar en cuanto a susceptibilidad a la oxidación. Esto se explicaría, en parte, porque la cocción desnaturaliza las hemoproteínas que participan en la catálisis de la oxidación, a la vez que se produce la liberación de los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de membrana, principales sustratos de oxidación y más abundantes normalmente en estas especies (Rhee y col., 1996).

El deterioro microbiológico también puede afectar a la calidad de la carne cruda durante su almacenamiento. La composición rica y variada en nutrientes y el alto contenido de agua de la carne hacen de la misma un excelente sustrato para el crecimiento y desarrollo de numerosos microorganismos, tanto de aquellos que forman parte de la microflora alterante, como de microorganismos patógenos.

La principal contaminación de la carne es de origen externo y se produce durante el sangrado, desuello y faenado. Los microorganismos proceden principalmente de las partes externas del animal (piel, pezuña y pelo) y del tracto intestinal. En la superficie externa del animal, además de su flora natural, existe un gran número de especies de microorganismos del suelo, agua, piensos y estiércol, mientras que el intestino contiene los microorganismos propios de esta parte del aparato digestivo.

Durante la manipulación posterior de la carne puede haber nuevas contaminaciones, a partir de las carretillas de transporte, cajas u otros recipientes, así como de otras carnes contaminadas, del aire y del personal. Es

especialmente peligrosa la contaminación por bacterias psicrófilas de cualquier procedencia, por ejemplo, de otras carnes refrigeradas. Ciertas máquinas como picadoras, embutidoras y otras, pueden aportar microorganismos perjudiciales en cantidades importantes, al igual que algunos ingredientes de productos especiales, como son los rellenos y especias.

Debido a la gran variedad de fuentes de contaminación, los tipos de microorganismos que suelen encontrarse en la carne son muchos. Entre los mohos destacan especies de los géneros *Cladosporium*, *Sporotrichum*, *Geotrichum*, *Thamnidium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Monilia*. A menudo se encuentran levaduras, especialmente no esporuladas. Entre las muchas bacterias que pueden hallarse, las más importantes son las de género *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia* y *Salmonella*. Muchas de estas bacterias crecen a temperaturas de refrigeración (Bejarano, 2001).

Los gérmenes mesófilos tienen menores posibilidades de reproducirse conforme más rápido se realice el enfriamiento de la carne. Las temperaturas de almacenamiento por lo general varían de -1 a 2 °C. El tiempo máximo de conservación se estima en 30 días para vacuno y de 1 a 2 semanas para cerdo y cordero, dependiendo siempre de la carga inicial de gérmenes, de la temperatura y de la humedad relativa.

La textura también es un atributo de calidad importante en la carne cruda, que está determinado por las propiedades de las estructuras miofibrilares, conjuntivas y del citoesqueleto. Puede verse influenciada por varios factores, destacando principalmente la especie, la raza, sobre todo considerando conjuntamente la raza-sistema de explotación y manejo, la edad y el peso de sacrificio, los cuales influyen notablemente en la composición de la grasa y porcentaje de ácidos grasos del músculo, y en su pH final (Asenjo y col., 2005).

La CRA de la carne está directamente relacionada con el estado de las proteínas miofibrilares y sarcoplasmáticas presentes en el músculo y con su solubilidad. Las proteínas miofibrilares pueden retener grandes cantidades de



agua. La carne cruda de los mamíferos inmediatamente tras el sacrificio contiene, por término medio, un 75% de agua (Lawrie, 1991), porcentaje que varía con la especie de procedencia y el músculo que se considere. Las moléculas de agua forman enlaces de hidrógeno con los grupos polares de las cadenas peptídicas, tales como los grupos carboxilo, amino, imidazol, carbonilo y sulfhídrico. La unión de agua y proteínas mediante este tipo de enlaces confiere flexibilidad al músculo, pero lo dotan a su vez de una consistencia firme, atributo de calidad importante, tanto en el procesado y la elaboración de productos, como en el fileteado de la carne y la venta al por menor. La naturaleza y la propia consistencia de la grasa, así como el contenido graso del músculo, afectan también a la consistencia de la carne. Al bloquearse los grupos polares de las proteínas disminuye su capacidad de retención de agua. Esta capacidad también disminuye considerablemente cuando el pH de la carne es bajo y cuando se almacena a temperaturas superiores a 20 °C. Los factores que contribuyen a la exudación durante la maduración de la carne son también responsables de que durante el procesado se produzcan retracciones más intensas y mayores pérdidas de nutrientes hidrosolubles.

Todos los factores que pueden afectar a la calidad de la carne cruda pueden a su vez influir en la calidad de la carne cocinada. Los atributos sensoriales más importantes en la carne cocinada de cordero son el olor y el sabor, agrupados conjuntamente bajo el término flavor, sobre los cuales influyen principalmente el sexo del animal, la edad de sacrificio, el sistema de explotación y manejo, y el método y condiciones de cocinado de la carne. La mayoría de estos factores determinan en gran medida la composición de la carne, produciéndose durante el cocinado los compuestos responsables del flavor a consecuencia de la volatilización de los componentes de menor peso molecular y de otras transformaciones vía reacción de Maillard, degradación de Strecker y oxidación lipídica (Mottram, 1998).

No existe unanimidad sobre la influencia del sexo del animal sobre atributos como el color o la CRA de la carne en la especie ovina (Asenjo y col., 2005), sin embargo, éste sí puede afectar a su calidad sensorial. El sacrificio de machos adultos que han desarrollado sus características sexuales puede

determinar la aparición de cierto flavor sexual. La adquisición de la pubertad tiene un fuerte componente genético, racial e individual, aunque lo normal es que desarrollen completamente sus atributos sexuales secundarios a los 40 días de edad. Los machos sexualmente activos segregan altos niveles de ciertas sustancias que actúan como feromonas, incluyendo esteroides como 3-alfa-hidroxi-5-alfa-androst-16-eno y 5-alfa-androst-16-en-3-ona (Knight y col., 1983) y alcoholes como 1,2-hexadecanodiol y 1,2-octadecanodiol (Cohen-Tannoudji y col., 2003) los cuales pueden acumularse en la carne y afectar a su flavor, aunque se dispone de poca información sobre esta cuestión. La castración de machos es una práctica frecuente en países donde los corderos se sacrifican con una elevada edad o se consumen ovinos mayores. A efectos de flavor, la castración disminuye el nivel de feromonas y ácidos grasos ramificados de la carne, en especial de ácido 4-metiloctanoico (Sutherland y Ames, 1996), aunque también puede aumentar el engrasamiento de ésta, intensificando los sabores relacionados con la grasa.

La edad de sacrificio afecta a la composición de la carne ovina y, por tanto, a sus características sensoriales. Los principales tipos de corderos comerciales en España son el cordero lechal, sacrificado con menos de un mes y medio de edad y hasta 8 kg en canal, el cordero ternasco (menos de 4 meses y 8-13 kg en canal) y el cordero pascual (4-12 meses). La reglamentación de la UE considera corderos a los ovinos con menos de 12 meses de edad y hace una clasificación diferente, más adaptada al tipo de canales pesadas que se producen en el centro y norte de Europa, que básicamente distingue entre corderos ligeros (menos de 13 kg en canal) y pesados (desde 13 kg en canal en adelante) (Almela y col., 2009).

En comparación con el cordero lechal, el cordero ternasco proporciona una carne con más grasa infiltrada y de cobertura que le confiere un intenso flavor propio a carne de cordero. Además, conforme mayor es la edad la carne contiene más hierro, que actúa como catalizador de la oxidación de lípidos durante el cocinado de la carne (Sutherland y Ames, 1996; Young y col., 1997). Sutherland y Ames (1996) sugirieron que la edad de sacrificio de los animales afectaba al porcentaje de 4-metilnonanoico y 4-metiloctanoico en la grasa de

cordero. Conforme mayor es la edad, habría mayor deposición de grasa y, por tanto, más depósito de ácidos grasos ramificados y otros compuestos implicados en el flavor procedentes del metabolismo ruminal, presentando la grasa de los carneros un mayor porcentaje de ácidos grasos de cadena ramificada que la grasa de los corderos.

Todo esto influye sobre la intensidad del flavor característico de la carne cocinada de ovino, haciendo que aumente con la edad del animal, siendo más débil en la carne de cordero que en la de ovino mayor. Desde la antigüedad se sabe que la grasa ovina contiene compuestos aromáticos específicos parecidos a los de la grasa caprina, aunque no se sabía muy bien como se generaba el flavor tras el cocinado. Esta cuestión fue parcialmente resuelta por Hornstein y Crowe (1963), quienes comprobaron que la grasa ovina desarrollaba por igual su olor característico cuando era calentada en una atmósfera con y sin oxígeno. Por tanto, concluyeron que el aroma característico estaba más relacionado con la particular composición de la grasa ovina que con fenómenos de oxidación de lípidos. Sin embargo, esto no ocurría con la grasa de vacuno y cerdo, que experimentaban ciertas diferencias en el aroma. Esta teoría ha sido corroborada por otros investigadores. Utilizando un panel de expertos, Brennand y Lindsay (1982), comprobaron que la grasa era decisiva para discriminar el sabor de la carne de cordero, lo cual no sucedía con el sabor de la carne de vacuno o cerdo. Moody (1983) argumentó que la grasa intramuscular era suficiente para permitir el desarrollo de los aromas característicos de la carne de cada especie durante el cocinado. Los lípidos del tejido magro contienen una cantidad relativamente alta de ácidos grasos insaturados, los cuales, en presencia de oxígeno son susceptibles de sufrir oxidación, dando lugar a compuestos volátiles intermedios responsables del sabor y olor de la carne.

El flavor de la carne cocinada también puede ser modificado por las condiciones nutricionales en las que se crían los rumiantes. Estas diferencias generalmente son percibidas por los consumidores, si bien, la preferencia se ve influenciada por la experiencia previa y por cuestiones culturales. Vasta y Priolo (2006) realizaron una completa revisión sobre los compuestos potencialmente implicados en el flavor que proporcionan las dietas herbales, a base de grano y

enriquecidas con grasa, empleadas en rumiantes. A su vez, dieta y sistema de producción son factores interrelacionados entre sí, ya que la dieta varía según se críe en régimen intensivo, extensivo o mixto.

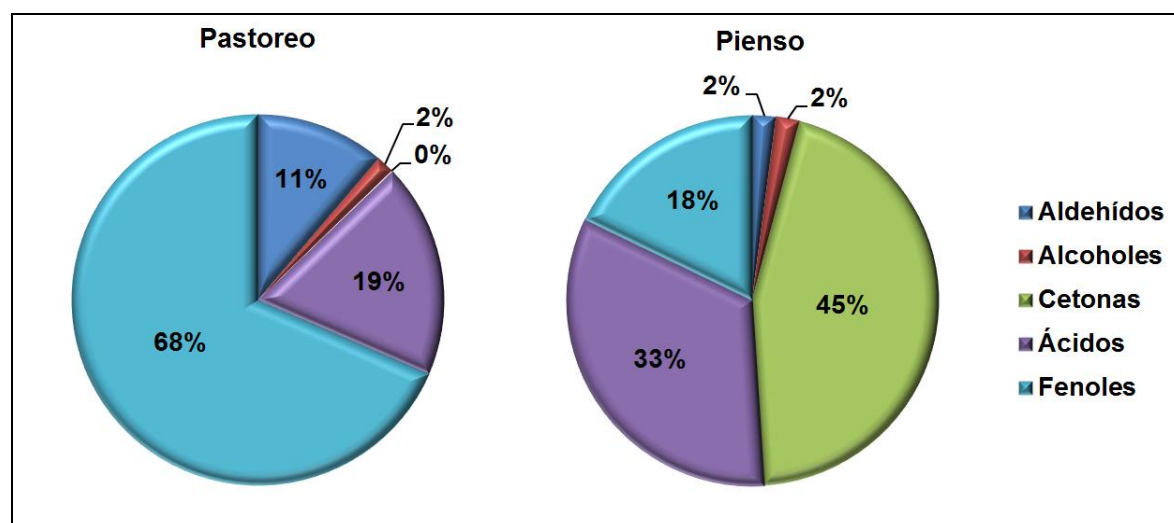
Los aldehídos y cetonas están en mayor proporción en la carne proveniente de sistemas intensivos ya que derivan de la oxidación de los ácidos linoleico y oleico presentes en mayor porcentaje en los animales que consumen grano. En cambio, una mayor proporción de aldehídos insaturados, ácidos grasos volátiles y metil-cetonas derivan de la oxidación del ácido linolénico presente en altas cantidades en la carne proveniente de animales en pastoreo (Marmer y col., 1984).

El “flavor pastoral” ha sido atribuido a la presencia de compuestos específicos en la carne de rumiantes. Estos compuestos proceden de los componentes de la dieta de los animales alimentados en régimen extensivo. Algunos de los compuestos químicos presentes en los pastos que les sirven de alimento a los animales pueden ser absorbidos directamente sin ser alterados en los compartimentos estomacales de los rumiantes y transferirse al músculo y al tejido adiposo, influyendo en el flavor de la carne. Otros compuestos químicos son fermentados por la flora microbiana presente en el rumen, y los productos resultantes sufren una absorción, metabolización y excreción. Una porción de estos compuestos pueden depositarse en el tejido adiposo y en el músculo, influyendo así en el flavor de la carne (Schreurs y col., 2008). El flavor pastoral puede resultar desagradable para aquellos consumidores acostumbrados a consumir carne de animales alimentados en sistemas de producción intensivos (Prescott y col., 2001)

En comparación con las dietas concentradas a base de grano, las plantas presentes en los pastos que sirven de alimento a los rumiantes contienen una alta proporción de ácidos grasos insaturados, en concreto el ácido linolénico (C18:3), precursor de diversos aldehídos insaturados, ácidos grasos volátiles y metil-cetonas (Prache y col., 2005). Otros constituyentes presentes en altas proporciones son las clorofilas, metabolitos secundarios de las plantas como los taninos condensados y los terpenos. Estas características de la alimentación a base de pastos van a contribuir a proporcionar a la carne diferentes compuestos

volátiles responsables del flavor, en comparación con la carne de animales alimentados en régimen intensivo (Vasta y Priolo, 2006; Almela y col., 2010) (**Figura 5**).

**Figura 5.** Efecto de la dieta de corderos (pastoreo vs pienso en grano) sobre los principales grupos de compuestos volátiles detectados en carne cocinada (Almela y col., 2010).



El flavor pastoral ha sido relacionado con el depósito de alquilfenoles en la grasa ovina, incluyendo metilfenoles, isopropilfenoles y otros compuestos fenólicos (Ha y Lindsay, 1991). Otros compuestos responsables del flavor pastoral son el indol y 3-metilindol (escatol), cuyos niveles pueden aumentar en la grasa tras ingerir dietas ricas en proteínas que proporcionan los pastos (Rousset-Akrim y col., 1997; Young y col., 1997). El escatol y el indol se generan en el rumen por desaminación y descarboxilación microbiana del triptófano. En los rumiantes, la grasa puede solubilizar compuestos tales como escatoles o terpenoides presentes en los pastos, o generados durante la digestión de la clorofila. Algunos de estos compuestos se volatilizan durante el tratamiento térmico de la carne.

Otros compuestos responsables del flavor pastoral incluyen compuestos azufrados y amoniaco, originados por la fermentación en el rumen de los aminoácidos procedentes de la alimentación en régimen extensivo, ya que los pastos, en comparación con las dietas a base de grano, contienen una mayor proporción de proteínas con alto grado de solubilización y degradación en el rumen.

Las dietas a base de grano favorecen la síntesis y deposición de ácidos grasos ramificados en la carne debido a la intensa fermentación de carbohidratos por las bacterias amilolíticas presentes en el tracto digestivo (Sebastián y col., 2003; Young y col., 1997). Aunque los compuestos formados dependen del tipo de cereal, en general, las dietas a base de grano proporcionan más ácido oleico y linoleico que las dietas herbales, de ahí que se asocian a las primeras con el incremento en la grasa ovina de ciertas lactonas ( $\gamma$ -tetradecalactonas y  $\gamma$ -hexadecalactonas) y aldehídos (hexanal, 2-heptenal y 2,4-decadienal) formados a partir de estos ácidos grasos (Sebastián y col., 2003; Suzuki y Bailey, 1985). En general éstos aportan flavor dulce y reducen el flavor característico de la carne de cordero (Park y col., 1975).

La alimentación de corderos con dietas enriquecidas en grasas y aceites también puede modificar el perfil de ácidos grasos de la carne. El empleo de aceites de pescado, algas marinas y semilla de lino aumenta el nivel de ácidos grasos poliinsaturados, aldehídos y otros compuestos secundarios, algunos de los cuales, como 3-tiazolina y tiazol, son generados por reacción de compuestos carbonilo y sulfurados tras el cocinado (Elmore y col., 2005). Aunque la alimentación ovina está cada vez más controlada, pueden producirse sabores anómalos por alimentación con determinados residuos de industria alimentaria, subproductos vegetales, vegetales inapropiados o dosis excesivamente altas de éstos. Hay que tener en cuenta que es corriente pastorear el ganado para aprovechar los restos de las explotaciones agrícolas, pudiendo presentarse problemas de este tipo.

La intensidad del flavor de la carne aumenta con la duración de la dieta. Se han realizado estudios comparando carne de ovino de diferentes edades y criados en distintos tipos de pastos, y se ha comprobado que la intensidad del

típico flavor a carne de oveja fue aumentando con la edad y estaba relacionado con el contenido en la carne de ácidos grasos ramificados y 3-metilindol (escatol) (Rousset-Akrim y col., 1997; Young y col., 1997).

El manejo *antemortem* y sacrificio de los corderos pueden afectar al flavor de la carne cocinada. El estrés *antemortem* produce carnes fatigadas en los rumiantes, con bajos niveles de glucógeno muscular y un elevado pH *postmortem*. Autores como Young y col. (1993), Hopkins y col. (1996) y Braggins (1996) han sugerido que el flavor deseable de la carne ovina se atenúa cuando el pH es superior de lo normal, aunque Devine y col. (1993) no pudieron establecer tal efecto. Un elevado pH favorece la degradación de la cisteína y la formación de compuestos sulfurados volátiles, aumenta la concentración de tiazoles al aumentar la disponibilidad de grupos amino susceptibles de ser degradados, pero disminuye la concentración de aldehídos de la carne cocinada (Braggins, 1996).

La maduración de la canal es otro factor que incide en el flavor de la carne. A medida que aumenta el tiempo de maduración se produce una mejora de sus atributos sensoriales. Las canales de cordero suelen ser maduradas en frío (2 °C) hasta 72 h con el objeto de ablandar la carne. Paralelamente, durante la maduración de la carne se desarrollan los precursores del flavor de la carne cocinada, como péptidos y aminoácidos libres, debido a la actividad de las proteasas y peptidasas endógenas, así como otros compuestos precursores del flavor procedentes de la hidrólisis y oxidación de lípidos.

El sistema de envasado también es importante para el flavor. Las piezas de carne se suelen envasar al vacío con plásticos con baja permeabilidad al oxígeno y al vapor de agua, mientras que los cortes de carne y la carne picada se comercializan en vitrinas refrigeradas envasadas en atmósferas ricas en oxígeno y dióxido de carbono con el objeto de mantener el color rojo de la carne fresca e incrementar su vida comercial. Sin embargo, esta práctica conlleva un gran riesgo para el flavor de la carne cocinada, pues una excesiva exposición al oxígeno y dióxido de carbono puede producir, respectivamente, rancidez y acidificación por bacterias anaerobias, fenómenos adversos que pueden hacerse evidentes antes y/o después del cocinado. La oxidación, en especial de los

lípidos, altera el flavor característico, la carne pierde su flavor propio a cordero, adquiriendo sabores a rancio, a recalentado y otros sabores indeseables. Reid y col. (1993) demostraron que la carne de cordero mantiene mejor su flavor propio cuando la carne cruda se conserva en ausencia de oxígeno.

La preparación culinaria afecta a todos los parámetros sensoriales. Los métodos de cocinado se clasifican en tratamientos secos, como el asado, y húmedos, como el estofado. El calentamiento en seco se caracteriza por utilizar tiempos cortos y temperaturas altas (150-200 °C). Para el asado en horno, la transmisión de calor se favorece por la convección de aire en un horno cerrado precalentado a 165 °C (Cross y col., 1978). Este método se usa para los trozos grandes de carne más tiernos. Para el asado a la plancha, el trozo de carne se cocina sobre o bajo una fuente de calor radiante y la carne se saca cuando se ha alcanzado la temperatura interna deseada. Cuando se comparan esto dos tipos de tratamiento en seco se encuentra que los valores de pérdida por cocinado son menores para filetes que han sido asados al horno que para los que han sido asados a la plancha. Por su parte, los métodos de cocinado húmedos utilizan temperaturas que oscilan entre los 70 °C (cocción a vacío) y 110 °C (cocción a presión). Incluyen el estofado, el tratamiento a presión y/o cualquier tipo de proceso que utilice agua. El cocinado con microondas es esencialmente un tratamiento de calentamiento húmedo, y la temperatura no supera los 100 °C (Cross y col., 1979).

MacLeod y Coppock (1977) compararon el perfil aromático de la carne de vacuno asada y hervida. El aroma de la carne hervida se desarrollaba antes que la temperatura de la carne alcanzase los 100 °C, mientras que en el asado no aparecía hasta que la temperatura no superaba los 100 °C. Tras 1,5 h de calentamiento, el número de compuestos volátiles producidos en el asado era unas tres veces el de la carne hervida. Durante el asado, se pierde agua de la superficie de la carne, se produce una concentración de precursores, aumentando así la velocidad de las reacciones químicas. La degradación térmica, que no ocurre normalmente por debajo de los 100 °C, también contribuye a la formación de compuestos en el asado.



El asado de la carne disminuye la velocidad de formación de alcanos, alquenos y furanos, pero incrementa la velocidad de formación de aldehídos, cetonas y pirroles. Algunos compuestos sulfurados, triazoles y piridinas se asocian más con el flavor a asado, mientras que algunos tioles se relacionan en mayor medida con el flavor a carne cocida. En términos sensoriales, los panelistas entrenados describen el flavor de carne hervida como más dulce, transpirada, rancia, aceitosa, grasienta y más fuerte que la asada, mientras que el flavor de ésta se describe como quemado, asado, tostado, “a tierra”, acre, picante, insulso y débil (MacLeod y Seyyedani-Ardebelli, 1986). El desarrollo del flavor es más tardío en el cocinado convencional que en el tratamiento con microondas, el cual proporciona un flavor más débil a carne cocinada (Bordrero y col., 1980).

Rota y Schieberle (2006) estudiaron los cambios inducidos por el cocinado en algunos compuestos responsables del flavor de la carne ovina. Los pocos compuestos aromáticos que claramente aumentaron tras la cocción fueron el 4-hidroxi-2,5-dimetil-3-furanona, 2-acetil-1-pirrolina y 2-amino-acetofenona. En cambio, tanto la carne cruda, como la cocinada, resultaron ser una importante fuente de ácido 4-etiloctanoico (sabor a cordero), trans-4,5-epoxi-2-decenal (sabor metálico), 1,5-octadien-3-ona (sabor a geranio) y 2,4-decadienal (sabor a frito). Observaron que el cocinado no alteraba mucho la concentración de ácido 4-etiloctanoico. Esto podría deberse al hecho de que, a diferencia de los ácidos oleico y linoleico, el ácido 4-etiloctanoico, uno de los principales precursores del flavor de la carne cocinada, es más estable al cocinado, pues no tiene dobles enlaces susceptibles de reaccionar con el oxígeno para formar hidroperóxidos y compuestos carbonilo. En cualquier caso, existe poca información sobre los compuestos secundarios específicos derivados de estos ácidos y su interacción con otros componentes de la carne, aunque cabe suponer que pueden perder parte de sus propiedades aromáticas cuando interaccionan con compuestos de la reacción de Maillard, ya que el aroma a tostado predomina sobre el aroma a carne de cordero cocida.

### **2.4.3. Métodos para evaluar la calidad de la carne cruda y cocinada.**

#### **2.4.3.1. Físicos.**

- Color CIELAB.

La determinación del color del músculo y de la grasa, como parámetro de calidad, es fundamental para ofrecer un producto tipificado al consumidor. Es una medida compleja debido a que la apariencia del color del músculo varía al estar condicionada por los procesos químicos de oxidación y oxigenación de la mioglobina, siendo fundamental establecer el momento de medición del color y conocer la cinética de evolución del mismo durante el tiempo de vida comercial del producto en los expositores de venta al consumidor.

El color de la carne se puede medir de forma objetiva mediante reflectancia. Para ello se utilizan aparatos denominados colorímetros con el que se obtienen tres coordenadas: L\* (lightness: blanco-negro), a\* (redness: rojo-verde) y b\* (yellowness: amarillo-azul). A partir de estas dos últimas se calculan los valores C\* (índice de saturación o chroma) y H\* (tono o ángulo hue). Con estos datos se puede caracterizar el color de un producto.

#### **2.4.3.2. Químicos.**

- Índice de peróxidos.

Es una técnica que se emplea para determinar la oxidación inicial de los productos cárnicos. Los radicales hidroperóxidos (peróxidos) son compuestos primarios resultantes de la oxidación lipídica. Mediante este método se les hace reaccionar con yoduro potásico, dándose lugar a la liberación de yodo. La cantidad liberada de éste se valora posteriormente con tiosulfato de sodio.

El resultado de esta técnica se expresa como miliequivalentes de oxígeno activo contenidos en un kilogramo de materia grasa de muestra. El valor depende del grado de insaturación de la grasa y del tratamiento tecnológico al cual ha sido sometida la muestra (AOAC, 1984).

Existen estudios que señalan que el índice de peróxidos no es un método muy fiable debido a las peculiaridades de los compuestos intermedios de la oxidación lipídica, los cuales no siempre aumentan a lo largo del tiempo, sino que también pueden disminuir (López-Bote y Menoyo, 2000).

- Índice de yodo.

Este método se emplea para estimar el grado de insaturación de los lípidos presentes en la muestra. Se basa en la gran afinidad de los iones halogenados por los dobles enlaces. Cuanto mayor sea el resultado del índice de yodo, mayor grado de insaturación presentarán los lípidos y, por lo tanto, mayor tendencia a oxidarse.

Se basa en el tratamiento de la muestra con un reactivo halogenado en exceso y en una posterior valoración de la parte de éste que no haya reaccionado con los ácidos grasos insaturados. Se emplea como reactivo el yoduro de potasio, como en el índice de peróxidos (método Wijs), o el yodo monobromuro (método Hanus). El resultado de este método se expresa como peso absorbido de yodo por 100 partes en peso de la materia grasa (B.O.E., 29-8-1979).

- Índice de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Este método es el más utilizado para evaluar la extensión de la oxidación lipídica en carne y productos cárnicos (Gray, 1978; Melton, 1983). Se fundamenta en la reacción entre el malondialdehído, uno de los principales productos secundarios formado durante la oxidación de los ácidos grasos insaturados, y el ácido tiobarbitúrico para formar el complejo MDA-TBA, el cual presenta una tonalidad rosácea. Este grupo cromógeno presenta un máximo de absorción a 532 nm, por lo que su medición espectrofotométrica permite cuantificar la concentración de MDA en carne (Tarladgis y col., 1960; Gray y Monahan, 1992; Raharjo y Sofos, 1993).

Inicialmente se empleaba el índice del ácido tiobarbitúrico como método específico para la cuantificación de malondialdehído (Tarladgis y Watts, 1960). Sin embargo, estudios posteriores pusieron en evidencia la reactividad del ácido

tiobarbitúrico con otros componentes de la carne (aminoácidos, azúcares, aldehídos, etc.), dando lugar a otros compuestos con el mismo máximo de absorción que el complejo MDA-TBA (Halliwell y Gutteridge, 1990; Esterbauer y col., 1991). Esto hace que se produzca una estimación errónea de la cantidad de malondialdehído presente en la muestra, al obtenerse valores mayores a consecuencia de la interferencia de los distintos componentes de la carne y no debido al grado de oxidación de la muestra. Por este motivo, a la hora de expresar los resultados resulta más correcto emplear el término de “sustancias reactivas con el TBA” (TBARS) (Ke y col., 1984; Gray y Pearson, 1987; Raharjo y Sofos, 1993). Aun así, en base a su simplicidad y a su elevada sensibilidad y especificidad, el índice TBARS es el método más eficaz para la determinación del grado de deterioro asociado a la oxidación lipídica en carne fresca (Botsoglou y col., 2004), ya que en ésta el número de compuestos potencialmente interferentes con el ácido tiobarbitúrico (dextrosa, sulfitos, etc.) es muy inferior al presente en otros productos cárnicos más elaborados (salchichón, chorizo, burger meat, etc.).

Al evaluar la estabilidad oxidativa de la carne y los productos cárnicos se observa un incremento de las TBARS conforme aumenta el tiempo de almacenamiento hasta alcanzar un valor máximo, a partir del cual, los valores comienzan a disminuir debido a la reactividad del MDA frente a los grupos amino de aminoácidos y de moléculas de ADN (Chio y Tappel, 1969; Andreo y col., 2001).

Existe una relación directa entre los valores de TBARS y las notas de intensidad de olor y flavor desagradables en carnes frescas y cocinadas (MacDonald y col., 1980; Mann y col., 1989; Nolan y col., 1989; Stapelfeldt y col., 1993; Gil, 2002), empleándose por ello esta técnica en numerosos trabajos para estudiar los cambios oxidativos acontecidos durante el almacenamiento (Shricker y Miller, 1983; Cannon y col., 1995; Jensen y col., 1998<sup>a</sup>; Kerry y col., 2000).

- Análisis del perfil de volátiles marcadores de la oxidación lipídica.

Es una técnica basada en el análisis de los compuestos volátiles que determinan las alteraciones en el olor y flavor de los productos cárnicos durante

su almacenamiento. Dichos compuestos pasan a la atmósfera debido a su elevada volatilidad y pueden ser extraídos e identificados mediante técnicas de análisis del espacio de cabeza. Podemos clasificar estas técnicas en dos grandes categorías: espacio de cabeza estático y espacio de cabeza dinámico o de purga-y-trampa. Con cualquiera de ellas el fundamento es el mismo, son estudiados mediante el análisis de la atmósfera adyacente a la muestra los distintos compuestos volátiles procedentes de la misma.

- Análisis de productos derivados de la oxidación del colesterol (COPs).

El colesterol es uno de los lípidos presente en los tejidos animales, siendo muy susceptible a sufrir procesos de autooxidación que generan una amplia gama de productos secundarios denominados COPs (Cholesterol Oxidation Products) (Smith, 1981), que tienen cierto interés nutricional.

La mayor parte de las técnicas utilizadas identifican y cuantifican los COPs mediante cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía gaseosa (GC). Normalmente, para lograr un buen fraccionamiento de la muestra y concentración de los óxidos de colesterol se recurre a la combinación de cromatografía líquida preparativa, bien en columna o bien en capa fina, asociada a HPLC o GC (Fisher y col., 1985; Pie y col., 1990).

La dificultad de estos métodos cromatográficos no sólo radica en la separación de los distintos tipos de COPs, sino también en la extracción selectiva de dichos compuestos entre los lípidos de la matriz cárnica capaces de interferir en las mediciones.

- Cuantificación de carbonilos totales en proteínas.

El total de grupos carbonilos se emplea como indicador global de la oxidación de proteínas. De forma rutinaria se utiliza la técnica de la dinitrofenilhidrazina (DNPH) para cuantificar el total de carbonilos en proteínas, obteniéndose resultados equivalentes a los que se obtienen de la técnica de TBARS para la oxidación de lípidos (Estévez y col., 2012).

La presencia de carbonilos se ha detectado en la carne y en productos cárnicos, como hamburguesas de cerdo, salchichas tipo Frankfurt, patés de hígado, jamones cocidos, jamones y lomos curados y embutidos crudo curados (Armenteros y col., 2009; Ganhao y col., 2010; Fuentes y col., 2010; Vossen y col., 2012). Los procesos tecnológicos aplicados a la carne como el curado, las altas presiones hidrostáticas, las radiaciones ionizantes o los tratamientos culinarios promueven la oxidación de proteínas y la formación de compuestos carbonilos. La carbonilación de las proteínas cárnicas también tiene lugar durante el almacenamiento en refrigeración y congelación de carne y productos cárnicos.

La formación de carbonilos es una manifestación inequívoca del daño oxidativo sobre las proteínas y tiene lugar bajo condiciones de oxidación severas (Estévez, 2011). Tras la sustracción de un átomo de hidrógeno por parte del radical libre tiene lugar una desaminación oxidativa en presencia de un metal de transición, normalmente hierro hemínico ( $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ) procedente de la mioglobina, que actúa como catalizador, lo cual provoca la pérdida del grupo amino y la formación del grupo carbonilo. Aunque el proceso de carbonilación puede ocurrir en ausencia de oxidación lipídica, en sistemas complejos como la carne y los productos cárnicos la presencia de lípidos en proceso de descomposición oxidativa influye sobre la oxidación de proteínas, ya que los radicales lipídicos e hidroperóxidos formados en las fases iniciales de la oxidación de las grasas pueden iniciar la oxidación de proteínas adyacentes. Existe por tanto una interacción entre lípidos y proteínas durante las reacciones de oxidación en alimentos mediante la transferencia de radicales y otros productos de oxidación.

#### **2.4.3.3. Microbiológicos.**

El seguimiento del desarrollo microbiológico durante el almacenamiento del producto sirve para determinar las condiciones del mismo, obteniéndose información acerca de su vida útil. Cuando el recuento de aerobios mesófilos totales, uno de los indicadores microbiológicos de calidad más utilizados, es elevado, quiere decir que el producto tiene una vida útil corta. Además puede

representar un riesgo potencial para la salud del consumidor, por la mayor probabilidad de presencia de patógenos en el mismo.

Los resultados microbiológicos se pueden expresar como logaritmo decimal de unidades formadoras de colonias por gramo de producto ( $\log \text{ufc g}^{-1}$ ), aunque existen formas específicas para algunos tipos de microorganismos.

- Bacterias mesófilas.

En este grupo se incluyen todas las bacterias capaces de desarrollarse a 30 °C. En este recuento se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima.

Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica ni asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena. Ahora bien, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, no son recomendables recuentos elevados. El recuento de mesófilos nos indica las condiciones de salubridad de algunos alimentos.

El método normalizado ISO 4833:2003 de la directiva general para el recuento de microorganismos, se basa en la siembra en profundidad en un medio de cultivo definido (PCA), vertido en placas de Petri, con una cantidad determinada de muestra si el producto a examinar es líquido (1 ml), o con una cantidad determinada de suspensión madre en el caso de otros productos. Se realiza una incubación a 30 °C, en aerobiosis durante 72 h. A partir del número de colonias obtenidas en las placas de Petri se calcula el número de microorganismos por mililitro o por gramo de muestra.

- Bacterias psicrófilas.

En este grupo se incluyen todas las bacterias capaces de desarrollarse a 7 °C o por debajo de esta temperatura.

El método normalizado ISO 17410:2001 se basa en la siembra en profundidad en un medio de cultivo definido (PCA), vertido en placas de Petri, con una cantidad determinada de muestra si el producto a examinar es líquido, o

con una cantidad determinada de suspensión madre en el caso de otros productos. Se realiza una incubación a 4 °C, en aerobiosis durante 7 días. A partir del número de colonias obtenidas en las placas de Petri se calcula el número de microorganismos por mililitro o por gramo de muestra.

- Enterobacterias.

El recuento total de enterobacterias se utiliza como indicador de contaminación fecal, y como uno de los indicadores de buenas prácticas de fabricación. Se utiliza como indicador de la calidad microbiológica de alimentos procesados, ya que, recuentos elevados señalan una elaboración inadecuada o una contaminación posterior, o ambas cosas a la vez (siempre implica un riesgo higiénico-sanitario).

El método normalizado ISO 21528:2004 recoge dos métodos para el recuento de enterobacterias. El más empleado (ISO 21528-2:2004) se basa en la siembra en profundidad con el medio agar biliado cristal violeta glucosa (VRBG), en placas de Petri, con una cantidad determinada de la muestra a examinar, si el producto es líquido, o una cantidad determinada de la suspensión madre en el caso de los otros productos. En las mismas condiciones se siembran las diluciones decimales obtenidas a partir de la muestra problema o de la suspensión madre, después se procede a la incubación de las placas a 30 °C durante  $24 \pm 2$  h y al cálculo del número de *Enterobacteriaceae* por mililitro o por gramo de muestra, a partir del número de colonias características confirmadas obtenidas en las placas de Petri.

- Bacterias ácido-lácticas.

Este grupo lo constituyen un vasto conjunto de bacterias microaerófilas benignas, dotadas de propiedades similares, que fabrican ácido láctico como producto final del proceso de fermentación.

El método ISO 15214:1998, se basa en la siembra en doble capa en un medio de cultivo definido (MRS), vertido en placas de Petri, con una cantidad determinada de muestra si el producto a examinar es líquido, o con una cantidad determinada de suspensión madre en el caso de otros productos. Se realiza una



incubación a 30 °C en anaerobiosis (doble capa) durante 72 h. A partir del número de colonias obtenidas en las placas de Petri se calcula el número de microorganismos por mililitro o por gramo de muestra.

- Mohos y levaduras.

El recuento de mohos y levaduras es un índice de las condiciones higiénicas de una materia prima y de las condiciones de manipulación. Su significado es similar al de los aerobios mesófilos.

El medio que se utiliza es Agar Rosa de Bengala (RB) + Cloranfenicol siguiendo el método normalizado ISO 21527-1:2008 de la directiva general para el recuento de levaduras y mohos. Este método se basa en la siembra en profundidad en un medio de cultivo selectivo determinado, en placas de Petri, con una cantidad determinada de muestra si el producto a examinar es líquido, o con una cantidad determinada de suspensión madre en el caso de otros productos. En las mismas condiciones, se realiza la siembra de las diluciones decimales obtenidas de la muestra o de la suspensión madre y, posteriormente, la incubación de las placas en aerobiosis a 25 °C, durante 5 días. El cálculo del número de levaduras y mohos por mililitro o por gramo de muestra se realiza a partir del número de colonias obtenidas en las placas escogidas a los niveles de dilución que dan un resultado significativo.

- Bacterias patógenas.

En la carne cruda refrigerada, además de bacterias asociadas al deterioro, pueden desarrollarse también bacterias patógenas. Las principales son: *Listeria monocytogenes*, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum* no proteolítico y cepas de *Bacillus cereus* psicrótrofas (Sofos y col., 2000; Naidoo y Lindsay, 2010; Nicolaou y col., 2012).

Cada una de estas bacterias poseen métodos específicos de determinación y recuento recogidos en diferentes normas ISO y otras, que se pueden aplicar para verificar la salubridad de la carne.

Actualmente, no existe ningún proceso capaz de asegurar completamente la producción de carne cruda libre de patógenos (Jay y col., 2005). Sin embargo, la aplicación estricta de las normas de seguridad e higiene en la obtención y manipulación de la carne, sumada a los distintos métodos de conservación a los ésta es sometida (bajas temperaturas, envasado, atmósfera modificada, etc.), disminuyen de forma destacada la posibilidad de desarrollo de microorganismos patógenos en la misma (Sánchez y col., 2008).

#### **2.4.3.4. Sensoriales.**

El análisis sensorial permite medir, analizar e interpretar las reacciones humanas ante las características de los alimentos, así como la manera en que éstas son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído (IFT, 1975), por lo que es una herramienta muy útil para caracterizar y monitorizar los cambios derivados de los fenómenos de enranciamiento o del warmed-over flavor (WOF) en carne, con el fin de valorar la efectividad de determinados tratamientos sobre su inhibición.

La valoración sensorial de la carne por parte de un panel de catadores implica la cuantificación de una o más características de textura, olor, flavor y/o apariencia. Esta valoración se puede aplicar en la caracterización individual de un producto, permite comparar los efectos de distintos tratamientos o condiciones de almacenamiento, e incluso, contrastar la efectividad de nuevos métodos analíticos desarrollados con el objetivo de medir la oxidación lipídica en carne (Addis y Pearson, 1986).

El equipo de catadores es el instrumento de medida utilizado en el análisis sensorial. La calidad de los datos sensoriales está directamente relacionada con el correcto funcionamiento del equipo y éste, a su vez, dependerá básicamente de los métodos empleados durante la preselección, selección y entrenamiento de los sujetos. Éstos se deben seleccionar en función del objetivo de la prueba, ya que los requisitos que deben cumplir difieren según el tipo de ensayo a realizar.

Los métodos de evaluación sensorial se clasifican en función del tamaño y grado de especialización del panel, pudiendo éste, en líneas generales, estar constituido por un grupo amplio sin especialización (panel de consumidores o estudio de mercado) o por un número reducido de personas con diversos niveles de especialización (panel de catadores semientrenados o expertos).

Los constituyentes de un panel de consumidores son elegidos al azar entre una población de consumidores habituales o potenciales del producto que se va a evaluar (Anzaldúa-Morales, 1994). Es fundamental que el número de éstos sea elevado, siendo necesario un mínimo de 30 para que los resultados obtenidos tengan validez estadística (ASTM, 1968), aunque algunos autores sostienen que es preferible un mínimo de 40 panelistas por muestra (Anzaldúa-Morales y col., 1983). Este tipo de evaluación sólo se utiliza para realizar pruebas de preferencia subjetiva sobre el producto con distintos niveles de aceptación. Dentro de este tipo de estudios encontramos los test de medición del grado de satisfacción (indicando si le gusta o le disgusta), test de aceptación (si lo acepta o lo rechaza) o test de preferencia (si lo prefiere frente a otro). Debido a la subjetividad de los datos que se obtienen y a su alta variabilidad los resultados de este tipo de pruebas presentan una difícil interpretación (Amerine y col., 1965; Anzaldúa-Morales y Brennan, 1984).

En el caso de la evaluación sensorial con un panel de catadores semientrenado la valoración del producto la llevan a cabo panelistas previamente seleccionados y entrenados (ISO 8586:2012) con habilidad para detectar y cuantificar determinados atributos sensoriales. Inicialmente se procede al reclutamiento y selección preliminar de los panelistas, luego se realiza una selección específica en función del producto y las características a evaluar, se hacen entrenamientos generales y aplicados y, por último, se llevan a cabo pruebas de control del grupo para comprobar la fiabilidad de las respuestas, la repetibilidad individual y colectiva, etc. (Nicod, 1990). La correcta ejecución de estas etapas permite la obtención de un panel analítico capaz de actuar como una poderosa herramienta para la valoración de la calidad sensorial de un alimento. El número requerido de catadores oscila entre un mínimo de 7 y un máximo de 15 (Larmond, 1977).

La mayor parte de los estudios de análisis sensorial utilizan la combinación de las evaluaciones realizadas por paneles de consumidores y de catadores entrenados. Una vez entrenados los jueces se pueden emplear principalmente para dos tipos de pruebas sensoriales: Pruebas discriminatorias y pruebas descriptivas.

- Pruebas discriminatorias.

El objetivo de las pruebas discriminatorias radica en establecer si hay o no diferencia entre dos o más muestras y, en algunos casos, la magnitud o importancia de esta diferencia (Larmond, 1977). Estos test se pueden aplicar para determinar el efecto de distintas clases de antioxidantes, técnicas de cocinado o tipos de envasado y almacenamiento sobre la estabilidad oxidativa de la carne.

De entre las pruebas recogidas en la normativa ISO, las más utilizadas son:

- a) Prueba de comparación por parejas (ISO 5495:2005).

A cada catador le son presentados uno o más pares de muestras y se le pide que las compare en base a algún atributo sensorial (sabor propio, sabor rancio, flavor a recalentado, etc.) e indique cuál de las dos presenta mayor intensidad del mismo. Es recomendable presentar las parejas de forma aleatoria, o bien, solicitar que la mitad del grupo las evalúe en un cierto orden y la otra mitad lo haga en sentido inverso. Con esta actuación se pretende compensar el “efecto del orden de presentación”.

Esta prueba presenta como principales ventajas la sencillez en la interpretación de los datos y el bajo número de muestras a catar por panelista, lo que evita el riesgo de hastío y su repercusión negativa sobre los resultados. Sin embargo, la elevada probabilidad de acertar por azar (50%) disminuye considerablemente la fiabilidad de los resultados.

b) Prueba dúo-trío (ISO 10399:2004).

A cada panelista se le presenta primero una muestra de referencia y a continuación dos muestras problema, una de las cuales es idéntica a la de referencia. El catador debe identificar la muestra problema que es distinta de la de referencia. Su principal inconveniente es la elevada probabilidad de acertar por azar (50%).

c) Prueba triangular (ISO 4120:2004).

Se presentan simultáneamente tres muestras codificadas, dos de las cuales son iguales, con el fin de que el panelista identifique cuál es la muestra desaparejada. Las muestras se deben presentar un número igual de veces en cada una de las posiciones que corresponden a las dos series de las tres permutaciones distintas: BAA, ABB, AAB, BBA, ABA, BAB.

En esta prueba la probabilidad de acertar por azar se reduce al 33%. Además es posible obtener información complementaria incluyendo en la hoja de cata un apartado en el que los panelistas especifican la magnitud de la diferencia (Larmond, 1977).

- Pruebas descriptivas.

Son las que permiten describir, comparar y valorar las características de las muestras en función de unas categorías o tipos (patrones) definidos previamente. Las pruebas descriptivas tienen un carácter típicamente analítico y son las más comúnmente utilizadas en la valoración de la estabilidad oxidativa de carnes en fresco o cocinadas (Huang y Greene, 1978; Igene y Pearson, 1979; Fooladi y col., 1979; Igbinedion y col., 1983; Poste y col., 1986).

Existe una gran variedad de pruebas descriptivas. Por su mayor aplicación podemos destacar: El método del perfil de flavor (FPM) y el análisis descriptivo cuantitativo (QDA).

a) Método del perfil de flavor (FPM) (ISO 13299:2003).

El método del perfil de flavor es una técnica altamente descriptiva. En ella intervienen catadores seleccionados y extensamente entrenados que juzgan y trabajan en equipo hasta alcanzar un consenso (Guerrero, 1995). Se suele emplear para determinar el efecto del uso de antioxidantes y/o técnicas de cocinado, envasado o almacenamiento sobre el sabor y aroma de productos cárnicos, ya que permite evaluar tanto cualitativa como cuantitativamente los atributos del flavor, determinando así el grado de influencia del tratamiento empleado sobre los productos estudiados.

b) Análisis descriptivo cuantitativo (QDA) (ISO 4121:2003).

Este método destaca por ser el método descriptivo más utilizado. Ésta técnica se basa en la caracterización de atributos sensoriales en términos cuantitativos según su orden de aparición. Normalmente cada panelista realiza una serie de medidas repetidas sobre el mismo producto empleando una escala de intervalos numérica, lineal no estructurada o mixta. Además de posibilitar la cuantificación de los resultados, el QDA ofrece la ventaja de tener una mayor amplitud descriptiva que el FPM, ya que permite la evaluación conjunta de términos de aspecto, aroma, flavor y textura.

Los cambios organolépticos registrados mediante el QDA suelen complementarse con los resultados obtenidos a partir de métodos físico-químicos y microbiológicos, consiguiéndose así una información más completa sobre el tratamiento aplicado en el producto estudiado (Gray, 1978). Existen numerosos estudios que han demostrado la existencia de una correlación positiva entre la aparición de sabores indeseables y los valores de TBARS (Igene y Pearson, 1979; MacDonald y col., 1980; Melton, 1983; Willemont y col., 1985; Poste y col., 1986; Nolan y col., 1989; Stapelfeldt y col., 1993).

#### **2.4.4. Mecanismos de deterioro de la carne cruda y cocinada.**

La carne experimenta una pérdida progresiva de los atributos de calidad propios durante su comercialización a consecuencia de los distintos fenómenos de deterioro. En carnes rojas, los cambios bioquímicos *postmortem*, los procesos prooxidantes y el almacenamiento comprometen las defensas antioxidantes musculares, por lo que los procesos oxidativos son favorecidos conduciendo al desarrollo de sabores desagradables “off-flavors” (Asghar y col., 1988; Morrissey y col., 1994; Renner y col., 1996) y originando la oxidación de la mioglobina la decoloración de la carne (Greene, 1969). Además, las características de la carne fomentan el desarrollo de microorganismos alterantes (Sánchez y col., 2008) y el deterioro de su estructura a medida que avanza el tiempo tras el sacrificio del animal, principalmente debido a la disminución de su CRA (Pla Torres, 2005).

##### **2.4.4.1. Oxidación de la carne.**

Los fenómenos oxidativos son uno de los principales responsables de la pérdida de calidad de la carne y de los productos cárnicos. Como consecuencia de estos procesos se generan compuestos que pueden afectar al flavor, color y textura de la carne, disminuyendo la aceptabilidad por parte del consumidor y reduciendo su valor nutritivo. Estos fenómenos constituyen el principal mecanismo de deterioro físico-químico de la carne fresca (Valenzuela y col., 2003).

Los factores promotores de la oxidación de la carne son muchos y variados, relacionados tanto con las propiedades intrínsecas de la misma, como por los distintos pasos del procesado a los que es sometida (Faustman y col., 2010). Entre los principales se pueden considerar: la insaturación de los ácidos grasos, la presión parcial de oxígeno, la superficie en contacto con el oxígeno, las condiciones de almacenamiento (temperatura, luz, humedad relativa), presencia de enzimas (lipooxigenasa), presencia de metales, radiaciones, etc. (Jadhav, 1995).

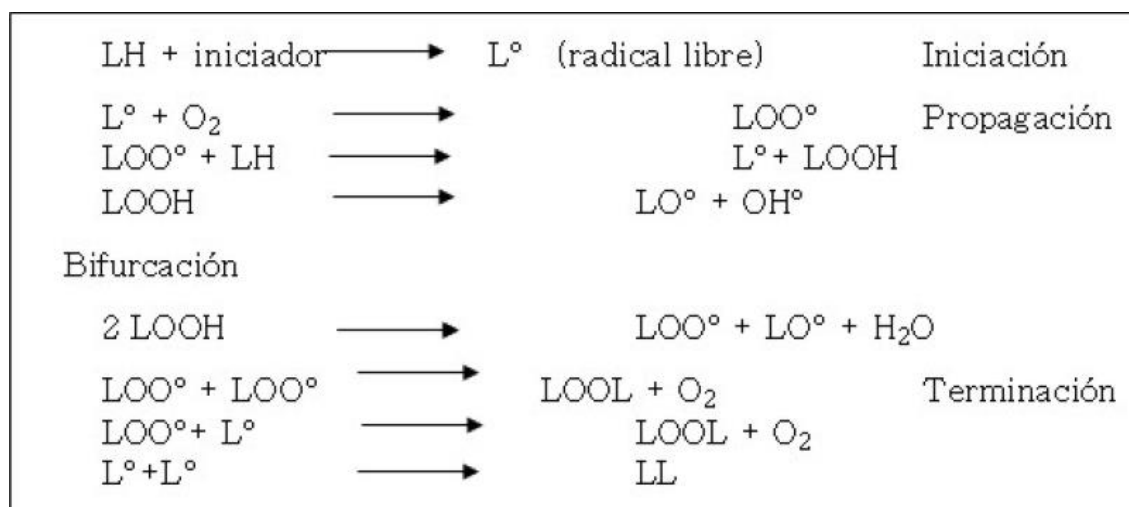
La oxidación lipídica afecta a numerosos aspectos relacionados con la calidad: aparición de olores desagradables, reducción del valor nutritivo, disminución de la capacidad de retención de agua, modificación de textura, acumulación de productos secundarios de la oxidación lipídica (peróxidos, malondialdehído y óxidos del colesterol) que pueden inducir efectos biológicos adversos como citotoxicidad, mutagénesis, carcinogénesis (Sevanian y col., 1986; Kubow, 1993; Guardiola y col., 1996), enfermedades cardiovasculares (Addis y col., 1989; Addis y col., 1991; Paniang-Vait y col., 1995), aparición de sustancias tóxicas, etc.

Debido a todo esto, la oxidación lipídica es considerada una de las principales causas de deterioro de la calidad y un importante factor limitante de la vida útil de la carne (Liu y col., 1995; Buckley y col., 1995). Es un proceso complejo donde los ácidos grasos insaturados reaccionan con el oxígeno molecular formando hidroperóxidos, generalmente llamados peróxidos o productos primarios de la oxidación (Gray y Monahan, 1992). Esta “oxidación primaria” continúa con una serie de reacciones que conducen a la degradación de los lípidos y al desarrollo de la rancidez oxidativa. Todo esto está relacionado con el deterioro del flavor y la pérdida del valor nutricional de los productos cárnicos.

Los mecanismos químicos de la oxidación lipídica consisten en una reacción en cadena mediada por radicales libres en la que se diferencian tres fases: iniciación, propagación y terminación (Pearson y col., 1983; Frankel, 1991; Porter y col., 1995; Hamilton y col., 1997) (**Figura 6**).



**Figura 6.** Reacciones del mecanismo de auto-oxidación de los lípidos (Monahan, 2000).



Un radical libre es cualquier especie química de existencia independiente que posee uno o más electrones desapareados girando en sus orbitales atómicos externos. Esta configuración, electroquímicamente muy inestable, le confiere la propiedad de ser una molécula química muy reactiva y, por tanto, de vida breve. Los radicales libres pueden formarse de muy distintas maneras, pero la más frecuente es la adición de un electrón a una molécula estable, normalmente como consecuencia de la reacción entre metales de transición como el hierro o el cobre y diversas especies de oxígeno como el peróxido de hidrógeno e incluso el oxígeno molecular. Cuando un radical libre reacciona con una molécula no radical, puede ceder o captar electrones, o puede, simplemente unirse a ella. En cualquiera de los casos la molécula no radical se convierte en radical libre y se desata una reacción en cadena, generando a su vez cada radical libre otro nuevo radical libre.

La formación de radicales libres en la carne se potencia durante la aplicación de procesos tecnológicos como el picado o el tratamiento térmico. La oxidación de lípidos se inicia con la sustracción de un radical hidrógeno de un grupo metileno alílico de un ácido graso insaturado, o bien por la adición de un radical a un doble enlace que reacciona rápidamente con oxígeno para formar un peroxiradical. El peroxiradical sustrae un hidrógeno de otra cadena de

hidrocarburos, produciendo un hidroperóxido y un nuevo radical libre que puede perpetuar la reacción en cadena (Sánchez y col., 2008). Sólo cuando se encuentran dos radicales libres la reacción en cadena se detiene. Adicionando un antioxidante al sistema puede provocarse la etapa de terminación. El antioxidante reacciona con los radicales libres y peróxidos formados, evitando que éstos oxiden a otras moléculas, impidiendo la formación de nuevos radicales libres. Durante esta etapa, el antioxidante va perdiendo capacidad, por ello, el tipo y la cantidad de antioxidante a utilizar se debe determinar de cara a optimizar su eficiencia.

*In vivo*, los lípidos se oxidan normalmente por vía enzimática para formar diversos compuestos activos en el organismo, algunos tan importantes como los producidos por las lipooxigenasas (la serie de los tromboxanos, cininas, etc.) o las ciclooxigenasas. Las oxidaciones enzimáticas y no enzimáticas están reguladas por diferentes mecanismos de protección frente a radicales y oxidación que existen en los seres vivos. Sin embargo, tras la muerte del animal, estos mecanismos se agotan rápidamente, produciéndose un rápido incremento de la concentración de los productos de oxidación de los lípidos, normalmente indeseables. Los radicales hidroxilo y oxoferrilo producidos durante los cambios *postmortem*, cuya catálisis es llevada a cabo por ácido ascórbico e iones ferrosos localizados en el citosol, son los principales factores causantes de la iniciación de la peroxidación lipídica en carne fresca (Monahan y col., 1993; Rhee y col., 1996).

Durante la primera fase del proceso de oxidación lipídica los lípidos se transforman en hidroperóxidos, descomponiéndose posteriormente, en una segunda fase, para dar lugar a los diversos productos secundarios de oxidación, responsables de los cambios organolépticos y tecnológicos asociados al enranciamiento.

Los ácidos grasos poliinsaturados que componen los lípidos musculares son los compuestos más susceptibles de sufrir reacciones de auto-oxidación. Dichas reacciones determinan la producción de hidroperóxidos que, a su vez, pueden seguir distintas rutas de descomposición, originando una enorme gama de compuestos volátiles (Mottram y col., 1982). En carnes precocinadas, los más

importantes son el hexanal, el ventanal, el heptanal y el octanal (St. Angelo y col., 1987; Trout y Dale, 1990). Todos estos derivados aportan una serie de matices desagradables que pueden empeorar la calidad sensorial de la carne cocinada (Chang y Peterson, 1977; Dupuy y col., 1987).

Los hidroperóxidos, productos primarios de la oxidación lipídica, son inodoros, pero su descomposición lleva consigo mecanismos de radicales libres y formación de productos no radicales. Su homólisis a radicales hidroxilo y alcoxi y la rotura de la cadena de ácidos grasos adyacente al radical alcoxi genera una mezcla de compuestos volátiles de bajo peso molecular relacionados con el olor a cocinado, algunos de los cuales tienen distintos aromas y pueden afectar, incluso en concentraciones muy bajas, a las propiedades de flavor, produciendo olores y sabores indeseables. Estos productos de deterioro causantes de rancidez incluyen mezclas complejas de alcanos, aldehídos, cetonas, alcoholes, furanos, alquifuranos, hidrocarburos, ésteres, ácidos y lactonas (Frankel y col., 1996).

Los hidroperóxidos pueden también condensarse en dímeros y polímeros que pueden, a su vez, oxidarse y descomponerse en productos volátiles de deterioro. Además, la oxidación puede ocurrir en los peróxidos originales o en los aldehídos insaturados, que luego llevará a posterior degradación para formar epóxidos, peróxidos cíclicos y endoperóxidos bicíclicos (Enser, 1987). Estos productos de oxidación secundarios pueden también descomponerse para formar materiales volátiles y dialdehídos que contribuirán al deterioro del flavor (Ladikos y Lougovois, 1990).

La aparición de olores y sabores desagradables justo después del cocinado y durante el almacenamiento posterior es uno de los principales problemas en el procesado y comercialización de los productos elaborados a partir de ingredientes cárnicos. La pérdida de calidad sensorial de estos productos está relacionada fundamentalmente con los procesos de oxidación lipídica y recibe el nombre de "Warmed-Over Flavor" (WOF) (Murphy y col., 1998). Además de los procesos oxidativos existen otros procesos, tales como la degradación proteica y la pérdida de compuestos heteroatómicos relacionados

con el aroma a recién cocinado, implicados en el establecimiento del WOF (St. Angelo y col., 1990).

Por otro lado, a consecuencia de las reacciones de Maillard pueden formarse también heterociclos de nitrógeno o compuestos de azufre como las pirazinas, tiofenos y tiazoles, así como furanenos y furfurales, y compuestos no heterocíclicos, como los aldehídos de Strecker, alquenedionas e hidroxiacetonas, así como disulfofuranos (Elmore y col., 2000).

La contribución de cada uno de todos estos compuestos al flavor de la carne dependerá de la concentración a la que se encuentren y de su umbral de percepción. Los volátiles tipo aldehído, furano y lactona son los más implicados en la aparición de olores rancios típicos de carnes envejecidas que causan rechazo en el consumidor (Frankel, 1991). Los aldehídos tienen unos umbrales de detección muy bajos, siendo detectables a concentraciones muy bajas, inferiores a  $1 \mu\text{g kg}^{-1}$  (Gray y Crackel, 1992), por lo que las alteraciones en el flavor se hacen evidentes tras pocos días de almacenamiento en refrigeración.

La aparición de todos estos compuestos derivados de la oxidación lipídica de los ácidos grasos insaturados esterificados en los fosfolípidos causa el deterioro de la calidad de la carne y del desarrollo de “off-flavors”. La desviación del flavor característico de la carne puede provocar el rechazo por parte del consumidor. Según la terminología inglesa, existen dos tipos de desviaciones: “off-flavors” y “taints”. “Off flavor” es el término utilizado para describir una sensación olfato-gustativa no característica, generalmente asociada con el deterioro o transformación de la muestra mientras que el “taints” hace referencia a una sensación olfato-gustativa ajena al producto en cuestión, producida por causas externas (Murphy y col., 1998).

El interés de científicos y consumidores sobre la oxidación de las grasas en los alimentos existe desde hace varias décadas, y en base a este fenómeno se han llevado a cabo numerosas investigaciones que han permitido establecer una sólida base científica sobre los mecanismos de oxidación de ácidos grasos, el impacto de la oxidación lipídica en la carne y las estrategias antioxidantes frente a ésta. Durante mucho tiempo se ignoró que otros componentes

fundamentales de la carne, como las proteínas y pigmentos, son también susceptibles al riesgo de daño por oxidación, no siendo este tema abordado hasta mediados de la década de los noventa (Estévez y col., 2012).

Diversas investigaciones han puesto de manifiesto que las proteínas miofibrilares son susceptibles a la oxidación y que los fenómenos oxidativos tienen lugar durante la maduración de la carne junto a otros cambios *postmortem* como el *rigor mortis* (Martinaud y col., 1997).

La gran variedad de cambios químicos que sufren las proteínas cárnicas a consecuencia de su oxidación tienen un gran impacto sobre sus propiedades funcionales (Decker y col., 1993; Xiong y Decker, 1995). Los fenómenos de oxidación sobre proteínas cárnicas se prolongan durante el procesado de la carne y la elaboración de diversos productos cárnicos como hamburguesas, patés, salchichas tipo Frankfurt y productos cárnicos curados (Ganhao y col., 2010; Estévez y col., 2005; Estévez y Cava, 2004; Ventanas y col., 2006, 2007; Lund y col., 2007; Fuentes y col., 2010). El desarrollo de técnicas avanzadas para el análisis de la oxidación de proteínas en la carne ha permitido establecer de forma precisa los factores y mecanismos implicados en las reacciones de oxidación, permitiendo entender el alcance del impacto de estas reacciones sobre la calidad de la carne (Estévez y col., 2012).

Al igual que en el caso de la oxidación de lípidos, el mecanismo de oxidación proteica implica la pérdida de un electrón. Esto ocurre normalmente mediante la abstracción de un átomo de hidrógeno (electrón + protón) en presencia de un agente oxidante, por ejemplo, un radical libre. Los radicales libres son moléculas reactivas que encuentran estabilidad al abstraer átomos de hidrógeno de moléculas susceptibles como los lípidos o las proteínas, provocando su oxidación. En las proteínas los radicales libres suelen atacar las cadenas laterales de aminoácidos, formándose diversos productos de oxidación en función del residuo de la proteína afectado por este ataque. A diferencia de la oxidación lipídica, la oxidación proteica implica la formación de gran variedad de moléculas susceptibles, mecanismos y productos finales de oxidación. Cada aminoácido presenta una ruta específica de oxidación y da lugar a productos de oxidación específicos.

La oxidación proteica provoca cambios irreversibles en los grupos funcionales de los aminoácidos originales para formar productos de oxidación de naturaleza diversa como enlaces cruzados (puentes disulfuro, ditirosinas) y carbonilos (Berlett y Stadtman, 1997) procedentes de la oxidación de residuos de lisina, prolina y arginina, que son junto al triptófano y a los aminoácidos sulfurados (cisteína y metionina), los aminoácidos más susceptibles a las reacciones de oxidación. A nivel proteico, la oxidación puede tener lugar sobre la proteína íntegra, no siendo necesario un proceso de proteólisis previo, pudiendo provocar diversas modificaciones físico-químicas como fenómenos de agregación, desnaturalización, fragmentación y pérdida de la funcionalidad (Xiong y col., 2000). A nivel global, la carne sufre modificaciones en sus propiedades sensoriales y alteración de su digestibilidad.

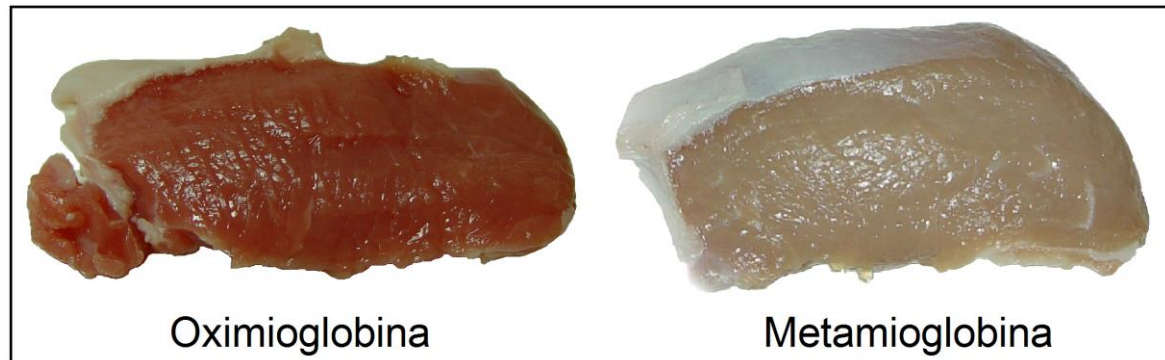
La oxidación de proteínas es responsable de texturas y colores anómalos en carne fresca y en productos cárnicos procesados. Las proteínas oxidadas ven mermadas sus propiedades funcionales (capacidad de retención de agua, de formación de geles, de formación de emulsiones, etc.), lo cual afecta a la calidad de la carne fresca y a la elaboración de multitud de productos cárnicos procesados como jamones cocidos o emulsiones cárnicas. Además la oxidación proteica implica la pérdida irreversible de aminoácidos esenciales y la alteración de la digestibilidad de las proteínas oxidadas lo que conduce a una merma considerable del valor nutritivo de la carne (Estévez y col., 2012).

Los factores que favorecen la instauración de la oxidación de lípidos y proteínas son los mismos que determinan la oxidación de la mioglobina, existiendo una asociación entre estos procesos (Rhee y col., 1985). Así pues, la intensidad con que se producen los procesos oxidativos condiciona el grado de decoloración sufrido por la carne fresca (Faustman y col., 1989).

La **Figura 7** muestra dos medallones de lomo crudo de cordero. En el medallón de la izquierda predomina la oximioglobina, estado de la mioglobina donde el núcleo de hematina está combinado con oxígeno, confiriendo a la carne un deseable e intenso color rojo brillante. En el medallón de la derecha la forma predominante de la mioglobina es la metamioglobina, generada a consecuencia

de la oxidación de la propia mioglobina, produciendo un deterioro en el color y en el aspecto general de la carne.

**Figura 7.** Medallones de lomo crudo de cordero con mioglobina en forma de oximioglobina y metamioglobina.



#### 2.4.4.2. Deterioro microbiológico.

El deterioro microbiológico es otro de los factores limitantes de la vida comercial de la carne. Las medidas de higiene y sanidad establecidas para el proceso de obtención de la carne permiten que dicho proceso se realice bajo óptimas condiciones, sin embargo, no es posible conseguir una completa esterilidad.

La presencia de microorganismos en la carne puede dar a dos situaciones distintas. Por un lado está el desarrollo de microflora alterante, que actúa deteriorando y modificando las características sensoriales de la carne. En este caso la carga microbiana necesita alcanzar valores elevados para poder modificar las características del alimento y conseguir alterarlo. La aparición de olor desagradable en el producto es el primer indicio de esta alteración microbiana. A consecuencia del metabolismo bacteriano se origina una mezcla compleja de ésteres volátiles, alcoholes, cetonas y compuestos sulfurados, que colectivamente producen los malos olores que pueden percibir, siendo este tipo de contaminación microbiana fácilmente detectable (Sánchez y col., 2008).

Por otro lado, puede haber crecimiento de patógenos hasta alcanzar dosis peligrosas para la salud, dando lugar a trastornos patológicos en el consumidor, pudiendo algunos microorganismos de este tipo producir efectos perjudiciales incluso con un número reducido de unidades. En la mayoría de estos casos, el crecimiento no va acompañado de cambios apreciables en la carne, por lo que es relativamente sencillo que estos microorganismos puedan llegar al consumidor. La presencia y desarrollo potencial de microorganismos patógenos tiene una gran relevancia ya que son los responsables de producir toxiinfecciones alimentarias (Sánchez y col., 2008; Signorini y Guerrero, 2009).

La alteración microbiológica de la carne corre a cargo de bacterias psicrótrofas principalmente. Son muchos los tipos de microorganismos psicrótrofos que se han detectado en la carne refrigerada, entre los más frecuentes cabe mencionar a especies de los géneros: *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Brochothrix*, *Lactobacillus*, *Enterobacter*, *Hafnia* y *Alteromonas*. También se encuentran, aunque son menos frecuentes, especies de los géneros *Yersinia*, *Campylobacter*, *Alcaligenes*, *Vibrio* y *Aeromonas* (Bejarano, 2001).

Entre la diversidad, las bacterias aerobias Gram negativas son las que adquieren mayor importancia y, dentro de éstas, distintas especies del género *Pseudomonas* son normalmente las responsables de la alteración de la carne refrigerada, sin descartar la posible colaboración de otras especies.

El crecimiento microbiano tiene consecuencias directas en la calidad de la carne, produciendo alteraciones en la textura, como ablandamiento, pérdida de elasticidad y aumento de la viscosidad, aumento de la exudación debido a la alteración de proteínas, alteraciones del olor (olor ácido, pútrido, etc.) y color, aparición de limos, opacidad, etc.

Las alteraciones de origen microbiológico afectan fundamentalmente a la carne desde el sacrificio del animal hasta el momento previo al cocinado, ya que, mediante éste la carga microbiológica es reducida o eliminada a consecuencia de la aplicación de altas temperaturas, independientemente del método empleado. Además de la disminución de la carga, la reducción en el contenido



de agua en la carne, derivada del propio proceso de cocinado, puede dificultar el desarrollo de los microorganismos (Sánchez y col., 2008).

#### **2.4.4.3. Deshidratación, retracción y otras alteraciones.**

La modificación de la textura de la carne es otra alteración que puede presentarse durante el almacenamiento. Sobre la textura influyen principalmente la estructura y la integridad de las células del músculo esquelético, la disponibilidad de metabolitos a nivel intracelular y la actividad de las enzimas proteasas, tanto en el interior, como en el exterior de la célula (McCormick, 2009).

Los principales mecanismos que afectan a la modificación de la textura en la carne son de naturaleza enzimática e implican a varios sistemas proteolíticos intracelulares (Ouali y col., 2006), sin embargo, su extrema complejidad hace que muchos de ellos sigan sin ser claramente entendidos (Kemp y col., 2010). El sistema calpaína es el más importante de estos sistemas y está compuesto por varias isoformas de la enzima calpaína, cuya acción *postmortem* puede mantenerse durante un largo periodo de tiempo. La calpastatina es otra importante enzima endógena cuya función es la de inhibir a las calpaínas. El complejo proteico proteosoma y la enzima caspasa también están implicados en los cambios acontecidos en el músculo *postmortem* y en la calidad de la carne (Huff-Lonergan y col., 2010).

La miosina, la actina, la titina, la nebulina, la troponina-T, la desmina y la filamina son las proteínas más importantes relacionadas con la textura de la carne. Su degradación, tanto por fenómenos enzimáticos, como oxidativos, puede tener efectos significativos sobre la integridad de las fibras musculares durante el almacenamiento de la carne (Huff-Lonergan y col., 2010).

La miosina y la actina son las dos proteínas más abundantes en el músculo esquelético y su contribución a la estructura y textura de la carne es muy importante. En los enlaces existentes entre estas proteínas se producen cambios durante el almacenamiento de la carne que pueden afectar al acceso de los sistemas proteolíticos a sus substratos diana (Weaver y col., 2007), además,

la oxidación de la mioglobina también puede producir la formación de radicales libres a partir de la miosina, favoreciendo la agregación de moléculas de ésta (Lund y col., 2008). Estas dos alteraciones se ven favorecidas cuando la carne es envasada en atmósferas con alto contenido de oxígeno y pueden conducir a un aumento en la retracción y dureza de la misma (Lund y col., 2008; Kim y col., 2010).

La degradación de la proteína titina puede producir ablandamiento y pérdida de la integridad muscular en la carne (Melody y col., 2004), sin embargo, también se ha observado que esta proteína puede formar enlaces con la miosina bajo condiciones hiperoxidantes, ocasionando el efecto contrario, ya que la asociación entre miosina y titina tiene la capacidad de provocar un descenso en la solubilidad de las proteínas, en la terneza de la carne, en el tamaño de las miofibrillas y en la CRA (Kim y col., 2010).

El agua es el componente mayoritario del tejido muscular y su distribución en el mismo también está muy relacionada con los cambios estructurales observados en la carne. Tras la muerte celular se produce una acidificación progresiva de la carne que determina un descenso en la carga eléctrica de las proteínas e induce a un incremento en su hidrofobicidad, pudiendo provocar una reducción de su CRA (Ouali y col., 2013). El grado de deshidratación de la carne está condicionado por la especie animal de procedencia, por las características propias del músculo y por las tecnologías de conservación aplicadas tras el sacrificio. Esta deshidratación puede manifestarse en distintos niveles según la pérdida de agua, observándose desde una leve aparición de exudado en superficie, hasta la retracción y endurecimiento de la pieza en caso de deshidratación severa (Ouali, 1990).

Otros fenómenos que pueden afectar negativamente a la textura de la carne durante su almacenamiento son la oxidación de proteínas y la nitrosilación. La oxidación proteica puede transformar los aminoácidos en derivados carbonilos y favorecer la formación de enlaces disulfuro entre proteínas, originando una reducción en la funcionalidad de éstas (Xiong y Decker, 1995). En la nitrosilación, el óxido nítrico producido por las enzimas óxido nítrico sintasas puede combinarse con un radical superóxido dando lugar a peroxinitrito,

molécula altamente prooxidante que tiene la capacidad de alterar y modificar a numerosas enzimas (Radi y col., 2000). En definitiva, ambos fenómenos pueden favorecer el endurecimiento de la carne al estimular la agregación de proteínas e inhibir la degradación proteica mediada por enzimas (Huff-Lonergan y col., 2010).

## **2.5. Estrategias para extender la vida comercial de la carne.**

La carne es un producto perecedero sujeto a transformaciones de tipo físico-químico y/o microbiano que alteran su calidad (Lundquist, 1994). Los productos cárnicos crudos, debido a sus características y al proceso de manipulación al que son sometidos antes de llegar al consumidor, presentan un tiempo de vida útil muy limitado, más aún si no se les aplica un adecuado sistema de conservación para prevenir o retrasar cambios indeseables en sus características de calidad. Las medidas de prevención del deterioro deben aplicarse desde el momento de sacrificio del animal del que procede la carne, dirigidas frente a los tres tipos de alteración posible: física, química y microbiológica (Sánchez y col., 2008).

La conservación de la carne se lleva a cabo por una combinación de métodos, al igual que la de casi todos los alimentos perecederos. La mayoría de las carnes constituyen excelentes medios de cultivos por sus características de humedad abundante, pH poco ácido y abundancia de nutrientes, lo cual, unido a la circunstancia de que en los ganglios linfáticos, huesos y músculos pueden encontrarse algunos microorganismos, hace que la contaminación por microflora alterante sea casi inevitable y que su conservación sea más difícil que la de la mayoría de los alimentos.

La Legislación Alimentaria es muy estricta con respecto al uso de aditivos en la carne, no estando en la actualidad permitido su uso en la conservación de carne íntegra fresca (Reglamento CE 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo), de ahí que se hayan propuesto otras estrategias para prevenir el deterioro microbiológico y oxidativo de la carne durante su vida comercial. La tendencia actual va dirigida hacia la utilización de sistemas de envasado y

conservantes naturales no considerados aditivos, tanto mediante adición directa, como incorporados en el tejido muscular y adiposo mediante la dieta.

La vida útil de la carne cruda está limitada principalmente por el oxígeno atmosférico, el cual facilita el crecimiento de microorganismos aerobios responsables de las alteraciones del producto (Parry, 1995), por lo que la utilización de un sistema de mantenimiento adecuado que permita la manipulación, transporte y distribución del alimento, asegurando las máximas condiciones de seguridad y calidad, es fundamental (Church, 1994).

Una vez controlado el deterioro microbiológico, los procesos oxidativos van a determinar la vida comercial de la carne, provocando la aparición y desarrollo de la rancidez, la degradación y desaparición de pigmentos, la pérdida de vitaminas y la formación de sustancias nocivas para la salud humana, siendo la oxidación de las grasas el principal condicionante de la caducidad alimentaria durante el almacenamiento frigorífico.

Aunque el color de la carne no siempre es una buena referencia para determinar la calidad higiénica de ésta, es el principal atributo disponible para estimar la calidad del producto envasado (Lindahl y col., 2006). Los consumidores suelen asociar una carne que no presenta una coloración rojiza y brillante con un producto viejo y de poca calidad (Young y col., 1999).

Para evitar la oxidación y la rancidez de los alimentos se emplean dos tipos de estrategias, la prevención (protección de la luz, descenso de la temperatura, atmósferas reductoras, etc.) y la adición de antioxidantes, tanto directamente al alimento en su formulación, superficie o envase, como, en el caso de los productos animales, adicionadas a la alimentación habitual.

En la elección del método de conservación, además de la posible alteración de las cualidades del producto, también han de considerarse otros aspectos tales como que sea un sistema inofensivo para el manipulador e inocuo para el consumidor, que cuente con los mínimos problemas de distribución y comercialización posibles así como con el mínimo impacto económico a la hora de su aplicación en condiciones comerciales en el mercado.

Entre los métodos más utilizados para la conservación de la carne se encuentran: aplicación de frío, tratamiento térmico, deshidratación, irradiación, conservantes químicos, etc. (Urbain y Campbell, 1994).

### **2.5.1. Aplicación de frío.**

En este apartado se incluyen dos métodos tradicionales de conservación de alimentos como son la refrigeración y la congelación, los cuales consisten en someter a los alimentos, respectivamente, a temperaturas cercanas a su punto de congelación o por debajo de éste, para prevenir o limitar el crecimiento microbiano (Zhou y col., 2010). Su aplicación en alimentos influye de manera notable en el mantenimiento de su calidad y en la prolongación de su vida útil.

La aplicación de aire frío por convección reduce la temperatura y produce cierta deshidratación superficial en la carne, factores que limitan el crecimiento bacteriano (Ockerman y Basu, 2004). La temperatura de refrigeración de los alimentos varía en función de las características de éstos, siendo valores entre 0 °C y 3 °C los recomendados para productos como la carne cruda.

La congelación prolonga el tiempo de almacenamiento útil de la carne, ya que, en virtud de este proceso, se evitan los indeseables cambios químicos y microbiológicos (Arthur, 2006; Lawrie y Ledward, 2006) y se reduce la potencial pérdida de peso consecuencia del goteo y la evaporación, pudiendo conservarse la carne durante meses e incluso años. Se considera que, para carne congelada, una temperatura de almacenamiento de -55 °C es la ideal de cara a la prevención completa de cualquier cambio en sus parámetros de calidad (Hansen y col., 2004). A nivel comercial, las temperaturas de congelación a las que son sometidas los alimentos oscilan entre -21 °C y -18 °C, rango dentro del cual las reacciones enzimáticas, los procesos oxidativos y el desarrollo microbiológico quedan minimizados.

Otro proceso relacionado con la disminución de la temperatura de almacenamiento es el denominado “super refrigeración” o “congelación parcial”, que consiste en almacenar los productos justo por debajo de su punto de

congelación, uno o dos grados, manteniéndose una pequeña parte del contenido de agua del producto congelado, lo cual inhibe en gran medida la actividad microbiana, aunque los cambios físicos y químicos pueden seguir produciéndose, e incluso acelerarse. Su empleo permite prolongar la vida útil de los alimentos entre 1,4 y 4 veces frente a los métodos tradicionales de refrigeración (Magnussen y col., 2008). Es una tecnología que ha sido empleada de forma efectiva en productos de la pesca (Olafsdottir y col., 2006; Beaufort y col., 2009) y sobre la cual existe actualmente un gran interés con respecto a su utilización para el almacenamiento de la carne (Schubring, 2009), ámbito sobre el cual existen diversos estudios donde se detalla su empleo con éxito (Nowlan y col., 1974; Beaufort y col., 2009).

### **2.5.2. Envasado y atmósferas protectoras.**

El envasado se realiza para inhibir los fenómenos de deterioro de la carne durante su almacenamiento, entre los que destacan la decoloración, el desarrollo de olores y sabores indeseables, la pérdida de nutrientes y los cambios en la textura. Su empleo es necesario para extender la vida útil de la carne, ya que sin el mismo ésta únicamente se conservaría unos pocos días en refrigeración. Las variables que influyen en la vida útil de la carne envasada son el tipo de carne a envasar, la mezcla de gases, el ratio carne/gas, el tipo de envase, el equipamiento de envasado, la temperatura de almacenamiento y el empleo de aditivos (Zhou y col., 2010).

La tendencia actual del mercado se dirige hacia un aumento de la oferta de productos frescos envasados a vacío o en atmósferas modificadas, con el fin de mantener sus características por un período de tiempo prolongado. Éstos son los principales sistemas de envasado empleados y tienen en común que implican la utilización de plásticos con baja permeabilidad a los gases (20 ml m<sup>-2</sup> por 24 h para el oxígeno y de 50 ml m<sup>-2</sup> por 24 h para el dióxido de carbono) para la carne refrigerada. Pueden utilizarse diferentes films plásticos dependiendo del sistema de envasado en atmósfera modificada empleado. Para la tapa suelen usarse films de cloruro de polivinilideno recubierto de polipropileno-polietileno, cloruro de

polivinilideno tereftalato de polietileno recubierto de polietileno, o poliamida-polietileno. Para la envoltura suelen usarse films de poliamida-polietileno, poliamida-ionómero, poliamida o de vinilo-etileno-acetato de polietileno (Mullan y McDowell, 2003).

Por lo general, una sola capa o un único tipo de plástico no suele tener todas las propiedades necesarias para el correcto envasado de los alimentos, por lo que son necesarios procesos de laminación, recubrimiento o coextrusión para crear capas de plástico con las propiedades deseadas (Jenkins y Harrington, 1991). Una estructura multicapa común consta de un material estructural externo (tereftalato de polietileno, poliamida o polipropileno), un material intermedio con propiedades de barrera de gas (cloruro de polivinilo, cloruro de polivinilideno, acetato de vinilo de etileno u otros) y un material interior que permite el sellado (polietileno, etileno acetato de vinilo, ionómero u otros). A la superficie externa del polímero pueden aplicársele agentes antiempañamiento mediante recubrimiento por inmersión o pulverización, o mezclado en el polímero para la migración a la superficie. Los agentes más utilizados son los ésteres de glicerol, ésteres de poliglicerol, ésteres de sorbitán y sus etoxilatos, etoxilatos de alcohol, y etoxilatos de nonilfenol (Osswald y otros, 2006).

Básicamente existen tres tipos principales de envasado: Envasado a vacío, envasado en atmósfera modificada y envasado activo.

El envasado a vacío consiste en extraer el aire que hay en torno al producto para almacenarlo en condiciones de ausencia de gases. La falta de oxígeno en el interior de los envases minimiza las reacciones oxidativas y el crecimiento de bacterias aerobias (Zhou y col., 2010). Para conseguir que las condiciones de anaerobiosis se mantengan en el tiempo es fundamental usar materiales que sean impermeables a los gases, por ejemplo, se pueden utilizar envases compuestos por tres capas coextruidas de etil-acetato de vinilo/cloruro de polivinilo/etil-acetato de vinilo, cuya permeabilidad al oxígeno suele ser menor a  $15,5 \text{ ml m}^{-2}$  por 24 h a presiones de 1 atm gracias a la capa de cloruro de polivinilo (Jenkins y Harrington, 1991).

La utilización del envasado a vacío en carnes rojas es problemática ya que provoca una reducción de oxígeno que supone un cambio de color desde rojo (oximioglobina) a pardo (metamioglobina). La pérdida del color rojo brillante que caracteriza la carne fresca no puede considerarse una alteración como tal, aunque el consumidor podría rechazar el producto por presentar un aspecto poco atractivo (Ordoñez y col., 1977). Además, este tipo de envasado tiene la ventaja de inhibir el crecimiento de bacterias aerobias, pero puede promover el crecimiento de bacterias anaerobias con actividad lipolítica y proteolítica, lo cual puede afectar de forma negativa al olor de la carne. Un inconveniente adicional de los envases a vacío es la acumulación de exudado.

Para que la carne envasada a vacío recupere su coloración natural es muy importante que la mioglobina vuelva a oxigenarse, siendo fundamental un blooming adecuado. El blooming es el fenómeno mediante el cual se produce un enrojecimiento de la carne gracias a la reacción de la mioglobina con el oxígeno presente en el aire o procedente de atmósfera modificada, para pasar al estado de oximioglobina, caracterizada por presentar una coloración rojiza brillante. El tiempo de blooming más adecuado para cada tipo de carne depende de diversos factores, tales como la especie de procedencia, la temperatura, el pH y el tiempo transcurrido entre el sacrificio del animal y el envasado de su carne (Honikel, 1998). Normalmente se emplea un tiempo aproximado de 30 min de blooming previo al análisis del color (Pearce, 2008).

El envasado en atmósfera modificada consiste en dotar al producto de unas condiciones determinadas de almacenamiento que favorezcan la conservación de éste, modificando la composición de la atmósfera presente en el interior del envase. Este tipo de envasado es uno de los métodos de conservación más utilizados en la carne, y el envasado de la carne fresca ha experimentado un importante incremento en los últimos años (Eilert, 2005). Al igual que en el envasado a vacío, es fundamental el empleo de materiales capaces de mantener dichas condiciones en el tiempo (McMillin, 2008).

Mediante el envasado en atmósfera modificada se sustituye la composición normal del aire atmosférico (78% N<sub>2</sub>, 20,99% O<sub>2</sub>, 0,94% Ar y 0,03% CO<sub>2</sub>), cuyas características favorecen el desarrollo de alteraciones en los



productos, por un gas o mezcla de gases cuya composición va a ir variando a medida que se prolongue el almacenamiento del producto y que permite controlar las reacciones químicas, enzimáticas y microbianas, evitando o minimizando las principales degradaciones que se producen durante los períodos de almacenamiento (Rodríguez, 1994).

El envasado en atmósfera modificada rica en oxígeno y dióxido de carbono favorece la preservación del color rojo brillante de la carne fresca, determinante para su adquisición en los puntos de venta, incrementa la vida media del producto al limitar el crecimiento microbiano y minimiza las pérdidas que pueden originarse por el almacenamiento (Smith y col., 1983; Gill, 1990; Sahoo y Anjaneyulu, 1995; O'Grady y col., 2000; Vergara y col., 2003; Kennedy y col., 2004).

Para que el sistema de conservación resulte adecuado debe garantizar un período prolongado de frescura y mantenimiento de las cualidades organolépticas de la carne, correspondientes al envasado y distribución, al período de exposición del producto en el mercado y al de almacenamiento por el consumidor (Jayasingh y col., 2001). Este hecho está justificado teniendo en cuenta las nuevas formas de distribución y presentación de los alimentos en el mercado, sobre todo de aquellos productos con una vida útil limitada como es el caso de la carne (Linares, 2007), desarrolladas en base a los cambios acontecidos en el estilo de vida de la sociedad actual (poco tiempo para cocinar, aumento del número de hogares unipersonales, etc.). Además, el hecho de que la carne de cordero sea considerada como un producto de lujo (Vergara y Gallego, 2001) supone una menor frecuencia de consumo en relación con otros tipos de carne como la de cerdo o ternera, consumidos casi diariamente, lo que refuerza la necesaria adecuación de los sistemas de conservación a fin de garantizar su calidad a lo largo del tiempo (Smith y col., 1983).

Los gases más comúnmente utilizados para el envasado en atmósfera modificada de la carne fresca son el oxígeno y el dióxido de carbono. Su empleo permite que el tiempo de permanencia de la coloración rojiza en la superficie de la carne pueda prolongarse 3 - 4 días gracias al blooming producido por el oxígeno, al efecto antimicrobiano del dióxido de carbono y a la función de gas de

relleno del nitrógeno (Tawiah y col., 1991). Dentro de sus variables destaca, para la conservación de carne roja, la combinación de un 20% - 30% de dióxido de carbono, en virtud a su efecto antimicrobiano, con un 70% - 80% de oxígeno, empleado para potenciar la formación de oximioglobina, lo cual proporciona a la carne el color rojo brillante tan apreciado por el consumidor (Blakistone, 1998; Taylor, 1996). Otra modalidad más novedosa, aplicada sólo a determinados productos en países autorizados, es el uso de monóxido de carbono debido a sus numerosas ventajas a la hora de la conservación de la carne fresca (Linares, 2007).

El dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) es el principal responsable de la inhibición del desarrollo bacteriano (Nissen y col., 1996), alarga de la fase de latencia y reduce el crecimiento en la fase logarítmica del crecimiento microbiano. Su acción se incrementa a bajas temperaturas debido a un aumento de su solubilidad (179,9 ml 100 ml<sup>-1</sup> de agua a 0 °C).

El dióxido de carbono es particularmente efectivo contra las bacterias Gram negativas aerobias responsables de la descomposición, tales como *Pseudomonas*, que provocan pérdidas de color y malos olores, en carnes y pescados. Sin embargo, el dióxido de carbono no retrasa el crecimiento de todos los microorganismos, apenas tiene efecto sobre las levaduras, y puede incrementar el crecimiento de las bacterias ácido-lácticas en presencia de bajos niveles de oxígeno (Egan, 1983). El mecanismo de acción del dióxido de carbono no es del todo conocido, aunque se señalan varias alternativas, como son la alteración de las funciones de membrana, la inhibición o reducción de la actividad enzimática, la modificación del pH intracelular o cambios en las propiedades físico-químicas de las proteínas. En alimentos con un pH superior a 6,0 provoca una ligera acidificación del medio, sin que esta llegue a ser lo suficientemente importante para ejercer un efecto bacteriostático (Farber, 1991). Al ser un gas soluble en agua y grasa, es necesaria la incorporación de otro gas inerte que impida el colapso del envase cuando el dióxido de carbono se solubiliza en el alimento.

Atmósferas con un contenido del 70% - 85% de oxígeno y 15% - 30% de dióxido de carbono son las más adecuadas para mantener el color rojo y

prevenir el deterioro microbiológico en carne fresca (Ordoñez y col., 1977). Niveles de dióxido de carbono inferiores al 15% no producen una inhibición satisfactoria del crecimiento de microorganismos. Hay autores que han utilizado altas concentraciones de dióxido de carbono con objeto de aumentar la vida útil de la carne, sin embargo, aunque algunos de ellos (Gill, 1990; Thippareddi, 1998) señalan que es la presencia de oxígeno residual el principal responsable de la decoloración de la carne, otros indican que cuando la concentración de dióxido de carbono es superior al 30% puede acelerarse la decoloración en carnes rojas (Silliker y col., 1977), a lo cual hay que sumar el riesgo de que se produzca un colapso en el envase cuando el nivel de dióxido de carbono empleado supera el 40%, a consecuencia de la absorción del dióxido de carbono por parte del tejido animal (McMillin y col., 1999).

El nitrógeno ( $N_2$ ) es un gas inerte, incoloro, inodoro e insípido, con baja solubilidad en agua y en grasas, que se utiliza fundamentalmente para desplazar al oxígeno y así retrasar la oxidación y para prevenir el enranciamiento, retrasando también el desarrollo de los microorganismos aerobios putrefactivos. El nitrógeno se suele utilizar como gas de relleno, para evitar el colapso del envase cuando se usan elevadas concentraciones de dióxido de carbono (Thippareddi, 1998). El nitrógeno mantiene la integridad del producto envasado ya que no reacciona con los pigmentos de la carne, ni es absorbido por la misma.

El oxígeno ( $O_2$ ) es un gas incoloro, inodoro e insípido que, en altas concentraciones y en presencia de grasas o sustratos oxidables, favorece el desarrollo de procesos oxidativos y el crecimiento de microorganismos aerobios, inhibiendo el crecimiento de los microorganismos anaerobios (Sahoo y Anjaneyulu, 1995). Para el envasado de la carne el oxígeno es un gas conveniente, e incluso necesario, dado que promueve la correcta apariencia y coloración roja de la carne de cara al consumidor (Jeremiah, 2001).

De acuerdo con Sorheim y Nissen (1996), altas concentraciones de oxígeno y una temperatura de refrigeración de entre 6 °C y 8 °C permiten una vida media de la carne envasada bajo estas condiciones de hasta una semana. Por otra parte, el envasado con bajos niveles de oxígeno implica una importante decoloración del producto debido a la susceptibilidad de oxidación de la

mioglobina con respecto a la oximioglobina (Gill, 1990). Este hecho determina que el uso de bajas proporciones de oxígeno no resulte adecuado para el envasado de carnes rojas, como la de cordero (Linares, 2007).

El monóxido de carbono (CO) es un gas incoloro, inodoro e insípido que ha sido utilizado para el envasado de carne fresca en Europa, concretamente, durante 20 años (1985 a 2004) hasta que en julio de 2004 fue prohibido su uso por no encontrarse dentro de la lista de aditivos autorizados (Knut y Nolet, 2006). Sin embargo, en Estados Unidos está aceptada su utilización para la conservación de carne roja, tanto fresca, como picada (FDA, 2004).

El monóxido de carbono confiere una atractiva coloración rojo-cereza a la carne fresca en virtud a su fuerte unión a la mioglobina (Belcher, 2006; Eilert, 2005; Sebranek y col., 2006), que se mantiene muy estable gracias a la fuerte afinidad del monóxido de carbono por el grupo hemo (Sorheim y col., 1997; Wilkinson y col., 2006). Además, el monóxido de carbono reduce la carga microbiana al presentar acción bacteriostática frente a determinados microorganismos, entre los que se incluye *Escherichia Coli* (Gee y Brown, 1980; Sorheim y col., 1997, 1999; Stetzer y col., 2007), y evita la decoloración del hueso (Knut y Nolet, 2006). Sin embargo, el monóxido de carbono no está exento de desventajas, al no ser totalmente efectivo frente a los microorganismos patógenos, cuyo crecimiento inhibe únicamente de manera parcial (Wilkinson y col., 2006).

Diversos estudios han mostrado la conveniencia del uso del monóxido de carbono para conservar la carne cruda. Las atmósferas con bajas concentraciones de monóxido de carbono y altas concentraciones de dióxido de carbono aseguran una reducción de la carga microbiana y la inhibición de determinados patógenos (Knut y Nolet, 2006), por lo que una atmósfera con un 1% de monóxido de carbono, un 50% de dióxido de carbono, un 25% de nitrógeno y un 24% de oxígeno podría ser adecuada para conservar carne cruda (Luño y col., 1998).

Las posibilidad de usar otros gases de envasado, como cloro, óxido de etileno, dióxido de nitrógeno, ozono, óxido de propileno y dióxido de azufre,

también se ha investigado en la carne, pero parece poco probable su autorización para el envasado de alimentos (Parry, 1995).

El envasado activo incorpora componentes específicos que interactúan con el alimento o con el ambiente para mantener la calidad del producto y prolongar su vida útil. Un paso más allá en este tipo de tecnología es el envasado inteligente, donde el propio envase está provisto de un sensor para controlar las propiedades de los alimentos o del ambiente en el envase e informar al procesador, comerciante o consumidor sobre el estado de éstos (Kerry y col., 2006).

El envasado activo presenta características de envasado en atmósfera modificada, ya que proporciona al producto las condiciones necesarias para evitar o ralentizar los procesos que provocan su alteración, pero además presenta la ventaja de no necesitar un seguimiento y control continuos (Yanyun y col., 1994).

Las funciones y tecnologías del envasado activo incluyen control de la humedad, films permeables al oxígeno, captadores de oxígeno, generadores de oxígeno, controladores de dióxido de carbono, controladores del olor, mejoradores del sabor, extractores de etileno y agentes antimicrobianos (Brody y col., 2008; Brody, 2009) junto con indicadores de componentes específicos (Vermeiren y col., 1999) y control de la temperatura de envasado. Un novedoso tipo de envasado activo es el basado en la incorporación de sustancias antimicrobianas a los materiales de los envases para controlar el crecimiento indeseable de microorganismos sobre la superficie de los alimentos. El envasado antimicrobiano es un importante reto tecnológico que puede ayudar a prolongar la vida útil y mejorar la seguridad de los alimentos (McMillin, 2008).

Con independencia del método empleado, en general, el envasado de la carne permite prolongar su tiempo de vida útil gracias a la minimización de los procesos de deterioro que acontecen sobre ésta durante su almacenamiento. Los efectos derivados del envasado son ejercidos a distintos niveles: sobre la oxidación de lípidos, sobre la estabilidad del color, sobre la microflora alterante de la carne y sobre el olor de la carne.

La presencia de oxígeno en la atmósfera de conservación es un factor crítico en el desarrollo de la oxidación lipídica y, por tanto, en la aparición de sabores y olores a rancio y alteraciones del color (Jo y col., 1999).

El empleo de atmósferas con alta concentración de oxígeno, en comparación con las condiciones atmosféricas y el envasado a vacío, provoca el aumento de la concentración de los productos secundarios de la oxidación, convirtiéndose en el factor limitante de la vida útil de muchas carnes crudas envasadas (Jensen y col., 1998<sup>a</sup>). Para el empleo adecuado de estas atmósferas es importante aumentar la estabilidad oxidativa de la carne, pudiéndose combinar el envasado con la aplicación de antioxidantes naturales ( $\alpha$ -tocoferol, extracto de romero, tomillo, salvia, etc.) por vía endógena o exógena (Jensen y col., 1998<sup>a</sup>, 1998<sup>b</sup>; O'Grady y col., 2000).

El envasado a vacío presenta un efecto protector sobre la oxidación de ácidos grasos y colesterol, debido a la ausencia de oxígeno en la atmósfera de conservación. Este tipo de envasado ha mostrado más efectividad en el control de la oxidación lipídica que el empleo de antioxidantes, manteniendo esta efectividad incluso en presencia de otros agentes prooxidantes como las radiaciones no-ionizantes (Jo y col., 1999; Nam y col., 2001).

Como ya se ha indicado, los procesos de oxidación de la mioglobina conducen a la formación de metamioglobina, responsable de un color marrón que provoca rechazo del consumidor (Renerre y Labas, 1987; Kanner, 1994; Zhu y Brewer, 1998). La composición de gases de la atmósfera de envasado determina el estado de oxidación de la mioglobina y, por tanto, el color de la carne durante el almacenamiento. El envasado a vacío o en mezclas de gases de dióxido de carbono y nitrógeno, en ausencia de oxígeno, mantiene la mioglobina en estado reducido y previene la oxidación, si bien la carne adquiere una coloración oscura que puede generar rechazo en el consumidor. Las carnes rojas almacenadas en estas condiciones recuperan el color característico tras la exposición a atmósferas oxigenadas por la formación de oximioglobina (Sorheim y col., 1996; Sorheim y Nissen, 1996). El empleo de atmósferas con una

determinada cantidad de oxígeno mantiene estable el color rojo propio de la carne durante más tiempo pero favorece las reacciones de oxidación de lípidos.

Los procesos de envasado y enfriamiento seleccionan las especies de microorganismos que pueden comprometer la vida útil de la carne (Labadie, 1999). La carne almacenada en condiciones aeróbicas es rápidamente alterada por microorganismos que provocan su decoloración y la aparición de olores desagradables y del limo superficial. Dentro de esta flora aeróbica destaca la presencia de *Pseudomonas* spp. Otros microorganismos presentes en estas condiciones son *Brochotrix thermosphacta*, *Acinetobacter* spp. y *Psicrobacter* spp. (Brody, 1996; Labadie, 1999; Sofos y col., 2000). También aparecen en menor cantidad anaerobios facultativos como enterobacterias (Brody, 1996).

La carne envasada a vacío es muy estable al deterioro por microorganismos debido a la inhibición de la flora psicrótrófa aerobia, siendo posible sólo el crecimiento de bacterias ácido-lácticas (principalmente *Lactobacillus* y en menor medida *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pedicoccus* y *Enterococcus*), con un menor efecto sobre las características organolépticas, lo que permite períodos de vida útil de tres a cuatro semanas a temperaturas de refrigeración (Sorheim y Nissen, 1996; Labadie, 1999).

El envasado en atmósfera modificada también tiene un importante efecto sobre la flora microbiana. El empleo de atmósferas modificadas formadas exclusivamente por dióxido de carbono consigue períodos de vida útil similares a los del envasado a vacío, viéndose reducidos con la inclusión de oxígeno en las mezclas (Brody, 1996; Labadie, 1999). A diferencia del envasado a vacío, el empleo de atmósferas ricas en dióxido de carbono, mantiene un efecto reductor sobre el crecimiento microbiano tras la apertura del envase y la exposición de la carne al aire (Sorheim y col., 1996). Sin embargo, el uso de altas concentraciones de dióxido de carbono puede producir un colapso en el envase al solubilizarse dicho gas en el alimento (McMillin y col., 1999).

Aunque la incidencia de toxiinfecciones alimentarias asociadas a carne envasada en atmósfera modificada es mínima, se debe tener en cuenta el riesgo para la calidad higiénica de la carne, debido a que se alarga la vida comercial y

se disminuye la flora alterante competidora con posibles microorganismos patógenos presentes.

La carne cruda puede presentar olores desagradables, como olores ácidos, rancios, pútridos y otros, procedentes del metabolismo microbiano y de los procesos de oxidación lipídica. La aparición de olores desagradables depende del método de envasado, la temperatura de conservación y la carga microbiana inicial (Sorheim y col., 1999). Las atmósferas protectoras sin oxígeno y con altas concentraciones de dióxido de carbono son las que más inhiben estos procesos de deterioro. Así, el empleo de mezclas de dióxido de carbono y nitrógeno retrasa el desarrollo de olores desagradables en la carne, en comparación con la conservación en mezclas con bajas concentraciones de oxígeno o a vacío (Sorheim y col., 1996). Las atmósferas con una alta concentración de oxígeno son las más susceptibles de provocar la aparición de olores no característicos en la carne, en particular olores rancios y pútridos (Sorheim y col., 1999).

### **2.5.3. Iluminación.**

La iluminación es esencial para la comercialización de carne cruda. Los comercios utilizan sistemas de iluminación con luces brillantes para realzar la frescura y mejorar el aspecto de la carne, que es el factor más influyente en el criterio de selección del consumidor en el punto de venta (Kropf, 1980; Calkins y col., 1986; Van Oeckel y col., 1999), sin embargo, la iluminación puede acelerar la decoloración de la carne, reduciendo su vida útil (Bañón, 2012).

Las fuentes de iluminación empleadas pueden variar desde aquellas que se colocan en techos, que pueden ser luces fluorescentes, incandescentes y de haluro metal, hasta luces colocadas dentro de la vitrina de exposición. Los consumidores suelen preferir las carnes presentadas bajo iluminación incandescente frente a aquellas presentadas bajo iluminación fluorescente, probablemente debido a la ausencia de componente rojo en este tipo de iluminación (Barbut, 2002), sin embargo, dentro de las vitrinas expositoras se suelen utilizar lámparas de tipo fluorescente, ya que son más eficaces y generan



menos calor, produciendo menos estrés sobre las unidades de refrigeración de la vitrina (Kropf, 1980).

La utilización de lámparas fluorescentes en vitrinas de exposición puede afectar al color de la carne. Los principales factores relacionados con la iluminación que influyen en el grado de decoloración de la carne son las reacciones foto-químicas y los procesos de oxidación (Bañón, 2012), además, la luz puede aumentar la temperatura de la superficie de la carne al incidir sobre ella, favoreciendo el crecimiento de microorganismos y afectando también así a la estabilidad del color (Sánchez y col., 2008). La velocidad a la que se producen las reacciones de oxidación depende principalmente de factores como la longitud de onda, la intensidad de la iluminación y las propiedades de permeabilidad a la luz del film que se utilice en el envasado (Andersen y col., 1989). La luz con longitudes de onda corta tiene un efecto muy marcado sobre la oxidación de la grasa (Lennersten, 1995) y sobre la degradación del color de la carne (Renerre y Labadie, 1993), ya que favorece la oxidación de la oximioglobina, dando lugar a la formación de metamioglobina (Bekbölet, 1990). La intensidad de iluminación utilizada en los expositores de carne y productos cárnicos suele oscilar entre los 500 y 1000 lux (MacDougall, 1982). La luz fluorescente blanca generalmente no causa una apreciable decoloración de la carne, pero la exposición a la luz ultravioleta causa bastante desecación en la carne envasada aeróbicamente, así como oxidación de mioglobina y cambios de color a tonalidades marrón durante una corta exposición (Renerre, 1990). La estabilidad del color de la carne refrigerada puede mejorarse cuando se utiliza un material de envasado impermeable a las radiaciones ultravioletas (Bertelsen y Boegh-Soerensen, 1986), sin embargo, por razones de marketing, se suele utilizar material transparente, el cual ofrece una escasa barrera contra dichas radiaciones.

#### **2.5.4. Irradiación.**

La aplicación de radiación ionizante como método de conservación de alimentos lleva empleándose desde el año 1940 en virtud a su capacidad para inhibir el crecimiento microbiano (Lawrie y Ledward, 2006). Organismos tan

importantes como la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) han intervenido desde entonces estableciendo normas para regular su uso, indicando dosis permitidas y alimentos susceptibles de ser tratados mediante este método.

En el año 1990 se incluyó en las “Normas de etiquetado de los alimentos” que todos aquellos alimentos que hubieran sido tratados con radiación ionizante debían indicarlo en su etiqueta correspondiente (Zhou y col., 2010). La tecnología de la irradiación fue especialmente promocionada por parte de la FAO en el Codex Alimentarius de 2003, siendo muy bien aceptada por 50 países, especialmente Estados Unidos, Egipto, China y a lo largo de Latinoamérica (Aymerich y col., 2008).

Los isótopos radiactivos aprobados para su empleo en radiación de alimentos son  $^{137}\text{Cs}$  (Cesio-137) y  $^{60}\text{Co}$  (Cobalto-60). El cobalto radiactivo ( $^{60}\text{Co}$ ) da lugar a níquel no radiactivo al emitir partículas de alta energía y rayos X. Los rayos X matan rápidamente a las células en crecimiento (microorganismos) pero no dejan radiactividad en el producto. En virtud de su elevada capacidad de penetración pueden ser usados para tratar alimentos envasados (Brewer, 2009).

Entre las ventajas de la utilización de radiación ionizante para la conservación de alimentos están su elevada eficiencia en lo que a inactivación bacteriana se refiere, el hecho de que los productos tratados con ella no sufran ninguna alteración química y el permitir la posibilidad de ser aplicada a los alimentos después de haber sido envasados (Lawrie y Ledward, 2006). La dosis máxima de radiación ionizante permitida en alimentos es de 10 kGy, equivalente a la energía necesaria para elevar la temperatura de 1 g de agua 2,4 °C, lo cual representa una cantidad de energía bastante baja, preservando así la frescura y calidad nutricional de la carne y los productos cárnicos de forma más efectiva que con métodos térmicos (Aymerich y col., 2008).

Los cambios de coloración en carne cruda irradiada se deben a la susceptibilidad inherente de la molécula de mioglobina a un aporte de energía y a las alteraciones químicas del medio ambiente, siendo el grupo hemo

particularmente sensible. Algunas de las alternativas que son aconsejables para el mantenimiento del color de carne tratada mediante irradiación son la inclusión de antioxidantes en la alimentación de los animales que van a ser sacrificados, la adición de estos antioxidantes una vez obtenido el producto y/o la aplicación de tecnologías de envasado en atmósfera modificada (Brewer, 2009).

Actualmente en España solamente está permitido irradiar productos alimenticios de la categoría de “hierbas aromáticas secas, especias y condimentos vegetales”, tal y como recoge el Real Decreto 348/2001, de 4 de Abril, por el que se regula la elaboración, comercialización e importación de productos alimenticios e ingredientes alimentarios tratados con radiaciones ionizantes.

### **2.5.5. Uso de altas presiones hidrostáticas.**

El empleo de altas presiones hidrostáticas se basa en la aplicación de presiones elevadas (entre 100 y 1000 MPa) a través del agua. Los productos a tratar se envasan con un material flexible y se introducen en un recipiente de acero lleno de agua con capacidad para modificar la presión en su interior. Una vez alcanzada la presión deseada no es necesario el consumo de energía adicional para mantenerla aplicándose durante un periodo extenso, únicamente la requerida para mantener la temperatura de tratamiento seleccionada. Esta tecnología tiene su origen en la industria del tratamiento de materiales (cerámica, superaleaciones, diamantes artificiales, etc.) (Cheftel y Culioli, 1997). Requiere de una inversión inicial elevada, pero es una tecnología económicamente rentable, estimándose un coste de 14 céntimos de euro por kg de producto, tratado con una presión de 600 MPa (Aymerich y col., 2008).

El principal interés de la aplicación de la alta presión hidrostática en la industria alimentaria es su capacidad de inactivar, a baja temperatura, a los microorganismos y enzimas responsables del deterioro sin cambiar las características sensoriales y nutricionales del producto tratado (Patterson, 1999; Murchie y col., 2005). Es una poderosa herramienta para controlar el riesgo asociado a *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* en carne cruda y marinada

(Hugas y col., 2002). Su efectividad para el control microbiano depende tanto de los parámetros propios del proceso, como son el nivel de presión, la temperatura y el tiempo de exposición, como de factores intrínsecos del alimento, tales como pH, tipo de matriz y características y nivel de desarrollo de los microorganismos presentes (Hugas y col., 2002; Garriga y col., 2002).

Como inconveniente de esta tecnología está el hecho de que, incluso a bajas temperaturas, puede producir un efecto indeseable en el color de la carne cruda debido a la desnaturalización de la mioglobina y del desplazamiento del grupo hemo, producidos como consecuencia de los cambios en la presión (Mor-Mur y Yuste, 2003). Sus efectos sobre la estabilidad lipídica en los alimentos de origen animal han sido poco estudiados, obteniéndose hasta la fecha resultados contradictorios (Orlien y col., 2000; Wiggers y col., 2004; Tume y col., 2010). Otro de los efectos de la presurización es la aparición de cambios significativos en los niveles de algunos compuestos volátiles, debidos probablemente a la actividad microbiana y a los materiales empleados en el envasado de los productos (Rivas-Cañedo y col., 2009).

#### **2.5.6. Métodos combinados.**

La aplicación de métodos combinados de conservación se basa en la conjunción deliberada de varias técnicas de conservación para establecer una serie de “obstáculos” frente a los microorganismos y así mejorar la estabilidad microbiológica y la calidad sensorial de los alimentos. Esta tecnología de conservación también se conoce como procesos combinados, conservación combinada, técnicas combinadas o tecnologías de barrera (Leistner y Gorris, 1995; Leistner, 2000).

Las principales “barreras” utilizadas en la conservación de alimentos son la temperatura (alta o baja), la actividad de agua, la acidez, el potencial redox, los conservantes (sulfitos, ascorbato, nitritos, etc.) y los microorganismos competitivos (bacterias ácido-lácticas) (Leistner y Gorris, 1995).

La utilización de sistemas combinados de conservación permite mejorar la estabilidad y la calidad de los alimentos, prolongando su vida útil de manera más efectiva que cuando las distintas técnicas de conservación son aplicadas de manera individual (Zhou y col., 2010).

### **2.5.7. Aditivos antioxidantes y antimicrobianos.**

Un antioxidante es cualquier sustancia que, cuando está presente en baja concentración comparado con cualquier otro sustrato oxidable, previene significativamente la oxidación de aquel sustrato (Halliwell y col., 1995). Dentro del marco de sustratos oxidables se incluyen el ADN, lípidos, proteínas y carbohidratos, entre otros. Los antioxidantes pueden ser moléculas de origen sintético o natural.

Una sustancia puede actuar como antioxidante de distintas formas: compitiendo por la unión al oxígeno, retardando la iniciación de la oxidación, bloqueando la propagación, inhibiendo catalizadores o estabilizando hidroperóxidos (Valenzuela y Nieto, 1996). Cuando un radical libre gana un electrón cedido por un antioxidante, se rompe la cadena de reacción de oxidación y el compuesto antioxidante se convierte a su vez en un radical libre.

Los antioxidantes se pueden clasificar como primarios o secundarios, en función de su modo de acción. Los antioxidantes primarios son aquellos que son capaces de captar radicales libres y convertirlos en especies termodinámicamente estables. Los antioxidantes secundarios son también conocidos como antioxidantes preventivos, ya que desactivan las especies activas y los posibles precursores de los radicales libres, reduciendo su velocidad de formación. Las sustancias capaces de descomponer peróxidos previenen la formación de radicales libres para iniciar nuevas reacciones en cadena. Los compuestos quelantes de iones metálicos reducen la velocidad de las reacciones, por lo que también se consideran antioxidantes preventivos.

Los antioxidantes son considerados aditivos alimentarios cuando son aportados a los alimentos intencionadamente, sin el propósito de cambiar su

valor nutritivo, y con la finalidad de favorecer su conservación para mejorar su adaptación al uso al que se destinan (Fernández San Juan, 2002). Un antioxidante ideal debe cumplir como requisitos el ser inocuo, no alterar las propiedades organolépticas del alimento, ser efectivo a bajas concentraciones, ser fácil de incorporar al producto y tener una buena distribución en el mismo, ser estable durante el procesado y almacenamiento y estar disponible a bajo coste (Coppen, 1983).

La capacidad antioxidante de una sustancia es el resultado de sus propias características, de las interacciones con otros compuestos y de las condiciones en las que se utilice, pudiendo conseguirse en muchos casos una mayor eficacia frente a la oxidación empleando de forma combinada varios antioxidantes. Esto no siempre es así, ya que una molécula que presente actividad antioxidante *in vitro* puede manifestar otros efectos en un sistema más complejo, pudiendo en algunos casos no sólo no mostrar su aptitud antioxidante sino todo lo contrario, ejercer una acción prooxidante incrementando el daño oxidativo. Por lo tanto, es fundamental conocer y controlar las condiciones de aplicación, la reactividad química propia del antioxidante, sus distintas localizaciones en el interior celular y sus múltiples interacciones (Hercberg y col., 1998).

Un compuesto antimicrobiano es aquel que, a bajas concentraciones, actúa contra los microorganismos, destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento (Innun, 2013). La acción bactericida puede llevarse a cabo según diversos mecanismos de acción, normalmente relacionados con la alteración de las propiedades de la membrana celular de las bacterias. Un agente antimicrobiano puede promover la desintegración de la membrana citoplasmática de un microorganismo reemplazando sus cationes estabilizadores, modificando las interacciones entre sus constituyentes o alterando su permeabilidad, lo cual produce una pérdida excesiva de metabolitos, de enzimas y de energía, ésta última en forma de moléculas de ATP. Todo esto puede provocar un colapso en la integridad de la membrana, determinando la inevitable pérdida de su viabilidad (Smid y col., 1996; Helander y col., 1998).

Según el Reglamento (CE) 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, dentro del grupo de carnes no elaboradas, únicamente está permitido

el uso de aditivos químicos en preparados de carne, definidos en el Reglamento (CE) 853/2004 como: “la carne fresca, incluida la carne que ha sido troceada, a la que se han añadido productos alimenticios, condimentos o aditivos, o que ha sido sometida a transformaciones que no bastan para alterar la estructura interna de la fibra muscular ni, por lo tanto, para eliminar las características de la carne fresca”. La adición de dióxido de azufre y sulfitos, acetatos de potasio y sodio, ácido ascórbico, ascorbatos sódico y cálcico, lactatos sódico y potásico, ácido cítrico, citratos de sodio, potasio y calcio, ácido fosfórico, fosfatos, di-, tri- y polifosfatos está permitida en los preparados de carne (breakfast sausages, burger meat, salchicha fresca, carne picada fresca, etc.).

El uso de aditivos no está autorizado en la carne entera fresca, definida como: “la carne que no ha sido sometida a procesos de conservación distintos de la refrigeración, la congelación o la ultracongelación, incluida la carne envasada al vacío o envasada en atmósfera controlada”. En este caso podrían emplearse ingredientes naturales “GRAS” con propiedades antioxidantes y antimicrobianas, no catalogados como aditivos alimentarios, como alternativa a los aditivos químicos.

#### **2.5.8. Conservantes naturales.**

El empleo de ingredientes naturales en alimentos como alternativa a los conservantes artificiales es un campo de estudio que en las últimas décadas ha adquirido gran relevancia a nivel científico e industrial. La aparición de leyes cada vez más restrictivas con respecto al uso de conservantes en alimentos, con una reducción progresiva de las dosis mínimas permitidas de los mismos, y la cada vez mayor presión social para su sustitución por productos naturales, al ser considerados éstos más seguros, hacen fundamental la búsqueda de alternativas a su uso, que los sustituyan por completo o que permitan reducir su dosis de aplicación (Serrano y Bañón, 2012).

Los compuestos bioactivos, también conocidos como fitoquímicos o fitonutrientes, son sustancias biológicamente activas que suelen estar presentes en los alimentos de origen vegetal. Son metabolitos secundarios que se

encuentran extensamente distribuidos por todas las plantas superiores, donde intervienen en funciones fisiológicas tan diversas como el crecimiento, la reproducción y los procesos defensivos frente a patógenos, predadores o radiación ultravioleta (Bravo, 1998). Los compuestos bioactivos con actividad antioxidante son útiles durante el procesado y almacenamiento de los alimentos debido a que la auto-oxidación de los lípidos genera radicales libres, consiguiéndose retardar los procesos oxidativos y mejorar la calidad nutricional de los alimentos mediante su empleo como potenciales agentes conservantes (Urquiaga y Leighton, 2000).

Los compuestos fitoquímicos más destacados en base a su actividad antioxidante pertenecen al grupo de los terpenos (carotenos y licopenos) y al grupo de los fenoles (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos) (Valenzuela y Nieto, 1996), siendo los más importantes los compuestos de tipo polifenólico. Los compuestos polifenólicos constituyen un grupo muy numeroso de compuestos vegetales que presentan como característica principal el poseer anillos bencénicos con uno o más grupos hidroxilos como elemento común entre sus estructuras moleculares. Estas estructuras pueden incluir grupos funcionales como ésteres, metil-ésteres, glicósidos, etc. Existe una estrecha relación entre las propiedades biológicas de los compuestos polifenólicos y su estructura química. Su mayor o menor actividad depende en gran medida de su hidrofobicidad, número de grupos hidroxilo, longitud de la cadena alifática y presencia de dobles enlaces (Helander y col., 1998; Parr y Bolwell, 2000), pudiendo algunos extractos de plantas ricos en compuestos polifenólicos llegar a mostrar una actividad antioxidante similar o incluso mayor que algunos antioxidantes sintéticos (Chen y col., 1992; Sánchez y col., 2003).

Los compuestos polifenólicos pueden ejercer su efecto antioxidante mediante distintos mecanismos: secuestrando radicales libres, donando moléculas de hidrógeno, captando moléculas superóxido o quelando metales de transición (Urquiaga y Leighton, 2000). Las propiedades antioxidantes de este tipo de compuestos son atribuidas principalmente al grupo hidroxilo presente en su anillo estructural, que permite deslocalizar los electrones, dando lugar a radicales intermedios menos reactivos (Sang y col., 2002). Los polifenoles son



muy activos como antioxidantes primarios, de ahí la altísima actividad de captación de radicales de algunas sustancias como los galatos, los flavonoides, las aminas aromáticas y las quinonas (Huang y Scott, 1985). Una característica importante de los fenoles es que son buenos donadores de hidrógeno en la formación de puentes de hidrógeno, de manera que pueden formar complejos con otras moléculas, que en muchos casos son extremadamente estables y tienden a precipitar, como es el caso de los taninos condensados (Bravo, 1998).

Otra importante propiedad física de los polifenoles es su solubilidad, no obstante, al ser una familia tan grande existen compuestos polifenólicos de muy distinta hidrofobicidad, la cual influye en los mecanismos de transporte al interior de la membrana, determinando a su vez su actividad antibacteriana (Daglia, 2012). El transporte al interior de la célula también puede estar condicionado por la propia estructura estereoespacial de la molécula tipo y la disposición de sus sustituyentes (Lancon y col., 2004).

Se han testado una gran cantidad de compuestos naturales como conservantes de la carne y sus derivados. Además del romero (ver sección 2.6.1.), se han realizado diversos estudios con aloe vera, gengeng, mostaza, salvia (McCarthy y col., 2001<sup>b</sup>), rábano (Delaquis y col., 1999), orégano (Fernández-López y col., 2003), albahaca, clavo, hierbabuena, nuez moscada, curry, canela (Abdalla y col., 1999), miel (Johnston y col., 2005), catequinas de té, vitamina C (Mitsumoto y col., 2005), naranja, limón (Fernández-López y col., 2005), pimienta negra (Martínez y col., 2007<sup>a</sup>), té verde, café, piel de uva (Nissen y col., 2004), uva y extractos de corteza de pino (Ahn y col., 2002; Gruen y col., 2005). También se han realizado estudios con aceite esencial de tomillo para estudiar su actividad estabilizante en sistemas lipídicos. Medina y Miralles (2000) realizaron un estudio en carne picada de vacuno, a la que añadieron aceite esencial de tomillo con el objetivo de determinar su poder antioxidante, observando una disminución de la oxidación en muestras suplementadas.

Diversos estudios realizados en carne y derivados en fresco, han evidenciado la capacidad de las catequinas y teflavinas del té para retrasar e inhibir las reacciones de autooxidación, gracias a su magnífica actividad de captación de radicales superóxido (Chen y Ho, 1995). Buck y Edwards (1997)

observaron que el período de conservación de carnes muy grasas se vio incrementado tras la adición de extractos de té verde. Siguiendo en la misma línea, distintos autores demostraron que la suplementación con catequinas incrementó significativamente la estabilidad oxidativa de hamburguesas en fresco elaboradas con carne de vacuno (O'Sullivan y col., 1997; Díaz y col., 2005; Georgantelis y col., 2007) y cerdo (McCarthy, 2001<sup>a</sup>, 2001<sup>b</sup>; Gil y col., 2001; Rodríguez, 2006).

Otros trabajos han puesto de manifiesto el poder antioxidante de orégano seco y su aceite esencial en carne de pollo cruda y cocinada (Botsoglou y col., 2002<sup>a</sup>; Botsoglou y col., 2003<sup>c</sup>), así como en carne de pavo (Botsoglou y col., 2003<sup>a</sup>). Las hojas secas, flores, extractos y aceite esencial de orégano han sido investigados al añadirlos en varios sistemas alimentarios (Abdalla y col., 1999), manteca de cerdo (Economou y col., 1991; Lagouri y col., 1993; Vekiari y col., 1993<sup>a</sup>, 1993<sup>b</sup>; Milos y col., 2000) y aceite de caballa (Tsimidou y col., 1995).

También se han realizado estudios añadiendo vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol de forma exógena a la carne de cerdo, observándose una disminución de los procesos de oxidación (Mitsumoto y col., 1993), sin embargo, la efectividad del  $\alpha$ -tocoferol disminuye considerablemente cuando se administra de forma exógena (Faustman y col., 1998), ya que la adición directa de  $\alpha$ -tocoferol a la carne no asegura que éste llegue a integrarse en las membranas musculares, las cuales tienen un papel fundamental en la estabilidad de lípidos y pigmentos (Mitsumoto, 2000), perdiendo efectividad y limitando su aplicación como aditivo en la industria cárnica (Buckley y Morrissey, 1992).

La mayoría de los compuestos con potencial actividad antioxidante y/o antimicrobiana presentes en la naturaleza se encuentran en las plantas, si bien existen otros de origen animal, como por ejemplo, el quitosano, con aptitudes para ser utilizados como conservantes naturales en carne (Serrano y Bañón, 2012). El quitosano es una forma desacetilada de la quitina, polisacárido que se encuentra en el caparazón de cangrejos y langostinos. Es capaz de causar importantes alteraciones estructurales y funcionales en los microorganismos, imposibilitando su supervivencia, y capaz de captar y eliminar los radicales libres

de la carne e inhibir mediante quelación la actividad catalítica de los iones de hierro (Georgantelis y col., 2007).

La adición directa de conservantes naturales a la carne permite realizar una dosificación exacta, rápida y económica, además, puede servir para modificar el valor nutritivo de los productos cárnicos pasando a desempeñar una función de ingrediente (Fernández-Ginés y col., 2001). Sus principales inconvenientes suelen ser su reducido espectro de actividad y sus limitaciones sensoriales, ya que, en algunos casos, los ingredientes naturales pueden modificar las propiedades organolépticas del alimento, aportando características de aspecto, olor y/o sabor anómalos e indeseables a la carne (Zhou y col., 2010). Por lo tanto, es fundamental que la mínima dosis conservante efectiva del ingrediente natural sea inferior a su dosis límite de detección sensorial.

Una alternativa a la adición directa de conservantes naturales a la carne es la suplementación dietética de los animales con compuestos activos biodisponibles, la cual ha demostrado ser una técnica muy efectiva para conservar ésta (Petrón y col., 2007; Moñino y col., 2008).

## **2.6. Empleo de fitoquímicos en alimentación animal.**

Actualmente se está investigando el uso dietético en alimentación animal de diversos compuestos vegetales (extractos, especias, frutos, plantas íntegras, etc.) con el objeto de mejorar la salud de los animales y la calidad de sus producciones. La mayoría de estudios sobre suplementación dietética con conservantes endógenos naturales han sido realizados en animales monogástricos (pollo y cerdo), cuya carne es consumida en mayor porcentaje (76% vs 24%) que la carne de animales poligástricos (vacuno, ovino y caprino) (MAGRAMA, 2013).

El empleo de estos compuestos naturales en el pienso, como por ejemplo el  $\alpha$ -tocoferol, no parece constituir ningún problema para la salud de los animales, todo lo contrario, si bien suponen un coste económico mayor. Así mismo, los conservantes añadidos al pienso no son percibidos como aditivos

alimentarios. Una alternativa que ha generado mucho interés es la utilización de los subproductos vegetales, ricos en compuestos conservantes, como suplementos para piensos, que incorporan compuestos bioactivos a los animales, a la vez que se consigue dar salida a algunos subproductos agroalimentarios (Petrón y col., 2007).

Mediante las técnicas de suplementación del pienso los conservantes endógenos se van depositando allí donde más se necesitan, conformándose membranas celulares con una concentración adecuada de sustancias antioxidantes y/o antimicrobianas, siendo una de las estrategias más eficaces para mejorar la capacidad de conservación de la carne. La suplementación dietética con  $\alpha$ -tocoferol está muy extendida para reducir los procesos oxidativos de la carne (Mitsumoto y col., 1993; Sante y Lacourt, 1994; O'Grady y col., 2000) y es la que cuenta con una mayor aceptación por parte de los consumidores (Bjorneboe y col., 1990; Burton y Traber, 1990).

La suplementación de la dieta animal con cantidades de  $\alpha$ -tocoferol superiores a las requeridas para un correcto crecimiento y desarrollo del animal, provocan un aumento significativo de las concentraciones plasmáticas y tisulares de  $\alpha$ -tocoferol (Lanari y col., 1995; Cannon y col., 1995; Morrissey y col., 1996; Gray y col., 1996; Hoving-Boling y col., 1998; Suomi, 1999; Lauridsen y col., 2000), suponiendo un procedimiento eficaz para retrasar y prevenir el enranciamiento en carne y productos cárnicos frescos (Monahan y col., 1990<sup>a</sup>, 1990<sup>b</sup>, 1992; Buckley y col., 1995) y cocinados (Bruun-Jensen y col., 1994, 1996; Higgins y col., 1998). Los niveles de suplementación más frecuentemente utilizados son de 100 y 200 mg por kg de pienso (Jensen y col., 1998<sup>b</sup>). La acumulación de  $\alpha$ -tocoferol en los tejidos no es homogénea, ya que depende de su actividad metabólica (Morrissey y col., 1996; Jensen y col., 1998<sup>b</sup>; Lauridsen y col., 2000), permaneciendo en el músculo durante el almacenamiento e incluso tras el cocinado de la carne (Aksu y Kaya, 2005).

Asghar y col. (1991) observaron una importante reducción (80%) en los valores de TBARS en carne de cerdo suplementado con 200 mg kg<sup>-1</sup> de acetato de  $\alpha$ -tocoferol. Esta reducción fue ligeramente menor en el caso de carne de cerdo suplementado con 100 mg kg<sup>-1</sup> (68%). El  $\alpha$ -tocoferol, a dosis de 100 mg

kg<sup>-1</sup> y 200 mg kg<sup>-1</sup>, se comportó como un antioxidante eficaz disminuyendo la rancidez de la carne.

Los aceites esenciales de numerosas plantas también pueden actuar como potenciales agentes conservantes naturales en virtud de su contenido en compuestos antimicrobianos, los cuales tienen capacidad para acumularse en las membranas celulares gracias a su carácter lipofílico. Estos compuestos actúan principalmente disminuyendo la energía del microorganismo hasta producir su agotamiento y pueden actuar frente a una gran variedad de microorganismos, incluidas las bacterias Gram negativas (Conner, 1993; Burt, 2004).

Numerosos trabajos han mostrado la eficacia de la suplementación animal con aceites esenciales, aunque el uso de aceites esenciales como aditivos en piensos no está muy extendido. Hernández y col. (2004) encontraron una ligera mejora de la digestibilidad y producción de broilers cuyas dietas fueron suplementadas con aceites esenciales de canela y de pimiento. Jamroz y col. (2005) expusieron una mejora de la conversión alimenticia de broilers suplementados con una mezcla de cinamaldehído y capsicum. Guo y col. (2004), en un estudio comparativo realizado con broilers con una formulación suplementada con virginiamicina y otra con un preparado a base de extractos de hierbas chinas, observaron que los broilers con dietas suplementadas con el extracto tuvieron una mayor ingesta de alimento y una mayor ganancia de peso comparado con los broilers suplementados con virginiamicina y los del grupo control.

A pesar de la cantidad de estudios *in vitro* realizados con  $\beta$ -caroteno, aún no se dispone de información suficiente relativa al efecto antioxidante de la suplementación en la dieta con carotenoides sobre la calidad de la carne y productos cárnicos (King y col., 1995; Woodall y col., 1996). La eficacia de la suplementación con  $\beta$ -caroteno sobre el enranciamiento en carne de pollo depende, tanto de la dosis adicionada, como del tipo de grasa administrado en la dieta (Ruíz y col., 1997). Carreras y col. (2003) estudiaron la eficacia de tres compuestos antioxidantes,  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno y licopeno, adicionados en distintas concentraciones y combinaciones a la dieta de pollos y pavos. Para ello

se determinó la estabilidad oxidativa de los tejidos musculares de pechuga y muslo mediante el análisis de los valores de TBARS, de las actividades de diversas enzimas antioxidantes y desde un punto de vista sensorial, demostrando la eficacia de estos antioxidantes al aumentar la vida útil de la carne. Schweigert y col. (1995) evidenciaron que, si bien el  $\beta$ -caroteno es absorbido de forma intacta por los cerdos, únicamente una fracción mínima es activada en vitamina A, además, la mayor parte de dicha fracción queda acumulada en hígado, riñón y pulmón, siendo prácticamente despreciable el porcentaje depositado a nivel muscular.

Al ser los pollos capaces de absorber eficientemente xantófilas (luteína, zeaxantina, astaxantina y cantaxantina) (Tyczkowski y col., 1986, 1988) y pequeñas cantidades de  $\beta$ -caroteno (Marusich y col., 1981), en la actualidad se vienen introduciendo carotenos puros y materias primas ricas en carotenos (maíz, alfalfa, etc.) en su dieta. No obstante, el único objetivo de dicha suplementación radica en la mejora de la pigmentación de la carne y de los huevos (Khan, 1995; Hernández y col., 1998).

Existen suficientes evidencias *in vitro* como para sugerir que la utilización de otros carotenoides tales como la luteína, licopeno,  $\beta$ -criptoxantina (Di Mascio y col., 1989) y astaxantina (Lawlor y col., 1995) tendría un efecto antioxidante superior al del  $\beta$ -caroteno e incluso al del  $\alpha$ -tocoferol. No obstante, aún se requiere de la realización de nuevas investigaciones encaminadas a determinar su actividad *in vivo* y la efectividad de su suplementación con la dieta.

Tras suplementar la dieta de los pollos con niveles de 50 a 300 mg kg<sup>-1</sup> de catequina de té en el pienso, se obtuvieron niveles de oxidación de lípidos más bajos en pechuga de pollo y en muslo, después de nueve meses de almacenamiento en congelación (Tang y col., 2001). Haak y col. (2008) estudiaron el efecto antioxidante de la suplementación de la dieta de cerdos con una combinación de antioxidantes (incluido romero) en la carne fresca y cocinada de cerdo. También se han realizado estudios en la dieta de broilers con 500 mg kg<sup>-1</sup> de un romero comercial, no observándose en este caso una mejora de la estabilidad oxidativa de los huevos de aves de corral. Sin embargo, sí se demostró actividad antioxidante en huevos procedentes de aves de corral

alimentadas con mayores niveles de ácido carnósico (500 mg ácido carnósico kg<sup>-1</sup> de alimento) (Galobart y col., 2001).

Las peculiaridades del sistema digestivo de los rumiantes y de la actividad metabólica de éste, con la división en cuatro compartimientos y el proceso de rumia, podría condicionar la biodisponibilidad de determinados compuestos activos testados con éxito en animales monogástricos, sin embargo, diversos estudios han demostrado la efectividad de determinados compuestos dietéticos de origen vegetal para mejorar la calidad de la carne de rumiante.

La inclusión de alga parda marina *ascophylum nodosum* en la dieta de cabras y terneros, en una dosificación del 2%, produjo en la carne una mejora de la estabilidad del color y un aumento de la resistencia de la mioglobina a la oxidación (Galipalli y col., 2004; Braden y col., 2007).

La adición de ácido elágico, en dosificaciones de entre 300 y 900 mg kg<sup>-1</sup>, y de extracto de hoja de olivo, en dosificaciones de entre 100 y 300 mg kg<sup>-1</sup>, al pienso de terneros, produjo en la carne una reducción de la oxidación lipídica y de la formación de metamioglobina (Hayes y col., 2009).

La estabilidad del color y de la grasa de la carne de cabra aumentó gracias a la adición al pienso de cúrcuma (0,5%) junto con *andropholis paniculata* (0,5%), planta herbácea medicinal de la familia de las acantáceas (Karami y col., 2011), y gracias a la adición de catequinas del té, en dosificaciones entre 2000 y 4000 mg kg<sup>-1</sup> (Zhong y col., 2009).

La ingesta de plantas del género *atriplex* spp. durante el pastoreo derivó en una mayor estabilidad del color de la carne de oveja a lo largo de su almacenamiento (Pearce y col., 2005).

La suplementación del pienso de corderos con extracto de quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*) (8,9%), especie arbórea caracterizada por su alto contenido en taninos, determinaron una mejora en la estabilidad del color en la carne (Luciano y col., 2009).

La suplementación dietética de corderos con hesperidina, uno de los principales flavonoides presentes en los cítricos, en dosificaciones de 1500 y 3000 mg kg<sup>-1</sup> en el pienso, permitió reducir los valores de oxidación lipídica de la carne durante su almacenamiento en refrigeración (Simitzis y col., 2013).

Por su especial relevancia para el presente trabajo de investigación, el uso de PAMs (plantas aromático medicinales) y en particular, del romero, van a ser revisados en capítulos independientes con mayor detenimiento.

### **2.6.1. Plantas aromático medicinales (PAMs).**

Una planta medicinal es aquella que elabora o posee en alguno de sus órganos principios activos que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo. Una planta aromática es aquella cuyos principios activos están constituidos total o parcialmente por aceites esenciales, que confieren a su extracto, o a los productos con los que se mezcle, un aroma agradable al olfato. Las PAMs son aquellas plantas que reúnen ambas características. Un tercer tipo, dentro de esta clasificación, es la planta condimentaria o especia, que es aquella planta que el hombre utiliza por sus características organolépticas y principios nutritivos, que sirve de alimento al organismo humano y animal, y a su vez confiere a los alimentos y bebidas ciertos aromas, colores y sabores (Sotomayor, 1998).

Las PAMs contienen una gran cantidad de sustancias químicas que actúan de distinta manera sobre la fisiología y el metabolismo del hombre y los animales. El metabolismo primario de las plantas proporciona pequeñas moléculas (ácido siquímico, acetatos y aminoácidos) que constituyen el punto de partida de las rutas del metabolismo secundario. Por ejemplo, la ruta del ácido siquímico da origen a compuestos aromáticos (aminoácidos aromáticos, ácidos cinámicos y ciertos polifenoles). El acetato es el precursor de los ácidos grasos y los policétidos a través de la ruta del acetato-malonato, y de los terpenos o isoprenoides. Los aminoácidos son precursores de los alcaloides y de



antibióticos peptídicos que incluyen las penicilinas y las cefalosporinas (Piñol y col., 2000).

Antiguamente, los metabolitos secundarios eran considerados como sustancias de desecho carentes de una función específica, sin embargo, algunos de estos compuestos sirven a la planta como mecanismos de defensa frente a microorganismos, insectos y animales. En otros casos proporcionan el olor característico a la planta o son responsables de la pigmentación (quinonas y taninos) (Schmid, 1982), el sabor y olor (aceites esenciales), o de actividades antifúngicas, antibacterianas (ácidos fenólicos y fenoles simples), antioxidantes y antivíricas (Van Soest, 1982; Wild, 1994; Brantner y col., 1996). A menudo estos compuestos son fuente de productos farmacéuticos, aditivos alimentarios y perfumes. Entre ellos se encuentran ligninas, fenoles, alcaloides, taninos, aceites esenciales, saponinas y esteroides (Van Soest, 1982; Cowan, 1999).

En los últimos años se ha renovado el interés por las PAMs, tanto en nuestro país, como en el resto de Europa. Esto se debe a que el consumidor es más exigente y busca alimentos cada vez más naturales, más puros y ausentes de agentes contaminantes. La incorporación a la carne de conservantes naturales procedentes de estas plantas representa una prometedora herramienta para el aumento de la vida útil de la carne, al mismo tiempo que responde a dicha demanda de alimentos seguros y naturales, libres de aditivos químicos, por parte de los consumidores (Gray y Pearson, 1987; Morrissey y col., 1994; De Winne y Dirinck, 1996; Lauridsen y col., 1997).

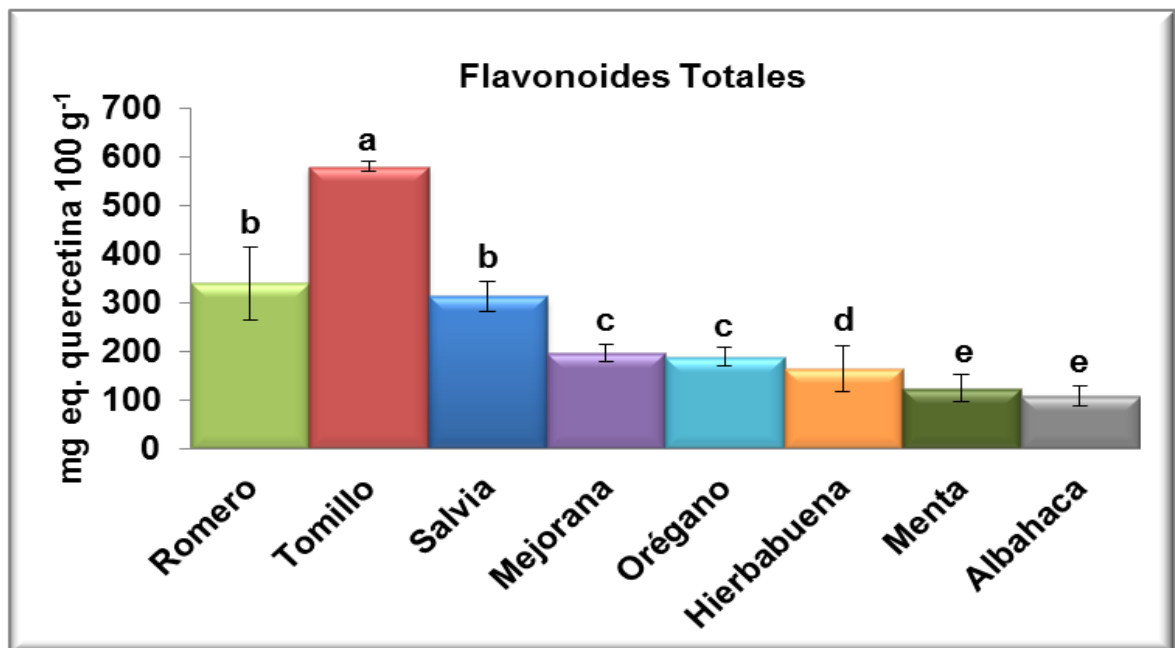
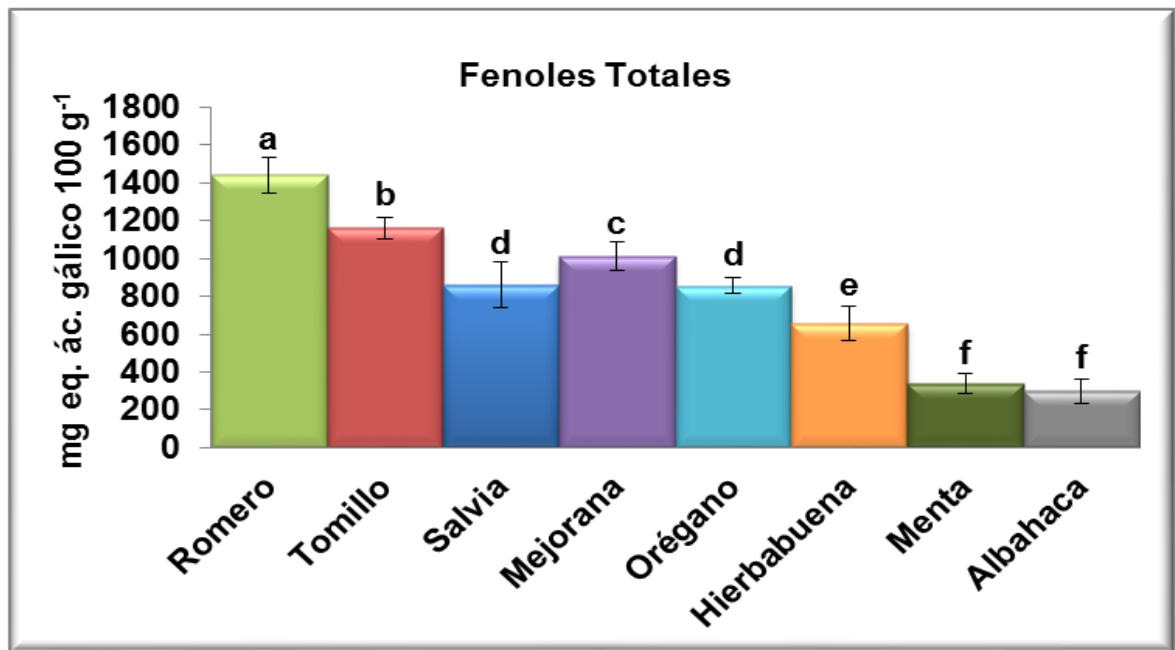
Algunos compuestos activos presentes en las PAMs suponen una alternativa al empleo de aditivos conservantes potencialmente peligrosos para la salud, como por ejemplo, el BHT y el BHA, lo que ha generado un creciente interés en estabilizar los productos frente a la oxidación con métodos más naturales (Chen y col., 1992; Imaida y col., 1983). Hierbas y especias poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas debido a los compuestos activos presentes en ellas (Farag y col., 1989; Pratt y Hudson, 1990), siendo además consideradas como "GRAS", lo que hace que consumidores y agencias reguladoras las consideren más apropiadas para su uso en alimentación que los aditivos sintéticos.

El sureste español cuenta con la flora espontánea en plantas aromáticas más rica de Europa (Alcaraz y col., 1989). La Región de Murcia posee una incipiente industria transformadora e importadora de plantas aromático-medicinales. Al presentar el cultivo de este tipo de plantas una rentabilidad potencial muy superior a la obtenida con los tradicionales cultivos cerealistas, implantados principalmente en los terrenos marginales de noroeste de la Región, cobra gran importancia el fomento de dichos cultivos en suelo murciano, siendo necesario para el impulso de esta actividad darle un enfoque más comercial, organizado y tecnológicamente adecuado, que sintonice con las tendencias de la política agraria, rural y medioambiental.

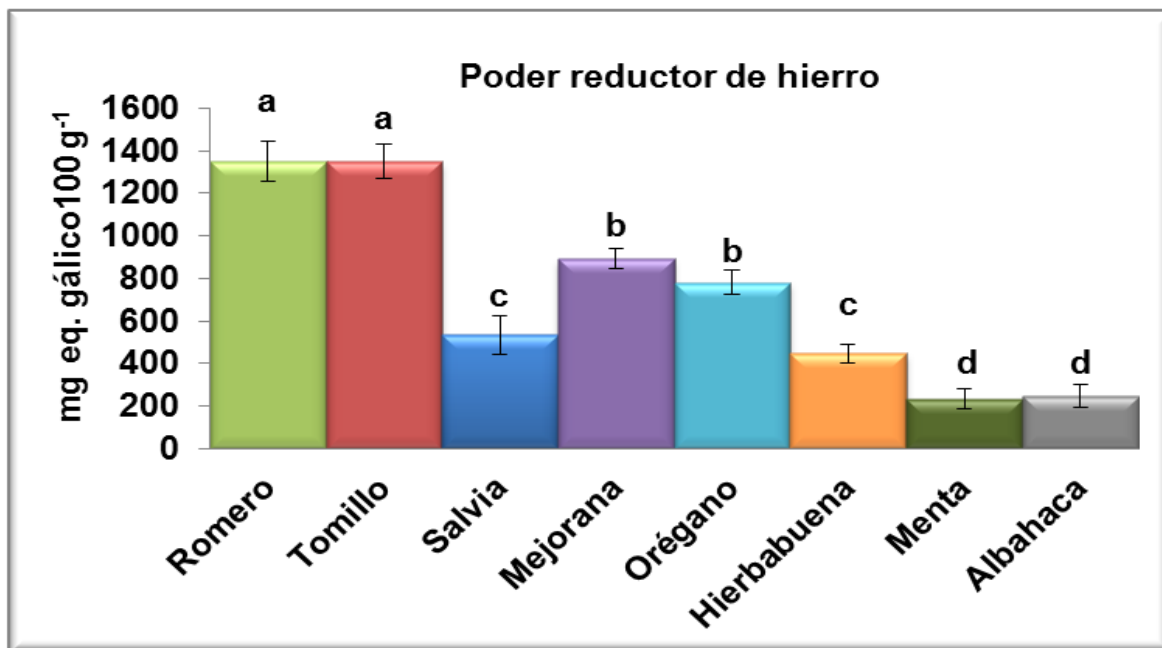
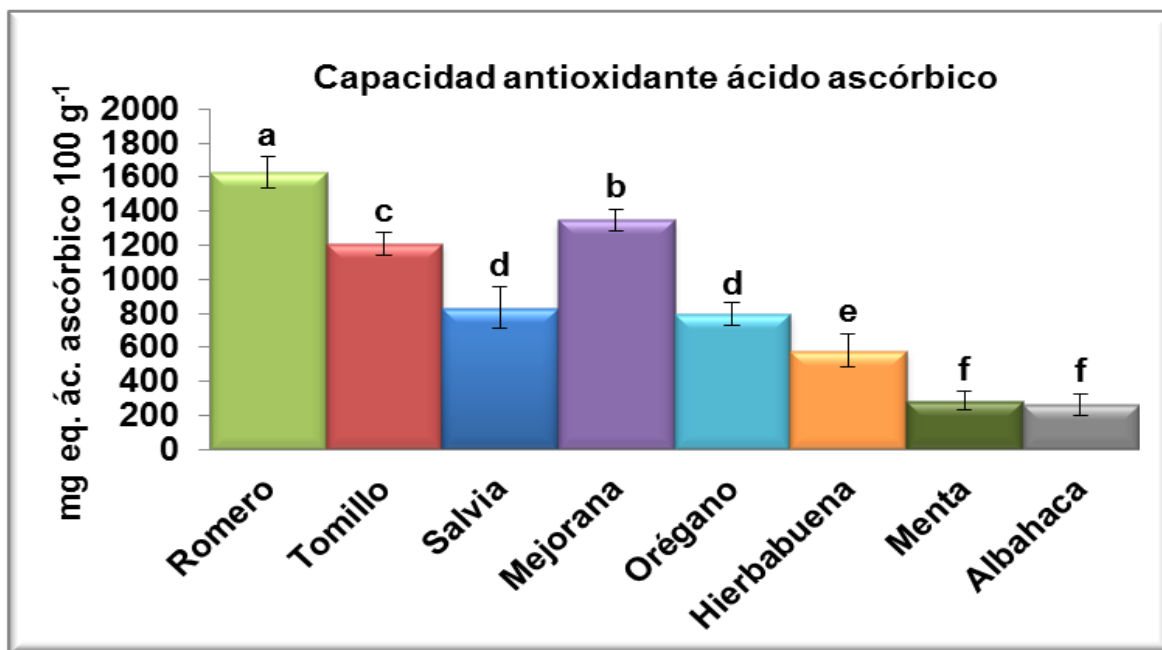
Entre las PAMs destaca la familia *Labiatae* o *Lamiaceae*, ricas en compuestos antioxidantes y antimicrobianos asimilables por los animales y el hombre. La región mediterránea es rica en plantas de la familia *Labiatae*, en ella viven unas 1000 especies silvestres correspondientes a unos 48 géneros, aproximadamente la cuarta parte de los 220 géneros y 4000 especies del total mundial (Morales, 2000). Las especies más conocidas de este grupo son el orégano (*Origanum vulgare* L.), la mejorana (*Origanum majorana* L.), la albahaca (*Ocimum basilicum* L.), la menta (*Mentha piperita* L.), la hierbabuena (*Mentha spicata* L.), el romero (*Rosmarinus officinalis* L.), el tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y la salvia (*Salvia officinalis* L.), siendo estas tres últimas algunas de las más estudiadas en virtud de sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Botsoglou y col., 2002<sup>a</sup>).

El romero y el tomillo son las labiadas o lamiáceas que poseen un mayor contenido en compuestos fenólicos y flavonoides (**Figura 8**), de lo cual se deriva el hecho de presentar una actividad antioxidante *in vitro* mayor que el resto (Chan y col., 2012). Por su parte, la salvia destaca por ser la labiada que muestra una mayor actividad antimicrobiana *in vitro*, seguida por el romero y el tomillo, sin embargo, su actividad antioxidante *in vitro* es significativamente inferior a la mostrada por éstos (Chan y col., 2012) (**Figura 9**).

**Figuras 8.** Contenido fenólico de hierbas frescas de la familia *Labiatae* (Chan y col., 2012).



**Figuras 9.** Actividad antioxidante de hierbas frescas de la familia *Labiatae* (Chan y col., 2012).



Además del romero, que se tratará en un capítulo específico, diversas PAMs han sido empleadas como suplemento de la dieta de animales de abasto con el objetivo de evaluar su aptitud como conservantes naturales de la carne.

La incorporación de aceite esencial de orégano al pienso de pollos, en dosificaciones de 50 y 100 mg kg<sup>-1</sup> (Botsoglou y col., 2002<sup>b</sup>), y al pienso de pavos, en dosificaciones de 100 y 200 mg kg<sup>-1</sup> (Botsoglou y col., 2003<sup>b</sup>), permitió reducir la oxidación lipídica en la carne cruda y cocinada, almacenada hasta 9 días en refrigeración (4 °C). En un estudio similar, Simitzis y col. (2008) observaron que la suplementación dietética de corderos con aceite esencial de orégano, en dosis de 1000 mg kg<sup>-1</sup> en el pienso, ocasionó una reducción de la oxidación lipídica en la carne cruda durante el almacenamiento, tanto en refrigeración hasta 9 días, como en congelación (-20 °C) hasta 4 meses. Por el contrario, la suplementación dietética de cerdos con aceite esencial de orégano, en dosificaciones de 250, 500 y 1000 mg kg<sup>-1</sup> en el pienso, no logró reducir la oxidación lipídica en la carne cruda, almacenada en refrigeración hasta 9 días (Simitzis y col., 2010). En otro estudio realizado con cerdos, Janz y col. (2007) determinaron que la incorporación de aceite esencial de orégano al pienso de éstos, en una dosis del 0,05%, no redujo los niveles de oxidación lipídica ni mejoraba las características sensoriales de la carne cocinada y almacenada en refrigeración hasta 4 días.

La suplementación dietética de ovejas con hoja de tomillo libre de aceite esencial, en una dosis del 7,5% en el pienso, permitió mejorar la estabilidad del color y reducir el deterioro microbiológico y la oxidación de lípidos en la carne de sus corderos, almacenada en refrigeración y MAP (70/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) hasta 21 días (Nieto y col., 2010<sup>b</sup>). La incorporación de aceite esencial de tomillo en la dieta de conejos, en una dosificación del 3% en el pienso, permitió mejorar la estabilidad del color en la carne, almacenada en refrigeración y bajo intensa iluminación (2300 lx) hasta 9 días (Dal Bosco y col., 2014).

Lopez-Bote y col. (1998) observaron que la suplementación dietética de pollos con extracto de salvia, en una dosificación de 500 mg kg<sup>-1</sup> en el pienso, permitía reducir la oxidación lipídica en la carne cruda, almacenada en

refrigeración hasta 9 días y en congelación hasta 6 meses, y en la carne cocinada, almacenada en refrigeración hasta 4 días.

En contraposición a estos estudios, Koreleski y Swiatkiewicz (2007) observaron que la incorporación de extracto de tomillo y extracto de salvia al pienso de pollos, en una dosificación de  $560 \text{ mg kg}^{-1}$ , no permitió reducir la oxidación lipídica ni mejorar las características sensoriales de la carne cruda almacenada en congelación hasta 6 meses.

## **2.6.2. Romero y derivados.**

### **2.6.2.1. Características botánicas y agronómicas.**

El romero es una planta perenne, leñosa y de porte arbustivo (**Figura 10**), con una vida media que varía entre 5 y 15 años. Puede alcanzar un tamaño de hasta 2 metros. Es una planta originaria de la región mediterránea, sobre todo de las áreas donde el suelo es especialmente seco, arenoso y rocoso. Se considera una planta autóctona de la Región de Murcia, tanto silvestre, como cultivada en secano. Es una especie termófila tolerante a la sequía, que crece en zonas soleadas, protegidas de vientos gélidos. Sus necesidades anuales de precipitación se encuentran entre 200 y 600 mm, presentando un crecimiento óptimo a partir de 350 mm (Correal y Sotomayor, 2001). Necesita un mínimo de 6 horas diarias de exposición a la luz solar. Se desarrolla sobre cualquier tipo de suelo, pero prefiere suelos calcáreos, con un porcentaje de caliza del 50% y bien drenados, con una materia orgánica de hasta el 2%. Se puede adaptar con facilidad a otros tipos de suelo más pobres, creciendo peor en suelos limosos, pero produciendo plantas más aromáticas, siendo en suelos de tipo arcilloso donde su desarrollo es más limitado. El rango de pH del suelo puede variar de 4,5 a 8,7. Sus hojas son firmes, de color verde oscuro por el haz y blanquecinas por el envés, provistas de abundantes glándulas de esencia. Sus flores son de color azul o violáceo pálido con los estambres más largos que los pétalos y el labio superior de la corola curvado. Sus semillas son de tamaño reducido. Es una especie de propagación sencilla y rápida a partir de esquejes y más complicada y tardía a partir de semillas.

La etimología de su nombre científico "*Rosmarinus*" tiene dos posibles derivaciones, bien de las palabras latinas "*Ros*" (rocío) y "*Marinus*" (marino), por ser una especie que no suele alejarse demasiado de las zonas costeras, o bien de los vocablos griegos "*Rhops*" (arbusto) y "*Myrinos*" (aromático). El epíteto "*Officinalis*" se aplica a muchas especies que desde muy antiguo han sido consideradas medicinales.

**Figura 10.** Planta de romero.



La recolección silvestre juega un papel importante en el comercio de romero, aunque la cada vez mayor demanda de plantas aromático-medicinales ha hecho que su cultivo cobre importancia de forma progresiva. Actualmente se cultiva en Estados Unidos, Inglaterra y en los países del Mediterráneo. Es un cultivo poco exigente, que debe renovarse cada 8 ó 10 años. Los campos se cosechan una o dos veces al año dependiendo del área geográfica en la que se encuentre o del uso al que se destine. El rendimiento del romero para plantas

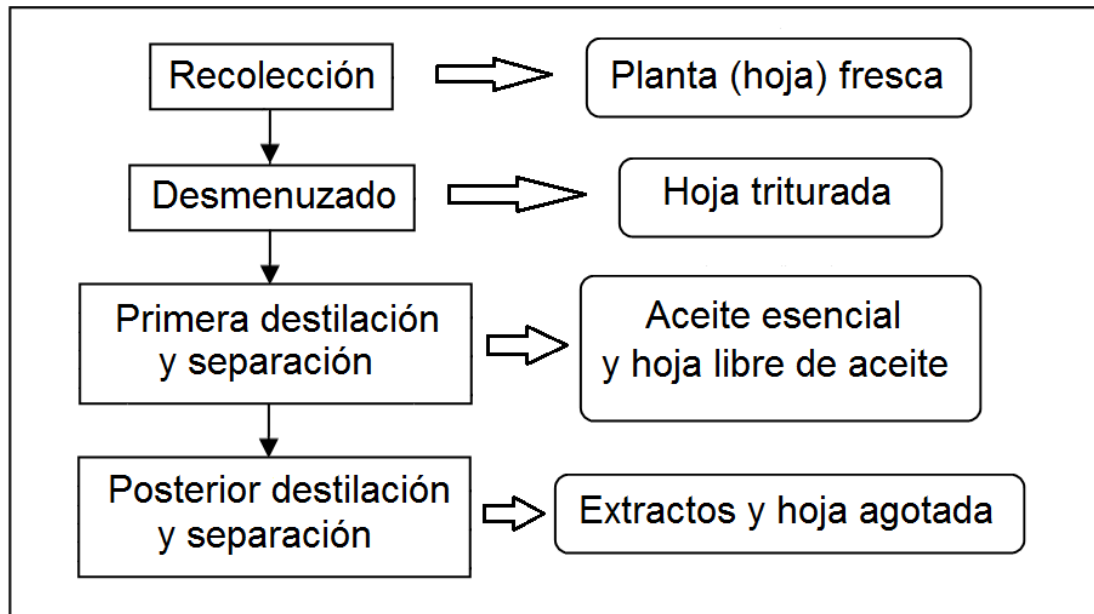
cultivadas de 2 años es de entre 5268 y 6515 kg ha<sup>-1</sup>, presentando un rendimiento medio del 26% en hoja seca, obteniéndose unos 1600 kg de hoja por hectárea (Sotomayor y col., 1996).

#### **2.6.2.2. Tipos de derivados y uso.**

El romero es ampliamente utilizado en todo el mundo con un gran número de aplicaciones culinarias, medicinales y cosméticas. Hay dos refranes que hacen referencia a las múltiples aplicaciones conocidas para el romero: "De las virtudes del romero se puede escribir un libro entero" y "Mala es la llaga que el romero no sana". La utilización de sus flores a modo de infusión permite la curación de heridas y llagas. Asimismo, el alcohol de romero se ha usado también desde antiguo para aliviar las partes doloridas o las fatigas musculares. De sus hojas se obtiene el "agua de la reina de Hungría" para perfumería y también un agua destilada que se utiliza como colirio. Su esencia puede usarse para combatir dolores reumáticos. Se usa también para baños relajantes, como mascarilla revitalizante, como tónico capilar y para la producción de productos cosméticos. En la cocina se utiliza como condimento y saborizante para asados, guisos, sofritos, sopas y salsas y además se puede preparar "vino de romero" con propiedades benéficas para la función estomacal. En la medicina tradicional el romero se usa como un antiespasmódico para los cólicos renales y para aliviar los desordenes respiratorios, entre otras aplicaciones. En la industria alimentaria el romero es utilizado como aditivo alimentario "GRAS", siendo la única hierba comercialmente disponible para su uso como antioxidante alimentario en Europa y en Estados Unidos (Bozin y col., 2007).

El romero es procesado según el esquema descrito en la **Figura 11**. Se consideran productos obtenidos del romero la hoja, los aceites esenciales, la hoja libre de aceite y los extractos obtenidos a partir de una segunda destilación de la hoja libre de aceite con diferentes solventes.



**Figura 11.** Procesado industrial del romero.

El uso del romero está fundamentalmente destinado a la extracción de aceites esenciales, proceso a partir del cual se genera un gran excedente de subproductos (Sotomayor, 1998), los cuales pueden ser utilizados en la industria alimentaria como fuente potencial de agentes antimicrobianos y antioxidantes naturales (Hagerman y col., 1998). La **Tabla 1** muestra un ejemplo de composición porcentual de los principales compuestos presentes en el aceite esencial de romero.

**Tabla 1.** Composición porcentual del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Moñino, 2010).

Compuestos	%	Compuestos	%
$\alpha$ -Pinoeno	16,1 $\pm$ 3,6	Linalol	1,02 $\pm$ 0,5
Canfeno	7,26 $\pm$ 1,6	Canfolenal	0,32 $\pm$ 0,2
$\beta$ -Pinoeno	1,96 $\pm$ 0,6	Alcanfor	19,9 $\pm$ 8,4
3-Octanona	0,49 $\pm$ 0,8	Borneol	5,00 $\pm$ 1,9
Mirceno	4,25 $\pm$ 1,8	Terminen-4-ol	1,08 $\pm$ 0,2
3-Octanol	0,08 $\pm$ 0,1	<i>p</i> -Cymen-8-ol	0,11 $\pm$ 0,1
$\alpha$ -Felandreno	0,35 $\pm$ 0,2	$\alpha$ -Terpineol	2,67 $\pm$ 0,6
$\Delta$ -3-Careno	0,03 $\pm$ 0,1	Verbenona	5,13 $\pm$ 2,2
<i>p</i> -Cimeno	2,00 $\pm$ 0,9	Acetato de bornilo	0,88 $\pm$ 0,6
Limoneno	2,84 $\pm$ 0,9	(E)- $\beta$ -Cariofileno	0,72 $\pm$ 0,4
Eucaliptol	21,0 $\pm$ 4,9	$\alpha$ -Cariofileno	0,37 $\pm$ 0,3
$\gamma$ -Terpineno	1,00 $\pm$ 0,3	Oxido de cariofileno	0,26 $\pm$ 0,1
Terpinoleno	0,99 $\pm$ 0,4		

La hoja de romero libre de aceite esencial puede ser utilizada como fuente natural de determinados polifenoles biodisponibles para los animales, en particular, ácido carnósico y carnosol. Aunque no se dispone de datos de composición en polifenoles de la hoja de romero libre de aceite esencial, la modificación del perfil polifenólico que produce su adición al pienso concentrado para ovinos puede demostrar su riqueza en este tipo de compuestos (Moñino y col., 2008) (**Tabla 2**).

**Tabla 2.** Perfil polifenólico de dietas suplementadas con distintas dosis de hoja de romero libre de aceite esencial (Moñino y col., 2008).

Compuestos (mg kg <sup>-1</sup> )	Control	10%	20%
Ác. gálico	178,9 ± 29,7	163,6 ± 26,4	148,3 ± 23,0
Ác. caféico	71,21 ± 12,3	78,17 ± 15,7	85,14 ± 19,1
Ác. ferúlico	32,68 ± 2,57	41,87 ± 4,36	51,05 ± 6,17
Ác. coumárico	18,69 ± 0,84	33,62 ± 1,46	48,54 ± 2,07
Naringina	46,29 ± 8,70	51,05 ± 9,24	55,82 ± 9,78
Hesperidina	112,0 ± 17,8	284,4 ± 30,0	456,9 ± 42,20
Luteolina	12,45 ± 1,26	17,49 ± 2,21	22,54 ± 3,17
Ác. rosmarínico	7,020 ± 0,33	140,4 ± 4,96	273,9 ± 9,58
Apigenina	9,270 ± 0,63	12,99 ± 1,23	16,72 ± 1,84
Genkwanina	120,1 ± 21,0	755,9 ± 119,8	1391,8 ± 218,6
Carnosol	72,26 ± 3,94	374,6 ± 29,1	676,8 ± 62,1
Ác. carnósico	68,22 ± 1,53	107,7 ± 8,08	147,2 ± 14,6

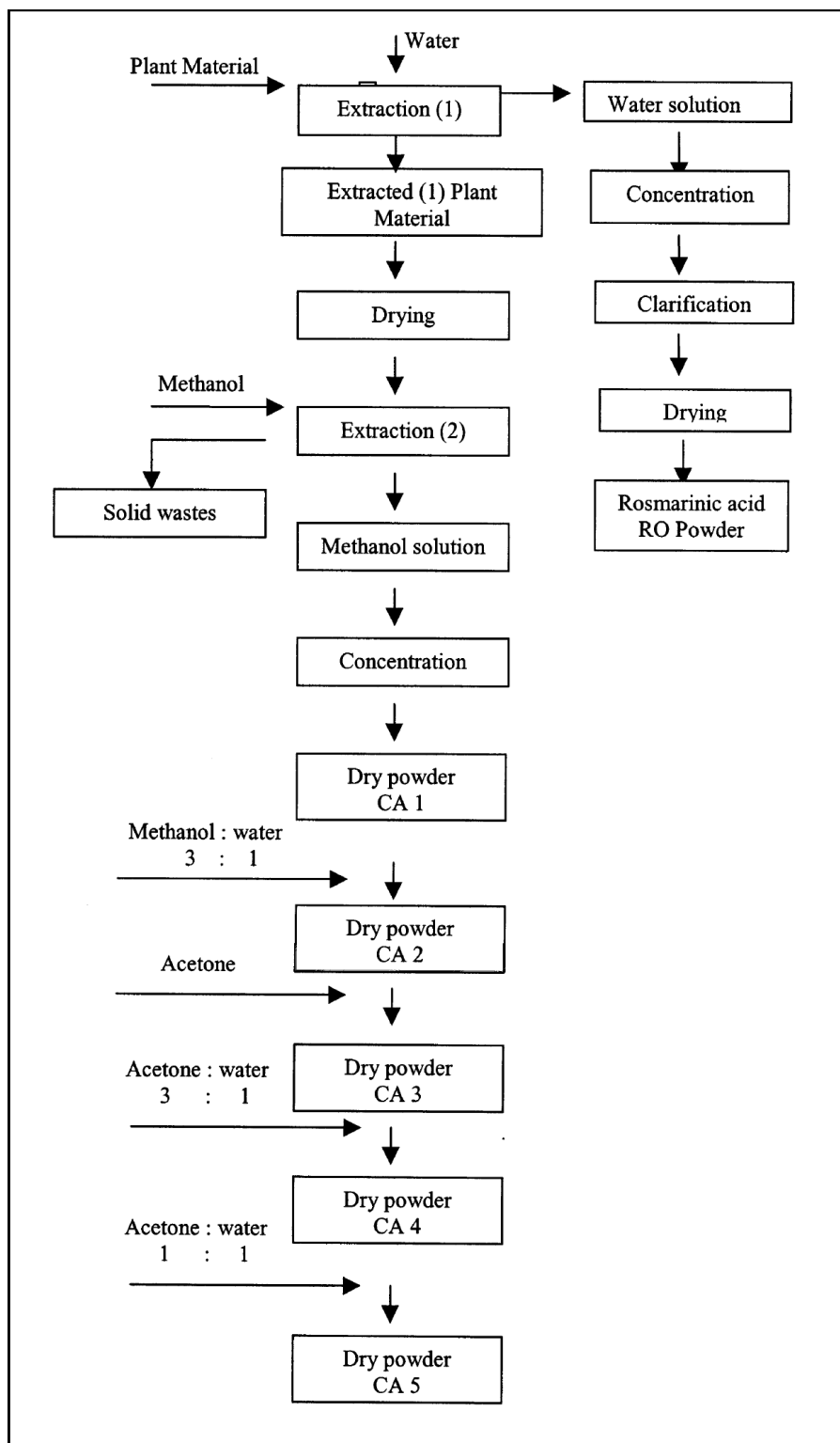
Control: Dieta control; 10%: Dieta base sustituida en un 10% por hoja de romero libre de aceite esencial; 20%: Dieta base sustituida en un 20% por hoja de romero libre de aceite esencial.

Esta riqueza en compuestos polifenólicos del romero permite obtener extractos ricos en polifenoles hidrosolubles y liposolubles (**Tabla 3**) a partir de disolventes convencionales (Schwarz y col., 2001; Del Baño y col., 2003) (**Figura 12**) o fluidos supercríticos (Ibáñez y col., 2003). La actividad antioxidante de los extractos de romero depende de su contenido en compuestos fenólicos (Del Baño y col., 2003), siendo más efectivos en sistemas lipídicos los extractos con mayor contenido en diterpenos fenólicos (Hopia y col., 1996) y mostrando el ácido rosmarínico la mayor actividad antioxidante en sistemas acuosos (Frankel y col., 1996; Cuvelier y col., 2000).

**Tabla 3.** Concentración de los principales compuestos polifenólicos presentes en diferentes extractos de hoja de romero (CA 1-CA 5 y RO) (% contenido absoluto) (Del Baño y col., 2003).

polyphenolic compounds	CA 1	CA 2	CA 3
rosmarinic acid	0.35 ± 0.01	1.17 ± 0.02	0.10 ± 0.00
isoscutellarein 7- <i>O</i> -glucoside	0.02 ± 0.00	0.89 ± 0.02	0.02 ± 0.00
genkwanin	0.04 ± 0.00	0.12 ± 0.01	0.59 ± 0.01
carnosol	2.88 ± 0.03	7.13 ± 0.06	9.92 ± 0.06
carnosic acid	2.93 ± 0.03	6.13 ± 0.04	9.77 ± 0.07
12-methylcarnosic acid	0.41 ± 0.01	1.00 ± 0.02	2.03 ± 0.02
<b>total</b>	<b>6.63 ± 0.03</b>	<b>16.44 ± 0.06</b>	<b>22.43 ± 0.07</b>
polyphenolic compounds	CA 4	CA 5	RO
rosmarinic acid	0.07 ± 0.00	0.61 ± 0.01	8.46 ± 0.06
isoscutellarein 7- <i>O</i> -glucoside	0.06 ± 0.00	0.01 ± 0.00	4.46 ± 0.04
genkwanin	1.15 ± 0.02	1.50 ± 0.02	0.13 ± 0.01
carnosol	8.00 ± 0.06	13.14 ± 0.09	0.07 ± 0.00
carnosic acid	17.70 ± 0.09	28.30 ± 0.11	0.15 ± 0.01
12-methylcarnosic acid	0.45 ± 0.01	0.59 ± 0.01	0.01 ± 0.00
<b>total</b>	<b>27.43 ± 0.09</b>	<b>44.15 ± 0.11</b>	<b>13.28 ± 0.06</b>

**Figura 12.** Esquema de extracción de seis extractos de romero diferentes (CA 1-CA 5 y RO) (Del Baño y col., 2003).



### 2.6.2.3. Principios activos antioxidantes y antimicrobianos.

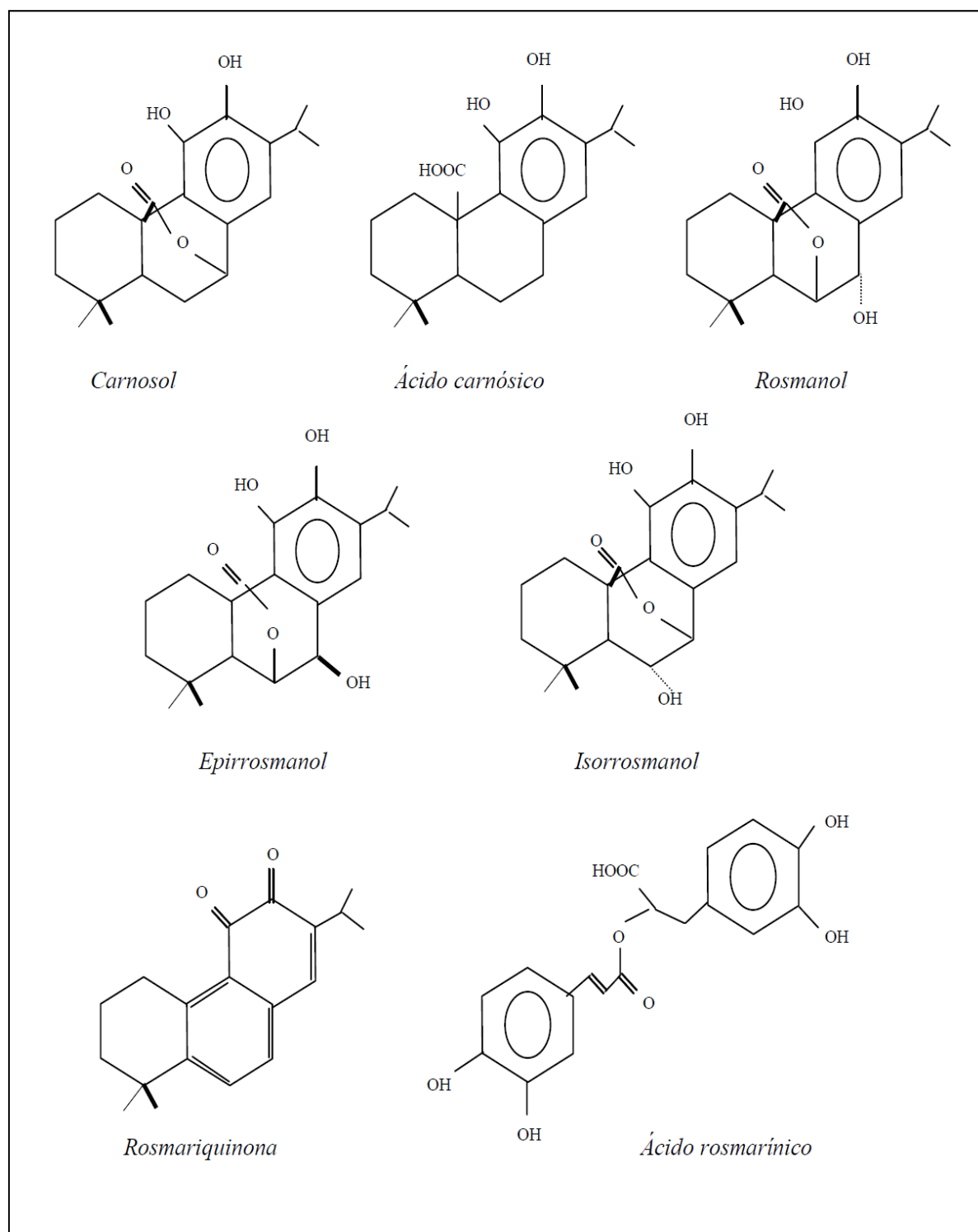
Los extractos de romero contienen compuestos activos con marcadas propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Estos compuestos activos son productos del metabolismo secundario de las plantas, necesario para el funcionamiento de las células vegetales (Cuvelier y col., 1996), cuyo contenido puede variar dependiendo, tanto de factores intrínsecos (genética y edad), como de factores extrínsecos (condiciones edafoclimáticas), entre otros.

El grupo de compuestos activos más importante por su potencialidad como conservantes es el de los polifenoles, entre los que destacan los diterpenos: ácido carnósico y carnosol, (Schwarz y Ternes, 1992; Chen y col., 1992; Richheimer y col., 1996; Del Baño y col., 2003), flavonoides: apigenina, genkwanina y luteolina (Cuvelier y col., 1996; Del Baño y col., 2003; Papageorgiou y col., 2008), y ácidos fenólicos como el ácido rosmarínico, ácido cumárico y ácido gálico (Bonoli y col., 2003; Del Baño y col., 2003; Dorman y col., 2003; Papageorgiou y col., 2008). Entre todos ellos, el ácido carnósico es el compuesto fenólico mayoritario (Richheimer y col., 1996) y presenta actividades antimicrobiana (Oluwatuyi y col., 2004; Moreno y col., 2006) y antioxidante (Masuda y col., 2001, 2002; Del Baño y col., 2003).

La **Figura 13** muestra la estructura molecular de los principales compuestos polifenólicos presentes en el romero.

La capacidad antioxidante del romero es el resultado de la suma de las acciones de cada uno de sus compuestos, los cuales presentan distintos mecanismos de acción en función de su naturaleza. Las quinonas isoprenoides actúan como terminadores de la cadena de radicales libres y como quelantes de especies reactivas al oxígeno (ROS) (Richardson y Dahl, 1983), los compuestos fenólicos se comportan como antioxidantes primarios al reaccionar con los radicales lipídicos e hidroxilo para convertirlos en productos estables (Gordon, 1990) y pueden actuar como quelantes de iones metálicos (principalmente  $Fe^{2+}$ ), reduciendo así el ratio de formación de especies reactivas derivadas del oxígeno (Fang y Wada, 1993).

**Figura 13.** Estructura molecular de los principales compuestos antioxidantes aislados en romero (*Rosmarinus officinalis* L.) (Estrada, 2007).



Los mayores responsables de la actividad antioxidante de los extractos liposolubles de romero son el ácido carnósico, compuesto mayoritario de tipo fenólico presente en las hojas de romero, y el carnosol, los cuales actúan como potentes secuestradores de radicales peroxilo (Löliker, 1991) y frente a la peroxidación de los lípidos de membrana (Aruoma y col., 1992). La actividad antioxidante *in vitro* del ácido carnósico es tres veces mayor que la del carnosol y siete veces mayor que la de antioxidantes sintéticos ampliamente utilizados tales como el BHA y el BHT (Richheimer y col., 1996).

El ácido rosmarínico es también un importante compuesto, presente en este caso en los extractos hidrosolubles de romero, al cual se le atribuyen numerosas actividades de tipo biológico (antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, etc.) entre las que se incluye la actividad antioxidante. Su acumulación en las plantas se asocia con su posible función como compuesto de defensa frente a las agresiones externas (Petersen y Simmonds, 2003).

Además del ácido rosmarínico, otros compuestos presentes en el romero muestran también actividad antibacteriana (Cuvelier y col., 1996), la cual, incluso sin llegar a ser tan notoria como la antioxidante, permite que su aceite esencial sea utilizado como agente antibacteriano y antifúngico. Existen numerosas referencias bibliográficas respecto a las propiedades antimicrobianas y antivirales del romero (Al-Sereiti y col., 1999; Petersen y Simmonds, 2003; Oluwatuyi y col., 2004; Fernández-López y col., 2005; Kabouche y col., 2005; Rezzoug y col., 2005).

Ouattara y col. (1997) investigaron la actividad antibacteriana de algunos aceites esenciales contra microorganismos responsables del deterioro de los alimentos, concluyendo que los aceites esenciales de canela, clavo y romero eran los más activos. Similares resultados fueron obtenidos por Valero y Salmerón (2003) para la actividad antibacteriana del aceite esencial de romero contra cepas de *Bacillus cereus* cultivadas en caldo de zanahoria. Davidson (1993) demostró que las bacterias Gram positivas eran generalmente más susceptibles que las Gram negativas a la acción de los compuestos polifenólicos no polares de los extractos de romero. Algunas investigaciones han concluido que los compuestos polifenólicos más apolares de los extractos de romero



pueden ser los causantes de la actividad antibacteriana (Del Campo y col., 2000; Karamanoli y col., 2000). Shelef y col. (1980) demostraron el efecto antimicrobiano del romero frente a diversos microorganismos patógenos: *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrio parahaemolyticus*.

El efecto inhibitorio del romero sobre la microflora es debido probablemente a su riqueza en compuestos polifenólicos (ácido carnósico, carnosol, epirosmanol, isorosmanol, rosmaridifenol, rosmanol y ácido rosmarínico). El mecanismo de acción antibacteriano de éstos consiste en su interacción con la membrana celular, causando la fuga de los componentes celulares, cambios en la composición de ácidos grasos y fosfolípidos, afectando así al metabolismo celular, al consumo de nutrientes, al transporte de electrones y provocando cambios en la síntesis de material genético (Nychas, 1995). Además, Fung y col., (1977) demostraron que estos compuestos pueden también interactuar con las proteínas de la membrana, causando la deformación en su estructura y funcionalidad.

#### **2.6.2.4. Biodisponibilidad de los principios activos.**

La biodisponibilidad de los compuestos fenólicos en los animales es poco conocida, así como la actividad de sus metabolitos, su distribución y acción en los tejidos diana y la concentración mínima necesaria que han de presentar para ejercer un efecto biológico protector.

La estructura química y el tipo de glicósido unido a las agliconas (compuestos mayoritarios de los polifenoles en los alimentos vegetales) condicionan en gran medida los procesos de absorción y metabolismo de los polifenoles. Es esencial considerar que el romero contiene una combinación particular de varios polifenoles, y por lo tanto, su efecto fisiológico se debe al conjunto de polifenoles más abundante y a sus metabolitos. Además, se ha observado que la flora intestinal juega un papel importante en la modificación de algunos polifenoles. Por ejemplo, se han detectado algunos ácidos mono y dihidroxibenzoicos en orina, después de la ingestión de té verde, que representaban un 15% del material ingerido (Pietta, 1998). Otros estudios han

demostrado que la administración de dosis dietéticas de polifenoles, mediante la ingestión habitual de alimentos ricos en compuestos de ese tipo, da lugar a concentraciones del orden de nano o pico molar en plasma y tejidos (Manach y col., 2005).

Para poder describir el perfil metabólico de estos compuestos, potencialmente activos a concentraciones fisiológicas, es necesario emplear técnicas altamente sensibles y específicas, aunque como consecuencia de la escasa disponibilidad de los patrones comerciales de elevada pureza de polifenoles y sus metabolitos, pocos trabajos se centran en el estudio de los metabolitos mayoritarios formados *in vivo*, ya que para la cuantificación de compuestos polifenólicos endógenos se necesita disponer de patrones de metabolitos para poder evaluar la respuesta directa e individualizada de cada uno de los compuestos fenólicos.

La biodisponibilidad de los polifenoles varía ampliamente de un polifenol a otro. Depende de su estructura química, que determina su ratio de absorción a través del tracto gastrointestinal, metabolismo y finalmente su actividad biológica. Los polifenoles ingeridos sufren modificaciones estructurales durante su proceso de absorción. La primera de estas modificaciones es la deglicosilación de su estructura, dando lugar a sulfatos, glucurónidos y productos de metilación. La mayoría de los polifenoles en humanos se catabolizan como resultado de la actividad microbiana en el intestino delgado, colon y en el hígado. Los metabolitos que llegan a la sangre y a los órganos diana tendrán actividades biológicas diferentes en comparación con sus estructuras iniciales (Oñ y col., 2008). Por tanto es esencial conocer la biodisponibilidad de los polifenoles para entender sus efectos beneficiosos sobre la salud.

El metabolismo de los polifenoles presenta aspectos comunes en los diferentes grupos de compuestos fenólicos (Scalbert y Williamson, 2000). La mayoría de los polifenoles están presentes en los alimentos en forma de ésteres, glicósidos o polímeros que presentan una baja absorción con su misma estructura inicial. Las agliconas se pueden absorber a nivel de intestino delgado, no obstante, estudios realizados por Passamonti y col. (2002) indican que algunas agliconas de flavonoides, como la quercetina, la daidzeina y algunos

antocianos se pueden absorber en el estómago de la rata. La mayoría de los glicósidos resisten probablemente la hidrólisis ácida en el estómago y llegan intactos al duodeno (Rios y col., 2002). Sólo las agliconas y algunos glucósidos se absorben en el intestino delgado, mientras que los polifenoles unidos a otros azúcares, como por ejemplo la ramnosa, llegan al colon donde son hidrolizados por las ramnosidasas de los microorganismos antes de absorberse (Manach y col., 1995). Como norma general los glicósidos y la ramnosa se absorben más lentamente y menos eficientemente que las agliconas y los glucósidos (Manach y col., 2004).

Los polifenoles no absorbidos en el intestino delgado alcanzan el colon. Los polifenoles glicosilados son hidrolizados hasta agliconas y éstas a su vez son metabolizadas hasta diversos ácidos aromáticos. En este sentido, este metabolismo puede producir metabolitos específicos como en el caso de los flavonoles, que genera ácidos hidroxifenilacéticos, las flavanonas y flavonas que generan ácidos hidroxifenilpropiónicos y los derivados de los flavan-3-oles que generan ácidos hidroxifenilpropiónicos y fenilvalerolactonas (Gonthier y col., 2003). Finalmente, estos ácidos se metabolizaran en derivados del ácido benzoico. Los metabolitos obtenidos se absorben parcialmente y en buena parte son excretados. Parte de los compuestos absorbidos se pueden conjugar con glicina, ácido glucurónico y/o sulfatos.

Generalmente los metabolitos de los polifenoles no se encuentran libres en el torrente sanguíneo. La albúmina es una de las proteínas que actúa como transportador de los polifenoles, cuya estructura química es determinante a la hora de predecir su afinidad hacia ésta (Manach y col., 2004). Variaciones en el pH en lugares específicos pueden inducir a cambios conformacionales en la albúmina, permitiendo la disociación del complejo ligando-albúmina y la liberación de los metabolitos. La concentración de metabolitos en el interior de la célula será proporcional a la concentración de metabolitos libres en sangre (Horie y col., 1998).

Los polifenoles pueden ser excretados por vía urinaria (los conjugados de menor peso molecular) o por vía biliar (los metabolitos de alto peso molecular o extensamente conjugados) (Crespy y col., 2003). Las bacterias intestinales,

gracias a sus  $\beta$ -glucuronidasas, pueden liberar agliconas de los metabolitos conjugados en la bilis, pudiendo, estas agliconas, ser reabsorbidas durante el ciclo enterohepático (Coldham y Sauer, 2000). El total de metabolitos excretados en orina está correlacionado aproximadamente con las concentraciones plasmáticas máximas. Esta excreción es bastante elevada para las flavonas de cítricos (4% - 30%), e incluso más elevado para isoflavonas, 16% - 66% para daidzeina y 10% - 24% para la genisteína (Setchell y col., 2003; Kaneko y col., 2006). Los porcentajes de excreción urinaria de otros polifenoles, como por ejemplo los antocianos, suelen ser bajos (0,005% - 0,1%) (Cui y col., 2006). Estos valores bajos de excreción podrían indicar una excreción biliar pronunciada o un excesivo metabolismo.

La inclusión de hojas de romero y tomillo libres de aceite esencial en la dieta de oveja Segureña, durante los estadios fisiológicos de gestación y lactación, modifica de forma significativa el perfil polifenólico del plasma y las excreciones, poniendo de manifiesto que los polifenoles procedentes de las plantas aromáticas ensayadas se excretan, en su forma primitiva, principalmente a través de la orina (Moñino, 2010).

También se ha observado un aumento de la concentración de componentes polifenólicos (ácido rosmarínico, carnosol y ácido carnósico mayoritariamente) en el plasma de cabritos alimentados con subproductos de romero (hoja libre de aceite) (Martínez y col., 2007<sup>b</sup>). Sin embargo, la determinación de la biodisponibilidad de los metabolitos de polifenoles en tejidos es más importante que el conocimiento de sus concentraciones plasmáticas.

Algunos de los estudios de distribución tisular se han realizado a través de polifenoles marcados radioactivamente. Se ha determinado que después de 1 a 6 horas de una dosis única suministrada a ratas y ratones, estos compuestos se encuentran distribuidos por sangre y tejidos del sistema digestivo como estómago, intestino e hígado (Mullen y col., 2002), aunque también se han detectado en otros tejidos como cerebro, corazón, riñón, páncreas, próstata, útero, glándula mamaria, testículos, huesos y pelo, tanto de ratas como de ratones (Chang y col., 2000). Las concentraciones obtenidas en estos tejidos varían de 30 a 3000 ng equivalentes de aglicona  $g^{-1}$  de tejido, dependiendo de la

dosis administrada y del tejido considerado. El tiempo de toma de muestra también puede ser de elevada importancia, debido a que no se tiene un conocimiento completo de la cinética de penetración y eliminación de los polifenoles en los tejidos. Es importante señalar que algunos de estos tejidos son capaces de incorporar polifenoles mediante mecanismos específicos (Schramm y col., 2001).

La naturaleza de los metabolitos en los tejidos puede ser distinta a los encontrados en la sangre, debido a la entrada o eliminación específica tisular de algunos metabolitos, o a un metabolismo intracelular. Aunque hay pocos estudios al respecto (Hong y col., 2002; Maubach y col., 2003), estos indican que las concentraciones plasmáticas de flavonoides no están directamente relacionadas con las concentraciones de estos en los tejidos diana, y que la distribución entre sangre y tejidos varía dependiendo de los polifenoles tratados.

Los compuestos polifenólicos consumidos a través de la dieta con destilados de romero se absorben y alcanzan niveles circulantes significativos, manifestando un efecto reductor frente al estrés oxidativo que producen los estados fisiológicos con elevadas demandas metabólicas. La suplementación dietética de ovejas con un subproducto del romero (hoja libre de aceite) como fuente natural de antioxidantes endógenos, en dosificaciones del 10% y 20%, durante los periodos de gestación y lactación, favorece, sin detrimento del rendimiento animal, la transmisión de componentes polifenólicos en concentraciones activas al plasma y la carne de corderos procedentes de dichas ovejas, produciendo una mejora en la estabilidad oxidativa de dicha carne gracias a la incorporación efectiva de los compuestos polifenólicos presentes en el romero al músculo de los animales. En la carne de los corderos procedentes de ovejas suplementadas se constata un aumento significativo de las concentraciones de ácido carnósico, carnosol y ácido rosmarínico, estableciéndose una relación positiva entre la ingesta de dietas ricas en compuestos polifenólicos y el aumento de la concentración de estos componentes en la carne, y en consecuencia, con la mejora de la capacidad antioxidante de la misma (Moñino, 2010).

La **Tabla 4** y la **Figura 14** muestran, respectivamente, el perfil polifenólico y el status antioxidante de carne cruda de corderos cuyas madres han sido alimentadas con distintos niveles de hoja de romero libre de aceite esencial.

**Tabla 4.** Perfil polifenólico de carne cruda de cordero procedente de ovejas suplementadas dietéticamente con hoja de romero libre de aceite esencial (Moñino, 2010).

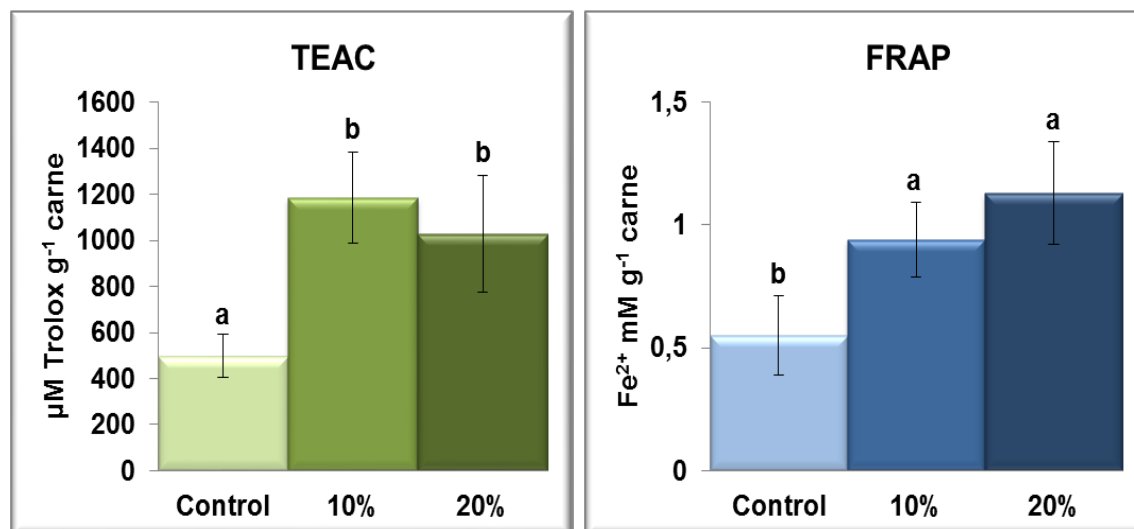
Compuestos (mg kg <sup>-1</sup> )	Control	10%	20%
Ác. gálico	n.d.	n.d.	n.d.
Ác. caféico	1,47 ± 0,03	1,41 ± 0,05	1,41 ± 0,05
Ác. ferúlico	0,77 ± 0,01	0,79 ± 0,06	0,55 ± 0,30
Ác. coumárico	0,85 ± 0,01	0,86 ± 0,03	0,86 ± 0,01
Naringina	2,42 ± 0,04	2,42 ± 0,03	2,43 ± 0,04
Hesperidina	2,54 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,64 ± 0,10 <sup>b</sup>	2,58 ± 0,04 <sup>ab</sup>
Luteolina	0,36 ± 0,11 <sup>b</sup>	0,27 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,29 ± 0,05 <sup>ab</sup>
Ác. rosmarínico	n.d. <sup>a</sup>	1,17 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,09 ± 0,22 <sup>b</sup>
Apigenina	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,02
Genkwanina	0,03 ± 0,03	0,05 ± 0,07	0,02 ± 0,01
Carnosol	2,41 ± 0,53 <sup>a</sup>	5,17 ± 1,82 <sup>b</sup>	4,77 ± 0,84 <sup>b</sup>
Ác. Carnósico	7,09 ± 0,53 <sup>a</sup>	23,9 ± 4,39 <sup>c</sup>	18,5 ± 2,61 <sup>b</sup>

Control: Dieta control; 10%: Dieta base sustituida en un 10% por hoja de romero libre de aceite esencial; 20%: Dieta base sustituida en un 20% por hoja de romero libre de aceite esencial.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05.

n.d.: Niveles menores al límite de detección.

**Figuras 14.** Status antioxidante de carne cruda de cordero procedente de ovejas suplementadas dietéticamente con hoja de romero libre de aceite esencial (Moñino, 2010).



Control: Dieta control; 10%: Dieta base sustituida en un 10% por hoja de romero libre de aceite esencial; 20%: Dieta base sustituida en un 20% por hoja de romero libre de aceite esencial. TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity. FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power.

#### 2.6.2.5. Efectos beneficiosos para la salud.

Diversos estudios han demostrado los efectos beneficiosos del empleo de romero *in vivo*. Su incorporación en la dieta de ovejas y cabras lecheras mejora la producción de leche por parte de éstas, aumenta la calidad e higiene de la leche (Savoini y col., 2011) y, a su vez, disminuye el estrés asociado a la lactación gracias a sus componentes biofuncionales (Chiofalo y col., 2012).

La administración de aceite de romero a ratas tiene efecto protector del ADN al reducir de forma eficiente y significativa el grado de deterioro, inducido por la presencia de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), de dicha molécula (Horváthová y col., 2010).

El carnosol, diterpeno presente en el romero, tiene efecto antiinflamatorio y anticarcinógeno gracias a su capacidad para inhibir la producción de

compuestos carcinogénicos derivados del óxido nítrico (nitritos y peroxinitritos), relacionados con el daño del material genético en las células (Chan y col., 1995).

La ingesta de romero previene la formación de trombos en ratones sin afectar a los tiempos de sangrado, basándose su mecanismo antitrombótico en la supresión de la reactividad plaquetaria y en la estimulación del endotelio vascular (Naemura y col., 2008).

El extracto de romero administrado a conejos presenta una notable actividad hipoglucémica y antihiperoglucémica debido a sus múltiples efectos, tanto a nivel pancreático como extra-pancreático. Sus propiedades antidiabetogénicas derivan de su potencial como antioxidante, al poseer capacidad para inhibir la peroxidación lipídica y para activar enzimas con actividad antioxidante como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) (Bakirel y col., 2008).

#### **2.6.2.6. Efecto conservante sobre la carne.**

La aptitud del romero como conservante natural, en virtud a sus componentes activos antioxidantes y antimicrobianos, ha sido demostrada en carne y productos cárnicos, a pesar de no conocerse muy bien cómo dichos componentes se metabolizan y depositan en la carne. Sin embargo, no existen estudios que comparen la suplementación dietética con la adición directa de romero.

##### ➤ Uso de romero como aditivo en carne y derivados.

La adición de romero a distintos tipos de carne y productos cárnicos frescos tuvo efecto inhibitor del enranciamiento y del deterioro microbiológico (Baratta y col., 1998<sup>a</sup>; Saenz-López y col., 2002; Wang y col., 2008), siendo el ácido carnósico el componente con mayor actividad antioxidante (Cuvelier y col., 1996; Saénz-López y col., 2002), mientras que el 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno (Baratta y col., 1998<sup>b</sup>) y camphor (Pandit y Shelef, 1994) son los compuestos antimicrobianos más activos.



La adición de extracto de romero mejoró la estabilidad oxidativa en productos, como salchichas frescas de cerdo y hamburguesas de ternera (Barbut y col., 1985; Georgantelis y col., 2007). La adición de extractos de romero a hamburguesas de vacuno, en dosis de  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  combinadas con dosis de  $500 \text{ mg kg}^{-1}$  de ácido ascórbico, proporcionó valores de TBARS significativamente inferiores a los obtenidos, tanto para muestras control, como para hamburguesas tratadas con otros antioxidantes naturales (taurina y/o carnosina) (Sánchez y col., 2001). Estos resultados son comparables a los publicados por McCarthy y col. (1998) y Yildiz-Turp y Serdaroglu (1998), quienes confirmaron la elevada actividad antioxidante del extracto de romero, sobre todo, cuando se administra combinado con ácido ascórbico. Shahidi y col. (1992) recomendaron su utilización efectiva en concentraciones que oscilan entre 200 y  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  en diversos alimentos. Se obtuvieron resultados positivos utilizando como conservante dosis de 500 -  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  de extractos de romero en filetes de carne de vacuno (Stoick y col., 1991), dosis del 0,05% ( $500 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en carne picada cocinada de cerdo (Huisman y col. 1994), dosis del 0,25% ( $2500 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en hamburguesas de ternera con aceite de soja (Formanek y col., 2001) y dosis de  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  de romero directamente agregado a la carne fresca de vacuno (O'Grady y col., 2006). En todos estos trabajos, la utilización de extracto de romero produjo una mejora en el color y en la estabilidad lipídica durante el almacenamiento de los productos, permitiendo una mejor valoración sensorial de los mismos.

Además, la termorresistencia mostrada por el extracto de romero posibilita su uso como antioxidante en carnes precocinadas y en productos cárnicos cocidos, inhibiendo la aparición del aroma y sabor a recalentado. La adición de hojas secas de romero a albóndigas de cerdo retardaron la aparición del aroma a recalentado durante su almacenamiento en frío (Hall y col., 1962). Wong y col. (1995) y Fernández-López y col. (2001) demostraron la efectividad del extracto de romero inhibiendo la peroxidación lipídica y la formación de sabores indeseables durante el cocinado y almacenamiento en carne de vacuno y de cerdo, respectivamente. En el caso de carnes precocinadas y esterilizadas, la eficacia antioxidante mejoró cuando el extracto se adicionó después del

cocinado, justo antes del tratamiento de esterilización (Güntensperger y col., 1998).

Diversos autores han comparado la efectividad del romero frente a la de otros antioxidantes sintéticos y/o naturales. En un estudio sobre salchichas de pavo en fresco, Barbut y col. (1985) comprobaron que la adición de oleorresina de romero (0,1%) provocaba una disminución en los índices de oxidación similar a la originada por la mezcla comercial BHA/BHT/ácido cítrico (5% de cada antioxidante). A similares conclusiones llegaron Formanek y col. (2001), quienes confirmaron que la reducción en los valores de TBARS provocada por la adición de extracto de romero sobre hamburguesas de vacuno fue comparable a la determinada por la administración de la combinación BHA/BHT. Tales resultados se justifican en base a los análisis realizados con anterioridad por Nakatani e Inatani (1984) y Höulihan y col. (1984, 1985), en los que se evidenció que la oleorresina de romero contiene compuestos con una actividad antioxidante hasta 4 veces superior al BHA y equiparable a la del BHT.

Lai y col. (1991) y Murphy y col. (1998) estudiaron las propiedades antioxidantes de la oleorresina de romero, sola o en combinación con tripolifosfato sódico, en porciones de pollo reestructurado y láminas de ternera (roast beef) precocinadas durante su almacenamiento a temperaturas de refrigeración y congelación, comprobando su poder antioxidante. Stoick y col. (1991) estudiaron la estabilidad oxidativa de filetes de vacuno reestructurados procesados con oleorresina de romero, butilhidroxiquinona terciaria y tripolifosfato sódico, observando que la adición de oleorresina de romero no representaba ningún beneficio sobre la adición de tripolifosfato sódico.

Otros trabajos ofrecen conclusiones contradictorias en cuanto al posible sinergismo entre el extracto u oleorresina de romero y diversas sustancias antioxidantes. Resurrección y col. (1990) observaron que la adición conjunta de extracto de romero y tocoferoles en productos cárnicos no incrementaba la eficacia antioxidante de estos compuestos usados individualmente. Por el contrario Wong y col. (1995) concluyeron que los componentes del romero participan en la regeneración del  $\alpha$ -tocoferol, pudiendo éstos ser utilizados como sustitutos del ácido ascórbico para potenciar la estabilidad de la vitamina E.

Wada y Fang (1992) apoyaron esta teoría, sugiriendo que el sinergismo entre ambos antioxidantes se debe a la capacidad del extracto de romero para ceder átomos de hidrógeno a los radicales tocoferoxilo. Este hecho justifica los resultados obtenidos posteriormente por estos autores (Fang y Wada, 1993), quienes comprobaron que la actividad antioxidante de la mezcla  $\alpha$ -tocoferol/extracto de romero sobre un sistema modelo de pescado fue significativamente superior a la exhibida por dichos productos adicionados individualmente. Además, dichos autores confirmaron que la molécula de  $\alpha$ -tocoferol permanecía estable durante 10 días más cuando éste era administrado conjuntamente con extracto de romero.

El efecto antimicrobiano del romero también ha sido profundamente estudiado. Fernández-López y col. (2005) evaluaron la actividad antibacteriana de extractos de romero en albóndigas de ternera, observando que ésta era mayor que la producida por otros extractos evaluados. Se estudiaron 11 bacterias distintas (*Br. thermosphacta* CRA 7883, *Br. thermosphacta* CRA 7884, *Br. thermosphacta* CRA 3235, *L. innocua* 4202, *L. monocytogenes* 5105, *Lb. sake* 550, *Lc. mesenteroides subsp mesenteroides* 824, *Lc. mesenteroides subsp dextranicum* 882, *Lb. carnosum* 558, *Lb. curvatus* 860, *Lb. lactis* FMRD 492.) y únicamente los extractos de romero mostraron capacidad para inhibir el crecimiento de todas. Quattara y col. (1997) y Camo y col. (2008) también observaron un efecto inhibitorio del crecimiento de bacterias psicrótrofas al adicionar, respectivamente, aceite esencial y extracto de romero a carne de cordero envasada en atmosfera modificada.

También se han realizado estudios sobre la actividad antibacteriana del romero en carne cocinada de ternera (Ahn y col., 2007) y en salchichas de cerdo (Pandit y Shelef, 1994). En contraposición a esto, un estudio de Ismail y col. (2001) concluyó que los extractos de romero no tienen efecto sobre el crecimiento de microorganismos cuando son adicionados para la conservación de carne cruda de pollo.

El hecho de que los extractos de romero presenten efecto antimicrobiano cuando son empleados como aditivos alimentarios (Bubonja-Sonje y col., 2011), supone una ventaja adicional que, sumada a la mejora de la calidad

organoléptica derivada de su efecto antioxidante, les hacen ser muy valorados por la industria alimentaria como conservantes naturales en distintos tipos de productos alimenticios, especialmente en aquellos ricos en grasas animales y/o vegetales (Offord y col., 1997; Okoh y col., 2010). Sin embargo, su utilización puede estar limitada por el impacto sensorial sobre los productos que puede suponer su uso, siendo fundamental verificar que la dosificación de los extractos empleada no aporta características organolépticas anómalas e indeseables al alimento.

➤ Uso de romero como suplemento dietético para animales.

Existen numerosos estudios sobre suplementación animal con compuestos de origen vegetal (tocoferol, carotenos, catequinas, etc.) para mejorar la carne, no obstante, el volumen de estudios específicos de plantas aromáticas es más reducido (López-Bote y col., 1998; Cullen y col., 2005; Caputi-Jambrenghi y col., 2005; O'Grady y col., 2006; Botsoglou y col., 2007; Govaris y col., 2007; Janz y col., 2007; Haak y col., 2008; Nieto y col., 2010<sup>a</sup>, 2011<sup>a</sup>; Morán y col., 2012<sup>a</sup>, 2012<sup>b</sup>, 2013; Smeti y col., 2013; Vasta y col., 2013).

La suplementación dietética con romero para mejorar la calidad y vida comercial de la carne ha sido estudiada en diversas especies. Dosificaciones de 5 y 10 g kg<sup>-1</sup> de extracto de romero produjeron en la carne de pavo un efecto inhibitorio del crecimiento de aerobios mesófilos, bacterias ácido-lácticas, enterobacterias y psicrótrofos (Govaris y col., 2007), mientras que la incorporación de extractos de romero en el pienso, en virtud a sus propiedades como antioxidante, permitió estabilizar la carne de pollo frente a la oxidación (López-Bote y col., 1998).

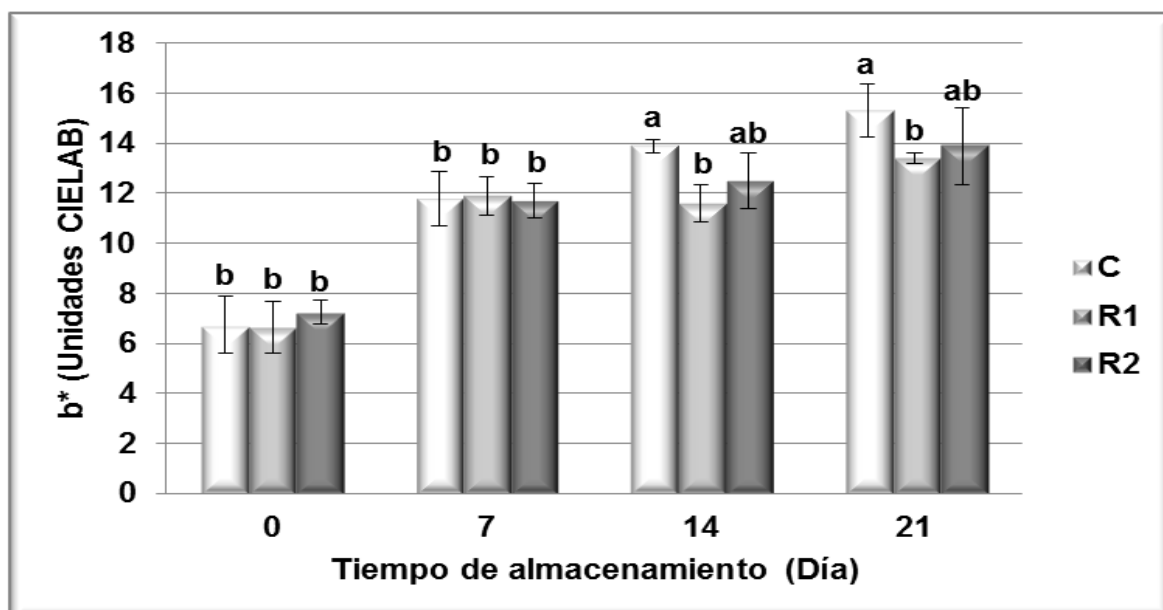
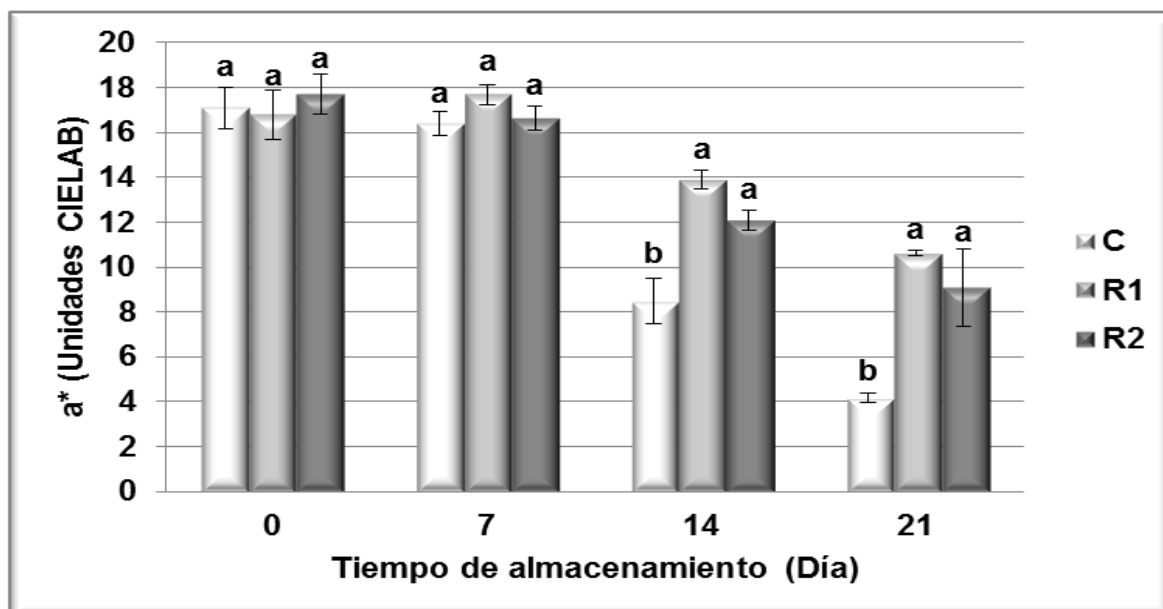
En contraposición a lo observado en pollos, la suplementación con extracto de romero parece no derivar en un mayor efecto antioxidante sobre la carne porcina (Haak y col., 2008). La suplementación dietética de extracto de romero, en dosis de 1000 mg por animal y día, tampoco resultó efectiva para mejorar la estabilidad lipídica, el color ni las propiedades sensoriales de carne de ternera almacenada en condiciones de venta al por menor (O'Grady y col., 2006).

La inclusión de hoja de romero libre de aceite esencial en la dieta de ovejas gestantes permitió mejorar la estabilidad del color y reducir los niveles de oxidación lipídica y los recuentos microbiológicos en carne cruda de cordero almacenada en condiciones de venta al por menor (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>) (**Figuras 15 y 16**), logrando también dicha suplementación disminuir la oxidación lipídica y el deterioro sensorial de carne cocinada de corderos procedentes de ovejas suplementadas (Nieto y col., 2011<sup>a</sup>).

La inclusión de pienso suplementado con extracto de romero (1000 mg kg<sup>-1</sup>) en la dieta de corderos resultó efectiva para prevenir el deterioro lipídico de la carne cruda almacenada en refrigeración (Caputi-Jambrenghi y col. 2005). La suplementación dietética de cordero con ácido carnósico, uno de los principales componentes de los extractos de romero, a dosis de 600 y 1200 mg kg<sup>-1</sup> también protegió de la oxidación lipídica a las muestras en crudo envasadas bajo atmósfera modificada y almacenadas en refrigeración durante un período de tiempo prolongado (Morán y col., 2012<sup>b</sup>) (**Figura 17**). Una dosificación en el pienso de corderos con 400 mg kg<sup>-1</sup> de aceite esencial de romero no produjo ningún efecto perjudicial en la composición intramuscular de ácidos grasos ni en el perfil de compuestos orgánicos volátiles de la carne (Vasta y col., 2013). En contraste con estos resultados, Smeti y col. (2013) no observaron ningún efecto derivado de la incorporación de 600 mg kg<sup>-1</sup> de extracto de romero a la dieta de corderos sobre la oxidación lipídica, la pérdida de color y la calidad sensorial de la carne almacenada en refrigeración.

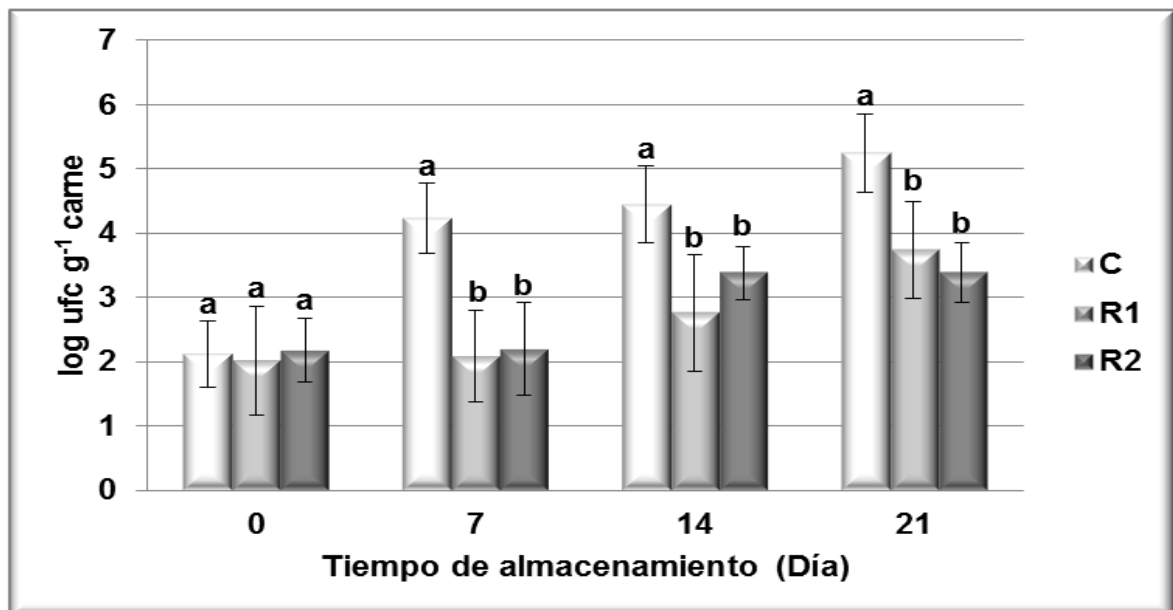
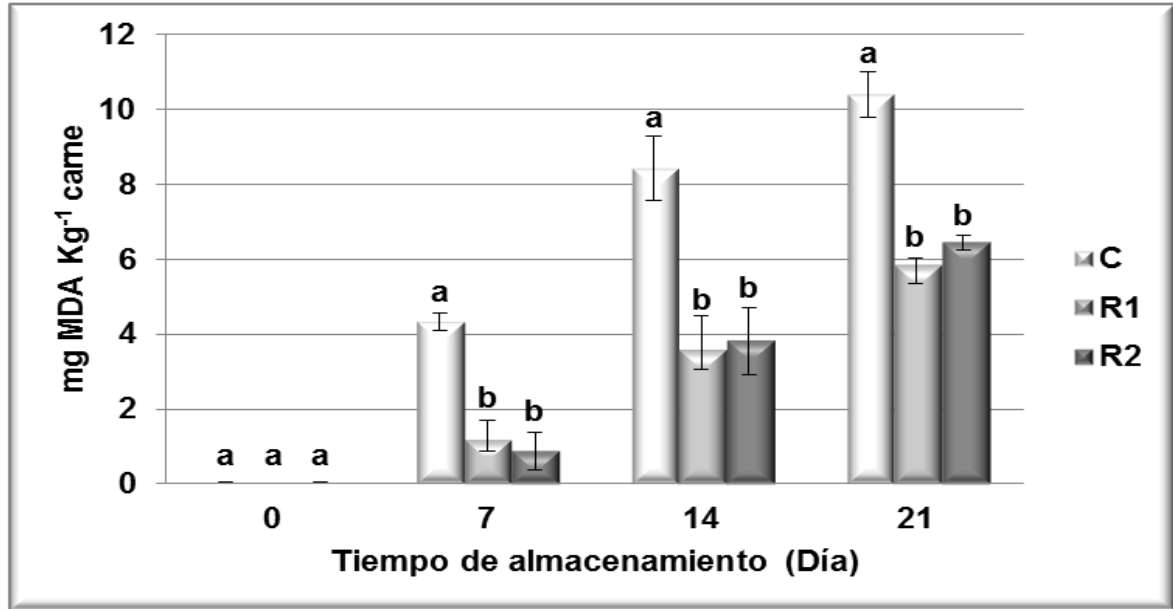
La **Tabla 5** muestra los principales estudios sobre suplementación dietética con romero en animales de raza ovina.

**Figuras 15.** Coordenadas cromáticas en carne cruda de corderos procedentes de ovejas alimentadas con hoja de romero libre de aceite esencial, almacenada en MAP (70/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y refrigeración hasta 21 días (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>).



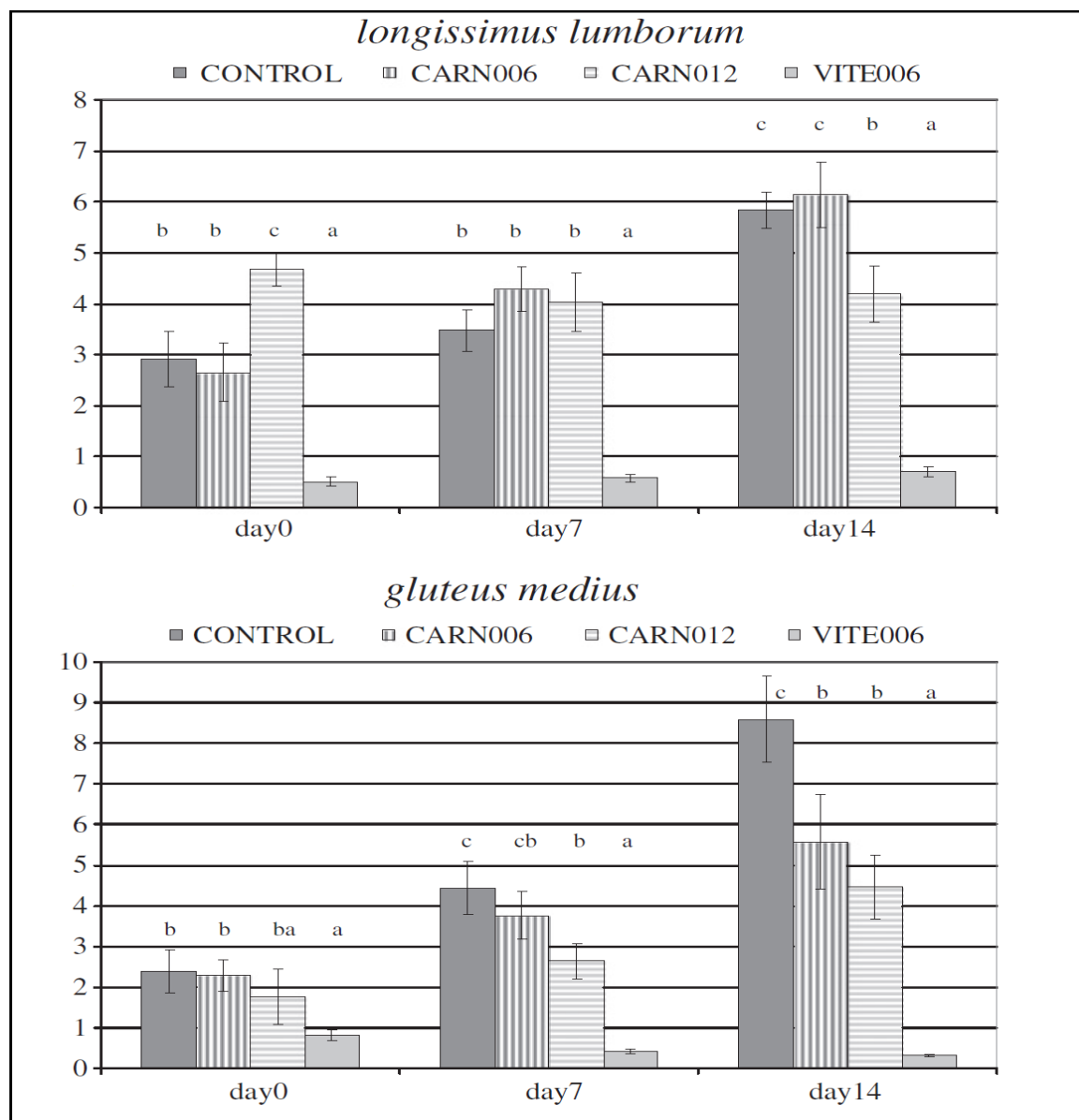
C: Control; R<sub>1</sub>: Corderos procedentes de ovejas suplementadas dietéticamente con 10% de hoja de romero libre de aceite esencial; R<sub>2</sub>: Corderos procedentes de ovejas suplementadas dietéticamente con 20% de hoja de romero libre de aceite esencial.

**Figuras 16.** Valores de oxidación lipídica y recuentos de aerobios mesófilos totales en carne cruda de corderos procedentes de ovejas alimentadas con hoja de romero libre de aceite esencial, almacenada en MAP (70/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y refrigeración hasta 21 días (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>).



C: Control; R<sub>1</sub>: Corderos procedentes de ovejas suplementadas dietéticamente con 10% de hoja de romero libre de aceite esencial; R<sub>2</sub>: Corderos procedentes de ovejas suplementadas dietéticamente con 20% de hoja de romero libre de aceite esencial.

**Figuras 17.** Evolución de la oxidación lípídica en carne de cordero suplementado con distintos niveles de ácido carnósico, almacenada en refrigeración (4 °C) y envasada en atmósfera modificada (35/35/30 CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>) hasta 14 días (Morán y col., 2012<sup>b</sup>).



CONTROL: sin antioxidantes; CARN006: 0,6 g ácido carnósico kg<sup>-1</sup> pienso; CARN012: 1,2 g ácido carnósico kg<sup>-1</sup> pienso; VITE006: 0,6 g acetato α-tocoferol kg<sup>-1</sup> pienso.

TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substances (µg MDA g<sup>-1</sup> carne).



**Tabla 5.** Cuadro resumen de los estudios sobre suplementación dietética con romero realizados en ovino.

Autores	Producto	Dosis	Animal	Condiciones almacenamiento	Tiempo
Caputi-Jambrenghi y col., 2005	Extracto Carne cruda: Reducción oxidación lipídica.	1000 mg kg <sup>-1</sup>	Corderos	Refrigeración	7 días
Nieto y col., 2010/2011	Hoja libre de aceite esencial Carne cruda: Mayor estabilidad color, reducción deterioro microbiológico, reducción oxidación lipídica y prevención deterioro organoléptico. Carne cocinada: Reducción oxidación lipídica y ligera inhibición rancidez.	10 - 20%	Ovejas	MAP y refrigeración / Cocinado y refrigeración	21 días 4 días
Morán y col., 2012/2013	Carne cruda: Reducción oxidación lipídica. Sin efecto antimicrobiano, sobre estabilidad color, sobre oxidación proteica ni sobre perfil ácidos grasos. Carne cocinada: Reducción formación COPs, mejor textura y mejor perfil VOCs (con 600 mg kg <sup>-1</sup> ). Sin efecto sobre calidad organoléptica.	600 - 1200 mg kg <sup>-1</sup>	Corderos	MAP, refrigeración y cocinado	14 días
Smeti y col., 2013	Aceite esencial Carne cruda: Sin efectos sobre prevención deterioro color, oxidación lipídica, ni calidad organoléptica.	600 mg kg <sup>-1</sup>	Corderos	Refrigeración	9 días
Vasta y col., 2013	Aceite esencial Carne cruda: Sin efectos sobre composición grasa intramuscular, ni sobre perfil VOCs.	400 mg kg <sup>-1</sup>	Corderos	Sin almacenamiento	0 días

Por tanto, las dietas suplementadas con romero serían efectivas para inhibir la oxidación de la carne, especialmente la oxidación de lípidos, y, en menor medida, el deterioro microbiano. Las diferencias observadas entre los resultados de los anteriores estudios pueden derivarse principalmente de las dosis de los extractos de romero ensayados, pero también de otros factores, tales como las diferencias en los grupos de animales estudiados y heterogeneidad en la composición de los extractos. Todo esto hace muy difícil comparar y reproducir los experimentos (Mielnik y col., 2003), siendo fundamental el estudio detallado de los distintos productos procedentes del romero y la determinación de cómo afectan sus diferencias a su potencialidad como conservantes naturales (Karre y col., 2013).

La presente tesis trata de responder a ese problema, derivado de la heterogeneidad en los extractos de romero empleados, mediante el estudio de la aptitud como conservante endógeno de extractos tipificados obtenidos a partir de la hoja libre de aceite esencial y adicionados en pienso. Ello pasa por aplicar dosis de extractos tipificados de romero en la dieta de los ovinos de carne, en concentraciones activas y sin detrimento del rendimiento animal, que permitan conseguir una adecuada transmisión de componentes activos a la carne, lo que a su vez permitiría ofertar al ganadero un pienso capaz de producir una mejora en la calidad de la carne y sus derivados.

### 3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

- Objetivo general:

1. Extender la vida útil de la carne cruda y cocinada de cordero, conservada en condiciones usuales de comercialización al por menor, mediante la suplementación dietética con extractos tipificados de romero compuestos por ácido carnósico y carnosol.

- Objetivos específicos:

1. Optimizar el método de suplementación de la dieta considerando la época de administración, la proporción de ácido carnósico y carnosol y la dosis de extracto en el pienso.

- 1.1. Determinar el efecto de la época de administración (gestación, lactación y cebo) sobre la calidad y vida comercial de la carne.

- 1.2 Determinar el efecto del ratio ácido carnósico/carnosol sobre la calidad y vida comercial de la carne.

- 1.3 Establecer la dosis conservante mínima efectiva en carne con el objeto de optimizar la relación dosis-efecto de los suplementos ovinos.

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **4.1. Diseño experimental.**

El experimento se diseñó a partir de los conocimientos previos adquiridos sobre biodisponibilidad y deposición muscular de polifenoles activos del romero y tomillo en ovinos (Moñino, 2010). En dichos estudios se comprobó que el ácido carnósico y el carnosol eran los principales polifenoles procedentes de la hoja destilada de romero y tomillo, libre de aceite esencial, que se depositaban en el músculo del cordero en una proporción aproximada de 4 a 1. Pese a no ser el diterpeno mayoritario, la deposición muscular de carnosol resultó clave para mejorar la capacidad antioxidante de la carne. Por su parte, el análisis cuantitativo reveló que una concentración de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de la suma de ambos diterpenos en el pienso podría asegurar un efecto conservante sobre la carne (Moñino, 2010).

A través de una empresa colaboradora, se diseñaron dos extractos tipificados de romero compuestos exclusivamente por sus diterpenos mayoritarios, estableciendo una proporción de ácido carnósico y carnosol de 2:1 (más próxima al material vegetal de procedencia) y 1:1 (enriquecido en carnosol). Ambos extractos de romero fueron incorporados a los piensos experimentales ovinos, tanto para ovejas gestantes y lactantes, como para corderos de cebo, que fueron empleados en los estudios dietéticos posteriores.

El experimento se programó en 3 etapas consecutivas en el tiempo, y fue diseñado en función de los resultados que se iban obteniendo en cada etapa.

En un primer experimento (periodo 2009-2010) se seleccionaron 3 grupos de ovejas y sus correspondientes corderos procedentes de la paridera de otoño. Seguidamente se testó una dosis de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de extracto de romero 2:1 durante la gestación y lactación y el periodo de engorde de los corderos. La eficacia conservante del extracto se determinó primero en carne cruda y después cocinada (sólo en el caso de presentar efecto conservante en la carne cruda) expuestas en condiciones de venta al por menor.

En un segundo experimento (periodo 2010-2011) se decidió emplear extracto enriquecido en carnosol. Sin embargo, por problemas con el manejo de los animales no pudo incluirse un grupo de ovejas suplementadas, por lo que se seleccionaron sólo 2 grupos de corderos destetados procedentes de la paridera de otoño y ovejas sin suplementar. La dieta de los corderos de cebo fue suplementada con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de extracto de romero 1:1. La eficacia conservante del extracto se determinó en carne cruda y cocinada.

Antes los buenos resultados proporcionados por el extracto 1:1 en la carne cruda y cocinada, se volvieron a seleccionar otros 3 grupos de corderos destetados procedentes de la paridera de primavera y ovejas sin suplementar. El tercer experimento (periodo 2011-2012) consistió en suplementar la dieta de los corderos de cebo con dosis menores de extracto de romero 1:1 (200 y  $400 \text{ mg kg}^{-1}$ ) con el objeto de mejorar la relación dosis-respuesta del extracto y de nuevo se determinó su eficacia conservante en carne cruda y cocinada.

De acuerdo con los resultados obtenidos hasta la fecha se decidió acortar el periodo de exposición de la carne cruda a 2 semanas, con un día doble de control en la última semana. En concreto, se sustituyeron los días 14 y 21 por los días 11 y 14. Así mismo, para complementar el estudio del potencial efecto antioxidante del extracto de romero, se determinó el grado de oxidación proteica de la carne cruda mediante la cuantificación de los carbonilos en las proteínas por el método de la DNPH (POx).

#### **4.2. Extractos.**

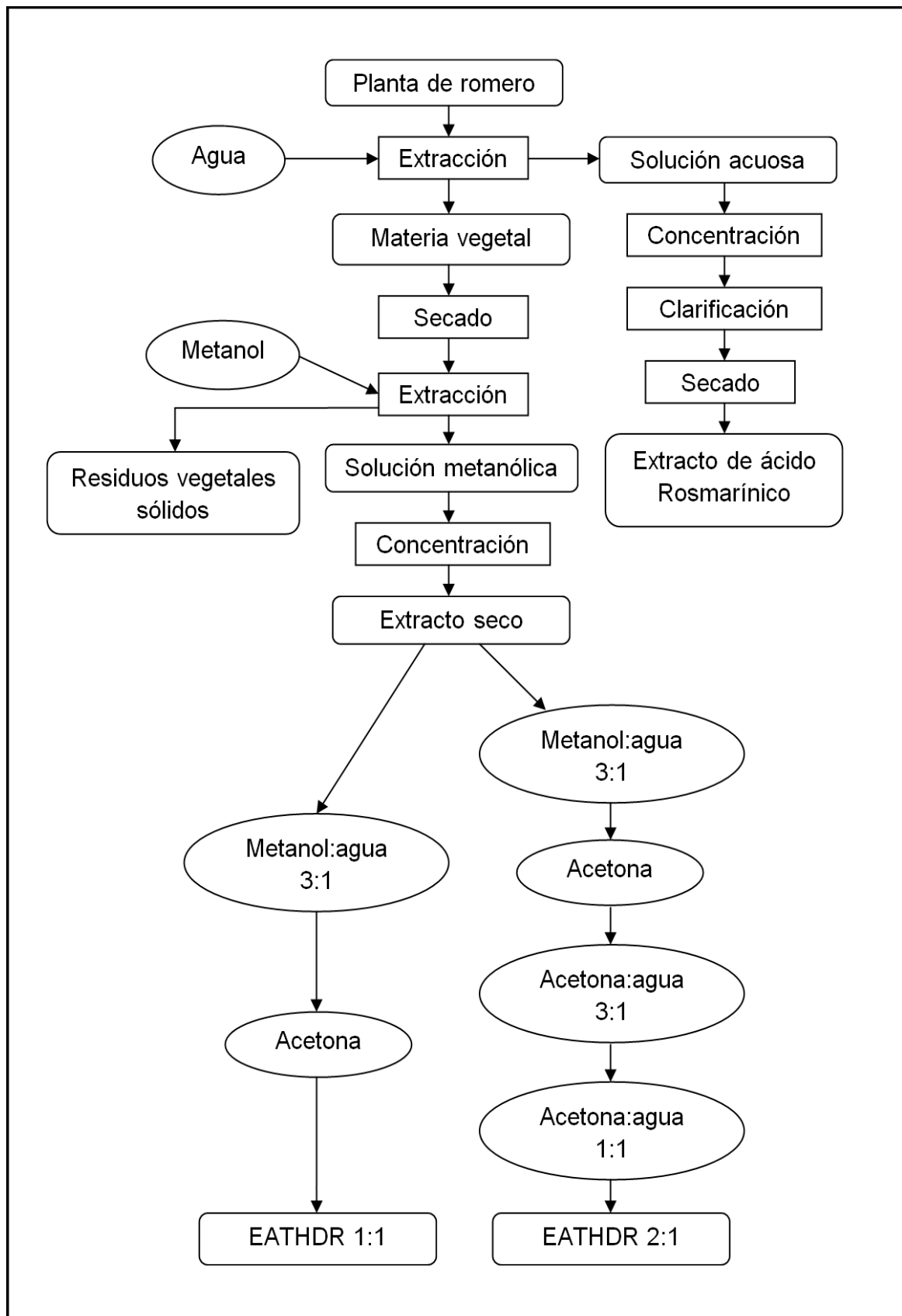
Para la realización del proyecto se emplearon extractos tipificados de romero (ER) fabricados y suministrados por la empresa Nutrafur-Furfural Español S.A. (Murcia-España), obtenidos mediante segunda destilación de hoja de romero libre de aceite esencial, usando metanol y acetona como solventes.

El proceso de fabricación de los extractos (**Figura 18**) se inició con una extracción sólido-líquido sobre hoja deshidratada de romero empleando un disolvente orgánico (metanol, etanol, acetona o acetato de etilo) con una relación

peso/volumen comprendida entre 1:8 y 1:12, a una temperatura comprendida entre 50 °C y la temperatura de reflujo de cada disolvente, durante un tiempo comprendido entre 45 y 120 min. A continuación se realizó una separación sólido-líquido mediante filtro-prensa o centrífuga de cesto. Posteriormente, la disolución orgánica obtenida, en la cual se encontraban los ingredientes activos, se llevó a un tanque en agitación y se mezcló con una cantidad específica de agua hasta alcanzar una proporción peso-peso respecto del disolvente de extracción situada entre el 20% y el 50% (preferiblemente el 40%). La disolución formada se agitó lentamente durante un periodo comprendido entre 1 y 4 h, a temperatura ambiente alrededor de 25 °C, para provocar la precipitación de un sólido cristalino. Una vez obtenido éste, se filtró, mediante una filtradora centrífuga y se lavó con agua en una proporción peso-volumen comprendida en el rango 1:5 - 1:8, a una temperatura entre 70 °C y 90 °C. El sólido lavado se filtró de nuevo y se secó en estufa de vacío a una temperatura entre 45 °C y 80 °C. Una vez seco el producto (con una humedad inferior al 2%), éste se sometió a distintos procesos de extracción en función del extracto final de romero que se quisiera fabricar. Para la obtención del ER 1:1, el extracto seco fue sometido a dos nuevos procesos de extracción, el primero con una solución de metanol: agua (3:1) y el segundo con acetona. Para la obtención del ER 2:1 se aplicaron dos etapas adicionales de extracción con acetona:agua, con relación 3:1 y 1:1 en la primera y segunda etapas, respectivamente. Las etapas de extracción se llevaron a cabo durante 1 h a temperatura ambiente.

Finalmente se obtuvieron dos extractos de romero (1:1 y 2:1) con formato tipo "polvo-fino", lo cual facilitó su incorporación y una mejor homogeneización en el pienso. Tras el consecuente análisis de control, se verificó que los dos polifenoles del extracto de romero eran el ácido carnósico y el carnosol. El análisis cuantitativo determinó que los extractos tenían una riqueza del 30% en principios activos (**Tabla 6**).

**Figura 18.** Esquema del proceso de extracción del extracto de hoja de romero libre de aceite esencial (Del Baño y col., 2003).



**Tabla 6.** Contenido en ácido carnósico y carnosol ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) del los extractos de romero 1:1 y 2:1.

Extracto de romero	Ácido carnósico	Carnosol
ER 1:1	414	432
ER 2:1	699	297

### 4.3. Dietas experimentales.

La fabricación de los piensos se realizó en la empresa Cargill España S.A. de Torre Pacheco (Murcia). La **Tabla 7** recoge la composición proximal, energía total, ingredientes y aditivos del pienso base, tanto para las ovejas madres, como para los corderos.

Para el enriquecimiento del pienso se emplearon dos extractos polifenólicos de romero distintos, en función de la relación entre sus dos principios activos principales, un extracto con un ratio 2:1 (ER 2:1) compuesto por un 17% - 20% de ácido carnósico y un 8% - 10% de carnosol y un extracto con un ratio 1:1 (ER 1:1) compuesto por un 9% - 11% de ácido carnósico y un 11% - 13% de carnosol.

Para la fabricación del pienso suplementado, el extracto de romero se añadió como un aditivo más en la mezcladora junto con el corrector, y seguidamente se continuó con los pasos habituales para este tipo de fabricaciones: mezclado del pienso a una temperatura inferior a los 65 °C y granulación a 70 - 75 °C y 2 kg de vapor, hasta obtener un producto final con una humedad relativa inferior al 11%.

Tras la fabricación del pienso, la presencia de los polifenoles de romero en el mismo fue verificada mediante su identificación y valoración cuantitativa por cromatografía líquida de alta resolución según el método de Moñino y col. (2008) (**Tabla 8**).



**Tabla 7.** Composición del pienso base de ovejas y corderos.

Pienso	Ovejas madres	Corderos
Composición proximal (materia seca)	g 100 g <sup>-1</sup>	g 100 g <sup>-1</sup>
Proteínas	140	176
Lípidos	21	38
Fibra	147	45
Cenizas	102	63
Energía total	Kcal kg <sup>-1</sup>	Kcal kg <sup>-1</sup>
	3672	3911
Ingredientes y aditivos	g kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>
Salvado de trigo	450,0	89,4
Harina de girasol	200,0	
Maíz		200,0
Trigo		330,0
Harina de algarroba	89,0	
Melaza de caña	40,0	10,0
Cáscara de soja		32,2
Cebada cervecera	28,0	94,8
Grasa		6,5
Calcio		3,1
Glicerina		10,0
Carbonato cálcico	44,0	21,4
Bicarbonato sódico		5,0
Cloruro sódico	3,0	3,0
Otros minerales	3,0	3,0
	IU kg <sup>-1</sup>	IU kg <sup>-1</sup>
Vitamina D3	5000	1600
Vitamina A	1000	8000
	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>
Vitamina E	20	25

**Tabla 8.** Contenido ácido carnósico y carnosol ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) del pienso tras la adición de los extractos de romero 1:1 y 2:1.

Experimento	Ácido carnósico	Carnosol
1	467	240
2	319	350
3	96	107
	186	213

#### 4.4. Cría de ovejas y corderos.

Los animales empleados en el presente trabajo fueron ovinos de raza Segureña, los cuales se criaron en régimen intensivo en el Centro Integrado de Formación y Experiencias Agrarias (CIFEA) de Lorca (Murcia). En los tres experimentos, los corderos objeto del estudio fueron destetados al alcanzar un peso de  $13 \pm 1$  kg y fueron alimentados, tras el destete, con pienso de cebo *ad libitum* durante aproximadamente 80 días hasta que alcanzaron un peso vivo de  $25 \pm 2$  kg.

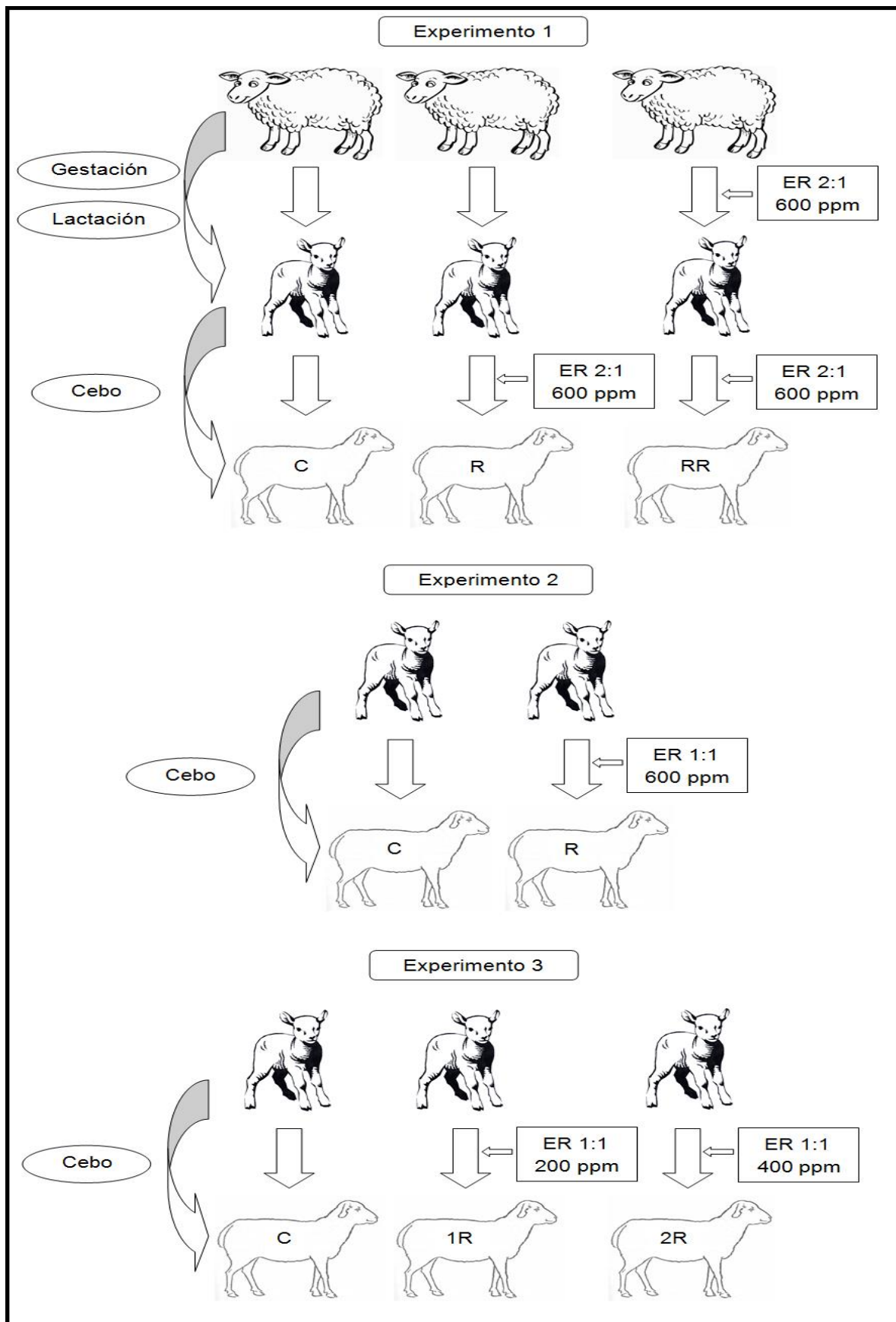
En el primer experimento treinta y seis ovejas gestantes fueron repartidas de forma aleatoria entre tres grupos de doce ovejas designados como grupos Control, R y RR. Las ovejas Control y R fueron alimentadas con una dieta basal consistente en 0,9 kg de pienso por animal y día durante 240 días, coincidiendo con sus periodos de gestación y lactación. Las ovejas RR fueron alimentadas del mismo modo, pero con pienso suplementado con 600 mg de ER 2:1 por kg de pienso. Nueve corderos procedentes de cada grupo de ovejas fueron repartidos entre tres grupos (Control, R y RR), empleándose un total de veintisiete corderos. Los corderos del grupo Control no fueron suplementados, mientras que los corderos de los grupos R y RR fueron suplementados con 600 mg de ER 2:1 por kg de pienso durante la etapa de cebo (80 días).

En el segundo experimento dieciocho corderos recién destetados, procedentes de ovejas sin suplementar, fueron repartidos de forma aleatoria entre dos grupos de nueve corderos designados como grupos Control y R. Los corderos del grupo Control no fueron suplementados, mientras que los corderos del grupo R fueron suplementados con 600 mg de ER 1:1 por kg de pienso durante la etapa de cebo.

En el tercer experimento veintisiete corderos recién destetados, procedentes de ovejas sin suplementar, fueron repartidos de forma aleatoria entre tres grupos de nueve corderos designados como grupos Control, 1R y 2R. Los corderos del grupo Control no fueron suplementados, mientras que los corderos de los grupos 1R y 2R fueron suplementados con 200 y 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso, respectivamente, durante la etapa de cebo.

La **Figura 19** muestra un esquema del proceso de producción de los corderos.

Figura 19. Esquema del proceso de producción de los corderos.



#### 4.5. Sacrificio y obtención de canales.

Una vez alcanzados  $25 \pm 2$  kg de peso vivo, los corderos fueron trasladados y sacrificados en el matadero de Mercamurcia (El Palmar, Murcia) de acuerdo con la Reglamentación Técnico Sanitaria de mataderos y salas de despiece (Reglamento (CE) 852/2004, 853/2004, 854/2004). Posteriormente, las canales se sometieron a un período de maduración durante 72 h a  $2 \pm 1$  °C, tras el cual fueron trasladadas a la sala de despiece, donde un carnicero profesional extrajo los lomos (músculo *Longissimus dorsi*) y las piernas deshuesadas, usadas para el estudio de calidad de carne cocinada.

#### 4.6. Procesado de la carne cruda.

Los lomos y piernas se envasaron en bolsas a vacío y se trasladaron en neveras refrigeradas a la planta piloto del Departamento de Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Murcia. Las piernas deshuesadas fueron almacenadas en cámara de congelación (-18 °C) hasta su posterior análisis. A continuación, se procedió al fileteado de los lomos (1,5 cm de grosor) desechando sus extremos y seleccionando diferentes zonas de cada pieza para la obtención de las muestras destinadas a los distintos días de análisis. Los filetes de lomo fueron envasados en bandejas de poliestireno Aerpack B5-37 (Coopbox Hispania, Lorca, Murcia, España) cubiertas con bolsas de baja permeabilidad a los gases ( $12,8 \text{ cm}^3 \text{ ml}^2$  por 24 h) (Otaci, Granada, España). El aire en el interior de los envases fue reemplazado por una atmósfera modificada compuesta de un 70% de  $\text{O}_2$  y un 30% de  $\text{CO}_2$  (EAP20, Carburos Metálicos, Barcelona, España) utilizando una envasadora discontinua INELVI Visc 500 (Industrial Eléctrica Vilar, Barcelona, España). La relación carne/gas fue de aproximadamente 0,03 kg de carne por litro de  $\text{O}_2/\text{CO}_2$ . Se comprobó con un medidor de gas OXYBABY (WITT Gasetechnik, Witten, Alemania) que no había variación significativa en la mezcla de gases del envase durante el almacenamiento. Las bandejas de carne se almacenaron a una temperatura de  $2 \pm 1$  °C en una vitrina Climacell 707 (MMM Medcenter Einrichtungen, München, Alemania) continuamente iluminada con luz fluorescente blanca (800 lx),

simulando condiciones de venta al por menor, durante 0, 7, 14 ó 21 días, en los dos primeros experimentos, y durante 0, 7, 11 ó 14 días, en el tercer experimento.

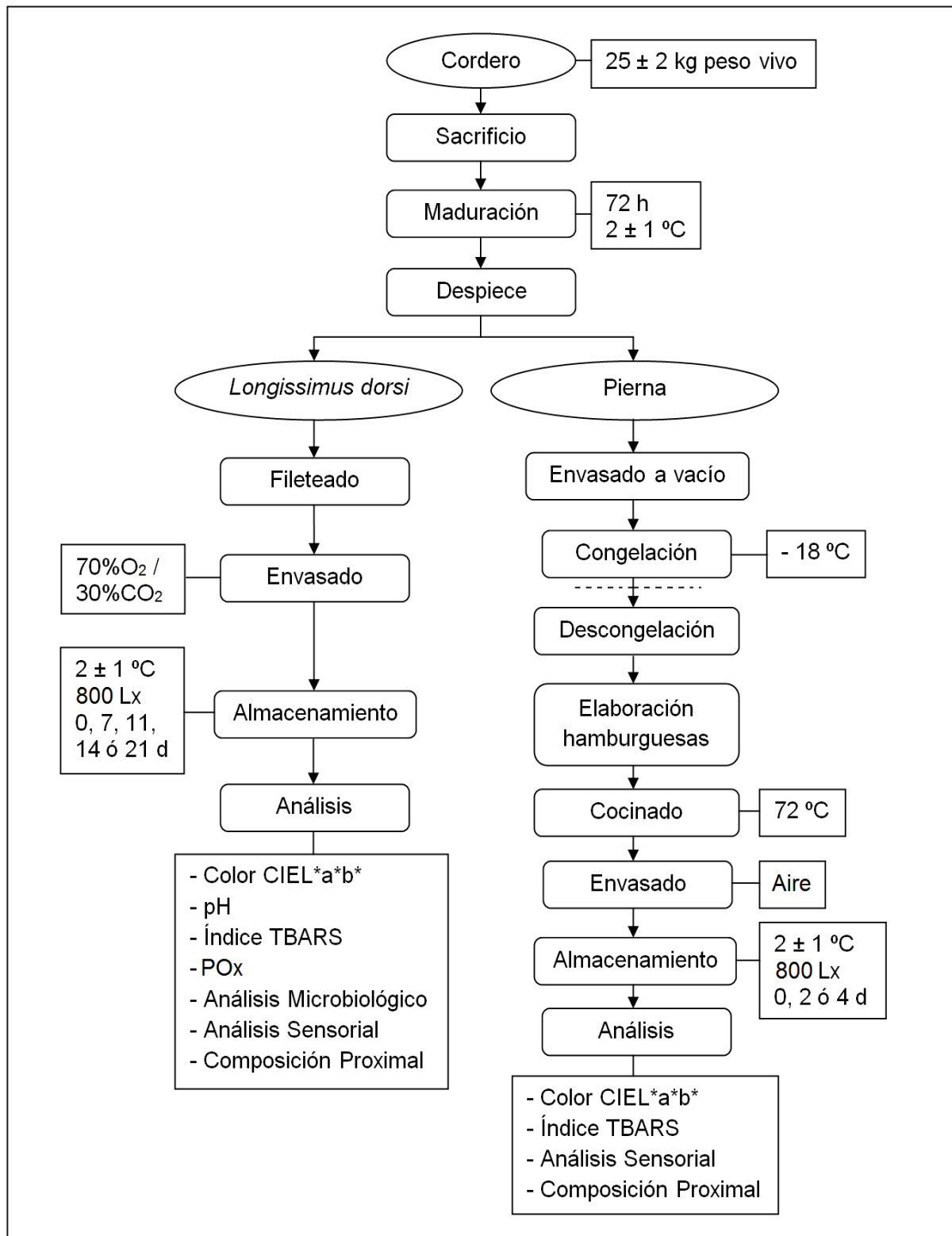
#### **4.7. Procesado de la carne cocinada.**

Antes de su análisis, las piernas congeladas y envasadas a vacío fueron atemperadas en una cámara frigorífica (2 °C) con aire forzado durante 24 h. Una vez descongeladas, fueron cortadas en tacos, eliminando restos de tendones, vasos, etc. y se picaron en una picadora de placa fina (3 mm) (Mainca PM98, Barcelona, España). A la carne picada se le añadió sal (2%) y se amasó manualmente durante 1 min. Con la masa resultante se formaron bolas de  $20 \pm 2$  g, para posteriormente elaborar las hamburguesas con una hamburguesera manual. A continuación las hamburguesas se cocinaron en una plancha eléctrica (Media con placas lisas, Silanos. Milán. Italia) a una temperatura de 150 °C. En ella se colocaron las hamburguesas, durante una media de 2 min, hasta que alcanzaron una temperatura en el centro del producto de 72 °C durante 20 segundos, siendo esto controlado usando un termómetro portátil Digitron T200 (Digiton Instrumentation Limited, Merd Lane, Hertford, Hertfordshire, Reino Unido), evitando el tostado superficial de las hamburguesas.

Posteriormente, las muestras se envasaron en bandejas de poliestireno Aerpack B5-37 (Coopbox Hispania, Lorca, Murcia, España) recubiertas con un film de policloruro de vinilo (Industrias Raelma, S.L., Madrid, España) permeable al oxígeno ( $650 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$  por 24h) y fueron almacenadas durante 4 días en refrigeración (2 °C). Para el envasado se utilizó una envasadora comercial R-RE (Industrias Raelma, S.L., Madrid, España). Las bandejas fueron almacenadas a una temperatura de  $2 \pm 1$  °C en una vitrina Climacell 707 (MMM Medcenter Einrichtungen, München, Alemania) continuamente iluminada con luz fluorescente blanca (800 lx), simulando condiciones de venta al por menor. Las pruebas analíticas se realizaron los días 0, 2 y 4 de almacenamiento.

La **Figura 20** muestra el diagrama de procesado de la carne para la obtención de muestras y los análisis realizados.

**Figura 20.** Procesado de la carne de cordero, obtención de muestras y análisis realizados.



#### 4.8. Toma de muestras.

Las bandejas con las muestras de carne fueron retiradas de la vitrina expositora y llevadas al lugar de trabajo correspondiente para su análisis: laboratorio, cabina de microbiología o sala de catas. Cada bandeja contenía muestras crudas (medallones de lomo) o cocinadas (hamburguesas). Las muestras fueron analizadas por duplicado y en los puntos de control establecidos (días 0, 7, 11, 14 ó 21 para muestras crudas y días 0, 2 ó 4 para muestras cocinadas).

#### 4.9. Análisis físico-químico.

➤ Color CIELAB.

La valoración objetiva del color se determinó mediante reflectancia empleando un colorímetro portátil Chroma Meter II Reflectance CR/DP-400 (Minolta Limited, Milton Keynes, Reino Unido) con iluminante D65 y tubo de proyección de luz CR-A3f (con tamaño de apertura de 10 mm), previa calibración del mismo. Para la determinación del color de las muestras se realizaron tres medidas directas sobre distintos puntos de la superficie, tanto de medallones crudos, como de hamburguesas cocinadas.

Se obtuvieron valores para la coordenada  $L^*$  (luminosidad), coordenada  $a^*$  (rojo-verde) y coordenada  $b^*$  (amarillo-azul). A partir de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$  se calcularon los valores  $C^*$  (índice de saturación o chroma) y  $H^*$  (tono o ángulo hue) (AMSA, 1991; Minolta, 1993) mediante las expresiones:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$H^* = \arctg(b^*/a^*)$$

Los resultados de  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  y  $C^*$  se expresaron en unidades CIELAB y los de  $H^*$  se expresaron en grados sexagesimales (CIE, 1978).



➤ pH.

El pH fue determinado por homogenización de acuerdo a la Norma ISO 2917:1999. Se pesaron 5 g de muestra, se añadieron 45 ml de agua destilada y la mezcla fue realizada con un homogeneizador (Silentcrusher M., Heidolph Instruments, Alemania) durante 1 min a 9500 rpm. Posteriormente, se dejó reposar la muestra durante 5 min antes de proceder a la medida del pH en un pHmetro micropH 2001 (Crison, Barcelona, España) con electrodo combinado Cat. 52-22 (Ingold Electrodo, Wilmington, Estados Unidos), calibrado adecuadamente con patrones de cloruro de potasio de 4,0 y 7,0.

➤ Humedad.

El contenido en humedad (%H) fue determinado mediante desecación en estufa de aire forzado (Norma ISO 1442:1997). Para ello se pesaron 5 g de carne (P), en una placa de Petri, previamente tarada y desecada ( $P_o$  = Peso de la placa + Peso de la muestra), la cual fue introducida en una estufa (Heraeus D-6450, Hanau, Alemania) a 105 °C durante 24 h. Tras enfriar la placa en el desecador, ésta se volvió a pesar ( $P_f$ ).

El porcentaje de humedad se calculó mediante la fórmula:

$$\%H = [ ( P_o - P_f ) / P ] * 100$$

➤ Grasa intramuscular.

La grasa intramuscular se extrajo empleando un disolvente orgánico a partir de carne deshidratada y pulverizada, según el método Soxhlet (Norma ISO 1443:1973). Para la extracción de grasa se pesó, con una precisión de 0,001 g, una taza metálica ( $P_i$ ) previamente desecada (24 h a 105 °C) y enfriada en un desecador a temperatura ambiente. Seguidamente, se introdujeron en un cartucho de celulosa (Whatman, 33 x 80 mm) 1 g de muestra ( $P_m$ ) deshidratada (24 h a 105 °C) y pulverizada, pesada con una precisión de 0,001 g.

En la taza metálica de extracción se vertieron 60 ml de éter de petróleo 40° - 60° y se situó sobre la placa calefactora de la unidad de extracción (Soxtec System HT2, Tecator limited, Suiza). Se colocó el cartucho de celulosa con la

muestra dentro de la taza y la muestra fue sometida a un circuito de éter que extrajo la grasa, depositándola en la taza. En una primera fase, el cartucho permaneció en el interior de la taza durante 40 min a 80 °C. Transcurrido este tiempo, se sacó fuera de la taza, continuando el proceso de extracción durante 30 min a 100 °C. Por último, se cerró el circuito del disolvente y se abrió el circuito auxiliar de aire durante 20 min para evaporar los restos de éter.

Posteriormente la taza fue trasladada a una estufa (Heraeus D-6450, Hanau, Alemania) a 105 °C donde permaneció durante 30 min. Finalmente se pasó a un desecador a temperatura ambiente, pesándose la taza (Pf) una vez alcanzado un peso constante (aproximadamente 20 min).

El porcentaje de grasa intramuscular en materia seca (%Gs) se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$\%Gs = [ ( Pf - Pi ) / Pm ] * 100$$

El porcentaje de grasa intramuscular en materia húmeda (%Gh) de obtuvo utilizando la siguiente fórmula:

$$\%Gh = \%Gs * [ (100 - \%H) / 100 ]$$

➤ Proteína total.

El porcentaje de proteína total se calculó a partir del contenido en nitrógeno total de la misma mediante una estimación, multiplicando dicho valor por un factor de conversión.

El nitrógeno total se determinó a partir del método Kjeldahl (Norma ISO 937:1981). La muestra fue digerida con ácido sulfúrico en presencia, como catalizadores, de selenio y sulfato de cobre II, de forma que todos los componentes nitrogenados de la misma fueron transformados en nitrógeno inorgánico en forma de sulfato amónico. Mediante destilación en medio fuertemente básico, el ión amonio se transformó en gas amoniaco, el cual fue recogido en ácido bórico. La posterior titulación con ácido clorhídrico permitió el cálculo de la cantidad de nitrógeno presente en la muestra.

Para llevar a cabo la determinación se pusieron en un papel absorbente 0,25 g de carne, pesados con una precisión de 0,001 g, los cuales se introdujeron envueltos en el papel en un tubo de digestión junto con 10 ml de ácido sulfúrico y una pastilla de catalizador de proteínas (4% de sulfato de cobre II, 3% de selenio y 86% de sulfato de potasio). La muestra fue digerida (digestor Büchi Labortechnik AG, Flawil, Suiza) hasta quedar completamente transparente y de color verde brillante. A continuación, se destiló (destilador Büchi 323 Labortechnik AG, Flawil, Suiza) durante 3 min, añadiendo 25 ml de agua y 75 ml de hidróxido sódico al 40%. El gas amoníaco liberado quedó recogido en un vaso de precipitado con 25 ml de ácido bórico al 4% con indicador mixto (2 g de rojo de metilo y 1 g de azul de metileno l<sup>-1</sup>).

La cantidad de nitrógeno fue titulada por electrometría con ácido clorhídrico 0,1 N, utilizando un valorador automático (Titrino 702 SM Metrohm Schweiz AG, Herisau, Suiza) con electrodo combinado de pH (Nº 6.0233.100 Metrohm Schweiz AG, Zofingen, Suiza). Los principales parámetros de titración fueron: titulación a un punto de equivalencia monótono (MET pH); volumen de incremento: 0,5 ml; velocidad de titración 150 ml min<sup>-1</sup>; deriva para la adquisición de los valores medidos: 50 mV; criterio del punto de equivalencia: 0,5 unidades de pH.

El resultado final se expresó en porcentaje de nitrógeno según la siguiente fórmula:

$$\%Nt = (\text{Volumen valoración} * 1,4 * \text{Normalidad}) / \text{Peso muestra}$$

El porcentaje de proteína de la muestra se obtuvo multiplicando el porcentaje de nitrógeno total (%Nt) por el factor de conversión para carne (6,25).

➤ Índice de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

La determinación del grado de oxidación lipídica de las muestras se realizó mediante el método del TBARS descrito por Botsoglou y col. (1994).

Se pesaron 2 g de muestra en tubos de vidrio de 50 ml, se añadieron 8 ml de disolución acuosa de ácido tricloracético al 5% (TCA) y 5 ml de

butilhidroxitolueno (BHT) disuelto al 0,8% en hexano y se homogeneizaron con un Silentcrusher durante 1 minuto a 9500 rpm. Los tubos de homogeneizado fueron centrifugados (Centrífuga 2010, Kubota Corporation, Tokio, Japón) durante 10 min a 3000 rpm. A continuación, se retiró el sobrenadante de los tubos y se recogió del extracto ácido sobre tubos de vidrio graduados. El volumen de estos tubos se completó hasta 10 ml con disolución acuosa de TCA (5%) y fueron nuevamente sometidos a centrifugación a 3000 rpm durante 10 min. Se tomaron alícuotas de 2,5 ml del extracto por triplicado y se introdujeron en tubos de vidrio con tapón de rosca, añadiéndoles 1,5 ml de la disolución de ácido 2-tiobarbitúrico al 0,8% (TBA). Se cerraron los tubos y se introdujeron en un baño de agua a 70 °C durante 30 min. Transcurrido ese tiempo las muestras fueron rápidamente enfriadas en un baño de agua a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C) durante 5 min.

La cuantificación de TBARS se realizó por medio de una recta patrón elaborada a partir de una serie de disoluciones de malondialdehído (MDA) de concentración conocida. La solución madre de MDA ( $2,25 \text{ mg ml}^{-1}$ ) fue obtenida por hidrólisis ácida de una disolución de Tetra-etoxi-propano (TEP) en ácido clorhídrico 0,1 N. La reacción transcurrió en un tubo de vidrio con tapón de rosca, inmerso en un baño de agua hirviendo durante 5 min. Después de este tiempo, los tubos fueron rápidamente enfriados en un baño de agua a temperatura ambiente. La solución hidrolizada de TEP fue cuidadosamente transferida a un matraz, aforando hasta 100 ml con agua destilada. La disolución de trabajo de MDA ( $22,5 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ ) se obtuvo pipeteando una alícuota de 1 ml de la solución madre hacia un matraz y aforando nuevamente hasta 100 ml con agua destilada.

La cantidad de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) fue calculada a partir de la recta de calibrado. Ésta se preparó a partir de diluciones de la disolución de trabajo de MDA, transfiriendo alícuotas de la misma a tubos de vidrio, con tapón de rosca, completándose hasta un volumen de 2,5 ml con TCA (5%) y obteniéndose concentraciones en  $\mu\text{g ml}^{-1}$  de: 0; 0,01; 0,04; 0,11; 0,21; 0,52; 1,05 y 1,57. A cada tubo se añadieron 1,5 ml de solución acuosa de TBA (0,8%). Los tubos preparados con el rango de concentraciones de MDA, junto con una solución blanco de TCA al 5% y de TBA al 0,8%, fueron sometidos

a incubación y a posterior lectura espectrofotométrica siguiendo el mismo procedimiento que el descrito para las muestras.

La concentración de TBARS se cuantificó mediante lectura espectrofotométrica (UNICAM UV/Vis Spectrometer, Spectronic Unicam, New York, USA) de la absorbancia de las muestras frente a un blanco compuesto por 2,5 ml TCA (5%) y 1,5 ml TBA (0,8%). Con el fin de eliminar las interferencias espectrales con otros compuestos, las valoraciones se realizaron en función a la tercera derivada (3D) del espectro entre 425 y 625 nm (Botglosou y col., 1994) en base al cálculo de la distancia entre el pico y el valle que aparecían sobre 521 y 540 nm, respectivamente. La cantidad de sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS) se expresó como mg MDA kg<sup>-1</sup> de carne.

La ecuación de regresión de la curva de calibrado utilizada para calcular los valores de los TBARS fue la siguiente:

$$[\text{TBARS (mg MDA kg}^{-1} \text{ muestra)}] = [(3\text{D}-0,0788) / 4,5451] * (10/\text{peso muestra g}^{-1})$$

➤ Oxidación de proteínas.

El grado de oxidación proteica fue medido de acuerdo con el método descrito por Oliver y col. (1987). Se realizaron dos análisis diferentes: cuantificación de carbonilos y cuantificación de proteínas.

Se pesó 1 g de muestra y se le añadieron 10 ml de KCl (0,15 M), homogeneizándose la mezcla durante 30 s mediante un Silentcrusher. 100 µl del homogenizado fueron transferidos a un vial Eppendorf de 2 ml y se le añadió 1 ml de ácido tricloroacético al 10%. La muestra fue centrifugada (Centrífuga Eppendorf 5804 con rotor FA45-30-11, Eppendorf AG, Hamburgo, Alemania) durante 10 min a 5000 rpm, eliminándose el sobrenadante.

Para la cuantificación de carbonilos se añadió 1 ml de HCl (2 N) con 0,2% de 2,4 - dinitrofenilhidrazina (DNPH), y para la cuantificación de proteína se añadió 1 ml de HCl (2 N). Después de 1 h de incubación (con agitación de la muestra cada 20 min), se añadió 1 ml de ácido tricloroacético al 10%. La muestra fue agitada y centrifugada de nuevo durante 10 min a 5000 rpm. El

sobrenadante fue eliminado cuidadosamente con una pipeta Pasteur evitando alterar el precipitado. Dicho precipitado fue lavado con 1 ml de etanol/etil-acetato (1:1), agitándose y sometiéndose a una centrifugación de 13000 rpm durante 5 min. Este proceso fue repetido dos veces. El precipitado fue disuelto posteriormente con 1,5 ml de tampón de fosfato sódico (20 mM) con guanidina hidrociorhídrica (6 M), con un pH final de 6,5, agitándose y centrifugándose la mezcla durante 3 min a 7000 rpm para evitar la presencia de cualquier posible fragmento insoluble.

Finalmente se analizó el sobrenadante resultante, evitando arrastrar el residuo del fondo del vial, midiendo espectrofotométricamente a 370 y 280 nm para la determinación de carbonilos y proteína, respectivamente. Para la cuantificación de proteína se preparó una solución estándar de albúmina sérica bovina (BSA) en tampón de fosfato sódico (20 mM) con guanidina hidrociorhídrica (6 M) (pH 6,5). La concentración de proteína fue determinada en base a una curva de calibrado. La concentración (nM) de carbonilos fue calculada mediante la ecuación de Lambert-Beer para la obtención de la concentración:  $[(\text{Abs } 370 \text{ nm} / 21,0 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}) \times 1000]$ , donde  $21,0 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  es el coeficiente de extinción molar de los carbonilos.

#### **4.10. Análisis microbiológico.**

Para valorar la capacidad antimicrobiana de los extractos de romero en la carne se analizaron aerobios mesófilos totales (Norma ISO 4833:2003) y psicrófilos totales (Norma ISO 17410:2001) en medio de cultivo PCA (Plate Count Agar, OXOID CM0325, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido), mohos y levaduras (Norma ISO 21527-2:2008) en medio RB (Rose-Bengal Cloranfenicol Agar Base, OXOID CM0549, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido) con suplemento selectivo de Cloranfenicol (OXOID SR0078, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido) y enterobacterias totales en doble capa (Norma ISO 21528-2:2004) con medio VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar, OXOID CM0485, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido). Se preparó agua de peptona (OXOID CM0087, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido) para realizar las distintas diluciones de

siembra. Todos los medios y materiales necesarios fueron esterilizados en autoclave (Steam Sterilizer AES-28, Raypa, Tarrasa, Barcelona, España) a 121 °C durante 20 min de acuerdo a las indicaciones del producto.

Las condiciones de incubación de los microorganismos fueron 30 °C durante 72 h para aerobios mesófilos, 4 °C durante 7 días para psicrófilos, 25 °C durante 5 días para mohos y levaduras y 37 °C durante 24 h para enterobacterias.

Todo el proceso se llevó a cabo bajo campana de flujo laminar (131 Bio-II-A Telstar. Tarrasa, España) y cada muestra fue analizada por duplicado. Se pesaron 10 g de muestra con pinzas y tijeras estériles y se introdujeron en una bolsa Stomacher. A la bolsa se le añadieron 90 ml de agua de peptona. Seguidamente se procedió a su homogeneización en un homogenizador vertical de palas masticador (IVL-Instruments, GMBH, Königswinter, Alemania). De esta manera se obtuvo la primera dilución decimal, a partir de la cual se obtuvieron las diluciones sucesivas. Las placas se sembraron en masa ajustando la dilución elegida según los recuentos. Tras la incubación se procedió al recuento de unidades formadoras de colonias, utilizando para el mismo un contador de placas (Colony Counter Digital S, J. P. Selecta, Barcelona, España), considerando únicamente aquellas en las que crecieron entre 30 y 300 colonias, y expresando el resultado como  $\log \text{ufc g}^{-1}$ .

#### **4.11. Análisis sensorial.**

Para evaluar el efecto de la suplementación dietética con extracto de romero en ovino sobre los atributos sensoriales de la carne, tanto fresca como cocinada, se realizó un análisis sensorial descriptivo cuantitativo.

##### **4.11.1. Entrenamiento del panel de catadores.**

Para la realización del análisis sensorial se utilizó un panel entrenado compuesto por 8 catadores con experiencia (4 mujeres y 4 hombres), con edades comprendidas entre los 25 y los 48 años, los cuales fueron

seleccionados en función a su disponibilidad y aptitudes sensoriales. El panel fue sometido a una etapa de entrenamiento específico de acuerdo con la norma ISO 8586 (2012), llevado a cabo en 8 sesiones teórico-prácticas de 1 hora de duración, orientadas hacia el aprendizaje de los atributos a valorar posteriormente sobre las muestras en estudio. Las dos primeras sesiones se dedicaron a la evaluación y discusión de las características sensoriales propias de la carne fresca. Las dos sesiones siguientes se destinaron a la generación y selección de descriptores para la carne fresca. Las cuatro sesiones siguientes se dividieron de igual modo, dos a dos, pero en este caso haciendo referencia a las características y descriptores de la carne cocinada.

Durante los entrenamientos se proporcionaron medallones frescos de lomo y hamburguesas recién cocinadas a los panelistas, como muestras representativas con atributos sensoriales en estado óptimo, y medallones y hamburguesas envasados en atmósfera modificada y almacenados en refrigeración (4 °C) durante un largo período de tiempo (21 y 5 días, respectivamente), como muestras representativas de los atributos de color, exudación y/u olor asociados al deterioro, a excepción de los atributos olor pútrido y a moho, para los cuales se emplearon como referentes muestras envasadas con aire almacenadas durante 7 días en refrigeración (4 °C), con la finalidad de identificar los descriptores y establecer sus valores extremos de referencia.

Para determinar la intensidad de percepción de cada atributo se utilizó una escala con valores entre 1 y 5 (1: No perceptible; 2: Débil; 3: Moderada; 4: Intensa; 5: Muy intensa).

El atributo “frescura” se incluyó en el análisis sensorial, tanto de los medallones crudos de lomo, como de las hamburguesas cocinadas, para evaluar la pérdida de calidad y el deterioro de la carne. La máxima puntuación de este parámetro correspondió a la carne fresca recién envasada y a la carne recién cocinada. La mínima puntuación correspondió a carne cruda y cocinada almacenada durante 21 y 5 días, respectivamente. Para su determinación, cada panelista valoró de forma conjunta todos los atributos analizados, realizando un balance entre la intensidad de los atributos deseables e indeseables y estimando



el predominio de unos u otros. Para ello se tuvieron en cuenta principalmente los atributos color, olor propio y olor rancio en la carne cruda, y los atributos color, olor propio, sabor propio, olor rancio y sabor rancio en la carne cocinada.

#### **4.11.2. Análisis sensorial descriptivo cuantitativo.**

El panel de catadores evaluó los medallones crudos de lomo los días 0, 7, 14 y 21 de almacenamiento en los experimentos 1 y 2, y los días 0, 7, 11 y 14 de almacenamiento en el experimento 3. Para el análisis de la carne cocinada el panel de catadores evaluó las hamburguesas los días 0, 2 y 4 de almacenamiento en los tres experimentos.

La catas fueron realizadas siguiendo la norma ISO 4121 (2003). Las muestras fueron identificadas para su evaluación mediante una numeración aleatoria de tres dígitos, presentándose a los panelistas de una en una.

Las hamburguesas cocinadas se sometieron a un recalentamiento en horno microondas (600 W durante 45 s), hasta alcanzar una temperatura de  $65 \pm 5$  °C en su interior. Para mantener calientes las muestras cocinadas se envolvieron individualmente en papel de aluminio y se mantuvieron en baños termostáticos de arena de mar (Braun, Esplugues de Llobregat, Barcelona, España), a una temperatura de 65 °C.

Las pruebas sensoriales se llevaron a cabo según la norma ISO 8589 (2007), en una sala de cata con cabinas individuales y manteniendo las mismas condiciones de temperatura, luz y humedad ambiental en todas las sesiones.

En las **Figuras 21** y **22** se muestran las fichas utilizadas para el análisis sensorial de la carne cruda y cocinada.

**Figura 21.** Ficha utilizada para el análisis sensorial de carne cruda de cordero.

Hoja de registro: **Carne cruda de cordero Segureño.**

Nombre del panelista: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Intensidad de percepción:



Código de muestra: \_\_\_\_\_

	Intensidad de percepción.				
<b>1. Atributos de aspecto.</b>	1	2	3	4	5
Color magro					
Color grasa					
Exudados					

	Intensidad de percepción.				
<b>2. Atributos de olor.</b>	1	2	3	4	5
Olor propio a carne de cordero					
Olor rancio					
Olor ácido					
Olor pútrido					
Olor a moho					

	Nivel de frescura				
<b>3. Evaluación global.</b>	1	2	3	4	5
Frescura					

Gracias por vuestra colaboración.

**Figura 22.** Ficha utilizada para el análisis sensorial de carne cocinada de cordero.

Hoja de registro: **Carne cocinada de cordero Segureño.**

Nombre del panelista:

Fecha:

Intensidad de percepción:



Código de muestra: \_\_\_\_\_

ATRIBUTOS SENSORIALES	INTENSIDAD DE PERCEPCIÓN				
	1	2	3	4	5
<b>Atributos de color</b>					
Color del magro					
<b>Atributos de olor</b>					
Olor a carne cocinada de cordero					
Olor rancio en frío					
Olor rancio en caliente					
Olor recalentado					
<b>Atributos de sabor</b>					
Sabor a carne cocinada de cordero					
Sabor rancio en frío					
Sabor rancio en caliente					
Sabor recalentado					
<b>Atributos de textura</b>					
Terneza					
Jugosidad					
<b>Frescura</b>					

Gracias por vuestra colaboración.

#### **4.12. Análisis estadístico.**

El diseño experimental para el estudio de los tratamientos consistió en un modelo factorial al azar, considerando la suplementación dietética con el extracto de romero y el tiempo de almacenamiento de las muestras envasadas como tratamientos. El efecto de los tratamientos fue determinado mediante ANOVA de dos vías utilizando parejas de factores. El test de homogeneidad de medias utilizado fue el test de mínima diferencia significativa (LSD) con  $P \leq 0,05$ . La relación entre variables fue establecida mediante correlaciones de Pearson.

Para el análisis de carne cruda, el tamaño de muestra fue  $n = 108$  (9 corderos x 3 dietas x 4 días de control) en los experimentos 1 y 3, y  $n = 72$  (9 corderos x 2 dietas x 4 días de control) en el experimento 2. Para el análisis de carne cocinada, el tamaño de muestra fue  $n = 81$  (9 corderos x 3 dietas x 3 días de control) en los experimentos 1 y 3, y  $n = 54$  (9 corderos x 2 dietas x 3 días de control) en el experimento 2.

El tiempo de vida útil de los medallones crudos de lomo y de las hamburguesas cocinadas se estimó mediante ecuaciones de regresión no lineal, utilizando los valores de las variables tiempo de almacenamiento (variable independiente) y frescura (variable dependiente). El tipo de ecuación que mejor se ajustaba en cada caso se determinó en base al coeficiente de regresión ( $R^2$ ) entre ambas variables.

Los datos se analizaron utilizando el programa informático Statistix 8.0 para Windows (Analytical Software, Tallahassee, Florida, Estados Unidos).

## 5. RESULTADOS.

### 5.1. Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de extracto tipificado de romero 2:1 (ácido carnósico: carnosol).

#### 5.1.1. Deterioro y vida comercial de la carne cruda.

La **Tabla 9** muestra los valores medios y desviaciones estándar para la composición proximal del lomo crudo procedente de corderos Control (madres y corderos no suplementados), R (corderos suplementados con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 durante el cebo) y RR (madres suplementadas durante la gestación y lactación con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1, más corderos suplementados durante el cebo con la misma dosis de ER 2:1). Como puede observarse, los porcentajes medios de humedad, grasa total y proteína total determinados en el día 0 fueron similares ( $P>0,05$ ) para los tres tratamientos dietéticos, y, por tanto, la composición de la carne no supuso sesgo alguno a la hora de continuar con el experimento.

**Tabla 9.** Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) del lomo (día 0 de almacenamiento) procedente de corderos con diferentes niveles de suplementación dietética con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1.

Dieta	% Humedad <i>M±D</i>	% Grasa <i>M±D</i>	% Proteína <i>M±D</i>
C	71,8 ± 2,86	4,49 ± 3,02	20,4 ± 1,11
R	71,3 ± 1,92	4,36 ± 2,78	19,8 ± 1,03
RR	72,1 ± 1,63	4,98 ± 2,85	19,3 ± 1,43

M±D: Media ± desviación estándar.

C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

La **Tabla 10** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos determinados en el lomo crudo de cordero suplementado o no con 600 mg de ER 2:1 por kg de pienso. De acuerdo con los estadísticos F, el tiempo de almacenamiento afectó ( $P \leq 0,001$ ) más que la dieta a los diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos relacionados con la calidad de la carne. De todos ellos, el valor de TBARS resultó ser, con gran diferencia, la variable más afectada por la dieta. Tras aplicar un modelo bifactorial de ANOVA, sólo se observó interacción entre ambos tratamientos (dieta y tiempo de almacenamiento) para las coordenadas de color  $a^*$  y  $C^*$ , y el índice TBARS.

Con independencia del periodo de administración, la suplementación de la dieta con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 modificó ( $P \leq 0,05$ ) todos los parámetros estudiados, excepto los recuentos de enterobacterias.

La **Tabla 11** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los parámetros físico-químicos de calidad del lomo crudo de cordero suplementado o no con 600 mg de ER 2:1 por kg de pienso. Como era de esperar, durante el almacenamiento se produjo un pardeamiento gradual (desde un punto de vista cromático, un aumento de  $L^*$ ,  $b^*$  y  $H^*$  y una disminución de  $a^*$  y  $C^*$ ) de la carne cruda de cordero envasada en atmósfera rica en oxígeno y dióxido de carbono, junto con un incremento de la oxidación de lípidos y de la carga microbiológica.

El valor medio de TBARS fue menor ( $P \leq 0,05$ ) en los lomos R y RR con respecto a los lomos Control a partir del séptimo día de almacenamiento. Esta reducción de TBARS atribuible a la dieta suplementada fue considerable, ya que los niveles de MDA continuaban incluso siendo mayores ( $P \leq 0,05$ ) en el lomo Control a los 14 días que en los lomos R y RR en el día 21 de almacenamiento. Por otro lado, los valores de medios de TBARS no difirieron entre sí ( $P > 0,05$ ) en los lomos R y RR a ninguno de los tiempos de almacenamiento controlados.

Por tanto, la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 inhibió claramente la oxidación lipídica en la carne cruda hiperoxigenada. No obstante, la suplementación de las madres con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 durante la gestación y la lactancia no proporcionó una inhibición

adicional de la oxidación lipídica respecto a la suplementación de los corderos durante el cebo. La **Figura 23** permite una mejor visualización de los resultados obtenidos.

El efecto de la dieta sobre las coordenadas de color objetivo fue menos evidente. Con independencia de la dieta, se observó un aumento del valor medio de  $H^*$  al final del almacenamiento, que indicaría cierto oscurecimiento de la carne. No obstante, el valor medio de  $H^*$  fue mayor ( $P \leq 0,05$ ) en el lomo Control que en el Lomo RR en los días 14 y 21, mientras que el Lomo R presentó valores intermedios en el día 14 y también menores que el lomo Control en el día 21. En definitiva, se observó cierta estabilización ( $P \leq 0,05$ ) del color rojo (mayor  $C^*$  y menor  $H^*$ ) en los lomos R y RR tras 14 y 21 de almacenamiento, si bien no se apreciaron diferencias cromáticas ( $P > 0,05$ ) entre ambos tratamientos a ninguno de los tiempos de almacenamiento estudiados (**Figuras 23 y 24**).

Teniendo en cuenta sobre todo los cambios del ángulo  $H^*$ , la coordenada cromática que permite monitorizar mejor el pardeamiento de las carnes rojas, es posible afirmar que la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 permitió retrasar el pardeamiento de la carne cruda hiperoxigenada, sobre todo en la carne en un avanzado estado de deterioro. La suplementación adicional de las madres con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 mejoró ligeramente el efecto protector del color de dicho tratamiento dietético.

Por su parte, los valores medios de pH, parámetro determinado por su influencia sobre el color del magro y por su relación con el crecimiento microbiológico, se mantuvieron estables durante todo el almacenamiento. Únicamente se observaron diferencias ( $P \leq 0,05$ ) en los valores medios de pH entre lomos Control y RR en el último día de almacenamiento, lo que podría indicar ciertas diferencias en la carga de bacterias alterantes de la carne.

La **Tabla 12** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los recuentos microbiológicos del lomo crudo de cordero suplementado o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 2:1 por  $\text{kg}$  de pienso. El método de envasado empleado permitió controlar con gran eficacia la calidad microbiológica de la carne, ya que todos los recuentos microbiológicos de todas las muestras analizadas quedaron por

debajo del límite máximo de aerobios mesófilos totales establecido para la carne cruda ( $6 - 7 \log \text{ufc g}^{-1}$ ) a lo largo de los 21 días de almacenamiento.

En cualquier caso, todos los recuentos microbiológicos de la carne aumentaron moderadamente durante el almacenamiento, con independencia del nivel de suplementación aplicado. No obstante, hubo un menor ( $P \leq 0,05$ ) crecimiento de bacterias aerobias mesófilas y psicrófilas en el lomo RR comparado con el lomo Control a partir del día 14, mientras que únicamente se observaron diferencias ( $P \leq 0,05$ ) entre los lomos R y RR en los recuentos medios de aerobios mesófilos totales en el último día de almacenamiento (**Figuras 24 y 25**).

Los recuentos medios de mohos y levaduras también fueron inferiores ( $P \leq 0,05$ ) en el lomo RR comparados con el lomo Control tras 2 semanas de almacenamiento (**Figura 25**). Las enterobacterias, el grupo microbiológico utilizado como índice de higiene de la carne, sólo comenzaron a detectarse a partir de los 14 días de almacenamiento y sus recuentos no estuvieron afectados ( $P > 0,05$ ) por la dieta.

Según los datos microbiológicos obtenidos, sólo la suplementación dietética de las madres y los corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 permitió incrementar la capacidad antimicrobiana endógena de la carne cruda. El gran control que la atmósfera protectora rica en dióxido de carbono y oxígeno ejerció sobre el crecimiento de la microflora alterante de la carne probablemente no ha permitido observar mayores efectos y también podría explicar la falta de efecto antimicrobiano al limitar la suplementación a los corderos de cebo.



**Tabla 10.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los parámetros físico-químicos y microbiológicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
TBARS	101,3	***	304,5	***	12,7	***
Luminosidad L*	0,32	*	45,0	***	1,98	N.S.
Rojo-verde a*	2,60	*	81,1	***	2,58	*
Amarillo-azul b*	1,36	*	98,8	***	0,84	N.S.
Tinte C*	0,42	*	30,3	***	2,35	*
Tono H*	4,87	**	108,3	***	2,04	N.S.
pH	1,95	*	0,49	N.S.	0,44	N.S.
Aerobios mesófilos totales	5,51	**	47,2	***	0,49	N.S.
Psicrófilos totales	2,95	*	35,1	***	0,47	N.S.
Mohos y Levaduras	3,71	*	55,6	***	0,68	N.S.
Enterobacterias	1,00	N.S.	54,6	***	0,40	N.S.

Grados de libertad: Dieta (2); Tiempo (3); Dieta x tiempo (6).

Niveles de significación: \*\*\* P≤0,001; \*\* P≤0,01; \* P≤0,05; N.S. P>0,05 (no significativo).

**Tabla 11.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los parámetros físico-químicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.

		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
TBARS	C	0,06±0,05 <sup>g</sup>	3,36±0,33 <sup>de</sup>	5,77±1,08 <sup>b</sup>	6,69±0,59 <sup>a</sup>
	R	0,09±0,06 <sup>g</sup>	1,49±0,26 <sup>f</sup>	3,01±0,27 <sup>e</sup>	4,17±0,34 <sup>c</sup>
	RR	0,07±0,02 <sup>g</sup>	1,36±0,55 <sup>f</sup>	2,96±1,07 <sup>e</sup>	3,83±1,23 <sup>cd</sup>
Luminosidad L*	C	39,6±1,29 <sup>f</sup>	41,6±1,04 <sup>ef</sup>	45,4±1,87 <sup>bc</sup>	49,0±2,22 <sup>a</sup>
	R	40,5±2,47 <sup>f</sup>	41,7±1,53 <sup>ef</sup>	44,5±1,77 <sup>cd</sup>	47,1±3,88 <sup>ab</sup>
	RR	41,3±1,70 <sup>ef</sup>	43,0±1,57 <sup>de</sup>	44,9±2,47 <sup>cd</sup>	46,0±4,30 <sup>bc</sup>
Rojo-verde a*	C	15,9±1,26 <sup>a</sup>	15,0±3,32 <sup>a</sup>	8,47±3,95 <sup>de</sup>	3,09±0,50 <sup>f</sup>
	R	15,4±0,78 <sup>a</sup>	15,4±0,84 <sup>a</sup>	10,3±3,88 <sup>cd</sup>	6,41±3,64 <sup>e</sup>
	RR	15,1±1,76 <sup>a</sup>	13,7±1,95 <sup>ab</sup>	12,1±3,56 <sup>bc</sup>	6,67±3,45 <sup>e</sup>
Amarillo-azul b*	C	2,91±1,64 <sup>f</sup>	6,55±1,15 <sup>e</sup>	8,77±1,46 <sup>bc</sup>	10,9±1,83 <sup>a</sup>
	R	2,40±1,40 <sup>f</sup>	6,67±0,62 <sup>de</sup>	8,11±1,15 <sup>cd</sup>	9,85±2,39 <sup>ab</sup>
	RR	2,91±1,41 <sup>f</sup>	6,40±1,06 <sup>e</sup>	8,52±1,79 <sup>bc</sup>	8,97±2,67 <sup>bc</sup>
Tinte C*	C	16,3±1,46 <sup>a</sup>	16,4±3,30 <sup>a</sup>	12,7±1,95 <sup>cd</sup>	11,3±1,77 <sup>d</sup>
	R	15,7±0,94 <sup>a</sup>	16,8±0,89 <sup>a</sup>	13,4±2,48 <sup>bc</sup>	12,4±1,07 <sup>cd</sup>
	RR	15,4±1,98 <sup>a</sup>	15,2±2,03 <sup>a</sup>	15,2±1,88 <sup>ab</sup>	11,8±1,75 <sup>cd</sup>
Tono H*	C	10,1±5,09 <sup>f</sup>	24,1±4,98 <sup>e</sup>	48,2±17,1 <sup>bc</sup>	73,8±3,57 <sup>a</sup>
	R	8,71±4,66 <sup>f</sup>	23,3±1,90 <sup>e</sup>	40,4±14,2 <sup>cd</sup>	57,6±19,4 <sup>b</sup>
	RR	10,6±3,94 <sup>f</sup>	25,1±3,39 <sup>e</sup>	36,4±14,1 <sup>d</sup>	53,6±19,0 <sup>b</sup>
pH	C	5,63±0,08 <sup>ab</sup>	5,64±0,10 <sup>ab</sup>	5,64±0,12 <sup>ab</sup>	5,55±0,26 <sup>b</sup>
	R	5,66±0,07 <sup>ab</sup>	5,61±0,12 <sup>ab</sup>	5,66±0,09 <sup>ab</sup>	5,62±0,21 <sup>ab</sup>
	RR	5,66±0,11 <sup>ab</sup>	5,67±0,14 <sup>ab</sup>	5,69±0,13 <sup>a</sup>	5,69±0,18 <sup>a</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Tabla 12.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la calidad microbiológica de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.

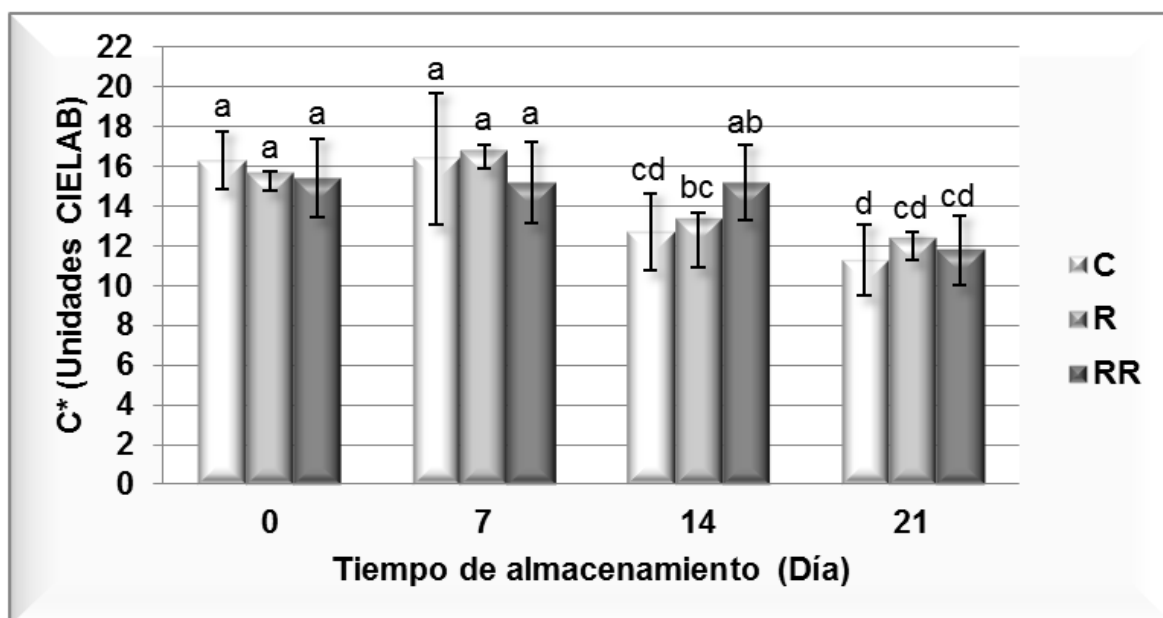
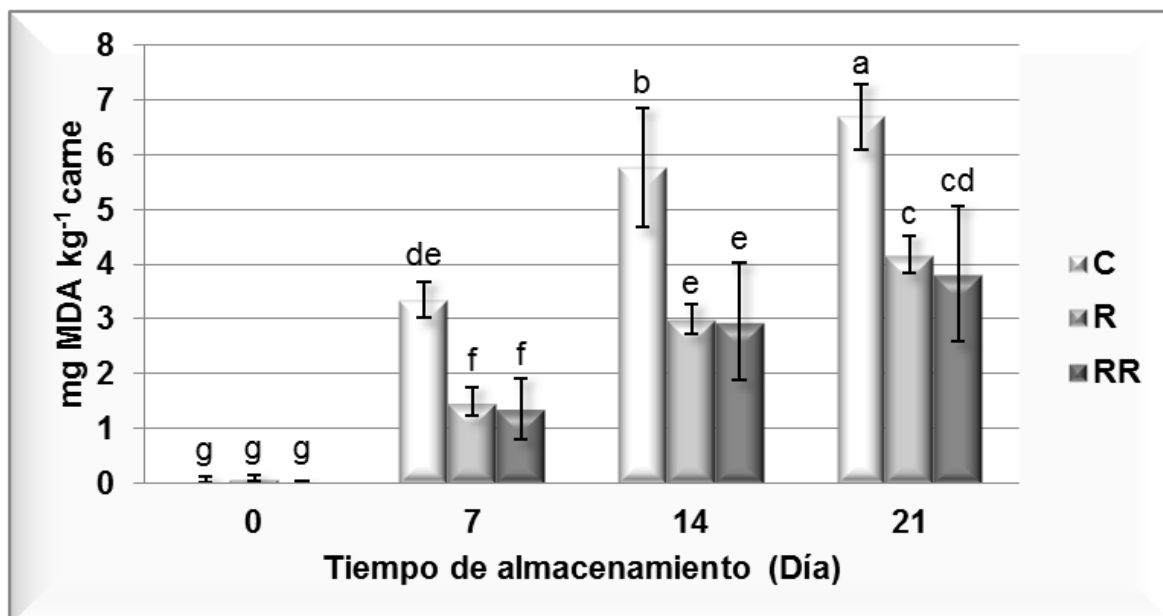
		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Aerobios mesófilos totales	C	1,63±1,19 <sup>ef</sup>	2,01±1,08 <sup>def</sup>	3,37±1,12 <sup>bc</sup>	4,97±1,79 <sup>a</sup>
	R	1,58±0,98 <sup>ef</sup>	1,61±1,44 <sup>ef</sup>	2,72±0,94 <sup>cd</sup>	4,84±0,80 <sup>a</sup>
	RR	1,17±0,86 <sup>f</sup>	1,31±0,88 <sup>f</sup>	2,52±0,53 <sup>cde</sup>	3,72±0,94 <sup>b</sup>
Psicrófilos totales	C	1,64±1,25 <sup>fg</sup>	1,84±1,26 <sup>efg</sup>	3,76±2,26 <sup>bcd</sup>	5,31±1,87 <sup>a</sup>
	R	1,07±1,22 <sup>g</sup>	1,36±1,45 <sup>fg</sup>	2,56±1,66 <sup>def</sup>	4,74±1,08 <sup>ab</sup>
	RR	1,06±0,97 <sup>g</sup>	1,63±0,87 <sup>fg</sup>	3,11±1,05 <sup>cde</sup>	4,03±1,41 <sup>bc</sup>
Mohos y Levaduras	C	<1	<1	2,89±1,93 <sup>bc</sup>	4,01±1,44 <sup>a</sup>
	R	<1	<1	2,18±1,53 <sup>cd</sup>	3,57±1,33 <sup>ab</sup>
	RR	<1	<1	1,67±1,08 <sup>de</sup>	2,94±1,58 <sup>bc</sup>
Enterobacterias	C	<1	<1	3,01±1,86 <sup>ab</sup>	3,50±2,23 <sup>a</sup>
	R	<1	<1	2,69±1,64 <sup>ab</sup>	3,76±1,58 <sup>a</sup>
	RR	<1	<1	2,02±1,39 <sup>b</sup>	3,11±1,89 <sup>ab</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

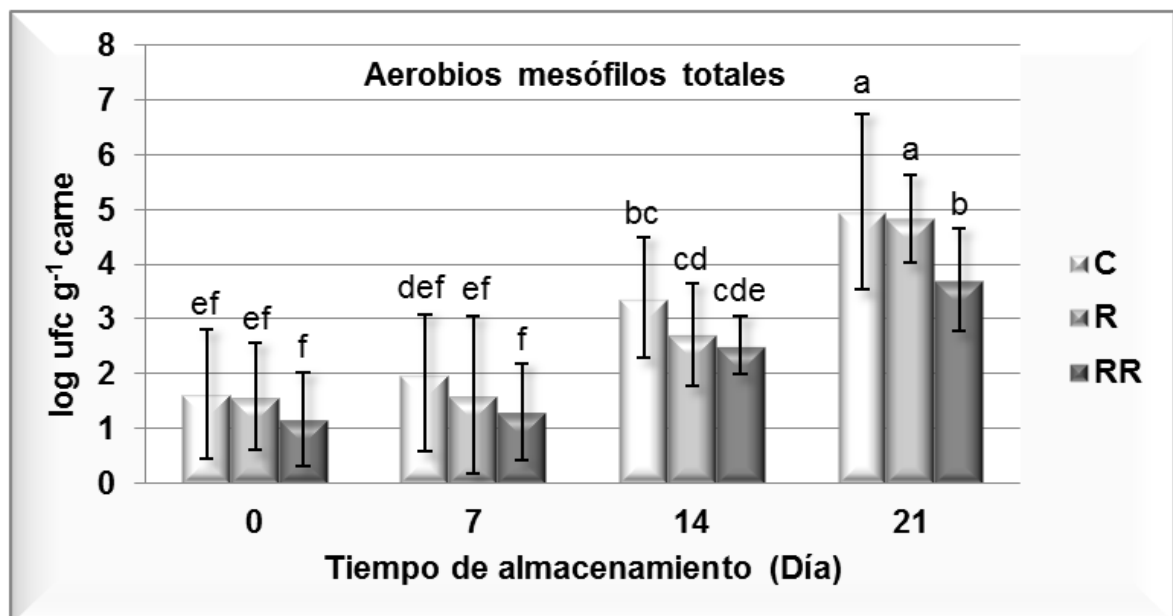
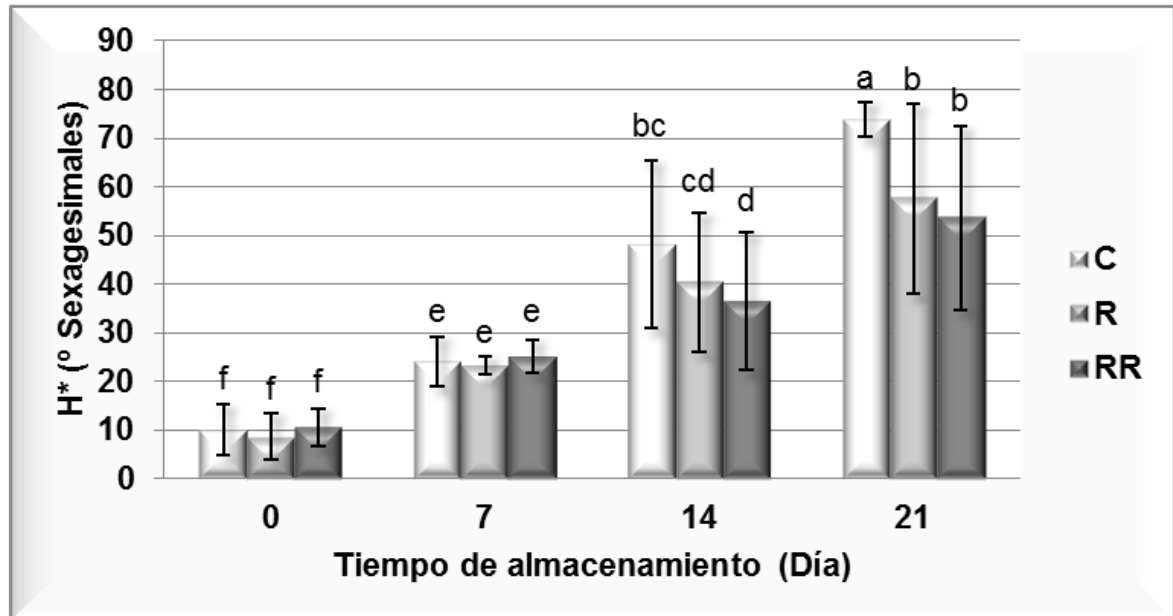
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figuras 23.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los valores medios de TBARS y de tinte (C\*) de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



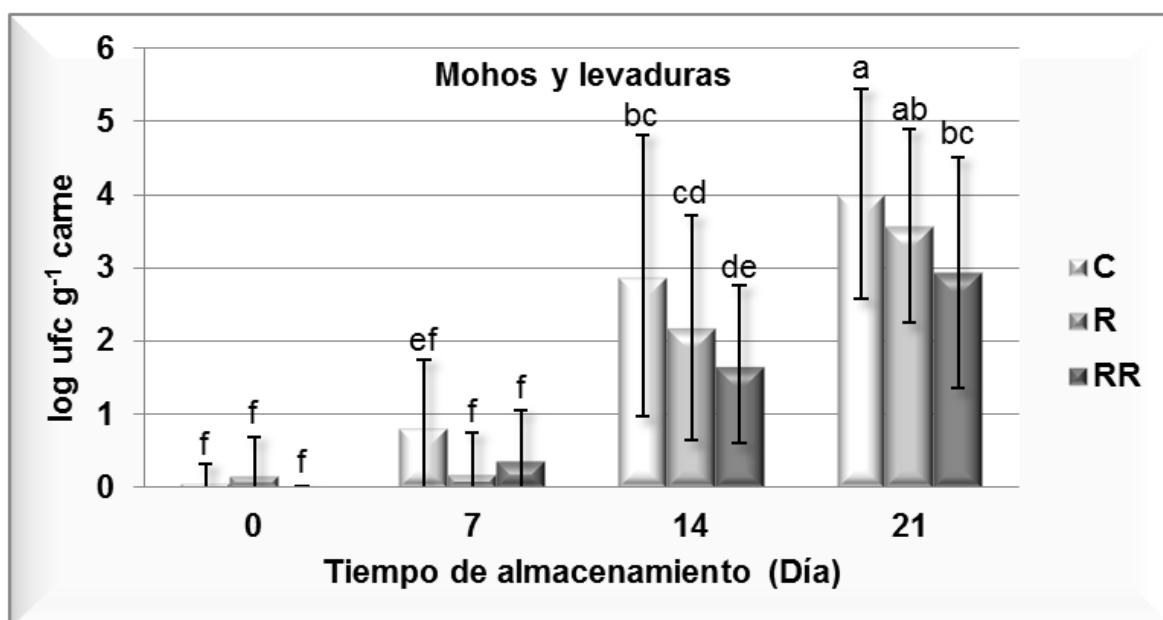
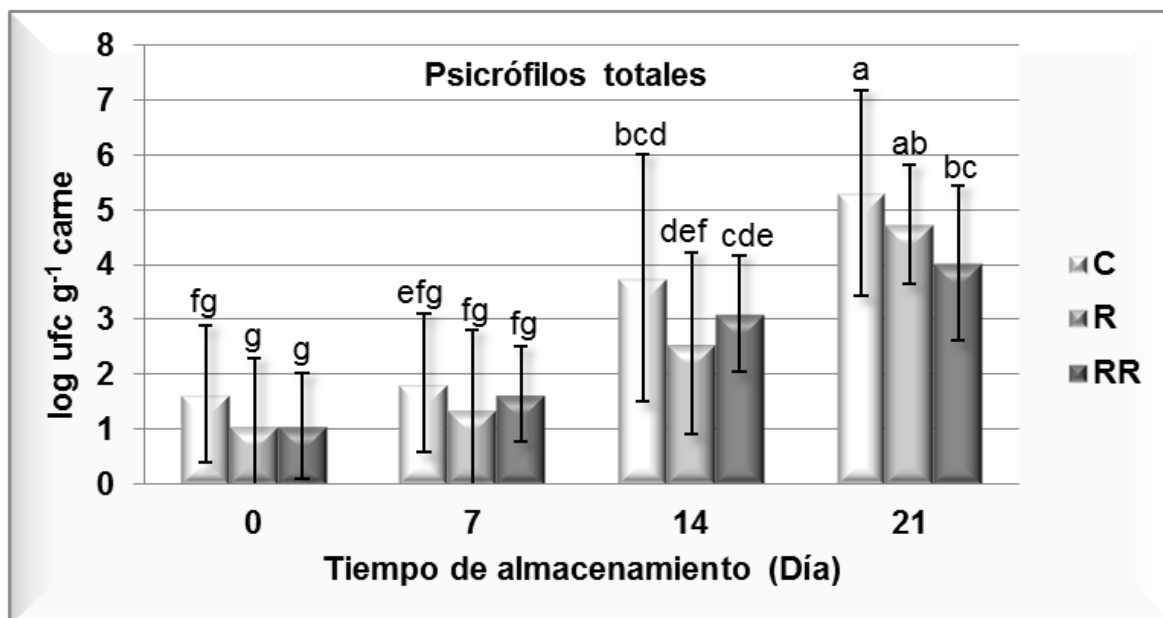
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figuras 24.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 sobre los valores medios del ángulo de tono o matiz ( $H^*$  o Hue) y de los recuentos medios de bacterias aerobias mesófilas de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figuras 25.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los recuentos medios de bacterias psicrófilas y de mohos y levaduras de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

La **Tabla 13** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los diferentes atributos sensoriales analizados en el lomo crudo de cordero suplementado o no con 600 mg de ER 2:1 por kg de pienso. En general, el tiempo de almacenamiento tuvo un mayor impacto ( $P \leq 0,01$ ) que la dieta sobre la apariencia y el olor de la carne cruda. No obstante, la dieta modificó ( $P \leq 0,05$ ) sobre todo el color del magro y de la grasa, el olor rancio, y, en menor medida, la frescura (valoración general de apariencia y olor), la presencia de exudados y el olor pútrido. En cambio, los atributos de olor propio, olor a moho y olor ácido no se vieron afectados ( $P > 0,05$ ) por la dieta. Sólo se observaron interacciones entre tratamientos para el olor pútrido.

La **Tabla 14** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los atributos de apariencia y olor del lomo crudo de cordero suplementado o no con 600 mg de ER 2:1 por kg de pienso. De acuerdo con el diseño del análisis sensorial, las puntuaciones de los diversos atributos sensoriales de la carne cruda “fresca” (color del magro y de la grasa, olor propio y frescura) disminuyeron de intensidad durante el almacenamiento, mientras que las puntuaciones de los atributos indeseables presentes en la carne cruda envejecida (exudados y olores ácido, a moho, pútrido y rancio) aumentaron de intensidad al avanzar el tiempo de almacenamiento.

Confirmando los datos obtenidos de color CIELAB, las notas medias de color magro y de la grasa fueron menores ( $P \leq 0,05$ ) en los lomos R y RR que en los lomos Control a partir del día 7 de almacenamiento, si bien no existieron diferencias ( $P > 0,05$ ) entre ambas notas medias de color para los dos niveles de suplementación ensayados. El efecto de la dieta sobre la valoración sensorial de exudados fue poco relevante, ya que la carne cruda apenas presentaba este defecto. Según la valoración sensorial del color, la suplementación dietética de madres y corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 contribuyó a estabilizar el color de la carne cruda desde los primeros días de almacenamiento (**Figura 26**).

Con relación al olor, otro importante aspecto a destacar es la reducción ( $P \leq 0,05$ ) de la nota media de olor rancio detectada por el panel a partir del día 7 en los lomos R y RR con respecto a los lomos Control, a pesar de que las notas medias de olor propio fueron similares ( $P > 0,05$ ) para los 3 tratamientos dietéticos

a cualquier tiempo de almacenamiento. A diferencia del color, las notas medias de olor propio y de olor rancio también fueron similares ( $P > 0,05$ ) para los lomos R y RR (**Figuras 26 y 27**). Por último, la presencia de otros olores anómalos en la carne cruda fue irrelevante, ya que en todos los casos se alcanzaron notas medias de olor ácido, pútrido y a moho muy próximas al mínimo de la escala utilizada. La aparición de un intenso olor rancio en la carne cruda almacenada en atmósferas hiperoxigenadas puede llegar a enmascarar el débil olor a suero típico de la carne fresca de cordero y otros olores presentes en la carne.

Coincidiendo con los valores de TBARS, la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 contribuyó por igual a retrasar la aparición del olor rancio característico y, por tanto, a prevenir la rancidez, en la carne cruda envasada en atmósfera hiperoxigenada. Como en el caso del color, la extensión de la suplementación a las madres no mejoró los resultados sobre prevención de la rancidez de la carne.

Finalmente, se procedió a estimar la vida comercial de la carne empleando ecuaciones de regresión entre la nota media de frescura (variable dependiente) y el tiempo de almacenamiento (variable independiente). De este modo fue posible predecir el tiempo de vida útil a partir de la pérdida gradual de frescura fuera de los 4 tiempos de control evaluados y determinar dicho tiempo con mayor precisión. Partiendo de datos reales de pérdida de frescura en el tiempo, se comprobó que las ecuaciones de regresión exponencial permitían un mejor ajuste del modelo comparadas con otras ecuaciones de regresión lineal y no lineal. El tiempo máximo de vida comercial correspondió al momento en el que los lomos aun presentaban la mitad de su nota inicial de frescura, lo cual fue extrapolado al momento límite de aceptación de la carne por parte de los consumidores.

La **Figura 28** recoge la estimación de la vida útil de los lomos crudos procedentes de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con ER 2:1. Así, el tiempo de vida comercial de los lomos Control, R y RR, envasados en atmósfera protectora 70/30  $\text{O}_2/\text{CO}_2$  y almacenados a una temperatura de  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  y una iluminación con luz fluorescente de 800 lx en una vitrina expositora, fue estimado en 7,9, 10,8 y 12,0 días, respectivamente.



En resumen, la suplementación dietética de las madres y/o los corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 incrementó la vida comercial de la carne cruda de cordero de 3 a 4 días aproximadamente. La incorporación de ER 2:1 al pienso mejoró la capacidad antioxidante y, en menor medida, antimicrobiana, endógena de la carne y permitió ralentizar el deterioro de ésta. La suplementación de la dieta los corderos de cebo permitió alcanzar este objetivo, mientras que la suplementación adicional de la dieta las madres durante la gestación y lactación apenas mejoró los resultados obtenidos.

**Tabla 13.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Color magro	8,16	***	119,2	***	1,16	N.S.
Color grasa	11,0	***	161,2	***	1,66	N.S.
Exudados	1,36	*	28,6	***	0,60	N.S.
Olor propio	0,41	N.S.	167,0	***	0,59	N.S.
Olor ácido	0,34	N.S.	23,8	***	0,43	N.S.
Olor mohó	1,17	N.S.	4,11	**	0,73	N.S.
Olor pútrido	3,84	*	16,1	***	2,34	*
Olor rancio	8,64	***	105,4	***	1,47	N.S.
Frescura	4,54	**	154,1	***	1,23	N.S.

Grados de libertad: Dieta (2); Tiempo (3); Dieta x tiempo (6).

Niveles de significación: \*\*\* P≤0,001; \*\* P≤0,01; \* P≤0,05; N.S. P>0,05 (no significativo).

**Tabla 14.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.

		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Color magro	C	4,97±0,08 <sup>a</sup>	3,49±0,33 <sup>d</sup>	2,00±0,76 <sup>g</sup>	1,19±0,16 <sup>h</sup>
	R	4,88±0,13 <sup>ab</sup>	3,89±0,46 <sup>cd</sup>	2,66±0,90 <sup>ef</sup>	1,88±1,17 <sup>g</sup>
	RR	4,93±0,12 <sup>ab</sup>	4,32±0,21 <sup>bc</sup>	2,83±1,12 <sup>e</sup>	2,11±1,10 <sup>fg</sup>
Color grasa	C	4,98±0,05 <sup>a</sup>	3,20±0,31 <sup>cd</sup>	2,32±0,48 <sup>ef</sup>	1,71±0,33 <sup>g</sup>
	R	4,96±0,10 <sup>a</sup>	3,46±0,61 <sup>c</sup>	2,78±0,82 <sup>de</sup>	2,16±0,67 <sup>fg</sup>
	RR	4,97±0,07 <sup>a</sup>	4,13±0,25 <sup>b</sup>	3,05±0,69 <sup>cd</sup>	2,33±0,87 <sup>ef</sup>
Exudados	C	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,66±0,46 <sup>b</sup>	2,10±0,69 <sup>ab</sup>	2,43±1,02 <sup>a</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,68±0,39 <sup>b</sup>	1,81±0,45 <sup>b</sup>	1,93±0,57 <sup>b</sup>
	RR	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,69±0,38 <sup>b</sup>	1,89±0,46 <sup>b</sup>	2,11±0,48 <sup>ab</sup>
Olor propio	C	4,99±0,04 <sup>a</sup>	3,41±1,11 <sup>b</sup>	2,04±0,59 <sup>c</sup>	1,02±0,04 <sup>d</sup>
	R	4,94±0,19 <sup>a</sup>	3,82±1,15 <sup>b</sup>	2,15±0,54 <sup>c</sup>	1,11±0,26 <sup>d</sup>
	RR	4,99±0,05 <sup>a</sup>	3,30±0,99 <sup>b</sup>	2,29±0,97 <sup>c</sup>	1,27±0,55 <sup>d</sup>
Olor ácido	C	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,33±0,26 <sup>bc</sup>	1,66±0,52 <sup>ab</sup>	1,85±0,22 <sup>a</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,22±0,31 <sup>c</sup>	1,88±0,73 <sup>a</sup>	1,95±0,88 <sup>a</sup>
	RR	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,22±0,13 <sup>c</sup>	1,81±0,66 <sup>a</sup>	1,69±0,29 <sup>ab</sup>

Tabla 14 continuación.

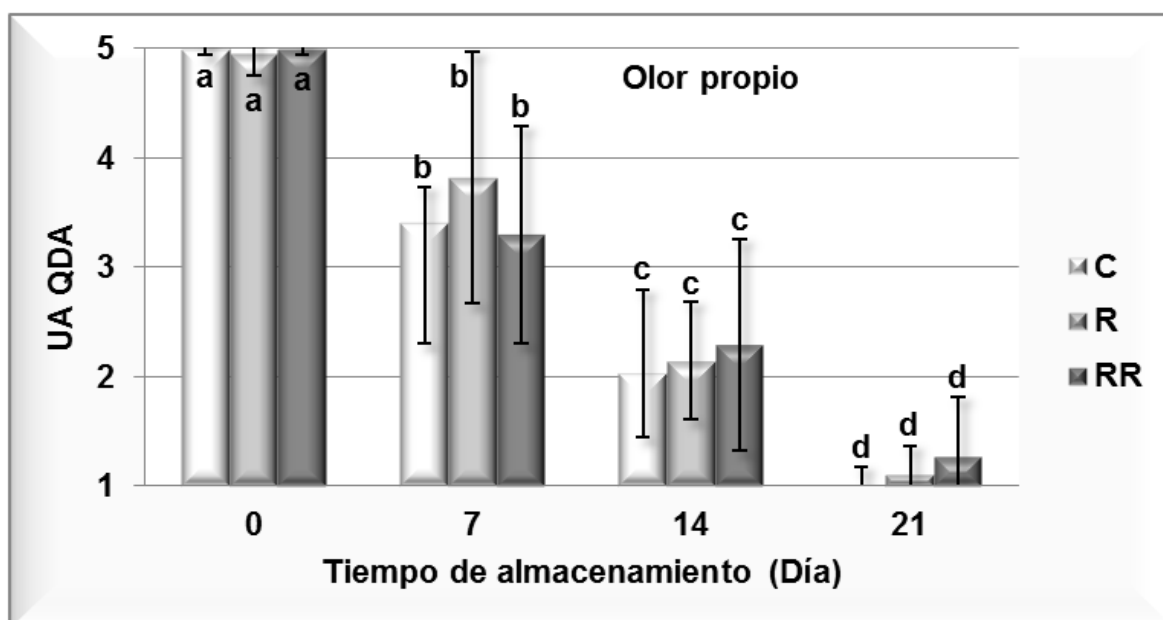
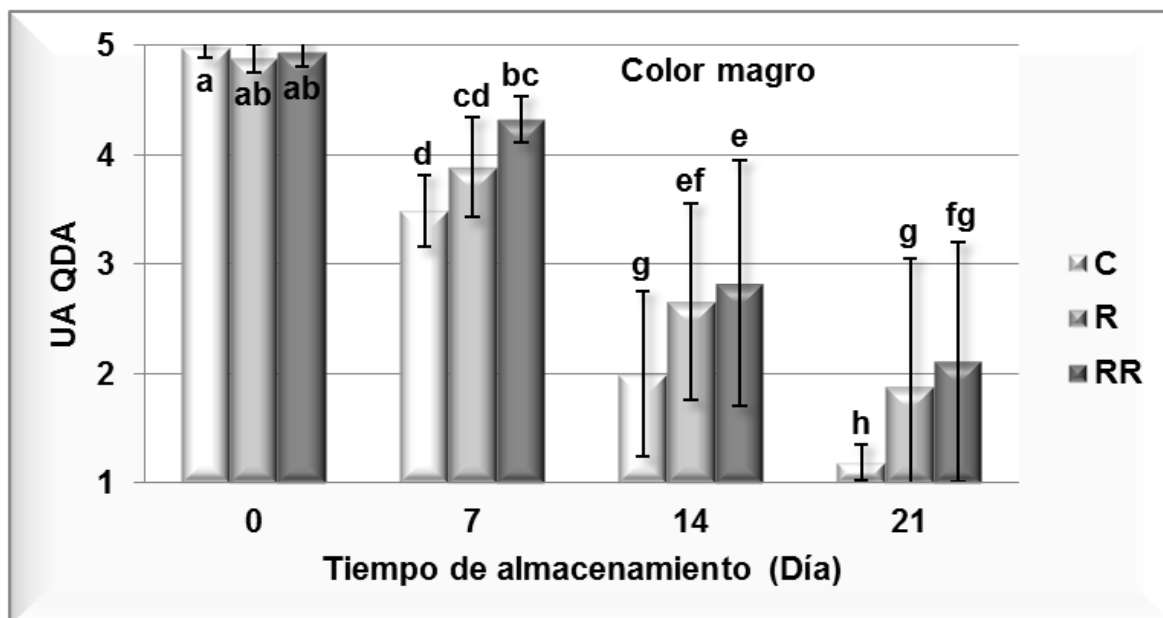
		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Olor mohoso	C	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,01±0,03 <sup>c</sup>	1,08±0,10 <sup>a</sup>	1,05±0,08 <sup>abc</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,04±0,06 <sup>abc</sup>	1,07±0,11 <sup>ab</sup>	1,03±0,07 <sup>abc</sup>
	RR	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,02±0,05 <sup>bc</sup>	1,02±0,04 <sup>abc</sup>	1,03±0,06 <sup>abc</sup>
Olor pútrido	C	1,00±0,00 <sup>d</sup>	1,02±0,05 <sup>cd</sup>	1,10±0,11 <sup>bc</sup>	1,28±0,19 <sup>a</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>d</sup>	1,00±0,00 <sup>d</sup>	1,08±0,13 <sup>bcd</sup>	1,08±0,10 <sup>bcd</sup>
	RR	1,00±0,00 <sup>d</sup>	1,01±0,05 <sup>cd</sup>	1,05±0,11 <sup>bcd</sup>	1,13±0,17 <sup>b</sup>
Olor rancio	C	1,00±0,00 <sup>e</sup>	1,75±0,67 <sup>d</sup>	3,07±0,67 <sup>b</sup>	4,10±0,31 <sup>a</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>e</sup>	1,25±0,28 <sup>de</sup>	2,34±0,50 <sup>c</sup>	3,31±0,79 <sup>b</sup>
	RR	1,00±0,00 <sup>e</sup>	1,45±0,54 <sup>de</sup>	2,41±0,87 <sup>c</sup>	3,15±1,01 <sup>b</sup>
Frescura	C	4,99±0,02 <sup>a</sup>	3,93±0,78 <sup>b</sup>	1,70±0,64 <sup>de</sup>	1,07±0,04 <sup>e</sup>
	R	5,00±0,00 <sup>a</sup>	4,39±0,34 <sup>ab</sup>	2,22±0,74 <sup>cd</sup>	1,60±0,26 <sup>de</sup>
	RR	4,99±0,05 <sup>a</sup>	4,46±0,65 <sup>b</sup>	2,54±1,18 <sup>c</sup>	1,93±1,12 <sup>cd</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

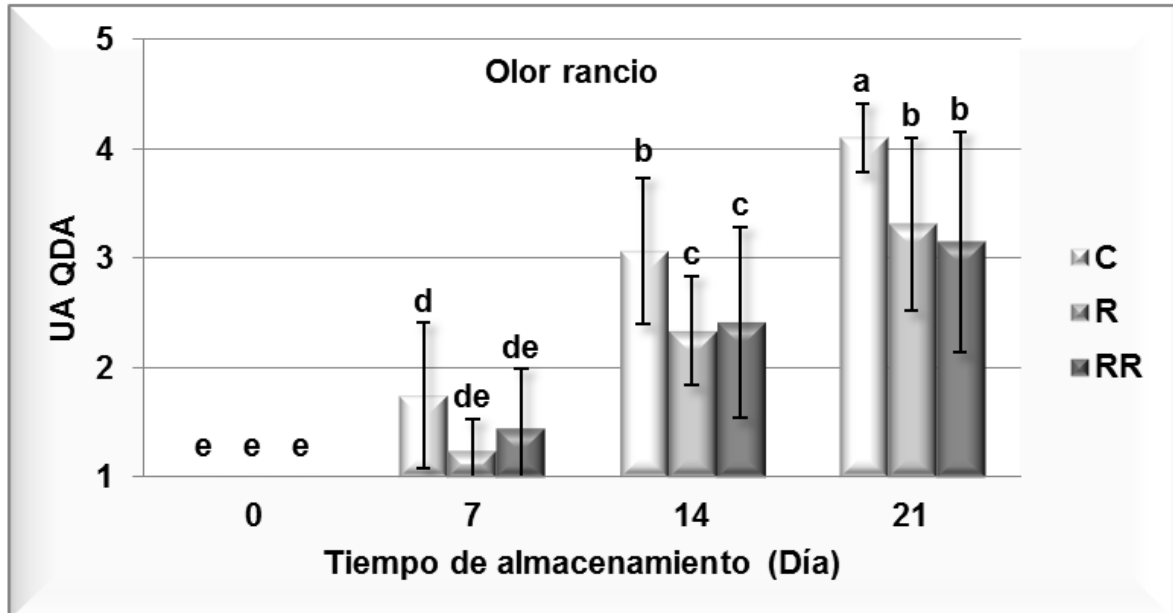
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figuras 26.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 sobre las notas medias de color magro y olor propio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



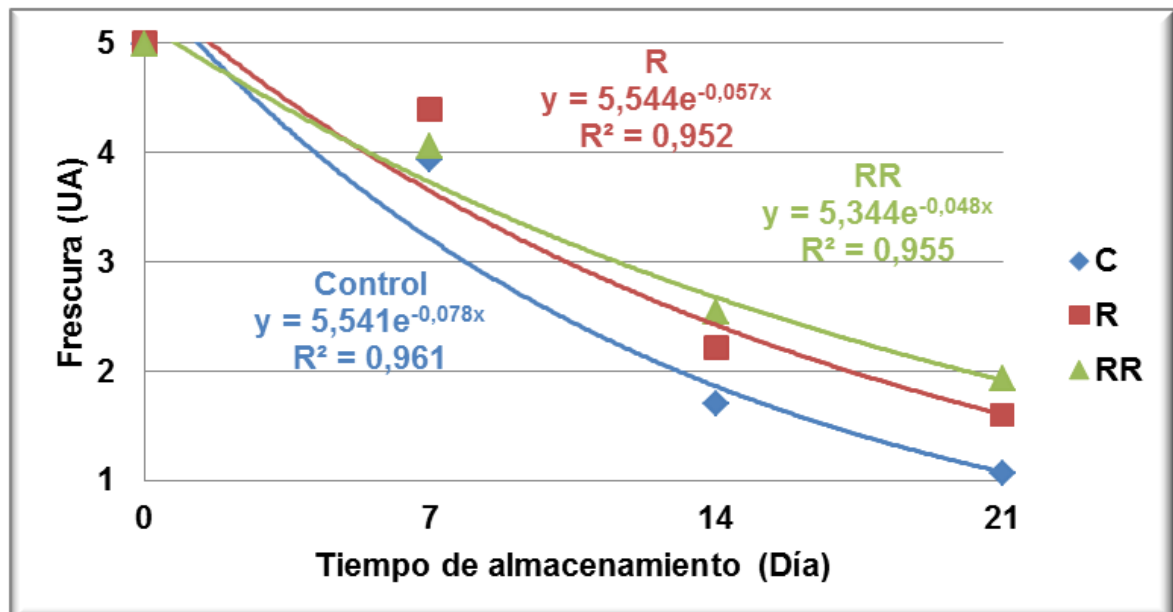
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figura 27.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 sobre las notas media de olor rancio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figura 28.** Estimación del tiempo de vida útil de los lomos crudos procedentes de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1, de acuerdo con su pérdida de frescura.



C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

$R^2$ : Coeficientes de regresión (exponencial).

### 5.1.2. Deterioro y vida comercial de carne cocinada.

La **Tabla 15** muestra los valores medios y desviaciones estándar para la composición proximal de las hamburguesas cocinadas procedentes de los corderos Control, R y RR. El porcentaje medio de grasa de las hamburguesas tras el cocinado estuvo alrededor del 7%, lo que indicaría que se trata de un preparado cárnico bastante magro, constituido principalmente por grasa infiltrada.

La suplementación dietética con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  ER 2:1 no afectó ( $P>0,05$ ) a los porcentajes medios de humedad, grasa y proteína total de las hamburguesas y, por tanto, no existieron diferencias de composición proximal entre tratamientos.

**Tabla 15.** Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) de las hamburguesas cocinadas (día 0 de almacenamiento) procedentes de corderos con diferentes niveles de suplementación dietética con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1.

	% Humedad <i>M±D</i>	% Grasa <i>M±D</i>	% Proteína <i>M±D</i>
C	66,6 ± 2,68	6,67 ± 1,19	24,2 ± 2,05
R	65,6 ± 1,47	7,33 ± 1,06	23,7 ± 1,86
RR	65,2 ± 2,09	7,59 ± 1,66	22,7 ± 1,54

*M±D*: Media ± desviación estándar.

C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

La **Tabla 16** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los valores de TBARS y color CIELAB de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos suplementados o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 2:1 por  $\text{kg}$  de pienso. Como en el caso del lomo crudo, el tiempo de exposición tuvo un mayor impacto ( $P\leq 0,05$ ) que la dieta sobre el valor de TBARS y el color objetivo de las hamburguesas cocinadas, observándose interacción entre ambos tratamientos sólo para la coordenada a\*.

Con independencia del periodo de administración, la suplementación de la dieta con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 modificó ( $P \leq 0,001$ ) las coordenadas  $a^*$ ,  $C^*$  y  $H^*$ , mientras que las coordenadas  $L^*$  y  $b^*$  y el índice TBARS no se vieron afectados ( $P > 0,05$ ).

La **Tabla 17** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los valores de TBARS y color CIELAB de las hamburguesas cocinadas de cordero suplementado o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 2:1 por  $\text{kg}$  de pienso. Como puede apreciarse en la **Figura 29**, las hamburguesas cocinadas experimentaron una intensa oxidación lipídica, asociada a cierta decoloración y oscurecimiento (aumento de  $H^*$  y descenso de  $C^*$ ) durante su exposición en refrigeración, aerobiosis e iluminación. Por tanto, las condiciones de exposición (catering) ensayadas ejercieron un fuerte efecto prooxidante sobre la carne picada cocinada.

Esto quedó confirmado por el hecho de que todas las hamburguesas mostraron valores medios similares ( $P > 0,05$ ) de TBARS, independientemente del tratamiento dietético aplicado y del tiempo de almacenamiento transcurrido, y, por tanto, la suplementación dietética con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 no resultó efectiva para retrasar la oxidación lipídica en las hamburguesas cocinadas refrigeradas.

En cambio, la suplementación con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 contribuyó a retrasar el deterioro del color, al apreciarse mayores ( $P \leq 0,05$ ) valores medios de  $a^*$  y  $C^*$  y menores ( $P \leq 0,05$ ) valores medios de  $H^*$  en las hamburguesas procedentes de corderos suplementados desde el segundo día de almacenamiento (**Figuras 29 y 30**). No obstante, los valores medios de  $L^*$  y  $b^*$  fueron ( $P > 0,05$ ) similares para los 3 tratamientos dietéticos en cualquier día de control. Tampoco se observaron diferencias ( $P > 0,05$ ) entre hamburguesas R y RR en los valores medios de las coordenadas de color objetivo, por tanto, la suplementación de las madres con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 durante la gestación y la lactancia no mejoró la estabilización del color con respecto a la suplementación de los corderos durante el cebo.

Generalmente, los cambios cromáticos de la carne que no conllevan variaciones de luminosidad suelen ser más difíciles de apreciar visualmente, por lo que sería posible afirmar que la suplementación de la dieta con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  con ER 2:1 fue poco eficaz para estabilizar el color superficial de las hamburguesas cocinadas en contacto con el aire.

**Tabla 16.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 sobre la carne cocinada (hamburguesas) de cordero expuesta hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
TBARS	0,56	N.S.	257,6	***	0,73	N.S.
Luminosidad L*	0,50	N.S.	4,67	*	0,61	N.S.
Rojo-verde a*	13,4	***	321,1	***	3,13	*
Amarillo-azul b*	1,13	N.S.	156,1	***	1,19	N.S.
Tinte C*	13,0	***	584,7	***	4,27	N.S.
Tono H*	9,34	***	25,9	***	1,80	N.S.

Grados de libertad: Dieta (2); Tiempo (2); Dieta x tiempo (4).

Niveles de significación: \*\*\*  $P \leq 0,001$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*  $P \leq 0,05$ ; N.S.  $P > 0,05$  (no significativo).



**Tabla 17.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la oxidación de lípidos y el color objetivo de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.

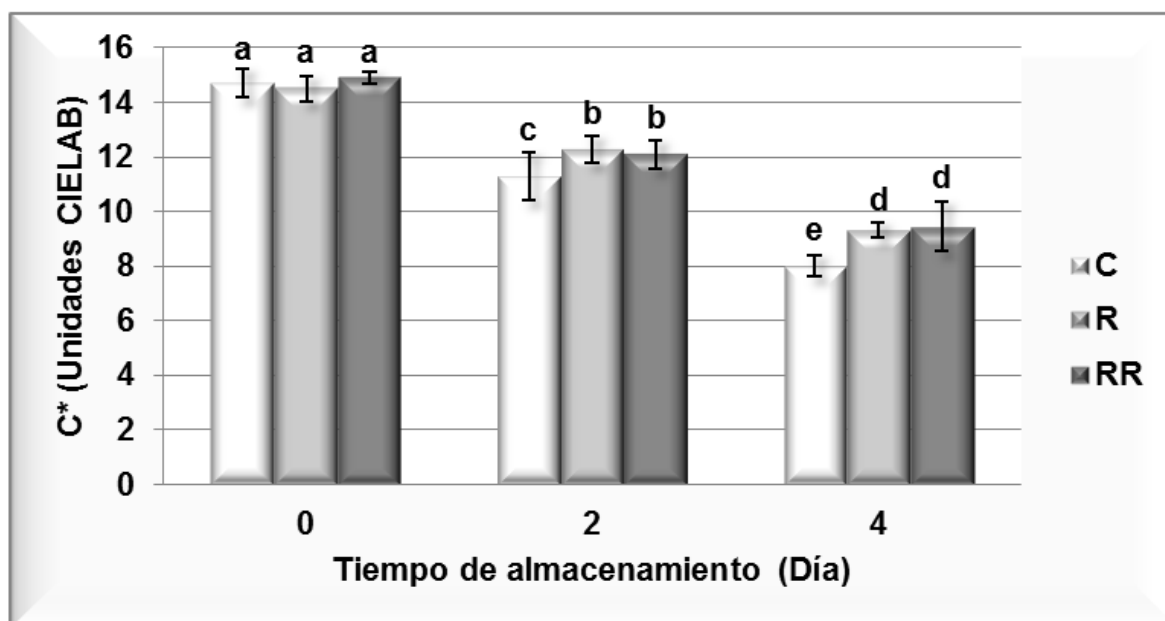
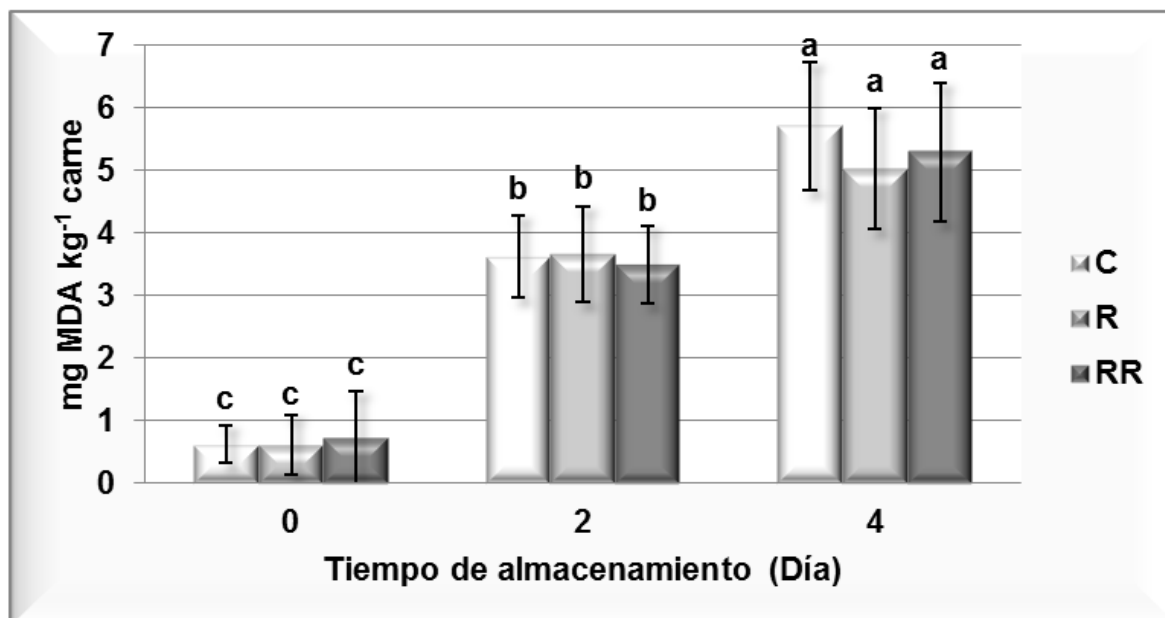
		<i>Día 0</i> <i>M ± D</i>	<i>Día 2</i> <i>M ± D</i>	<i>Día 4</i> <i>M ± D</i>
TBARS	C	0,62±0,30 <sup>c</sup>	3,63±0,66 <sup>b</sup>	5,72±1,02 <sup>a</sup>
	R	0,61±0,48 <sup>c</sup>	3,67±0,76 <sup>b</sup>	5,03±0,96 <sup>a</sup>
	RR	0,74±0,74 <sup>c</sup>	3,49±0,62 <sup>b</sup>	5,30±1,10 <sup>a</sup>
Luminosidad L*	C	51,2±0,65 <sup>bc</sup>	54,3±1,15 <sup>abc</sup>	56,4±0,68 <sup>ab</sup>
	R	50,7±1,40 <sup>c</sup>	53,9±0,77 <sup>abc</sup>	57,5±0,33 <sup>a</sup>
	RR	50,8±0,92 <sup>c</sup>	54,4±0,52 <sup>abc</sup>	52,8±16,8 <sup>abc</sup>
Rojo-verde a*	C	12,5±0,71 <sup>a</sup>	9,05±1,00 <sup>c</sup>	5,91±0,64 <sup>e</sup>
	R	12,4±0,56 <sup>a</sup>	10,3±0,97 <sup>b</sup>	7,30±0,98 <sup>d</sup>
	RR	12,8±0,16 <sup>a</sup>	10,2±0,71 <sup>b</sup>	7,73±1,18 <sup>d</sup>
Amarillo-azul b*	C	7,74±0,39 <sup>a</sup>	6,81±0,34 <sup>b</sup>	5,37±0,34 <sup>c</sup>
	R	7,55±0,38 <sup>a</sup>	6,70±0,39 <sup>b</sup>	5,73±0,59 <sup>c</sup>
	RR	7,62±0,35 <sup>a</sup>	6,49±0,53 <sup>b</sup>	5,36±0,65 <sup>c</sup>
Tinte C*	C	14,7±0,53 <sup>a</sup>	11,3±0,89 <sup>c</sup>	8,01±0,39 <sup>e</sup>
	R	14,5±0,47 <sup>a</sup>	12,3±0,49 <sup>b</sup>	9,31±0,26 <sup>d</sup>
	RR	14,9±0,20 <sup>a</sup>	12,1±0,51 <sup>b</sup>	9,46±0,92 <sup>d</sup>
Tono H*	C	31,9±2,37 <sup>cd</sup>	37,1±2,87 <sup>b</sup>	42,4±4,37 <sup>a</sup>
	R	31,4±2,09 <sup>d</sup>	33,2±1,93 <sup>cd</sup>	38,3±0,96 <sup>b</sup>
	RR	30,8±1,27 <sup>d</sup>	32,6±3,44 <sup>cd</sup>	35,1±6,00 <sup>bc</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

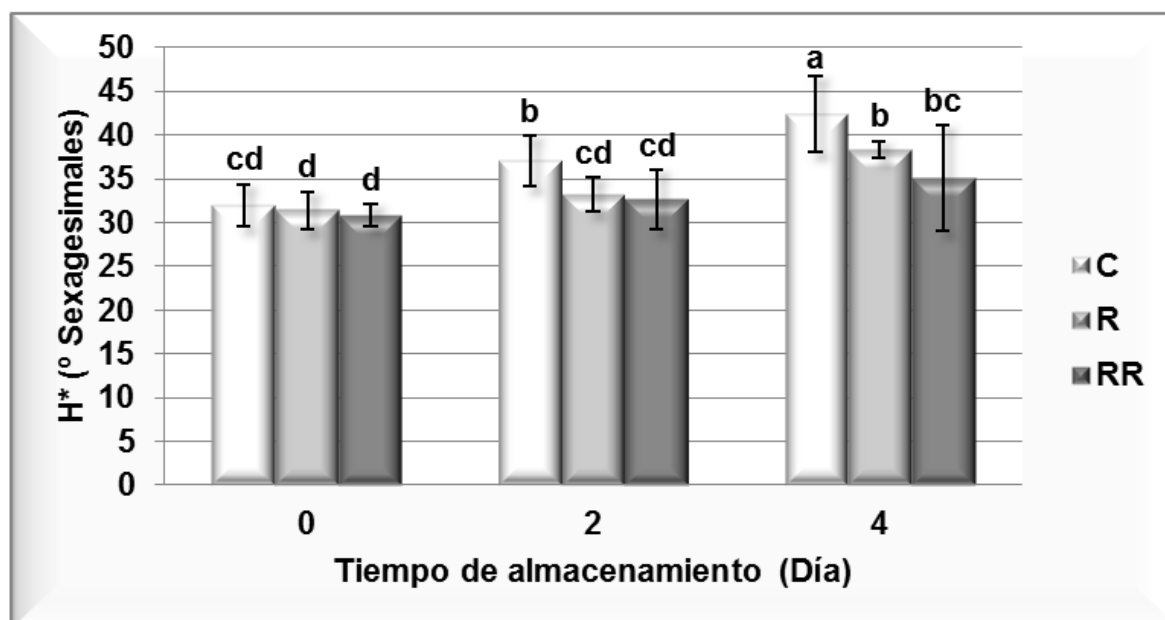
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figuras 29.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre el valor medio de TBARS y tinte (C\*) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figura 30.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 sobre el valor medio del ángulo de tono ( $H^*$ ) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

La **Tabla 18** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos suplementados o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 2:1 por  $\text{kg}$  de pienso. El tiempo de exposición tuvo un fuerte impacto ( $P < 0,001$ ) sobre todos los atributos sensoriales estudiados, que indicaría un rápido deterioro del color, el sabor y la textura de las hamburguesas. En cambio, la suplementación de la dieta con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 no afectó ( $P > 0,05$ ) a ninguno de los atributos analizados a ninguno de los tiempos de control.

La **Tabla 19** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos suplementados o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 2:1 por  $\text{kg}$  de pienso. La evaluación sensorial confirmó que la carne cocinada sufre una considerable decoloración

(oscurecimiento) durante el periodo de exposición, tal como ya indicaban los datos obtenidos de color CIELAB.

Así mismo, la carne cocinada sufre un fuerte deterioro del olor y sabor propios (**Figura 31**) debido en gran medida a la aparición de olores y sabores rancios y a recalentado (**Figuras 32 y 33**), detectados a partir del segundo día de exposición. Dichos cambios sensoriales suelen corresponder a fenómenos de oxidación de los lípidos de la carne debido al calentamiento, exposición al oxígeno, y posterior recalentamiento, tal como indicarían los elevados niveles de MDA obtenidos. También se produjo una alteración de la textura original de las hamburguesas, en concreto, una clara pérdida de jugosidad, y, en menor medida, un aumento de dureza, probablemente debido a la deshidratación gradual del producto.

No existieron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre la dietas Control, R y RR para ninguno de los valores medios de los diferentes atributos sensoriales evaluados, a ninguno de los tiempos de almacenamiento controlados. Por tanto, la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 resultó ineficaz para preservar la calidad sensorial de las hamburguesas cocinadas, probablemente debido al rápido deterioro sensorial que éstas sufrieron en las condiciones de catering ensayadas.

Este hecho se confirmó al estimar la vida comercial de las hamburguesas cocinadas mediante ecuaciones de regresión exponencial. La **Figura 34** recoge la estimación de la vida útil de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1. Según dicha estimación, la vida comercial máxima de las hamburguesas cocinadas, envasadas en aerobiosis y expuestas en una vitrina a  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $800 \text{ lx}$  fue de 1,8 días con independencia del tratamiento dietético.

Por tanto, la suplementación de las madres y/o los corderos de cebo con  $600 \text{ mg}$  de ER 2:1 por  $\text{kg}$  de pienso no consiguió aumentar la vida comercial de las hamburguesas cocinadas refrigeradas, expuestas en condiciones usuales de comercialización para catering y restauración.

**Tabla 18.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>TRAT</i>		<i>DÍA</i>		<i>TRAT x DÍA</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Color cordero cocinado	0,72	N.S.	128,4	***	1,02	N.S.
Olor cordero cocinado	0,34	N.S.	237,2	***	0,21	N.S.
Olor rancio frío	0,55	N.S.	109,2	***	0,97	N.S.
Olor rancio caliente	0,49	N.S.	297,9	***	0,94	N.S.
Olor recalentado	0,21	N.S.	199,9	***	0,62	N.S.
Sabor cordero cocinado	0,11	N.S.	130,3	***	0,55	N.S.
Sabor rancio frío	0,03	N.S.	84,4	***	1,38	N.S.
Sabor rancio caliente	0,07	N.S.	270,7	***	0,29	N.S.
Sabor recalentado	0,59	N.S.	308,3	***	0,21	N.S.
Terneza	0,19	N.S.	44,7	***	0,20	N.S.
Jugosidad	0,04	N.S.	154,8	***	0,86	N.S.
Frescura	0,38	N.S.	417,6	***	0,15	N.S.

Grados de libertad: Dieta (2); Tiempo (2); Dieta x tiempo (4).

Niveles de significación: \*\*\* P≤0,001; \*\* P≤0,01; \* P≤0,05; N.S.: no significativo.

**Tabla 19.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1 sobre la calidad sensorial de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.

		<i>Día 0</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 4</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Color cordero cocinado	C	4,14±0,29 <sup>a</sup>	3,39±0,21 <sup>b</sup>	2,83±0,42 <sup>c</sup>
	R	4,28±0,23 <sup>a</sup>	3,52±0,20 <sup>b</sup>	2,72±0,22 <sup>c</sup>
	RR	4,32±0,31 <sup>a</sup>	3,26±0,41 <sup>b</sup>	2,60±0,39 <sup>c</sup>
Olor cordero cocinado	C	4,53±0,28 <sup>a</sup>	3,02±0,45 <sup>b</sup>	2,31±0,39 <sup>c</sup>
	R	4,68±0,07 <sup>a</sup>	3,19±0,44 <sup>b</sup>	2,32±0,20 <sup>c</sup>
	RR	4,56±0,32 <sup>a</sup>	3,19±0,47 <sup>b</sup>	2,25±0,28 <sup>c</sup>
Olor rancio frío	C	1,01±0,02 <sup>d</sup>	2,03±0,35 <sup>c</sup>	2,79±0,34 <sup>ab</sup>
	R	1,14±0,00 <sup>d</sup>	2,61±0,41 <sup>bc</sup>	3,11±0,34 <sup>a</sup>
	RR	1,03±0,05 <sup>d</sup>	2,00±0,27 <sup>c</sup>	2,85±0,26 <sup>ab</sup>
Olor rancio caliente	C	1,01±0,02 <sup>d</sup>	2,03±0,35 <sup>c</sup>	2,79±0,34 <sup>ab</sup>
	R	1,04±0,05 <sup>d</sup>	2,05±0,39 <sup>c</sup>	2,60±0,32 <sup>b</sup>
	RR	1,03±0,05 <sup>d</sup>	2,00±0,27 <sup>c</sup>	2,85±0,26 <sup>ab</sup>
Olor recalentado	C	1,04±0,09 <sup>c</sup>	2,09±0,31 <sup>b</sup>	2,70±0,45 <sup>a</sup>
	R	1,12±0,00 <sup>c</sup>	1,94±0,52 <sup>b</sup>	2,70±0,21 <sup>a</sup>
	RR	1,05±0,04 <sup>c</sup>	2,17±0,26 <sup>b</sup>	2,71±0,47 <sup>a</sup>
Sabor cordero cocinado	C	4,55±0,20 <sup>a</sup>	2,83±0,48 <sup>b</sup>	2,23±0,42 <sup>c</sup>
	R	4,50±0,08 <sup>a</sup>	3,11±0,50 <sup>b</sup>	2,16±0,15 <sup>c</sup>
	RR	4,34±0,60 <sup>a</sup>	3,08±0,50 <sup>b</sup>	2,15±0,26 <sup>c</sup>
Sabor rancio frío	C	1,02±0,05 <sup>d</sup>	2,08±0,31 <sup>abc</sup>	2,85±0,30 <sup>ab</sup>
	R	1,15±0,00 <sup>d</sup>	2,37±0,44 <sup>bc</sup>	2,93±0,26 <sup>a</sup>
	RR	1,01±0,03 <sup>d</sup>	2,16±0,30 <sup>c</sup>	2,80±0,39 <sup>ab</sup>

Tabla 19 continuación.

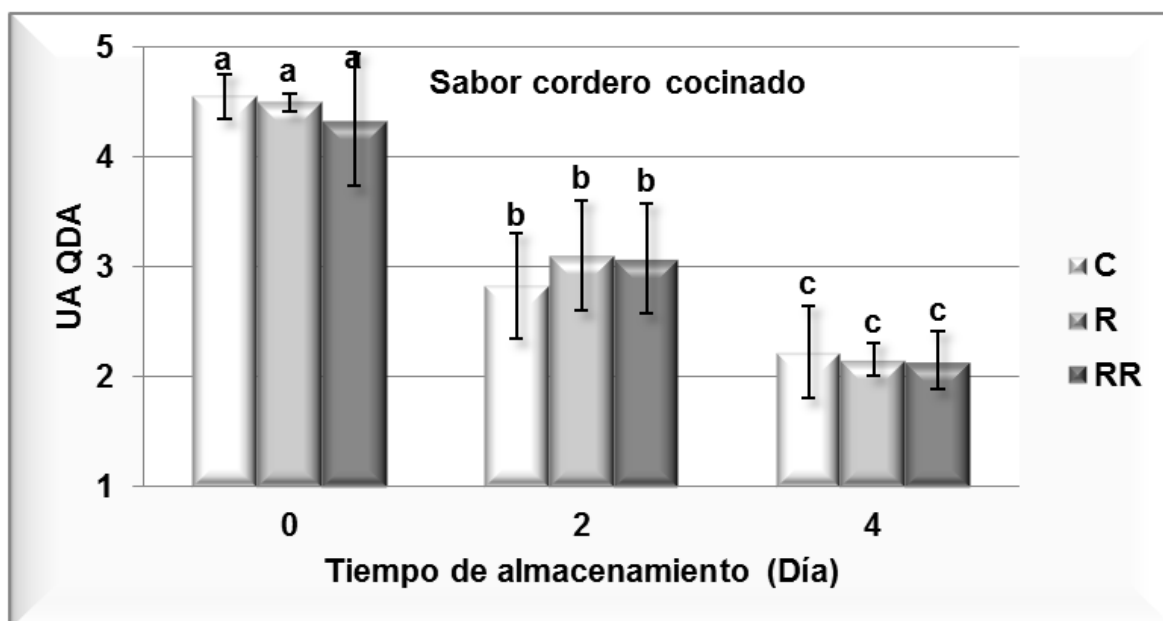
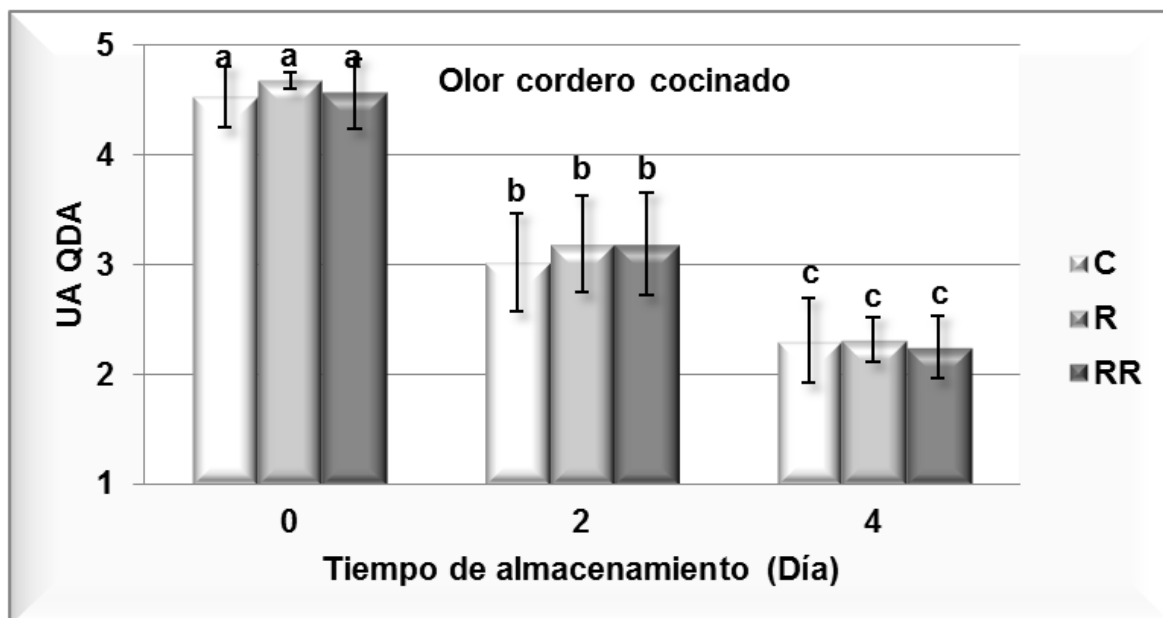
		<i>Día 0</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 4</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Sabor rancio caliente	C	1,02±0,05 <sup>c</sup>	2,08±0,31 <sup>b</sup>	2,85±0,30 <sup>a</sup>
	R	1,04±0,09 <sup>c</sup>	2,08±0,40 <sup>b</sup>	2,92±0,43 <sup>a</sup>
	RR	1,01±0,03 <sup>c</sup>	2,16±0,30 <sup>b</sup>	2,80±0,39 <sup>a</sup>
Sabor recalentado	C	1,04±0,03 <sup>c</sup>	2,17±0,28 <sup>b</sup>	2,80±0,39 <sup>ab</sup>
	R	1,12±0,12 <sup>c</sup>	2,16±0,12 <sup>b</sup>	2,89±0,35 <sup>a</sup>
	RR	1,05±0,05 <sup>c</sup>	2,15±0,20 <sup>b</sup>	2,75±0,44 <sup>ab</sup>
Terneza	C	3,69±0,58 <sup>a</sup>	2,80±0,29 <sup>bc</sup>	2,55±0,18 <sup>bc</sup>
	R	3,75±0,48 <sup>a</sup>	2,95±0,19 <sup>b</sup>	2,57±0,54 <sup>bc</sup>
	RR	3,80±1,04 <sup>a</sup>	2,85±0,21 <sup>bc</sup>	2,41±0,30 <sup>c</sup>
Jugosidad	C	3,83±0,45 <sup>a</sup>	2,60±0,15 <sup>b</sup>	2,20±0,18 <sup>c</sup>
	R	3,69±0,54 <sup>a</sup>	2,70±0,25 <sup>b</sup>	2,20±0,38 <sup>c</sup>
	RR	3,97±0,43 <sup>a</sup>	2,57±0,25 <sup>b</sup>	2,13±0,42 <sup>c</sup>
Frescura	C	3,83±0,45 <sup>a</sup>	2,60±0,15 <sup>b</sup>	2,20±0,18 <sup>c</sup>
	R	4,39±0,08 <sup>a</sup>	2,72±0,51 <sup>b</sup>	1,82±0,14 <sup>c</sup>
	RR	3,97±0,43 <sup>a</sup>	2,57±0,25 <sup>b</sup>	2,13±0,42 <sup>c</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para  $P \leq 0,05$  (Test LSD).

Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

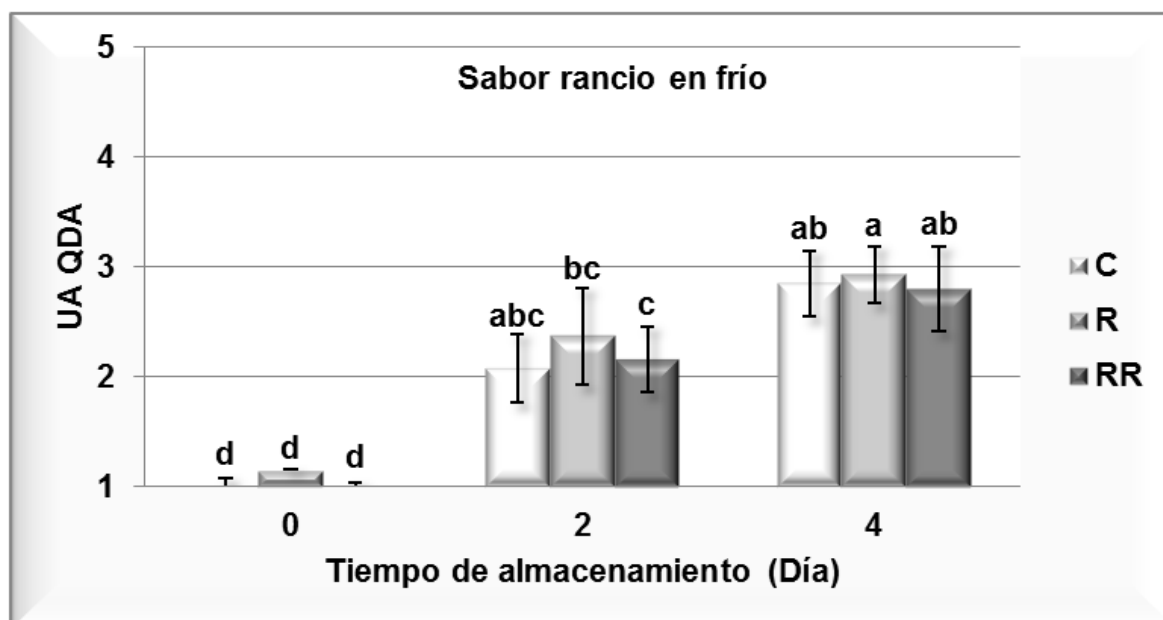
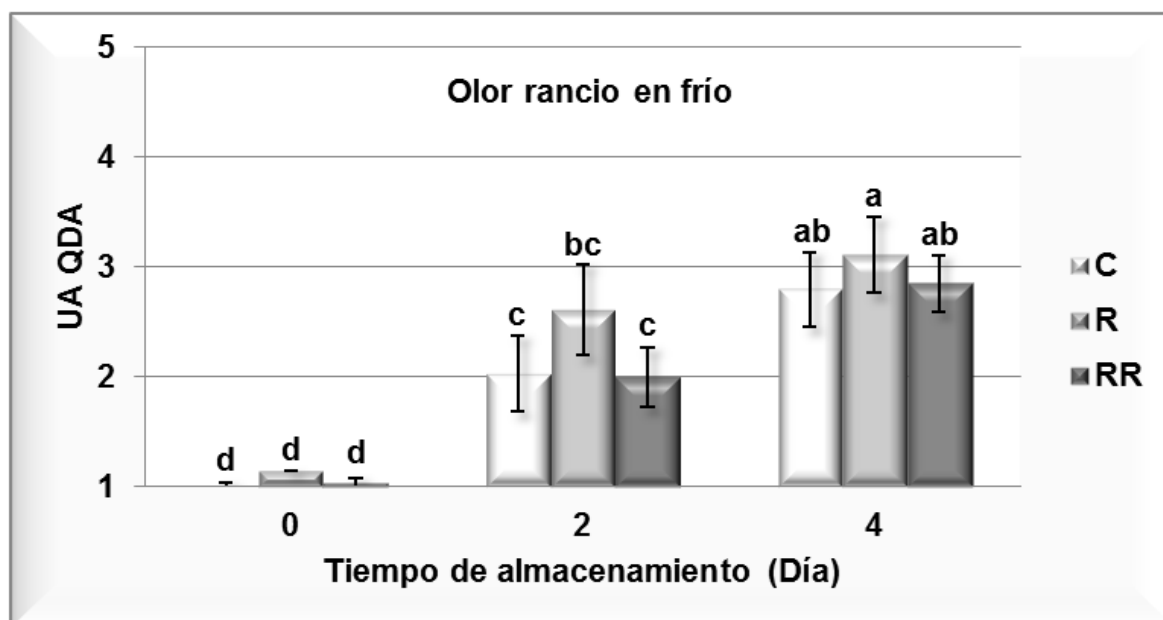
**Figuras 31.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 sobre las notas medias de olor y sabor propios de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

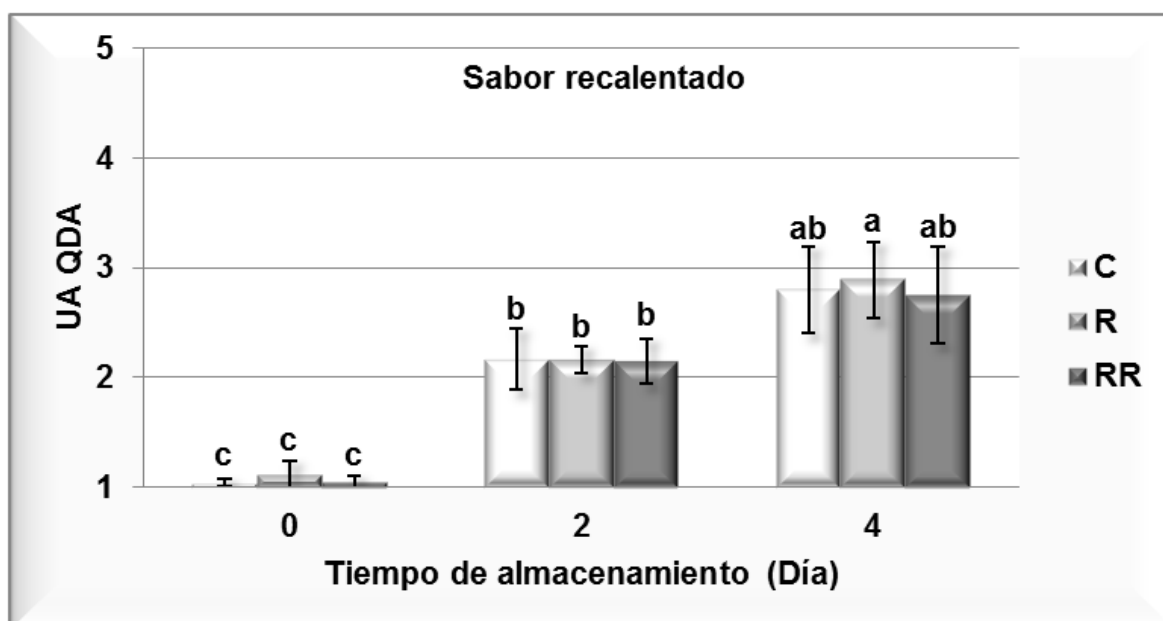
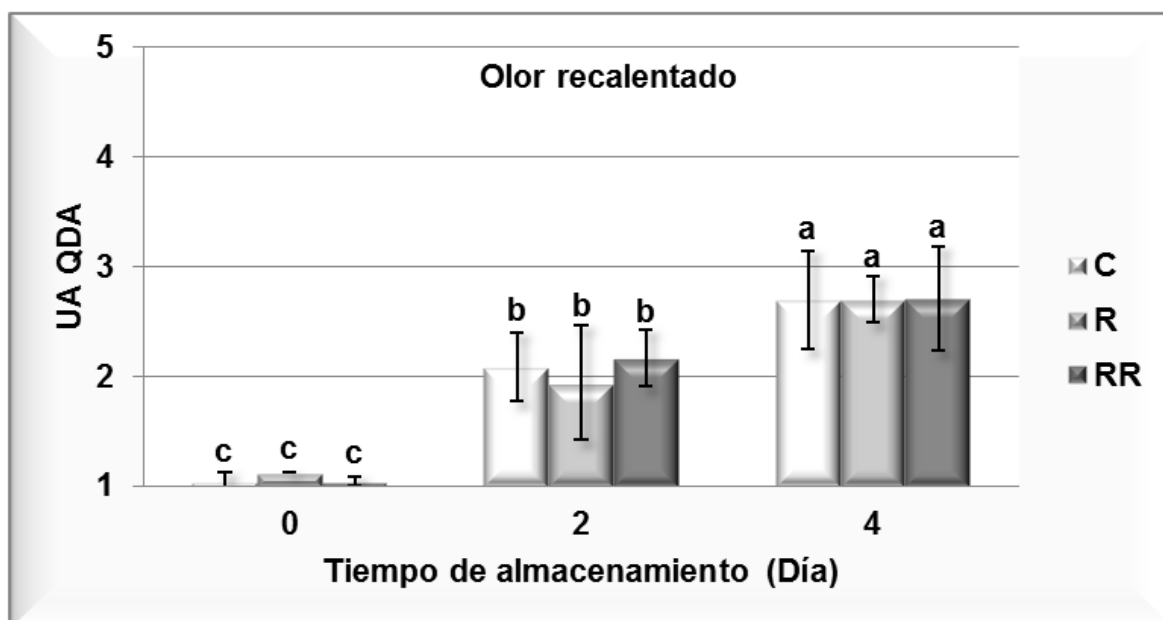


**Figuras 32.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 sobre las notas medias de olor y sabor rancio de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



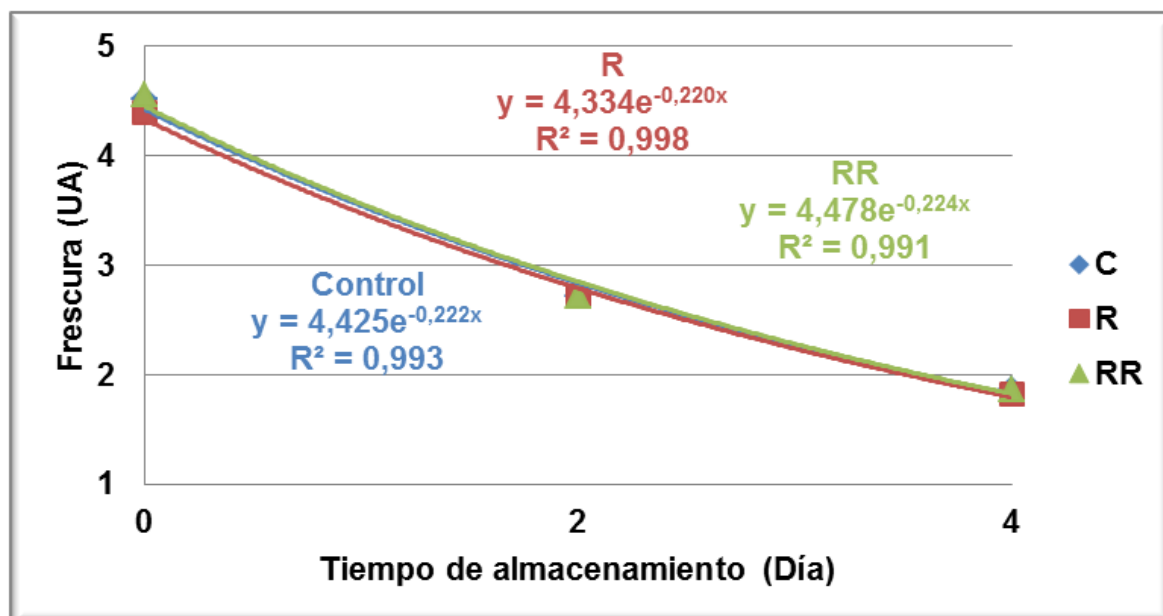
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figuras 33.** Efecto de la suplementación dietética de madres y/o corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 2:1 sobre las nota medias de olor y sabor a recalentado de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

**Figura 34.** Estimación del tiempo de vida útil de hamburguesas cocinadas de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 2:1, de acuerdo con su pérdida de frescura.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo; RR: gestación + lactación + cebo.

R<sup>2</sup>: Coeficientes de regresión (exponencial).

Llegados a este punto, no parece recomendable suplementar la dieta de las ovejas con 600 mg de ER 2:1 por kg de pienso durante la gestación y lactación, en la medida en que se pueden obtener carnes de cordero con una capacidad conservante endógena similar limitando dicha suplementación a los corderos de cebo, con el consiguiente beneficio económico por reducción de los costes de alimentación.

En cualquier caso, el empleo de 600 mg kg<sup>-1</sup> resultó muy efectivo para extender la vida útil de la carne cruda envasada en condiciones usuales de venta al por menor, pero, en cambio, no resultó eficaz para retrasar el deterioro de la carne picada cocinada, envasada y expuesta en condiciones de catering. Por este motivo, el tratamiento dietético fue reformulado (enriquecimiento del extracto con carnosol) en el ensayo siguiente para mejorar las prestaciones del extracto.

## 5.2. Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de extracto tipificado de romero 1:1 (ácido carnósico: carnosol).

### 5.2.1. Deterioro y vida comercial de la carne cruda.

La **Tabla 20** muestra los valores medios y desviaciones estándar para la composición proximal del lomo crudo procedente de corderos Control (corderos no suplementados) y R (corderos suplementados con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 durante el cebo). En la misma puede apreciarse que los porcentajes medios de humedad, grasa total y proteína total determinados en el día 0 fueron similares ( $P > 0,05$ ) para los dos tratamientos dietéticos.

**Tabla 20.** Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) del lomo (día 0 de almacenamiento) procedente de corderos suplementados dietéticamente con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1.

Dieta	% Humedad <i>M±D</i>	% Grasa <i>M±D</i>	% Proteína <i>M±D</i>
C	72,6 ± 1,77	2,15 ± 0,12	22,1 ± 3,16
R	74,0 ± 1,18	2,06 ± 0,08	23,4 ± 0,63

*M±D*: Media ± desviación estándar.

C: Control; R: cebo.

La **Tabla 21** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos determinados en el lomo crudo de cordero suplementado o no con 600 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Según los estadísticos F, el tiempo de almacenamiento afectó ( $P \leq 0,01$ ) más que la dieta a los diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos relacionados con la calidad de la carne, de forma similar a lo observado en el experimento 1. El valor

de TBARS también fue, de forma destacada, la variable más afectada por la dieta. Únicamente se observó interacción entre ambos tratamientos (dieta y tiempo de almacenamiento) para la coordenada de color  $C^*$  y el índice TBARS.

La suplementación de la dieta con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 modificó ( $P \leq 0,05$ ) los siguientes parámetros: índice TBARS, coordenadas  $a^*$ ,  $C^*$  y  $H^*$ , y recuentos de aerobios mesófilos totales y psicrófilos totales, mientras que dicha suplementación no tuvo efecto ( $P > 0,05$ ) sobre el resto de parámetros estudiados.

La **Tabla 22** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los parámetros físico-químicos de calidad del lomo crudo de cordero suplementado o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 1:1 por  $\text{kg}$  de pienso. Al igual que en el experimento 1, en la carne cruda de cordero se produjo un pardeamiento gradual y un incremento de la oxidación de lípidos durante el almacenamiento.

El valor medio de TBARS fue menor ( $P \leq 0,05$ ) en los lomos R con respecto a los lomos Control a partir del séptimo día de almacenamiento. Los valores de TBARS derivados de la suplementación con ER 1:1 fueron destacadamente más bajos, no alcanzando los lomos R hasta el día 14 valores alcanzados por los lomos Control ya en día 7. Al final del estudio las diferencias fueron todavía más destacadas, ya que los valores obtenidos por los lomos Control tras dos semanas no fueron alcanzados por los lomos R, ni siquiera tras tres semanas.

Por consiguiente, la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 también produjo una fuerte reducción de la oxidación lipídica en la carne cruda hiperoxigenada (**Figura 35**).

En cambio, el efecto de la dieta sobre las coordenadas de color objetivo fue mucho menos destacado, observándose diferencias ( $P \leq 0,05$ ) únicamente en el día 14, donde los lomos R obtuvieron valores más altos para las coordenadas  $a^*$  y  $C^*$ , y más bajos para la coordenada  $H^*$ . De todos modos este resultado es significativo, ya que, con independencia de la dieta y del tipo de envasado, las carnes rojas difícilmente pueden mantener dicho color durante 21 días en las condiciones de almacenamiento ensayadas.

Por lo tanto, la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 también contribuyó a estabilizar el color rojo de la carne, antes de que ésta comenzara a deteriorarse (**Figuras 35 y 36**).

Con respecto a los valores medios de pH, éstos se mantuvieron estables durante todo el almacenamiento, independientemente del tratamiento dietético aplicado.

La **Tabla 23** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los recuentos microbiológicos del lomo crudo de cordero suplementado o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 1:1 por  $\text{kg}$  de pienso. Al igual que en el experimento 1, en virtud del método de envasado, los recuentos microbiológicos de todas las muestras analizadas a lo largo de los 21 días de almacenamiento quedaron por debajo del límite máximo de aerobios mesófilos totales establecido para la carne cruda ( $6 - 7 \text{ log ufc g}^{-1}$ ).

Como cabía esperar, los recuentos microbiológicos de todas las muestras aumentaron durante el almacenamiento, aunque de forma moderada. Únicamente se observaron diferencias ( $P \leq 0,05$ ) asociadas a la dieta en los recuentos de aerobios mesófilos totales en día 0 y de psicrófilos totales en día 14, siendo dichos recuentos menores en los lomos R para ambos casos (**Figuras 36 y 37**).

Los recuentos medios de mohos y levaduras evolucionaron de forma similar ( $P > 0,05$ ) en los lomos Control y R (**Figura 37**). Las enterobacterias sólo se detectaron a partir del día 14, no variando sus recuentos ( $P > 0,05$ ) por el tratamiento dietético.

En base a los resultados obtenidos mediante el análisis microbiológico, la suplementación de los corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 únicamente permitió incrementar de forma moderada la capacidad antimicrobiana endógena de la carne cruda. Corroborando los resultados del experimento 1, la efectividad antimicrobiana del ER 1:1 pudo verse limitada debido al efecto inhibitor del crecimiento microbiano ejercido por la atmósfera rica en dióxido de carbono y oxígeno en el interior de los envases.

**Tabla 21.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los parámetros físico-químicos y microbiológicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
TBARS	231,6	***	533,2	***	28,8	***
Luminosidad L*	0,08	N.S.	8,53	***	0,29	N.S.
Rojo-verde a*	2,55	*	73,2	***	2,50	N.S.
Amarillo-azul b*	0,80	N.S.	121,5	***	0,84	N.S.
Tinte C*	2,49	*	74,8	***	2,92	*
Tono H*	2,24	*	75,0	***	1,00	N.S.
pH	0,07	N.S.	1,40	N.S.	0,41	N.S.
Aerobios mesófilos totales	6,96	*	6,03	**	0,60	N.S.
Psicrófilos totales	4,50	*	48,7	***	0,10	N.S.
Mohos y Levaduras	0,59	N.S.	38,6	***	0,26	N.S.
Enterobacterias	0,98	N.S.	5,17	**	0,62	N.S.

Grados de libertad: Dieta (1); Tiempo (3); Dieta x tiempo (3).

Niveles de significación: \*\*\* P≤0,001; \*\* P≤0,01; \* P≤0,05; N.S. P>0,05 (no significativo).

**Tabla 22.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los parámetros físico-químicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.

		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
TBARS	C	0,02±0,01 <sup>e</sup>	4,63±1,11 <sup>c</sup>	7,49±0,23 <sup>a</sup>	7,37±0,41 <sup>a</sup>
	R	0,01±0,00 <sup>e</sup>	2,36±0,48 <sup>d</sup>	4,31±0,49 <sup>c</sup>	5,22±0,37 <sup>b</sup>
Luminosidad L*	C	36,8±1,91 <sup>c</sup>	40,0±1,63 <sup>abc</sup>	42,6±3,08 <sup>a</sup>	43,3±2,93 <sup>a</sup>
	R	38,3±3,26 <sup>bc</sup>	40,5±3,19 <sup>ab</sup>	42,2±3,68 <sup>a</sup>	42,9±5,28 <sup>a</sup>
Rojo-verde a*	C	18,8±1,25 <sup>a</sup>	18,5±1,42 <sup>a</sup>	10,0±1,83 <sup>c</sup>	9,23±2,36 <sup>c</sup>
	R	17,5±0,99 <sup>a</sup>	19,5±2,22 <sup>a</sup>	13,0±2,75 <sup>b</sup>	10,1±3,17 <sup>c</sup>
Amarillo-azul b*	C	-1,84±1,32 <sup>d</sup>	3,40±0,92 <sup>c</sup>	5,27±0,71 <sup>ab</sup>	6,28±0,99 <sup>a</sup>
	R	-1,93±1,15 <sup>d</sup>	3,84±1,22 <sup>c</sup>	4,38±1,49 <sup>bc</sup>	5,69±1,69 <sup>a</sup>
Tinte C*	C	18,9±1,16 <sup>ab</sup>	18,8±1,51 <sup>ab</sup>	11,4±1,70 <sup>d</sup>	11,3±1,83 <sup>d</sup>
	R	17,7±0,97 <sup>b</sup>	19,8±2,33 <sup>a</sup>	13,9±2,03 <sup>c</sup>	11,9±2,12 <sup>d</sup>
Tono H*	C	-5,73±4,01 <sup>d</sup>	9,74±2,29 <sup>c</sup>	28,7±5,16 <sup>a</sup>	34,4±8,59 <sup>a</sup>
	R	-6,30±3,44 <sup>d</sup>	10,9±2,29 <sup>c</sup>	20,1±10,3 <sup>b</sup>	30,9±13,8 <sup>a</sup>
pH	C	5,65±0,15	5,61±0,09	5,58±0,10	5,78±0,48
	R	5,64±0,05	5,63±0,07	5,62±0,08	5,68±0,20

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.



**Tabla 23.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la calidad microbiológica de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.

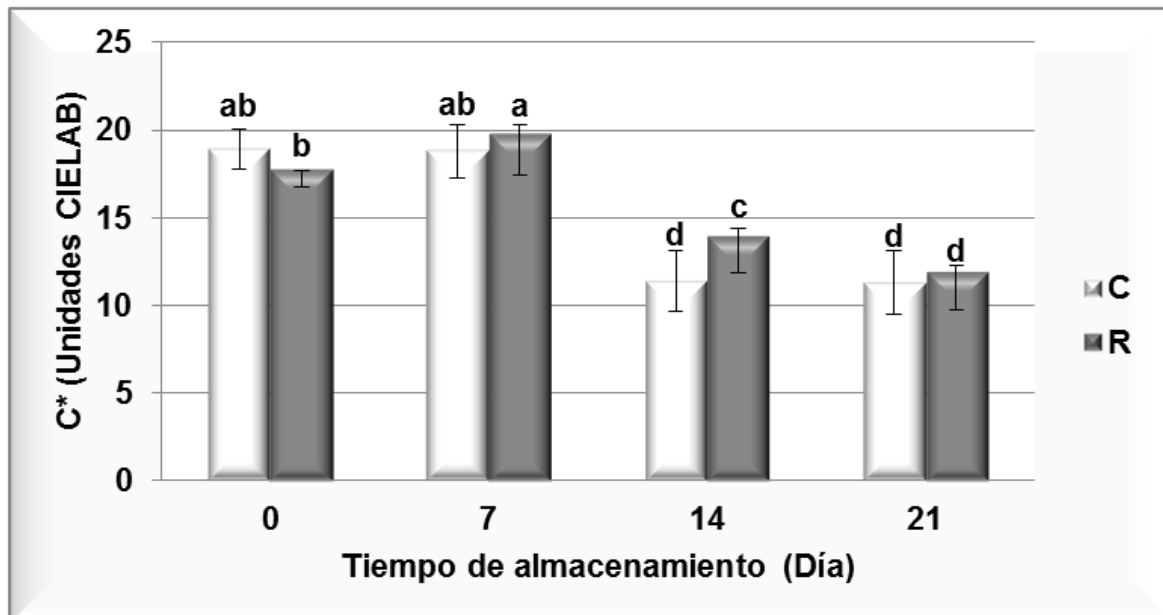
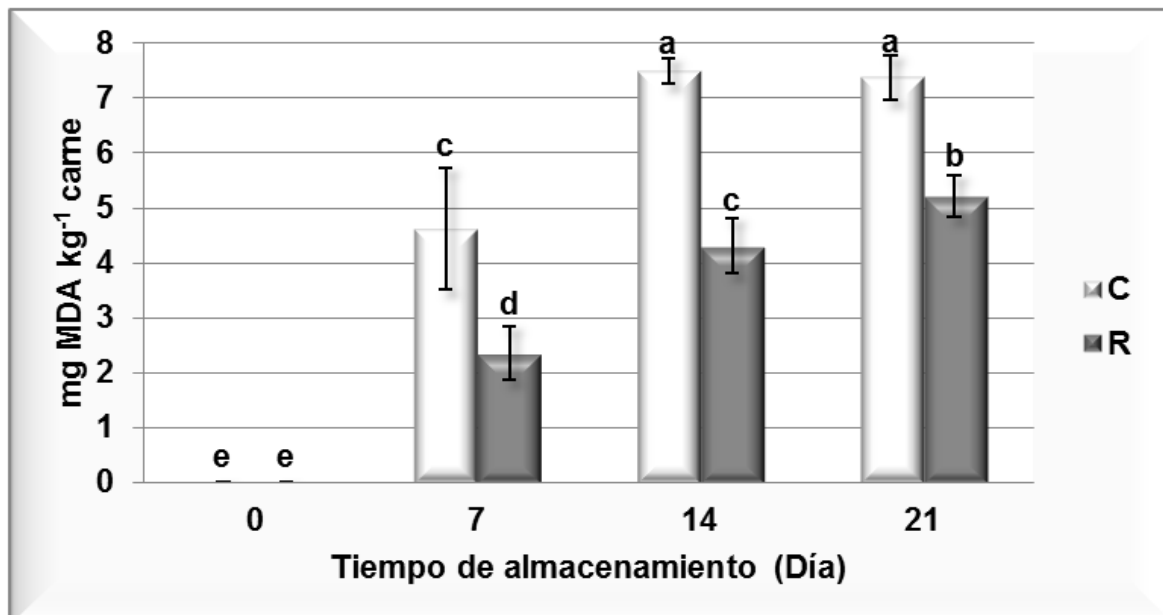
		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Aerobios mesófilos totales	C	2,84±0,77 <sup>bc</sup>	2,83±0,58 <sup>bc</sup>	3,13±0,67 <sup>abc</sup>	3,82±0,88 <sup>a</sup>
	R	1,71±1,18 <sup>d</sup>	2,33±1,08 <sup>cd</sup>	2,80±0,91 <sup>bc</sup>	3,35±0,92 <sup>ab</sup>
Psicrófilos totales	C	2,90±0,56 <sup>d</sup>	3,37±0,76 <sup>cd</sup>	4,75±1,32 <sup>b</sup>	7,01±1,42 <sup>a</sup>
	R	2,57±0,33 <sup>d</sup>	2,86±0,36 <sup>d</sup>	4,08±0,84 <sup>c</sup>	6,35±1,64 <sup>a</sup>
Mohos y Levaduras	C	1,43±1,18 <sup>cd</sup>	2,35±0,83 <sup>c</sup>	3,72±1,61 <sup>b</sup>	5,86±1,39 <sup>a</sup>
	R	<1	2,42±1,01 <sup>c</sup>	3,72±1,09 <sup>b</sup>	5,33±1,46 <sup>a</sup>
Enterobacterias	C	<1	<1	<1	1,63±1,77 <sup>a</sup>
	R	<1	<1	<1	1,44±1,57 <sup>ab</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

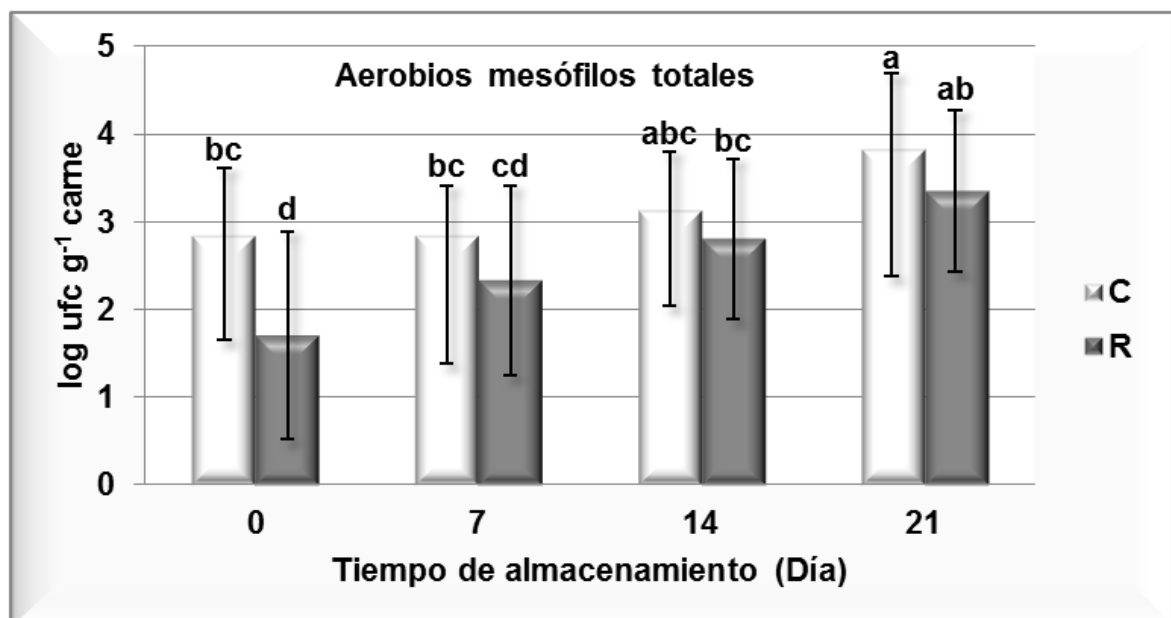
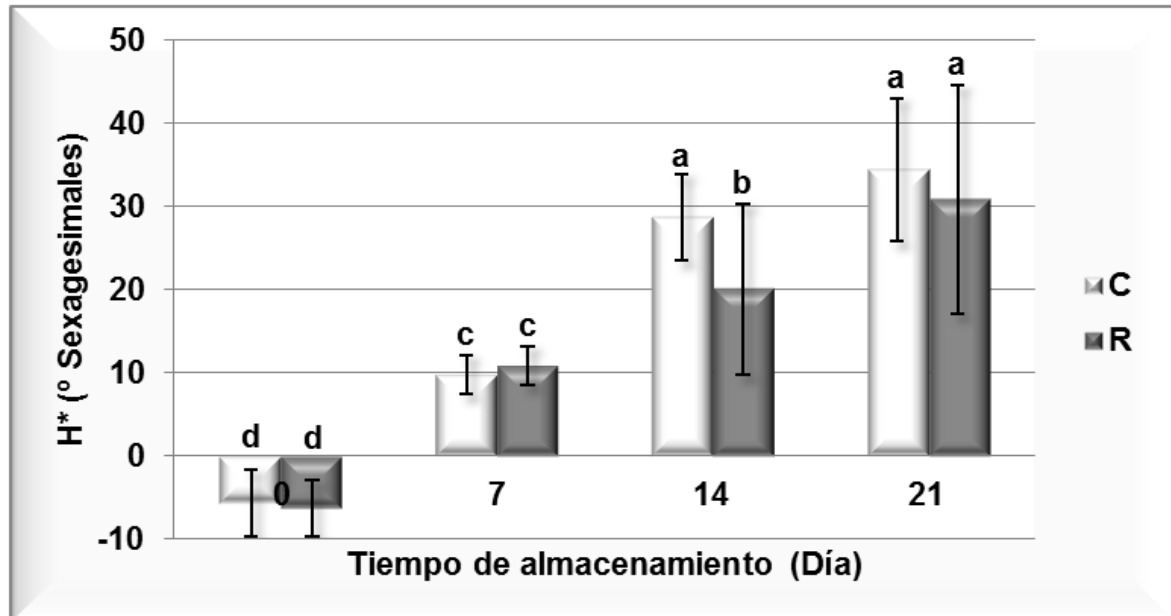
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figuras 35.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los valores medios de TBARS y de tinte ( $C^*$ ) de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



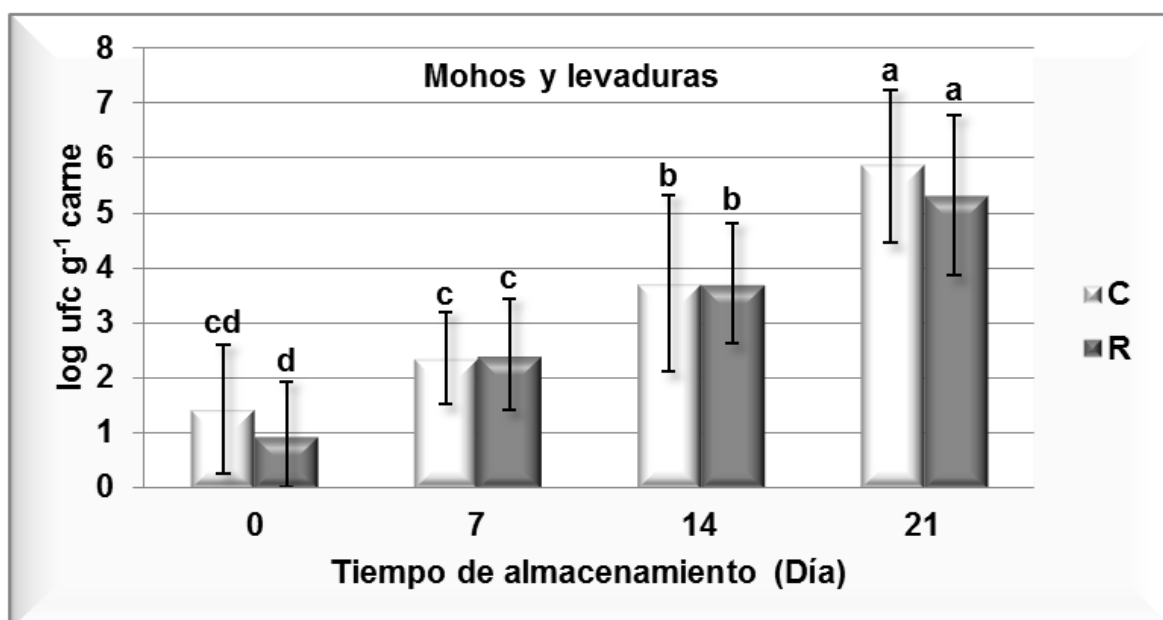
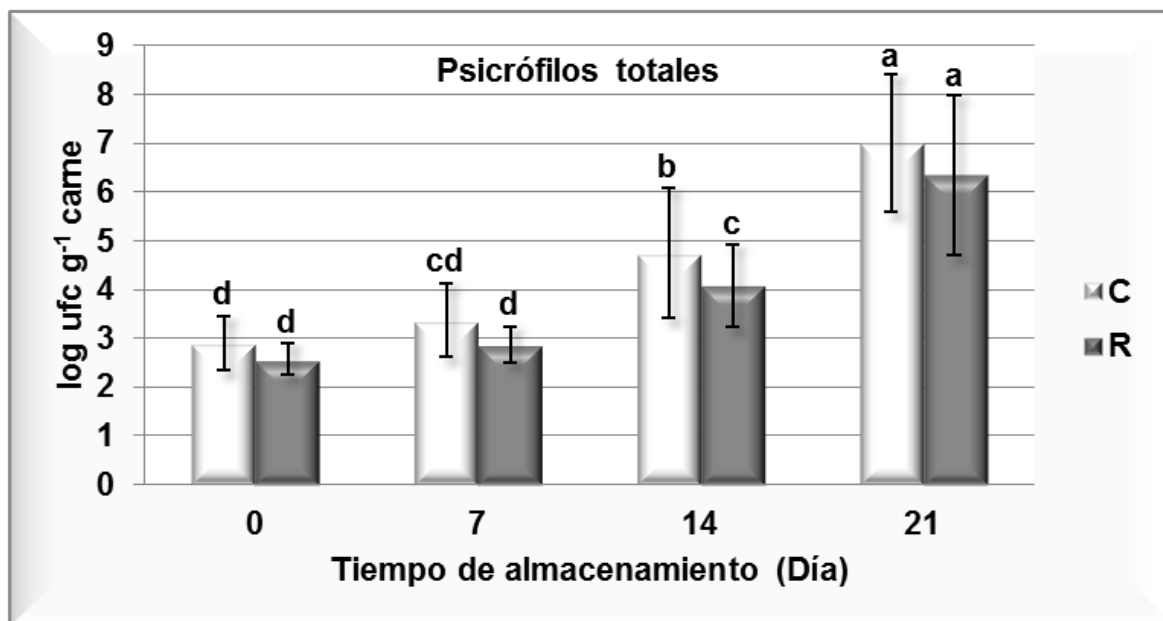
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figuras 36.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los valores medios del ángulo de tono o matiz ( $H^*$  o Hue) y de los recuentos medios de bacterias aerobias mesófilas de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figuras 37.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los recuentos medios de bacterias psicrófilas y de mohos y levaduras de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

La **Tabla 24** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los diferentes atributos sensoriales analizados en el lomo crudo de cordero suplementado o no con 600 mg de ER 1:1 por kg de pienso. El tiempo de almacenamiento tuvo un mayor impacto ( $P \leq 0,05$ ) que la dieta sobre la apariencia y el olor de la carne cruda, de forma similar a lo acontecido en el experimento 1. La suplementación dietética modificó ( $P \leq 0,05$ ) sobre todo el color del magro y la frescura de la carne, y, de forma más leve los atributos de olor propio, olor ácido, olor púrido y olor rancio. En cambio, el color de la grasa, la presencia de exudados y el olor a moho no se vieron afectados ( $P > 0,05$ ). No se observaron interacciones entre tratamientos para ningún atributo.

La **Tabla 25** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los atributos de apariencia y olor del lomo crudo de cordero suplementado o no con 600 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Como era de esperar, los atributos incluidos en el análisis sensorial de la carne evolucionaron en el tiempo de forma similar al experimento 1, con una disminución en la intensidad de los atributos relacionados con la carne en buen estado y un aumento de la intensidad de aquellos relacionados con la carne deteriorada.

Las únicas diferencias ( $P \leq 0,05$ ) entre las notas medias de color del magro de los lomos Control y R se registraron tras dos semanas de almacenamiento, coincidiendo con los resultados de color CIELAB obtenidos (**Figura 38**). Sin embargo, las puntuaciones medias del color de la grasa y de la presencia de exudados entre ambos tipos de lomo fueron similares ( $P > 0,05$ ) en todos los puntos de control del estudio.

La suplementación dietética de los corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 permitió mejorar el nivel de frescura de la carne en las dos primeras semanas de almacenamiento, asociado a una mejor valoración del olor propio en el día 7 y del olor rancio en el día 14 (**Figuras 38 y 39**). Sin embargo, las puntuaciones medias de olor rancio de los días 7 y 21 no se correspondieron con lo esperado tras los resultados obtenidos mediante el índice TBARS, teniendo en cuenta que hubo considerables diferencias en el nivel de MDA entre ambos tratamientos dietéticos.

Los lomos Control y R evolucionaron de forma similar para el resto de atributos analizados, destacando únicamente diferencias ( $P \leq 0,05$ ) en las puntuaciones medias de los atributos olor ácido y olor pútrido en el último día de almacenamiento, donde el nivel de deterioro de la carne era ya considerable.

Por último, se realizó una estimación de la vida comercial de la carne. En este caso, las ecuaciones de regresión polinómica fueron las que permitieron un mejor ajuste del modelo.

La **Figura 40** muestra la estimación de la vida útil de los lomos crudos procedentes de corderos suplementados o no con ER 1:1. De este modo, el tiempo de vida comercial de los lomos Control y R, envasados en atmósfera protectora 70/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> y almacenados a 2 °C y 800 lx, fue estimado en 7,2 y 11,0 días, respectivamente.

En resumen, la suplementación dietética de los corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 prolongó la vida comercial de la carne cruda de cordero en 4 días aproximadamente. La incorporación de ER 1:1 al pienso permitió reducir el deterioro oxidativo y, en menor medida, microbiológico de la carne.

**Tabla 24.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Color magro	8,19	**	119,8	***	1,55	N.S.
Color grasa	0,92	N.S.	104,2	***	0,94	N.S.
Exudados	1,32	N.S.	9,84	***	0,20	N.S.
Olor propio	3,54	*	126,1	***	0,90	N.S.
Olor ácido	1,23	*	1,52	*	1,18	N.S.
Olor moho	0,23	N.S.	1,87	N.S.	0,52	N.S.
Olor pútrido	1,76	*	2,11	*	0,90	N.S.
Olor rancio	4,99	*	65,1	***	0,94	N.S.
Frescura	7,99	**	166,2	***	1,86	N.S.

Grados de libertad: Dieta (1); Tiempo (3); Dieta x tiempo (3).

Niveles de significación: \*\*\*  $P \leq 0,001$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*  $P \leq 0,05$ ; N.S.  $P > 0,05$  (no significativo).

**Tabla 25.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.

		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Color magro	C	4,61±0,20 <sup>a</sup>	3,77±0,58 <sup>b</sup>	1,75±0,53 <sup>d</sup>	1,40±0,35 <sup>d</sup>
	R	4,63±0,33 <sup>a</sup>	3,98±0,45 <sup>b</sup>	2,49±0,82 <sup>c</sup>	1,91±0,48 <sup>d</sup>
Color grasa	C	4,89±0,11 <sup>a</sup>	3,92±0,52 <sup>b</sup>	2,63±0,41 <sup>cd</sup>	2,28±0,62 <sup>de</sup>
	R	4,91±0,09 <sup>a</sup>	4,08±0,26 <sup>b</sup>	3,04±0,72 <sup>c</sup>	2,16±0,50 <sup>e</sup>
Exudados	C	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,80±0,81 <sup>ab</sup>	2,38±1,04 <sup>ab</sup>	2,45±1,09 <sup>a</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,62±0,24 <sup>bc</sup>	1,99±0,80 <sup>ab</sup>	2,15±1,00 <sup>ab</sup>
Olor propio	C	4,95±0,05 <sup>a</sup>	2,69±1,05 <sup>c</sup>	1,05±0,06 <sup>d</sup>	1,01±0,02 <sup>d</sup>
	R	5,00±0,00 <sup>a</sup>	3,38±1,16 <sup>b</sup>	1,47±0,83 <sup>d</sup>	1,07±0,18 <sup>d</sup>
Olor ácido	C	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,04±0,10 <sup>b</sup>	1,03±0,07 <sup>b</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,01±0,04 <sup>b</sup>	1,27±0,58 <sup>a</sup>
Olor mohoso	C	1,00±0,00	1,00±0,00	1,01±0,02	1,08±0,21
	R	1,00±0,00	1,00±0,00	1,02±0,04	1,03±0,06
Olor pútrido	C	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,04±0,10 <sup>b</sup>	1,04±0,10 <sup>b</sup>	1,33±0,74 <sup>a</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,01±0,01 <sup>b</sup>	1,06±0,13 <sup>b</sup>
Olor rancio	C	1,02±0,05 <sup>d</sup>	2,29±0,79 <sup>c</sup>	3,79±0,34 <sup>a</sup>	3,75±0,60 <sup>a</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>d</sup>	1,93±0,76 <sup>c</sup>	3,06±0,90 <sup>b</sup>	3,49±0,55 <sup>ab</sup>
Frescura	C	4,94±0,10 <sup>a</sup>	3,42±0,91 <sup>c</sup>	1,34±0,41 <sup>e</sup>	1,20±0,31 <sup>e</sup>
	R	4,97±0,05 <sup>a</sup>	3,98±0,39 <sup>b</sup>	2,14±0,83 <sup>d</sup>	1,32±0,51 <sup>e</sup>

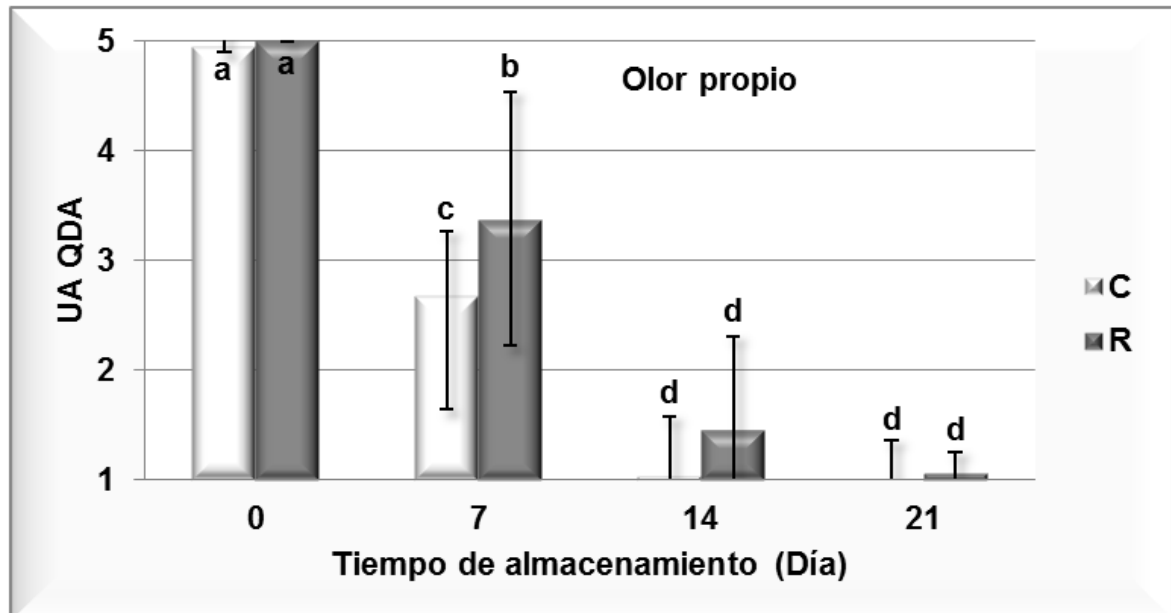
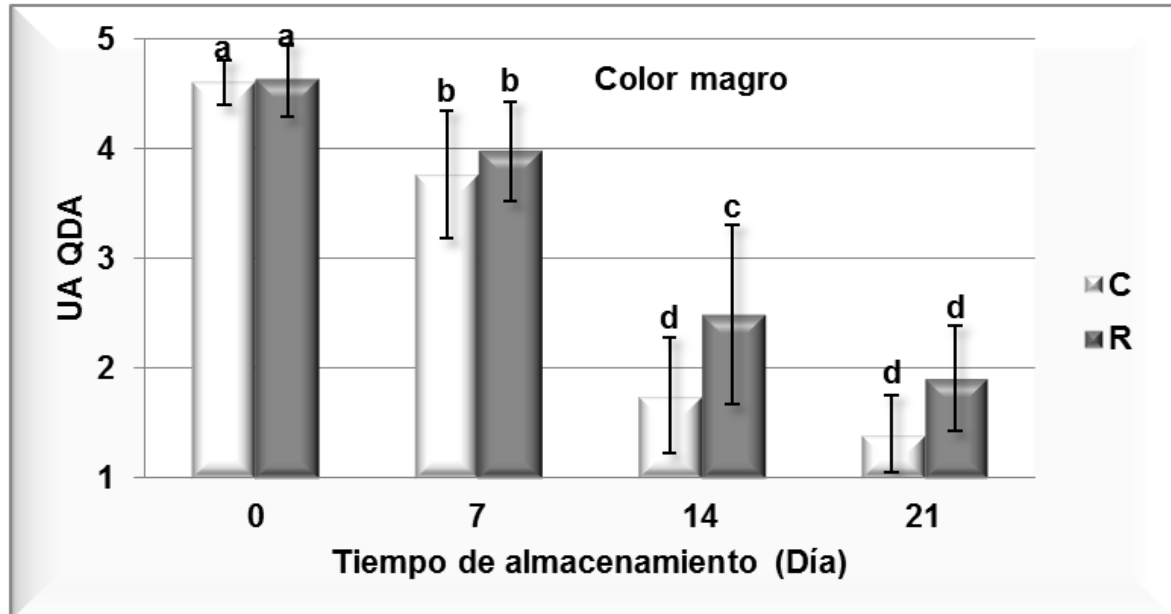
M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

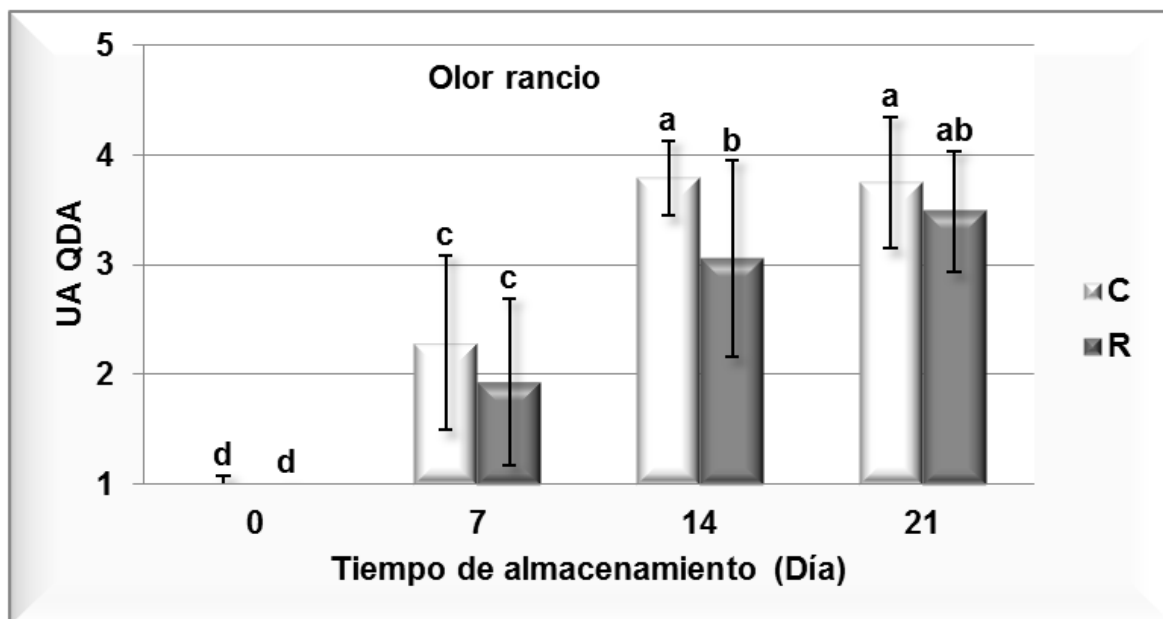


**Figuras 38.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre las notas medias de color magro y olor propio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



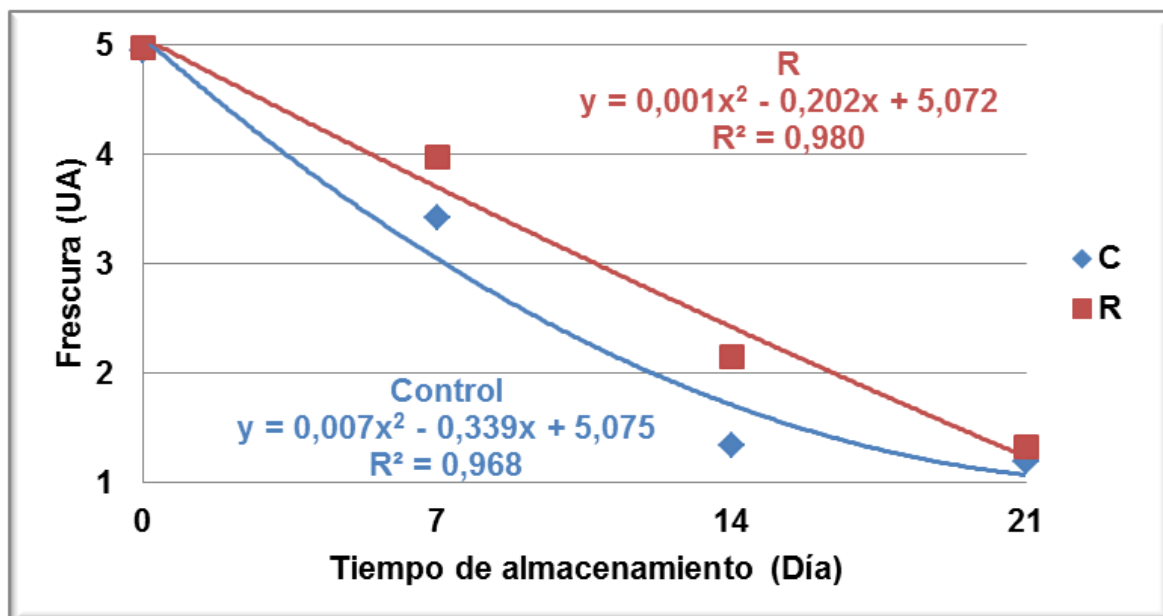
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figura 39.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de olor rancio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 21 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figura 40.** Estimación del tiempo de vida útil de los lomos crudos procedentes de corderos suplementados con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1, de acuerdo con su pérdida de frescura.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

R<sup>2</sup>: Coeficientes de regresión (polinómica).

### 5.2.2. Deterioro y vida comercial de carne cocinada.

La **Tabla 26** muestra los valores medios y desviaciones estándar para la composición proximal de las hamburguesas cocinadas procedentes de los corderos Control y R. El porcentaje medio de grasa de las hamburguesas tras el cocinado estuvo alrededor del 9%, valor similar observado en las hamburguesas del experimento 1.

La suplementación dietética con 600 mg kg<sup>-1</sup> ER 1:1 no afectó ( $P>0,05$ ) a los porcentajes medios de humedad, grasa y proteína total de las hamburguesas cocinadas y, por tanto, no existieron diferencias de composición proximal entre tratamientos.

**Tabla 26.** Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) de las hamburguesas cocinadas (día 0 de almacenamiento) procedentes de corderos suplementados dietéticamente con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1.

	% Humedad <i>M±D</i>	% Grasa <i>M±D</i>	% Proteína <i>M±D</i>
C	64,2 ± 1,76	9,11 ± 1,37	23,9 ± 1,65
R	63,5 ± 1,50	9,58 ± 0,38	25,2 ± 1,05

*M±D*: Media ± desviación estándar.

C: Control; R: cebo.

La **Tabla 27** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los valores de TBARS y color CIELAB de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos suplementados o no con 600 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Al igual que en el experimento 1, el tiempo de exposición tuvo un gran impacto ( $P\leq 0,01$ ) sobre el valor de TBARS y sobre el color objetivo de las hamburguesas cocinadas. En cambio, a diferencia del experimento anterior, la dieta modificó considerablemente ( $P\leq 0,001$ ) el índice TBARS de la carne cocinada, mientras

que las coordenadas de color ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  y  $H^*$ ) no se vieron afectadas ( $P>0,05$ ). Se observó interacción entre el tiempo y la dieta para el índice TBARS.

La **Tabla 28** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los valores de TBARS y color CIELAB de las hamburguesas cocinadas de cordero suplementado o no con 600 mg de ER 1:1 por kg de pienso. De manera semejante a lo observado en el experimento 1, las hamburguesas cocinadas experimentaron una intensa oxidación lipídica, asociada a cierta decoloración y oscurecimiento durante su exposición en refrigeración, aerobiosis e iluminación, aunque en este caso, la coordenada  $b^*$  se mantuvo estable en el tiempo, asociándose los cambios en el color objetivo principalmente a la evolución de la coordenada  $a^*$ . Como era de esperar, las condiciones de almacenamiento (tipo catering) testadas ejercieron también en este caso un fuerte efecto prooxidante sobre la carne picada cocinada.

Bajo dichas condiciones, las hamburguesas R mostraron valores medios de TBARS inferiores ( $P\leq 0,05$ ) a los observados en las hamburguesas Control a partir del segundo día de almacenamiento (**Figura 41**). En consecuencia, la suplementación dietética con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 resultó efectiva para retrasar la oxidación lipídica en las hamburguesas cocinadas refrigeradas, pese a las fuertes condiciones prooxidantes de la carne.

Sin embargo, la suplementación con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 no contribuyó a retrasar el deterioro del color de las hamburguesas, al no afectar ( $P\leq 0,05$ ) a las coordenadas de color CIELAB en ninguno de los días de control (**Figuras 41 y 42**).

**Tabla 27.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre la carne cocinada (hamburguesas) de cordero expuesta hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
TBARS	14,8	***	275,8	***	3,39	*
Luminosidad L*	0,33	N.S.	6,48	**	0,27	N.S.
Rojo-verde a*	0,21	N.S.	44,6	***	1,26	N.S.
Amarillo-azul b*	2,12	N.S.	0,01	N.S.	1,02	N.S.
Tinte C*	1,57	N.S.	30,7	***	2,24	N.S.
Tono H*	0,81	N.S.	15,1	***	0,09	N.S.

Grados de libertad: Dieta (1); Tiempo (2); Dieta x tiempo (2).

Niveles de significación: \*\*\*  $P \leq 0,001$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*  $P \leq 0,05$ ; N.S.  $P > 0,05$  (no significativo).

**Tabla 28.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la oxidación de lípidos y el color objetivo de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.

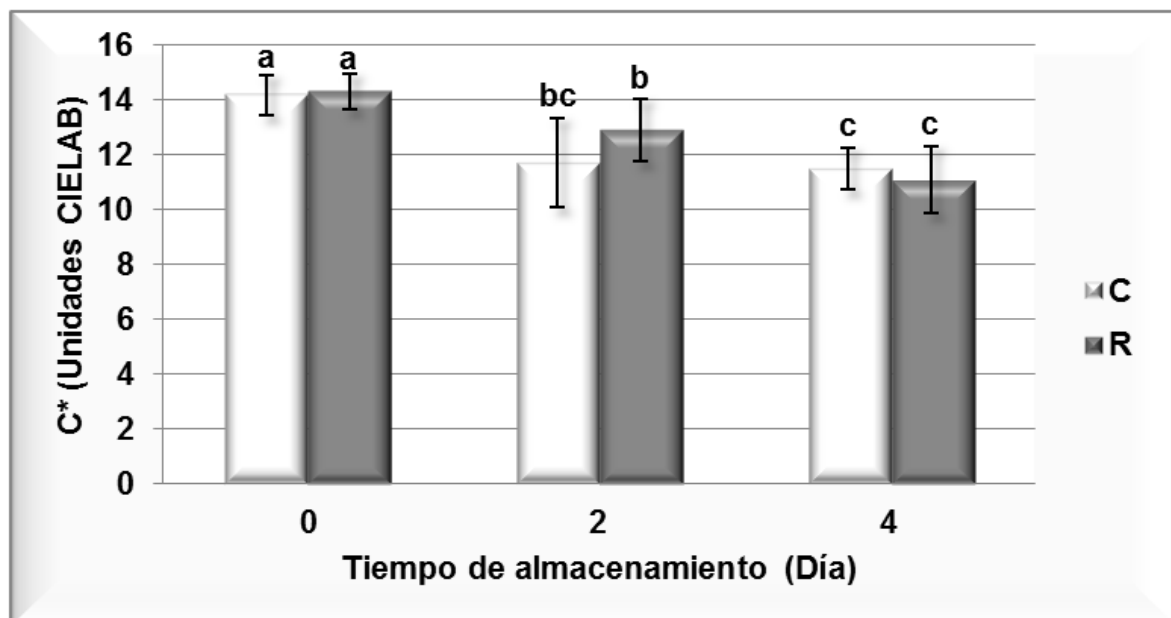
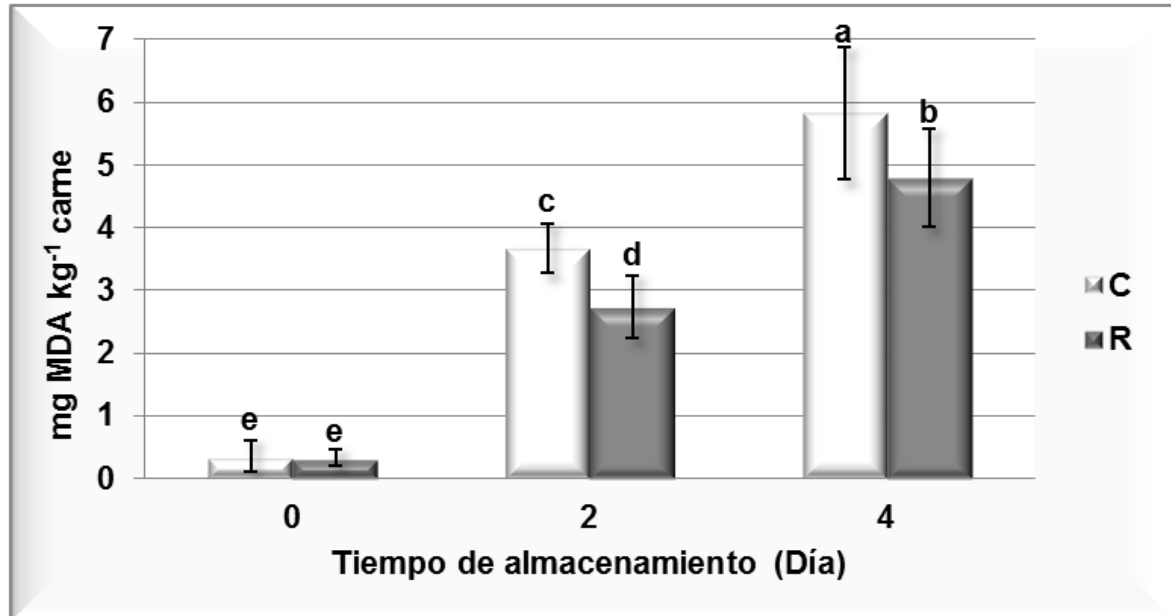
		<i>Día 0</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 4</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
TBARS	C	0,35±0,25 <sup>e</sup>	3,68±0,39 <sup>c</sup>	5,83±1,06 <sup>a</sup>
	R	0,32±0,13 <sup>e</sup>	2,74±0,50 <sup>d</sup>	4,80±0,78 <sup>b</sup>
Luminosidad L*	C	49,0±2,75 <sup>b</sup>	52,6±2,82 <sup>a</sup>	52,2±3,21 <sup>ab</sup>
	R	49,2±3,61 <sup>b</sup>	52,5±2,67 <sup>a</sup>	53,8±4,28 <sup>a</sup>
Rojo-verde a*	C	12,0±0,80 <sup>a</sup>	9,20±1,57 <sup>bc</sup>	8,63±0,98 <sup>c</sup>
	R	12,1±0,76 <sup>a</sup>	10,0±1,22 <sup>b</sup>	8,16±1,10 <sup>c</sup>
Amarillo-azul b*	C	7,36±1,12	6,99±1,33	7,47±0,94
	R	7,58±0,99	8,06±0,95	7,54±1,07
Tinte C*	C	14,2±0,73 <sup>a</sup>	11,7±1,62 <sup>bc</sup>	11,5±0,78 <sup>c</sup>
	R	14,3±0,65 <sup>a</sup>	12,9±1,13 <sup>b</sup>	11,1±1,21 <sup>c</sup>
Tono H*	C	30,9±4,58 <sup>c</sup>	36,7±6,30 <sup>bc</sup>	40,7±5,16 <sup>ab</sup>
	R	32,1±4,26 <sup>c</sup>	38,9±4,81 <sup>ab</sup>	42,7±4,95 <sup>a</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

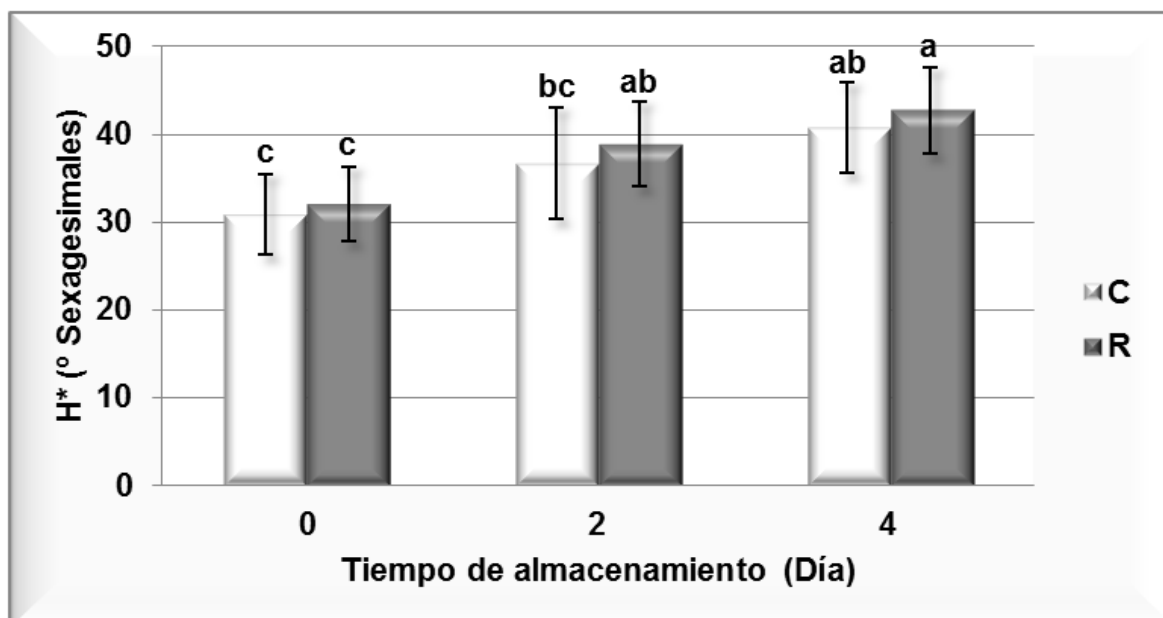
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figuras 41.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre el valor medio de TBARS y tinte ( $C^*$ ) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figura 42.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre el valor medio del ángulo de tono ( $H^*$ ) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

La **Tabla 29** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos suplementados o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 1:1 por  $\text{kg}$  de pienso. Al igual que en el experimento 1, el tiempo de exposición tuvo un fuerte impacto ( $P \leq 0,001$ ) sobre todos los atributos sensoriales estudiados, determinando un alto nivel de deterioro del color, del olor, del sabor y de la textura de las hamburguesas. Por su parte, la dieta afectó ( $P \leq 0,05$ ) a los atributos olor a cordero cocinado, olor rancio en frío, olor recalentado, sabor a cordero cocinado y sabor rancio en frío.

La **Tabla 30** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos suplementados o no con  $600 \text{ mg}$  de ER 1:1 por  $\text{kg}$  de pienso. Como se ha comentado, los resultados obtenidos mediante el análisis sensorial de las hamburguesas denotaron un claro deterioro de éstas durante su exposición,



asociado principalmente a los fenómenos de oscurecimiento y enranciamiento de la carne.

Al igual que en el experimento 1, la carne cocinada sufrió un fuerte deterioro del olor y sabor propios (**Figura 43**) debido principalmente a la aparición de olores y sabores rancios y a recalentado (**Figuras 44 y 45**), detectados a partir del segundo día de exposición. Este tipo de alteración suele estar relacionada principalmente con el desarrollo de fenómenos oxidativos, en particular, de los lípidos de la carne. Además, en lo referente al aspecto y a la textura, se detectó un deterioro del color y una pérdida gradual de la ternura y la jugosidad de las hamburguesas durante su exposición en la vitrina.

Las hamburguesas R obtuvieron mejores valoraciones ( $P \leq 0,05$ ) que las hamburguesas Control en lo relativo al olor y sabor a cordero cocinado y al sabor rancio en frío a partir del segundo día de exposición. Asimismo, las hamburguesas R registraron una mejor valoración ( $P \leq 0,05$ ) en los atributos olor rancio en frío y olor recalentado en el día 4. Por consiguiente, la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 resultó eficaz para retrasar el deterioro del olor y flavor en las hamburguesas cocinadas refrigeradas.

Dicha afirmación quedó corroborada al estimar la vida comercial de las hamburguesas mediante ecuaciones de regresión exponencial (**Figura 46**), determinándose un tiempo de 1,9 y 2,3 días para las hamburguesas Control y R, respectivamente, lo cual representó un aumento de la vida útil del 20% aproximadamente gracias a la suplementación dietética.

Por tanto, la suplementación de los corderos de cebo con  $600 \text{ mg}$  de ER 1:1 por kg de pienso consiguió aumentar la vida comercial de las hamburguesas cocinadas refrigeradas, expuestas en condiciones usuales de comercialización para catering y restauración.

**Tabla 29.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>TRAT</i>		<i>DÍA</i>		<i>TRAT x DÍA</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Color cordero cocinado	0,09	N.S.	83,1	***	0,09	N.S.
Olor cordero cocinado	11,6	**	218,4	***	0,96	N.S.
Olor rancio frío	6,40	*	102,0	***	1,13	N.S.
Olor rancio caliente	2,14	N.S.	65,6	***	0,60	N.S.
Olor recalentado	6,43	*	135,4	***	0,70	N.S.
Sabor cordero cocinado	10,9	**	176,5	***	2,56	N.S.
Sabor rancio frío	10,3	**	125,8	***	1,33	N.S.
Sabor rancio caliente	0,03	N.S.	36,7	***	0,19	N.S.
Sabor recalentado	3,46	N.S.	114,7	***	0,56	N.S.
Terneza	1,45	N.S.	105,9	***	0,20	N.S.
Jugosidad	2,16	N.S.	101,6	***	0,02	N.S.
Frescura	4,94	N.S.	255,0	***	0,24	N.S.

Grados de libertad: Dieta (1); Tiempo (2); Dieta x tiempo (2).

Niveles de significación: \*\*\*  $P \leq 0,001$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*  $P \leq 0,05$ ; <sup>N.S.</sup>  $P > 0,05$  (no significativo).

**Tabla 30.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre la calidad sensorial de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.

	<i>Trat</i>	<i>Día 0</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 4</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Color cordero cocinado	C	4,66±0,43 <sup>a</sup>	3,81±0,50 <sup>b</sup>	3,10±0,85 <sup>c</sup>
	R	4,68±0,08 <sup>a</sup>	3,90±0,37 <sup>b</sup>	3,09±0,27 <sup>c</sup>
Olor cordero cocinado	C	4,54±0,46 <sup>a</sup>	3,25±0,53 <sup>c</sup>	1,88±0,63 <sup>e</sup>
	R	4,58±0,10 <sup>a</sup>	3,55±0,37 <sup>b</sup>	2,36±0,26 <sup>d</sup>
Olor rancio frío	C	1,13±0,29 <sup>c</sup>	2,65±0,56 <sup>b</sup>	3,10±0,93 <sup>a</sup>
	R	1,07±0,00 <sup>c</sup>	2,34±0,32 <sup>b</sup>	2,66±0,37 <sup>b</sup>
Olor rancio caliente	C	1,07±0,22 <sup>d</sup>	2,00±0,38 <sup>bc</sup>	2,51±0,54 <sup>a</sup>
	R	1,00±0,00 <sup>d</sup>	1,83±0,39 <sup>c</sup>	2,22±0,53 <sup>ab</sup>
Olor recalentado	C	1,20±0,40 <sup>d</sup>	2,24±0,49 <sup>c</sup>	2,93±0,81 <sup>a</sup>
	R	1,12±0,03 <sup>d</sup>	2,02±0,29 <sup>c</sup>	2,62±0,35 <sup>b</sup>
Sabor cordero cocinado	C	4,58±0,42 <sup>a</sup>	2,85±0,59 <sup>c</sup>	1,81±0,63 <sup>e</sup>
	R	4,61±0,08 <sup>a</sup>	3,52±0,38 <sup>b</sup>	2,20±0,13 <sup>d</sup>
Sabor rancio frío	C	1,13±0,32 <sup>d</sup>	2,58±0,52 <sup>b</sup>	3,11±0,89 <sup>a</sup>
	R	1,05±0,06 <sup>d</sup>	2,18±0,28 <sup>c</sup>	2,68±0,28 <sup>b</sup>
Sabor rancio caliente	C	1,03±0,12 <sup>c</sup>	2,03±0,58 <sup>b</sup>	2,67±0,50 <sup>a</sup>
	R	1,03±0,12 <sup>c</sup>	2,18±0,60 <sup>b</sup>	2,52±0,68 <sup>ab</sup>

**Tabla 30 continuación.**

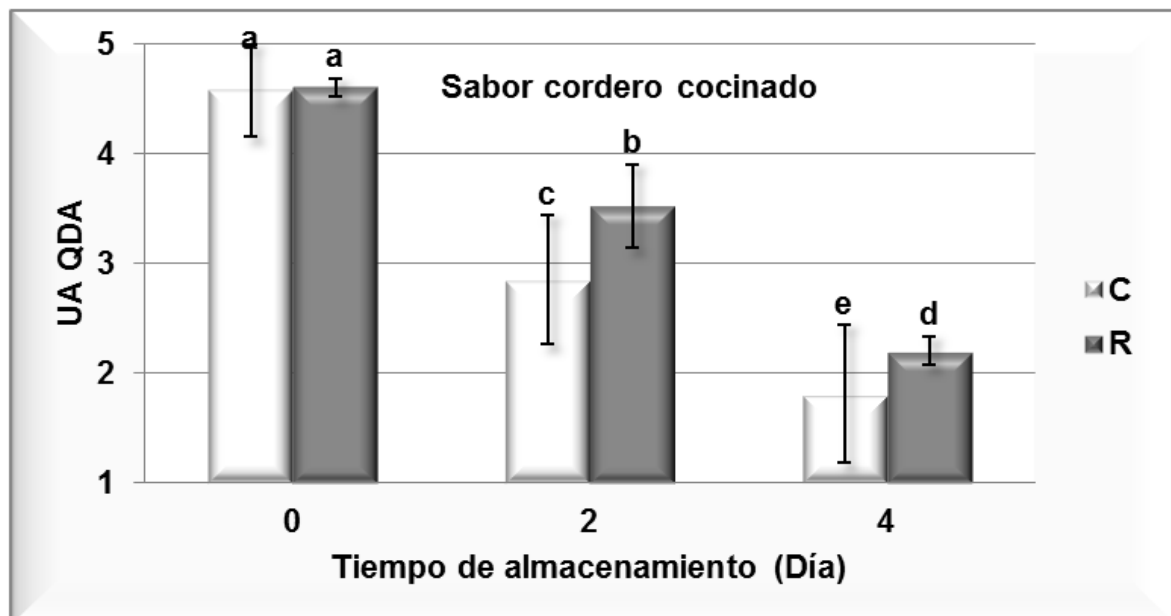
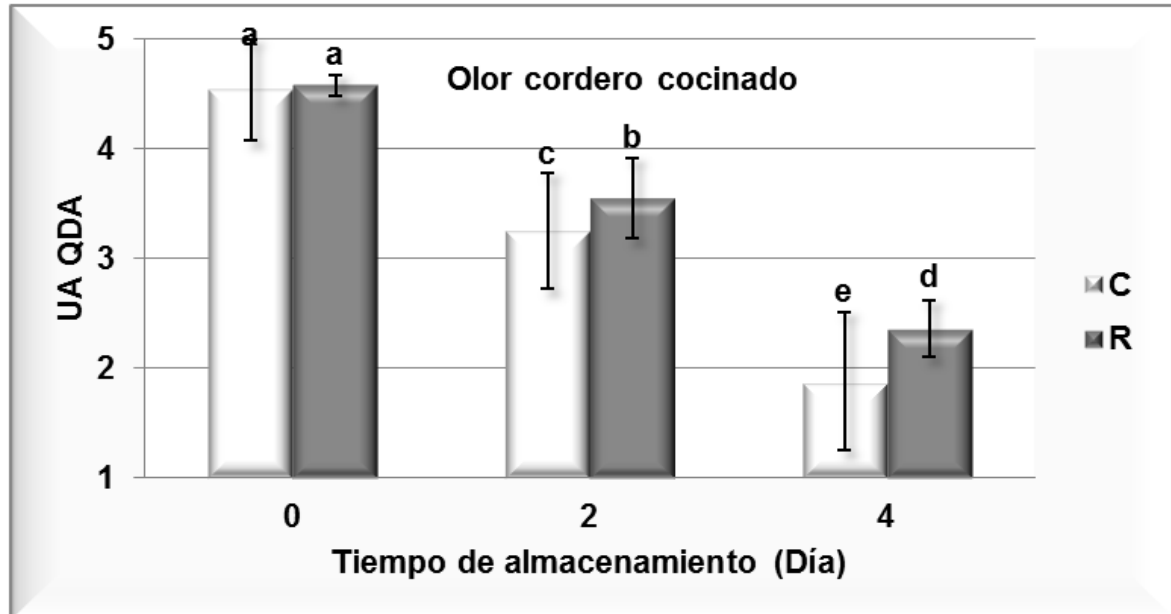
		<i>Día 0</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 4</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Sabor recalentado	C	1,16±0,33 <sup>d</sup>	2,51±0,54 <sup>bc</sup>	3,14±0,83 <sup>a</sup>
	R	1,12±0,18 <sup>d</sup>	2,30±0,48 <sup>c</sup>	2,84±0,48 <sup>ab</sup>
Terneza	C	4,31±0,51 <sup>a</sup>	3,55±0,42 <sup>b</sup>	3,08±0,81 <sup>c</sup>
	R	4,39±0,47 <sup>a</sup>	3,58±0,45 <sup>b</sup>	3,21±0,68 <sup>c</sup>
Jugosidad	C	4,15±0,49 <sup>a</sup>	3,33±0,44 <sup>b</sup>	2,89±0,78 <sup>c</sup>
	R	4,27±0,46 <sup>a</sup>	3,43±0,53 <sup>b</sup>	3,00±0,68 <sup>c</sup>
Frescura	C	4,33±0,66 <sup>a</sup>	2,81±0,57 <sup>b</sup>	2,16±0,76 <sup>c</sup>
	R	4,45±0,09 <sup>a</sup>	3,06±0,26 <sup>b</sup>	2,32±0,30 <sup>c</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

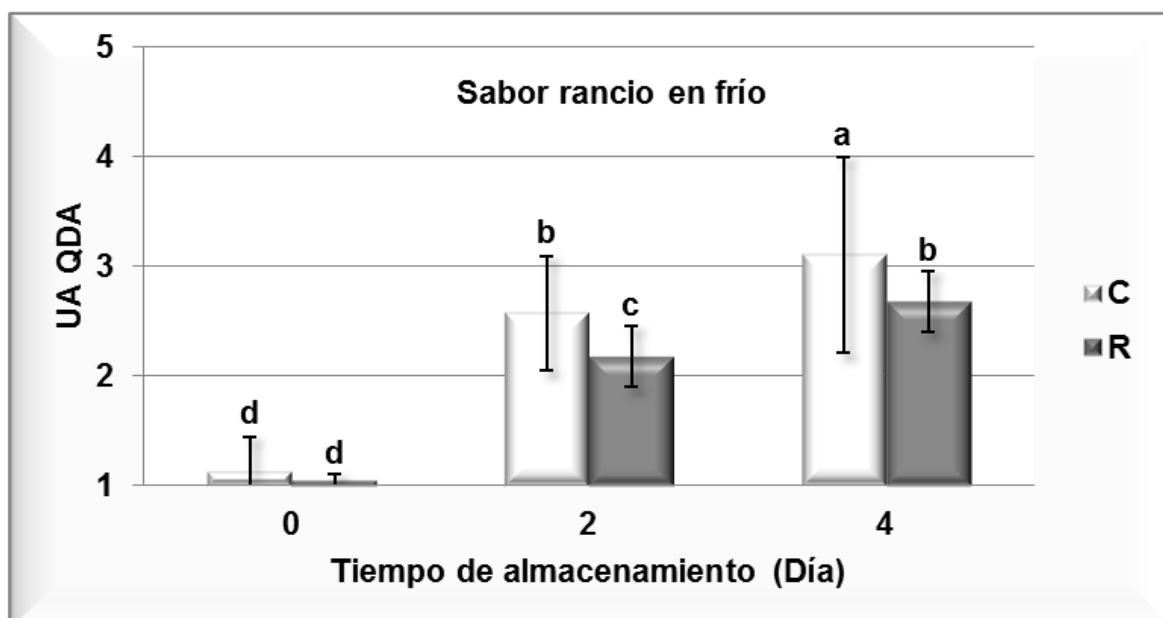
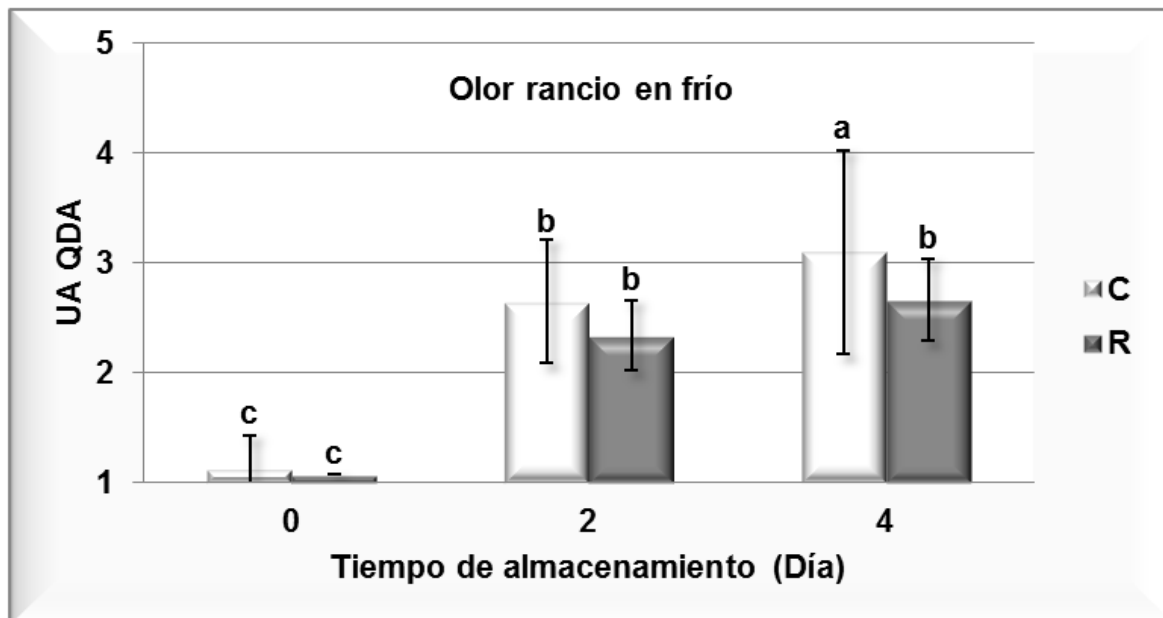
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figuras 43.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre las notas medias de olor y sabor propios de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



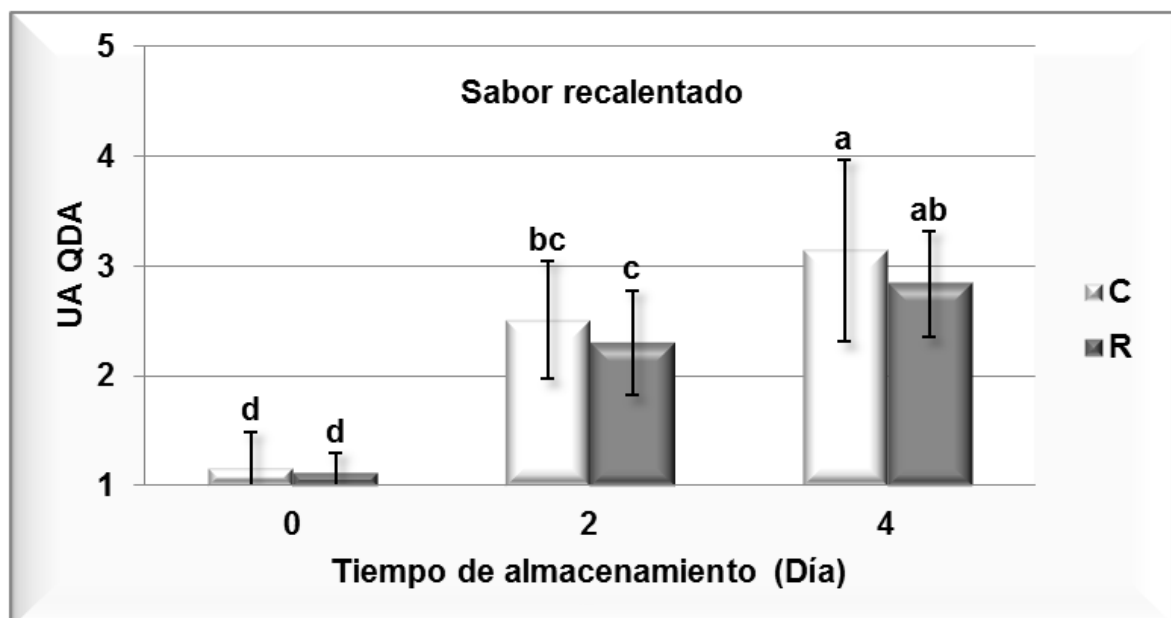
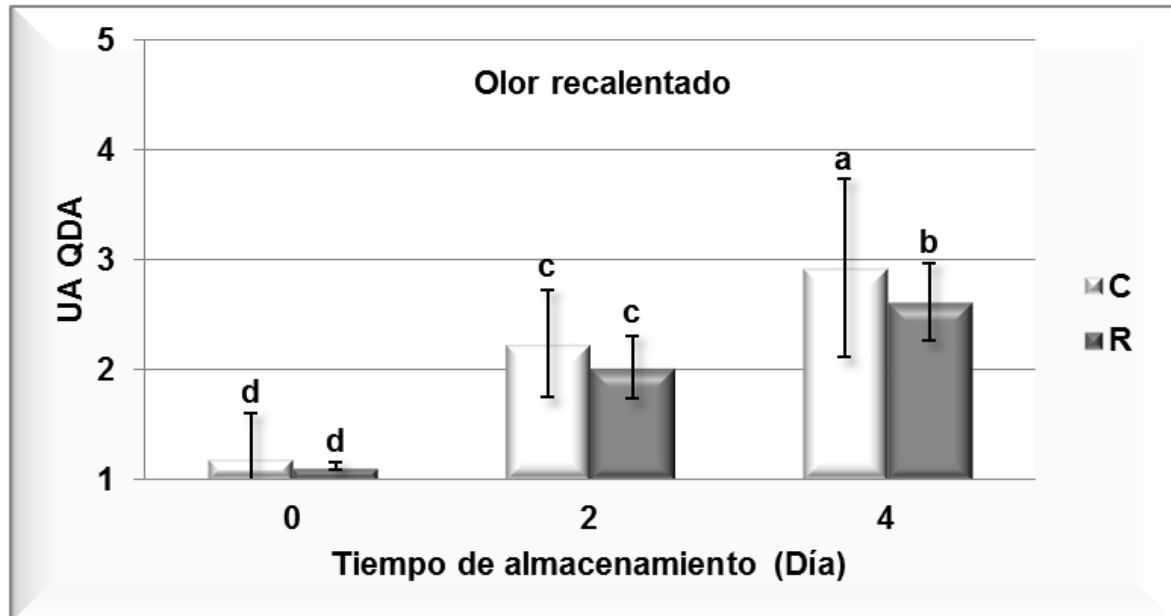
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figuras 44.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre las notas medias de olor y sabor rancio de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



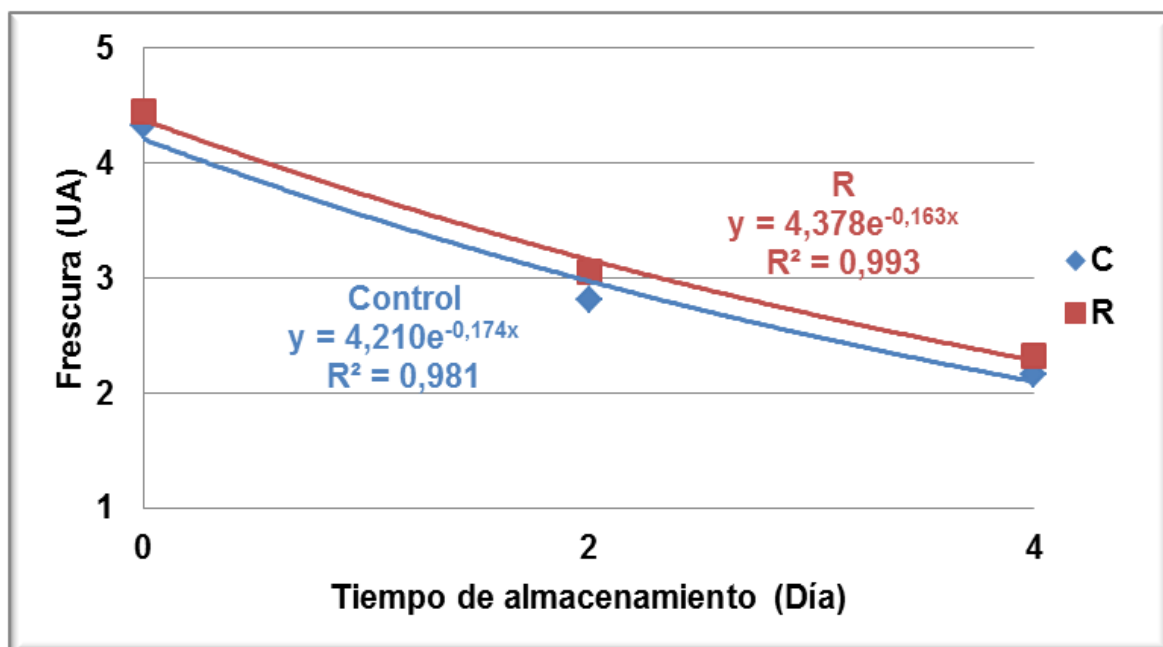
Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figuras 45.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre las nota medias de olor y sabor a recalentado de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

**Figura 46.** Estimación del tiempo de vida útil de hamburguesas cocinadas de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1, de acuerdo con su pérdida de frescura.



Niveles de suplementación: C: Control; R: cebo.

$R^2$ : Coeficientes de regresión (exponencial).

En resumen, el empleo de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 resultó muy efectivo para extender la vida útil, tanto de la carne cruda envasada en condiciones usuales de venta al por menor, como de la carne picada cocinada, envasada y expuesta en condiciones de catering.

Al obtenerse mejores resultados con el ER 1:1 que con el ER 2:1, principalmente en lo relativo a capacidad conservante de carne cocinada, se optó por utilizar nuevamente el ER 1:1 en el tercer experimento. El objetivo de éste fue determinar la mínima dosis de ER 1:1 capaz de exhibir un efecto conservante en la carne cruda y cocinada, tras su incorporación a la dieta de corderos, para poder lograr el mayor beneficio económico posible derivado de su utilización.



### 5.3. Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 y 400 mg kg<sup>-1</sup> de extracto tipificado de romero 1:1 (ácido carnósico: carnosol).

#### 5.3.1. Deterioro y vida comercial de la carne cruda.

La **Tabla 31** muestra los valores medios y desviaciones estándar para la composición proximal del lomo crudo procedente de corderos Control (corderos no suplementados), 1R (corderos suplementados con 200 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 durante el cebo) y 2R (corderos suplementados con 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 durante el cebo). En la misma puede apreciarse que los porcentajes medios de humedad, grasa total y proteína total determinados en el día 0 fueron similares ( $P>0,05$ ) para los tres tratamientos dietéticos.

**Tabla 31.** Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) del lomo (día 0 de almacenamiento) procedente de corderos suplementados dietéticamente con diferentes niveles de ER 1:1.

Dieta	% Humedad <i>M±D</i>	% Grasa <i>M±D</i>	% Proteína <i>M±D</i>
C	75,8 ± 0,55	1,58 ± 0,56	21,5 ± 0,57
1R	75,2 ± 1,70	1,80 ± 1,19	21,6 ± 1,21
2R	75,2 ± 0,67	1,90 ± 0,72	21,1 ± 1,34

*M±D*: Media ± desviación estándar.

C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

La **Tabla 32** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos determinados en el lomo crudo de cordero sin suplementar y suplementado con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. El tiempo de almacenamiento (14 días) continuó teniendo un mayor efecto ( $P\leq 0,05$ ) que la dieta en los diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos relacionados con la calidad de la carne, al igual que en los dos

experimentos anteriores. El valor de TBARS fue nuevamente la variable más afectada por la dieta. En este caso, se observó interacción entre ambos tratamientos para las coordenadas de color  $a^*$ ,  $b^*$  y  $H^*$  y para el índice TBARS.

La suplementación de la dieta con 200 ó 400 mg  $kg^{-1}$  de ER 1:1 modificó ( $P \leq 0,01$ ) todos los parámetros estudiados, a excepción del pH y el recuento de enterobacterias.

La **Tabla 33** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los parámetros físico-químicos de calidad del lomo crudo de cordero sin suplementar y suplementado con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Como en los experimentos anteriores, durante el almacenamiento la carne cruda de cordero experimentó un pardeamiento progresivo y un aumento de su estado de oxidación.

El valor medio de TBARS fue menor ( $P \leq 0,05$ ) en los lomos 1R y 2R que en los lomos Control a partir de la primera semana de almacenamiento, manteniéndose dichas diferencias en la segunda semana. Al igual que en los dos primeros experimentos, los niveles de MDA fueron claramente inferiores en los lomos de corderos suplementados que en los lomos Control. Llama la atención que la concentración de MDA alcanzada en las muestras Control en el día 7 fue similar a la alcanzada por ambas muestras suplementadas en el día 14. No existieron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en el valor medio de TBARS entre los lomos 1R y 2R a ninguno de los tiempos controlados, y, por tanto, el nivel de inhibición de la oxidación lipídica alcanzado por ambos tratamientos podría considerarse similar.

En lo referente a oxidación proteica (nuevo parámetro incorporado a este experimento), la concentración media de compuestos carbonilo fue menor ( $P \leq 0,05$ ) en los lomos 1R y 2R que en los lomos Control a partir del día 11 de almacenamiento, no habiendo diferencias entre los lomos 1R y 2R para este parámetro en ninguno de los tiempos de almacenamiento controlados. La inhibición de la oxidación lipídica atribuible al ER observada a partir del día 7, estuvo a su vez asociada a una inhibición de la oxidación proteica observada a partir del día 11. Por tanto, la suplementación dietética de los corderos con 200 y

400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 produjo una clara reducción del grado de oxidación de lípidos y proteínas en la carne cruda hiperoxigenada (**Figura 47**).

Los datos de color objetivo fueron coherentes con los resultados anteriores. Los lomos 1R y 2R presentaron mayores ( $P \leq 0,05$ ) valores medios de  $C^*$  y menores valores medios de  $H^*$  que los lomos Control a partir del día 11, denotando que el proceso de pardeamiento fue más lento en la carne procedente de corderos suplementados con extracto. En consecuencia, la suplementación dietética de los corderos con 200 y 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 también contribuyó a estabilizar el color rojo de la carne durante su almacenamiento bajo intensas condiciones prooxidantes (**Figura 48**).

Al igual que en el experimento anterior, los valores medios de pH se mantuvieron estables durante todo el estudio, independientemente de la dieta.

La **Tabla 34** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los recuentos microbiológicos del lomo crudo de cordero suplementado o no con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Como en los experimentos anteriores, hubo un aumento controlado de la carga microbiológica durante el almacenamiento debido al método de envasado, no alcanzándose en ningún caso recuentos microbiológicos por encima de 6-7 log ufc g<sup>-1</sup>, el límite máximo de aerobios mesófilos totales establecido para la carne cruda.

Los recuentos medios de aerobios mesófilos totales fueron inferiores ( $P \leq 0,05$ ) en los lomos 1R y 2R a los de los lomos Control a partir de la primera semana de almacenamiento. Similares diferencias fueron también observadas en los recuentos medios de psicrófilos totales en el último día del estudio (**Figura 49**). Respecto a los recuentos medios de mohos y levaduras, éstos fueron mayores ( $P \leq 0,05$ ) en los lomos Control a los de los lomos 2R en día 11 y a los de los lomos 1R en día 14 (**Figura 50**). Como en los experimentos anteriores, los recuentos medios de enterobacterias fueron irrelevantes y no difirieron en función de la dieta ( $P > 0,05$ ).

Teniendo en cuenta estos resultados, la suplementación de la dieta de los corderos con 200 y 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 también tuvo efecto antimicrobiano sobre la carne cruda, si bien, esto contrastó en cierto modo con lo observado en

el experimento 2, donde una mayor dosificación de ER 1:1 mejoró la capacidad antimicrobiana endógena de la carne cruda de forma menos clara, aunque es preciso señalar que las cargas microbiológicas de partida fueron diferentes en ambos experimentos.

**Tabla 32.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los parámetros físico-químicos y microbiológicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
TBARS	46,0	***	118,3	***	5,23	***
Luminosidad L*	11,2	***	16,7	***	1,51	N.S.
Rojo-verde a*	17,2	***	30,5	***	4,04	**
Amarillo-azul b*	8,93	***	227,6	***	2,73	*
Tinte C*	9,09	***	19,1	***	2,07	N.S.
Tono H*	27,2	***	93,2	***	7,07	***
pH	0,96	N.S.	0,25	N.S.	0,76	N.S.
Aerobios mesófilos totales	11,5	***	13,9	***	0,66	N.S.
Psicrófilos totales	7,15	**	6,89	***	0,95	N.S.
Mohos y Levaduras	6,64	**	3,49	*	1,17	N.S.
Enterobacterias	2,02	N.S.	0,38	N.S.	0,21	N.S.

Grados de libertad: Dieta (2); Tiempo (3); Dieta x tiempo (6).

Niveles de significación: \*\*\* P≤0,001; \*\* P≤0,01; \* P≤0,05; N.S. P>0,05 (no significativo).

**Tabla 33.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los parámetros físico-químicos de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.

		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 11</i>	<i>Día 14</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
TBARS	C	0,06±0,02 <sup>g</sup>	3,93±1,16 <sup>c</sup>	5,19±1,52 <sup>b</sup>	6,06±1,77 <sup>a</sup>
	1R	0,06±0,03 <sup>g</sup>	2,18±0,66 <sup>ef</sup>	2,92±0,62 <sup>de</sup>	3,79±0,90 <sup>c</sup>
	2R	0,04±0,02 <sup>g</sup>	1,64±0,61 <sup>f</sup>	2,40±0,77 <sup>ef</sup>	3,49±0,94 <sup>cd</sup>
POx	C	1,87±0,29 <sup>f</sup>	3,19±1,21 <sup>cde</sup>	4,54±1,45 <sup>ab</sup>	5,22±1,74 <sup>a</sup>
	1R	1,88±0,45 <sup>f</sup>	3,03±0,60 <sup>de</sup>	3,06±1,47 <sup>de</sup>	3,74±0,80 <sup>bcd</sup>
	2R	1,91±0,45 <sup>f</sup>	2,71±0,95 <sup>ef</sup>	3,19±1,26 <sup>cde</sup>	4,08±1,41 <sup>bc</sup>
Luminosidad L*	C	36,2±1,58 <sup>def</sup>	36,9±1,67 <sup>cdef</sup>	40,1±2,59 <sup>ab</sup>	41,4±1,86 <sup>a</sup>
	1R	35,1±1,54 <sup>f</sup>	35,5±1,16 <sup>ef</sup>	36,8±2,07 <sup>cdef</sup>	38,0±2,43 <sup>cd</sup>
	2R	35,7±1,64 <sup>ef</sup>	37,1±2,46 <sup>cde</sup>	38,0±1,95 <sup>cd</sup>	38,2±3,13 <sup>bc</sup>
Rojo-verde a*	C	11,3±0,75 <sup>ab</sup>	11,9±2,49 <sup>ab</sup>	7,48±3,76 <sup>d</sup>	4,57±2,14 <sup>e</sup>
	1R	11,6±1,12 <sup>ab</sup>	12,9±2,05 <sup>a</sup>	10,8±1,92 <sup>bc</sup>	9,02±2,62 <sup>cd</sup>
	2R	11,3±0,57 <sup>ab</sup>	12,8±1,48 <sup>a</sup>	12,7±1,75 <sup>ab</sup>	8,81±2,33 <sup>d</sup>
Amarillo-azul b*	C	1,85±0,56 <sup>e</sup>	4,95±0,50 <sup>cd</sup>	6,07±0,90 <sup>b</sup>	6,98±0,73 <sup>a</sup>
	1R	1,68±0,32 <sup>e</sup>	4,80±0,64 <sup>d</sup>	5,03±0,52 <sup>cd</sup>	5,81±0,79 <sup>b</sup>
	2R	1,67±0,40 <sup>e</sup>	5,04±0,59 <sup>cd</sup>	5,45±0,76 <sup>bc</sup>	5,56±1,09 <sup>bc</sup>
Tinte C*	C	11,5±0,76 <sup>cde</sup>	12,9±2,21 <sup>abc</sup>	9,98±2,74 <sup>ef</sup>	8,55±1,17 <sup>f</sup>
	1R	11,7±1,12 <sup>cd</sup>	13,8±2,11 <sup>a</sup>	12,0±1,73 <sup>bcd</sup>	10,8±2,20 <sup>de</sup>
	2R	11,5±0,58 <sup>cde</sup>	13,8±1,44 <sup>a</sup>	13,5±1,87 <sup>ab</sup>	10,6±1,60 <sup>de</sup>
Tono H*	C	9,24±2,75 <sup>e</sup>	23,5±6,36 <sup>d</sup>	42,5±15,8 <sup>b</sup>	57,8±12,3 <sup>a</sup>
	1R	8,31±1,62 <sup>e</sup>	20,5±1,61 <sup>d</sup>	25,4±4,92 <sup>d</sup>	34,0±8,50 <sup>c</sup>
	2R	8,40±1,97 <sup>e</sup>	21,6±2,78 <sup>d</sup>	23,4±2,89 <sup>d</sup>	33,4±11,7 <sup>c</sup>
pH	C	5,60±0,06 <sup>ab</sup>	5,61±0,06 <sup>ab</sup>	5,58±0,08 <sup>ab</sup>	5,60±0,06 <sup>ab</sup>
	1R	5,61±0,06 <sup>ab</sup>	5,60±0,07 <sup>ab</sup>	5,64±0,07 <sup>a</sup>	5,62±0,08 <sup>ab</sup>
	2R	5,61±0,07 <sup>ab</sup>	5,61±0,04 <sup>ab</sup>	5,60±0,09 <sup>ab</sup>	5,57±0,08 <sup>b</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Tabla 34.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la calidad microbiológica de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.

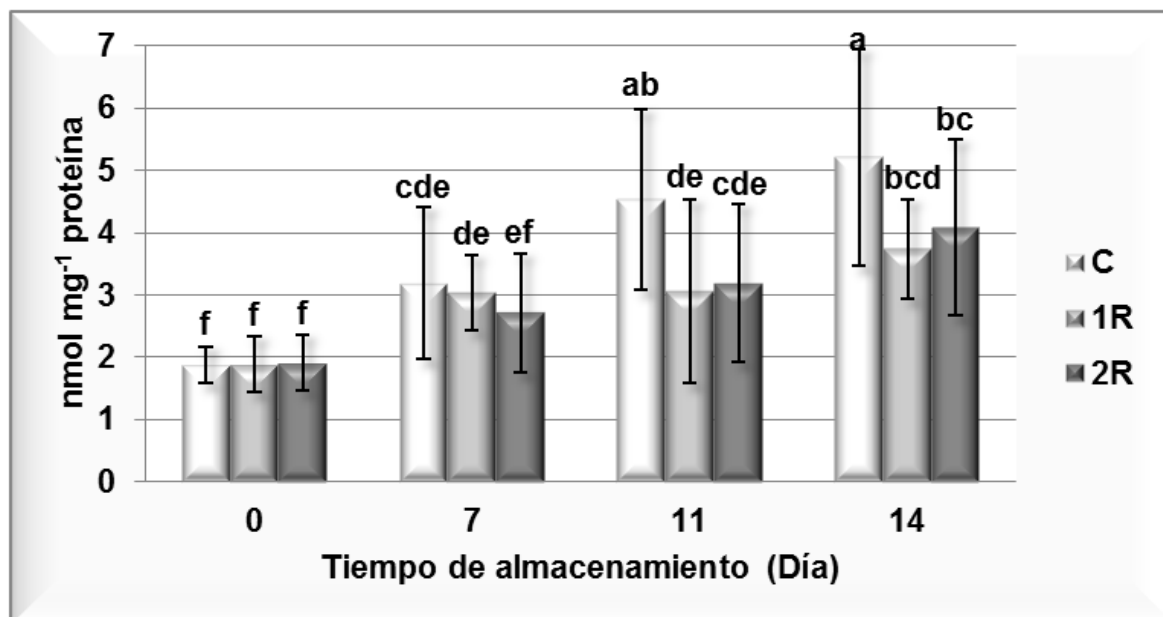
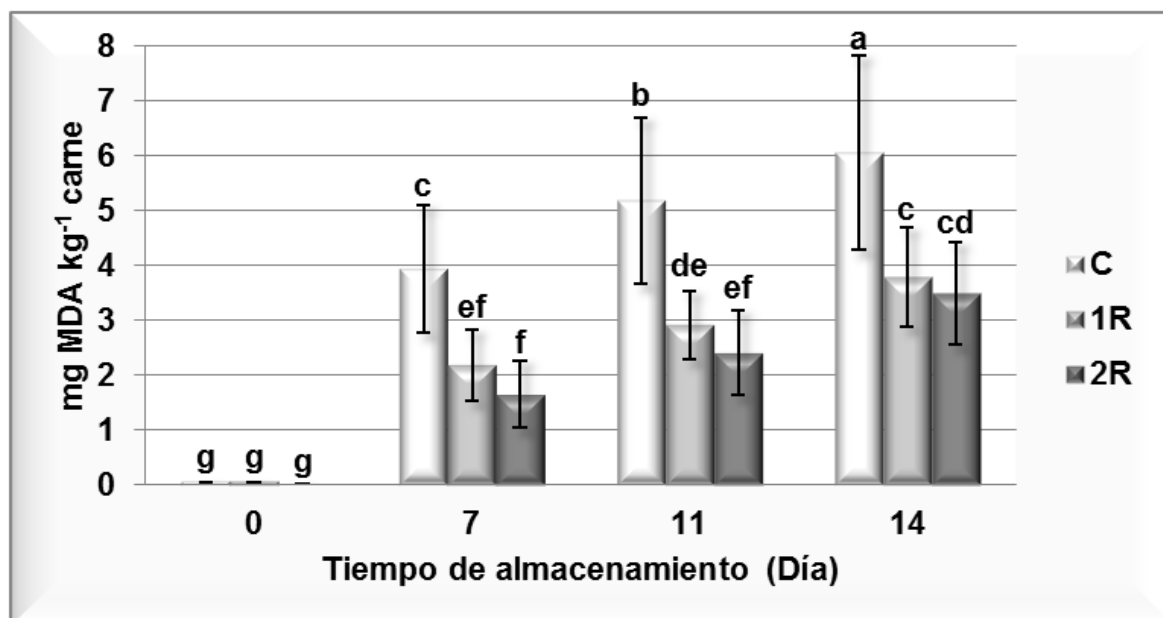
		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 11</i>	<i>Día 14</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Aerobios mesófilos totales	C	2,07±0,89 <sup>de</sup>	2,95±0,48 <sup>bc</sup>	3,31±1,06 <sup>ab</sup>	3,85±0,75 <sup>a</sup>
	1R	1,52±1,00 <sup>e</sup>	2,11±0,77 <sup>de</sup>	2,35±0,92 <sup>cd</sup>	2,89±0,89 <sup>bc</sup>
	2R	1,92±0,70 <sup>de</sup>	1,92±1,02 <sup>de</sup>	2,25±0,63 <sup>cde</sup>	2,96±0,66 <sup>bc</sup>
Psicrófilos totales	C	2,43±0,94 <sup>cd</sup>	3,25±0,67 <sup>bc</sup>	3,70±1,16 <sup>ab</sup>	4,32±1,12 <sup>a</sup>
	1R	2,11±0,92 <sup>d</sup>	2,55±1,11 <sup>cd</sup>	2,97±0,72 <sup>bcd</sup>	2,80±1,45 <sup>bcd</sup>
	2R	2,50±0,32 <sup>cd</sup>	2,45±0,73 <sup>cd</sup>	2,88±0,90 <sup>bcd</sup>	3,23±1,21 <sup>bc</sup>
Mohos y Levaduras	C	1,29±1,03 <sup>bcd</sup>	1,36±1,12 <sup>bcd</sup>	2,18±1,16 <sup>ab</sup>	2,62±0,83 <sup>a</sup>
	1R	<1	<1	1,39±1,21 <sup>bcd</sup>	1,11±1,38 <sup>cd</sup>
	2R	<1	<1	<1	1,78±1,25 <sup>abc</sup>
Enterobacterias	C	<1	<1	<1	<1
	1R	<1	<1	<1	<1
	2R	<1	<1	<1	<1

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

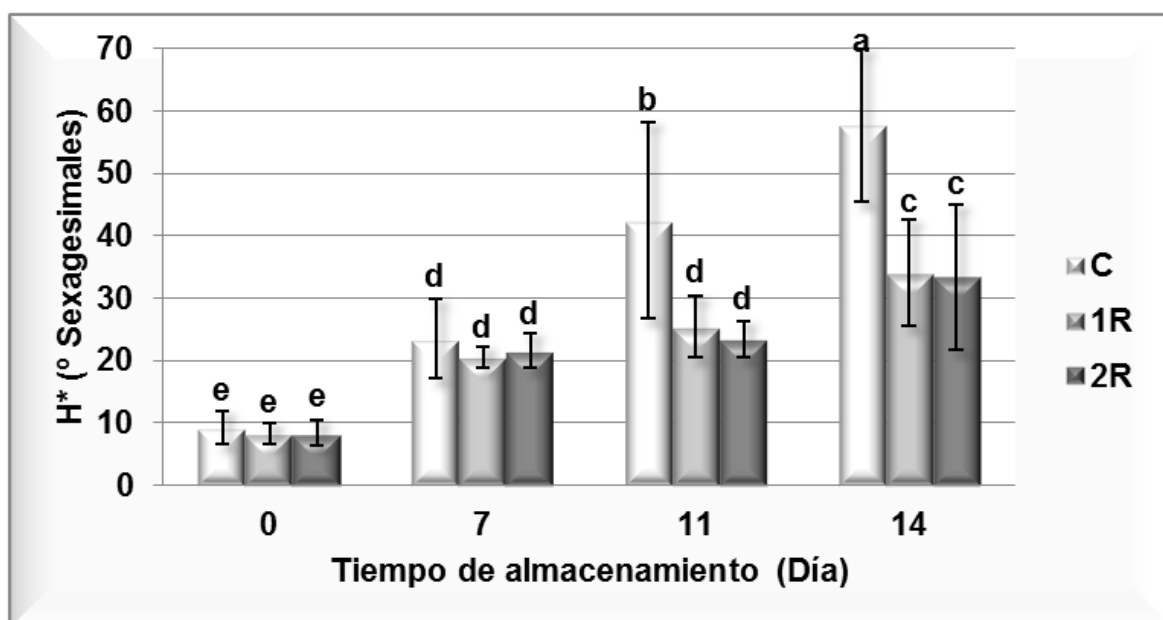
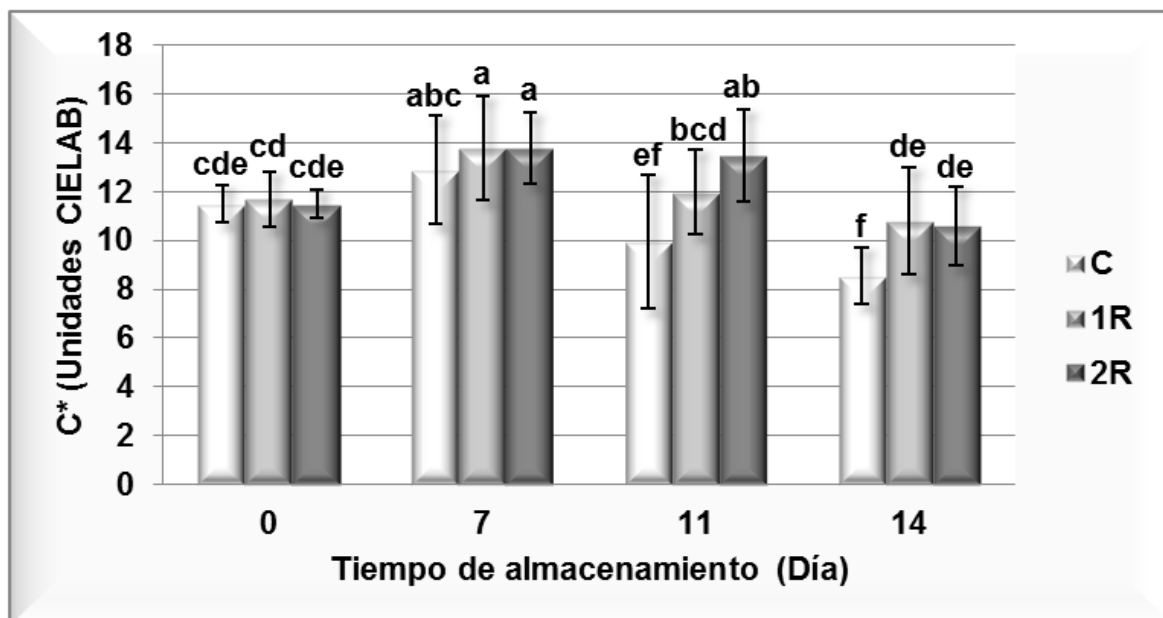
Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figuras 47.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg  $\text{kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los valores medios de TBARS y POx de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg  $\text{kg}^{-1}$ ; 2R: cebo 400 mg  $\text{kg}^{-1}$ .

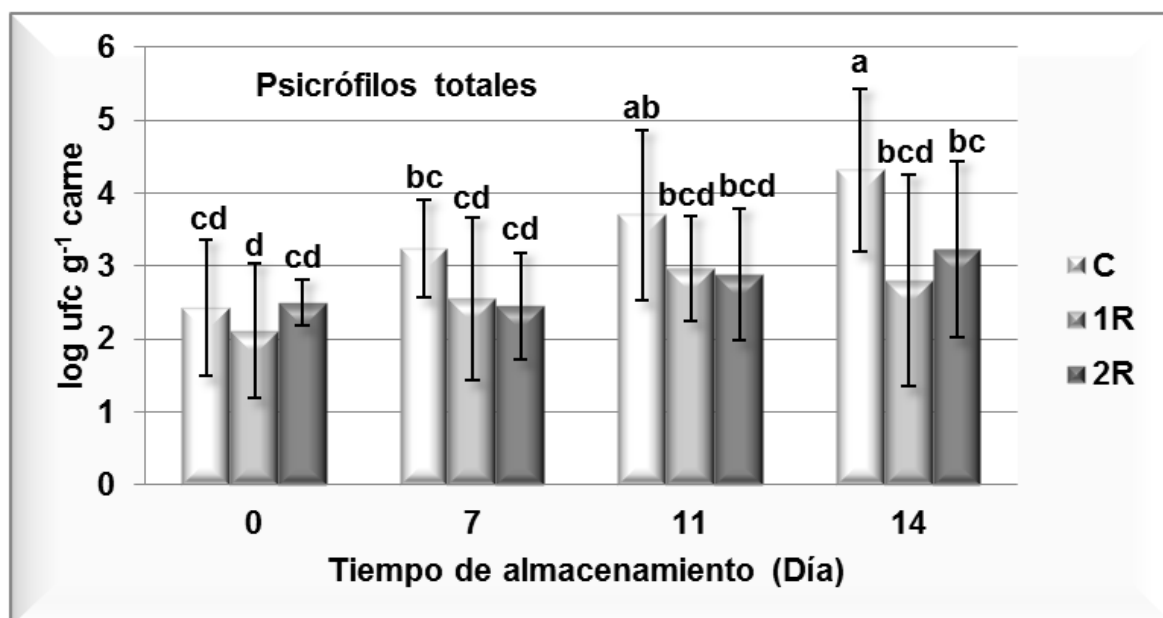
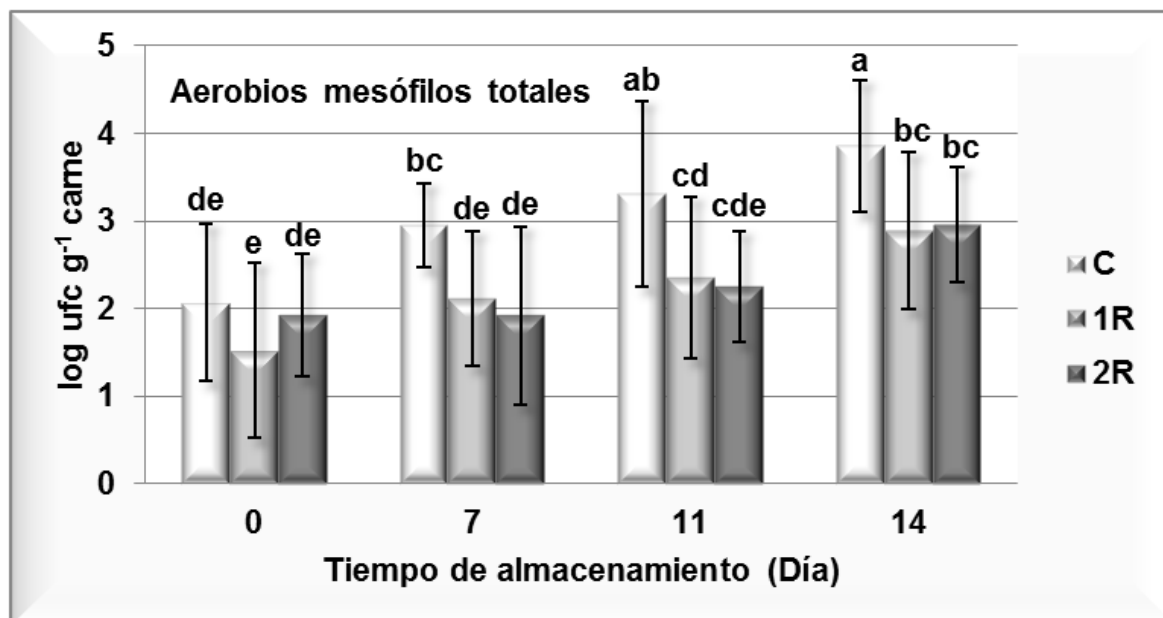
**Figuras 48.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los valores medios de tinte (C\*) y del ángulo de tono o matiz (H\* o Hue) de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

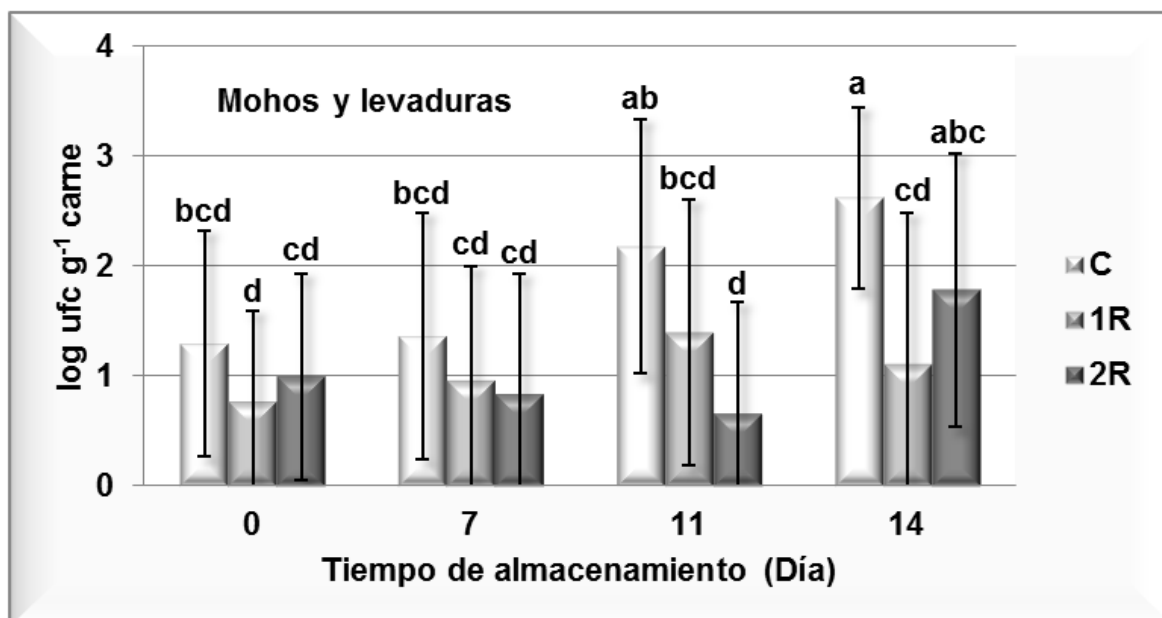


**Figuras 49.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg  $\text{kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los recuentos medios de bacterias aerobias mesófilas y bacterias psicrófilas de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg  $\text{kg}^{-1}$ ; 2R: cebo 400 mg  $\text{kg}^{-1}$ .

**Figura 50.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg  $\text{kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre los recuentos medios de mohos y levaduras de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.



Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg  $\text{kg}^{-1}$ ; 2R: cebo 400 mg  $\text{kg}^{-1}$ .

La **Tabla 35** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los diferentes atributos sensoriales analizados en el lomo crudo de cordero sin suplementar y suplementado con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Como en los experimentos anteriores, el tiempo de almacenamiento (pese a ser una semana inferior) continuó teniendo un mayor impacto ( $P \leq 0,05$ ) que la dieta sobre la apariencia y el olor de la carne cruda. La dieta sólo modificó ( $P \leq 0,001$ ) el color del magro y de la grasa, el olor propio, el olor rancio y la valoración de frescura de la carne, no afectando a otros atributos que apenas variaron ( $P > 0,05$ ). Se observaron interacciones entre la dieta y el tiempo de almacenamiento para el color del magro y de la grasa, el olor rancio y la valoración de frescura.

La **Tabla 36** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los atributos de apariencia y olor del lomo crudo de cordero sin suplementar y suplementado con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Como era previsible, los cambios sensoriales de la carne durante el almacenamiento fueron

similares a los observados en los experimentos 1 y 2, teniendo en cuenta la diferencia del periodo de tiempo evaluado, con un descenso gradual en la intensidad de los atributos indicativos de frescura y un incremento gradual en la intensidad de los indicativos de deterioro.

Coincidiendo con los resultados de color objetivo y del estado de oxidación, a partir del día 11 se observó cierta ( $P \leq 0,05$ ) ralentización del deterioro sensorial de la carne cruda en las muestras suplementadas con respecto a las muestras Control. Así, los lomos 1R y 2R obtuvieron puntuaciones más altas de color del magro y de la grasa, olor propio y frescura, mientras que el olor rancio fue más intenso en los lomos control (**Figuras 51 y 52**). La evaluación sensorial de estos cuatro atributos fue similar ( $P > 0,05$ ) en las muestras 1R y 2R. En cambio, la puntuación media de exudación fue en general muy baja y similar ( $P > 0,05$ ) para las tres dietas en los todos los tiempos de almacenamiento evaluados, mientras que la carne cruda apenas presentó olores ácidos, a moho o pútridos. Además, la suplementación con  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 permitió mejorar la valoración de frescura de la carne cruda incluso a los 7 días de almacenamiento, tal como sucedió en el experimento 2.

Finalmente, se realizó la estimación de la vida comercial de la carne. En este caso, las ecuaciones que mejor se ajustaron al relacionar el tiempo de almacenamiento y la valoración de frescura fueron de tipo polinómico. Tras aplicar las ecuaciones correspondientes a cada dieta, el tiempo de vida comercial de los lomos Control, 1R y 2R, envasados en atmósfera protectora 70/30  $\text{O}_2/\text{CO}_2$  y almacenados a  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  y 800 lx, fue estimado en 9,3, 12,8 y 13,4 días, respectivamente (**Figura 53**).

Por tanto, la suplementación dietética de los corderos con 200 y  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 también permitió prolongar entre 3 y 4 días aproximadamente la vida comercial de la carne cruda de cordero, gracias a que ralentizó el deterioro oxidativo y, en menor medida, microbiológico de la misma, alcanzándose resultados equiparables a los obtenidos en el experimento 2 con un dosis mayor del mismo extracto. La información obtenida sugiere que  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  podría ser la dosis mínima efectiva de este extracto de romero para mejorar la capacidad

de conservación de la carne cruda de cordero en las condiciones experimentales ensayadas.

**Tabla 35.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Color magro	29,4	***	97,1	***	6,54	***
Color grasa	18,0	***	111,3	***	4,43	***
Exudados	0,62	N.S.	18,5	***	0,83	N.S.
Olor propio	13,2	***	134,7	***	1,73	N.S.
Olor ácido	1,72	N.S.	24,2	***	1,28	N.S.
Olor mohoso	0,63	N.S.	1,41	*	0,63	N.S.
Olor pútrido	0,21	N.S.	3,16	*	0,97	N.S.
Olor rancio	19,5	***	81,7	***	3,22	**
Frescura	26,6	***	137,9	***	4,90	***

Grados de libertad: Dieta (2); Tiempo (3); Dieta x tiempo (6).

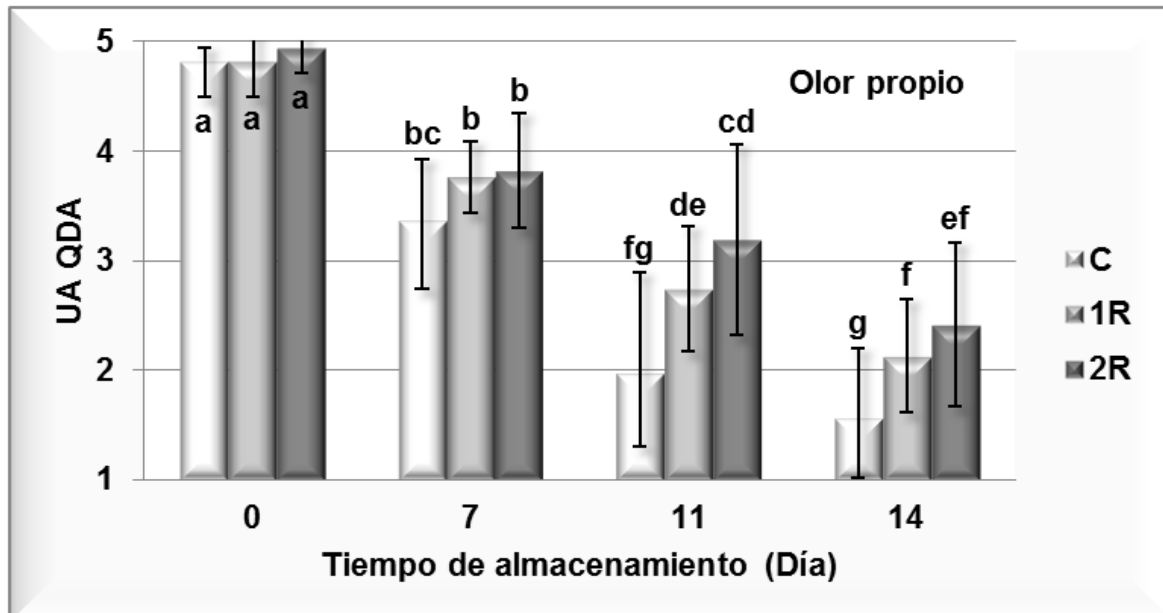
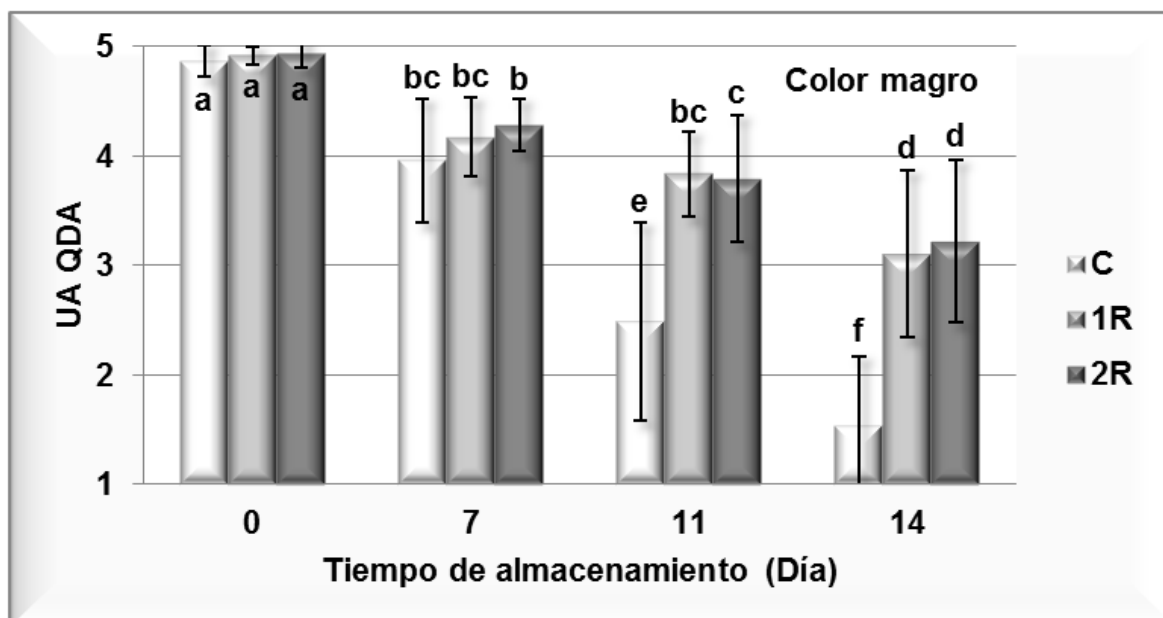
Niveles de significación: \*\*\* P≤0,001; \*\* P≤0,01; \* P≤0,05; N.S. P>0,05 (no significativo).

**Tabla 36.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la apariencia y el olor de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.

		<i>Día 0</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 11</i>	<i>Día 14</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Color magro	C	4,87±0,14 <sup>a</sup>	3,96±0,56 <sup>bc</sup>	2,49±0,91 <sup>e</sup>	1,55±0,62 <sup>f</sup>
	1R	4,92±0,08 <sup>a</sup>	4,17±0,36 <sup>bc</sup>	3,84±0,39 <sup>bc</sup>	3,11±0,76 <sup>d</sup>
	2R	4,93±0,12 <sup>a</sup>	4,28±0,24 <sup>b</sup>	3,79±0,58 <sup>c</sup>	3,22±0,74 <sup>d</sup>
Color grasa	C	4,83±0,26 <sup>a</sup>	4,06±0,31 <sup>bc</sup>	3,19±0,67 <sup>f</sup>	2,64±0,46 <sup>g</sup>
	1R	4,86±0,17 <sup>a</sup>	4,14±0,29 <sup>bc</sup>	3,82±0,27 <sup>cd</sup>	3,36±0,42 <sup>ef</sup>
	2R	4,88±0,14 <sup>a</sup>	4,19±0,27 <sup>b</sup>	3,87±0,35 <sup>cd</sup>	3,65±0,35 <sup>de</sup>
Exudados	C	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,42±0,27 <sup>b</sup>	1,56±0,48 <sup>ab</sup>	1,59±0,20 <sup>ab</sup>
	1R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,60±0,55 <sup>ab</sup>	1,46±0,26 <sup>b</sup>	1,95±0,70 <sup>a</sup>
	2R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,37±0,23 <sup>bc</sup>	1,50±0,32 <sup>b</sup>	1,92±0,82 <sup>a</sup>
Olor propio	C	4,81±0,32 <sup>a</sup>	3,37±0,63 <sup>bc</sup>	1,98±0,68 <sup>fg</sup>	1,58±0,56 <sup>g</sup>
	1R	4,81±0,31 <sup>a</sup>	3,76±0,33 <sup>b</sup>	2,74±0,57 <sup>de</sup>	2,13±0,52 <sup>f</sup>
	2R	4,93±0,21 <sup>a</sup>	3,82±0,52 <sup>b</sup>	3,19±0,87 <sup>cd</sup>	2,42±0,75 <sup>ef</sup>
Olor ácido	C	1,01±0,03 <sup>e</sup>	1,25±0,21 <sup>cd</sup>	1,50±0,29 <sup>ab</sup>	1,33±0,21 <sup>abcd</sup>
	1R	1,00±0,00 <sup>e</sup>	1,16±0,13 <sup>de</sup>	1,40±0,21 <sup>abc</sup>	1,45±0,23 <sup>ab</sup>
	2R	1,01±0,03 <sup>e</sup>	1,20±0,19 <sup>d</sup>	1,27±0,28 <sup>bcd</sup>	1,32±0,14 <sup>bcd</sup>
Olor mohó	C	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,01±0,03 <sup>ab</sup>
	1R	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>
	2R	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>b</sup>	1,03±0,11 <sup>ab</sup>
Olor pútrido	C	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,06±0,11 <sup>a</sup>
	1R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,03±0,10 <sup>abc</sup>	1,01±0,03 <sup>abc</sup>
	2R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,01±0,02 <sup>bc</sup>	1,02±0,05 <sup>abc</sup>	1,05±0,11 <sup>ab</sup>
Olor rancio	C	1,02±0,04 <sup>gh</sup>	1,77±0,61 <sup>def</sup>	2,86±0,69 <sup>ab</sup>	3,23±0,68 <sup>a</sup>
	1R	1,01±0,03 <sup>gh</sup>	1,50±0,17 <sup>ef</sup>	2,11±0,35 <sup>cd</sup>	2,48±0,38 <sup>bc</sup>
	2R	1,00±0,00 <sup>h</sup>	1,38±0,30 <sup>fg</sup>	1,84±0,49 <sup>de</sup>	2,25±0,53 <sup>c</sup>
Frescura	C	4,98±0,06 <sup>a</sup>	3,74±0,70 <sup>cd</sup>	2,21±0,86 <sup>f</sup>	1,35±0,51 <sup>g</sup>
	1R	5,00±0,00 <sup>a</sup>	4,06±0,35 <sup>bc</sup>	3,40±0,38 <sup>d</sup>	2,68±0,72 <sup>ef</sup>
	2R	4,99±0,03 <sup>a</sup>	4,26±0,27 <sup>b</sup>	3,53±0,60 <sup>d</sup>	2,82±0,82 <sup>e</sup>

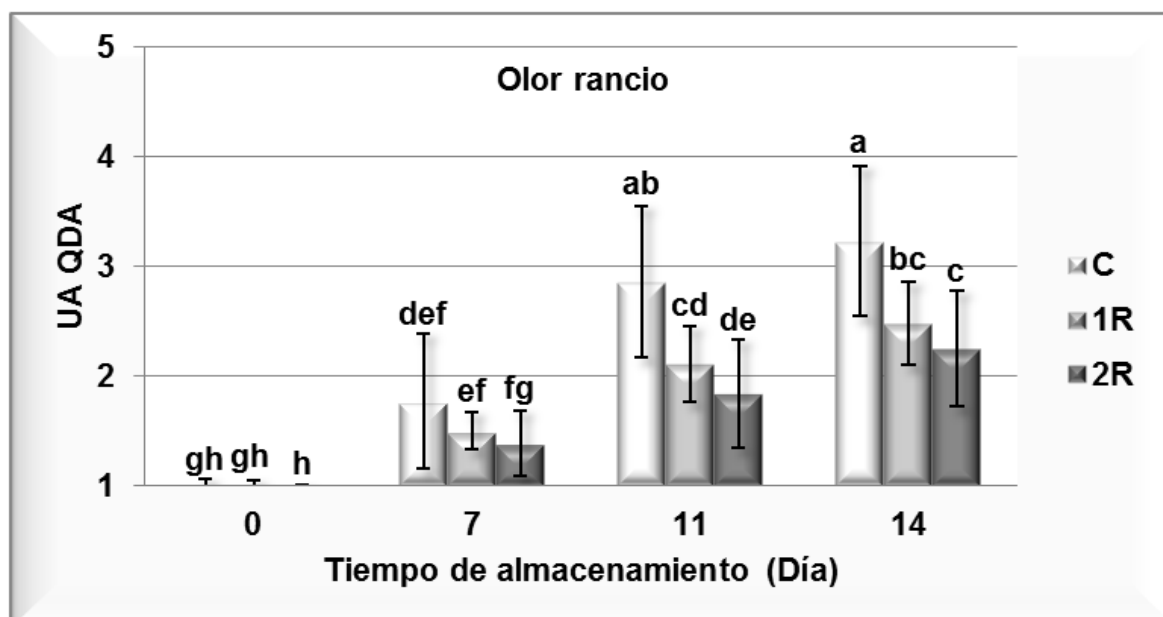
M±D: Medias ± desviaciones estándar. Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD). Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figuras 51.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de color magro y olor propio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.



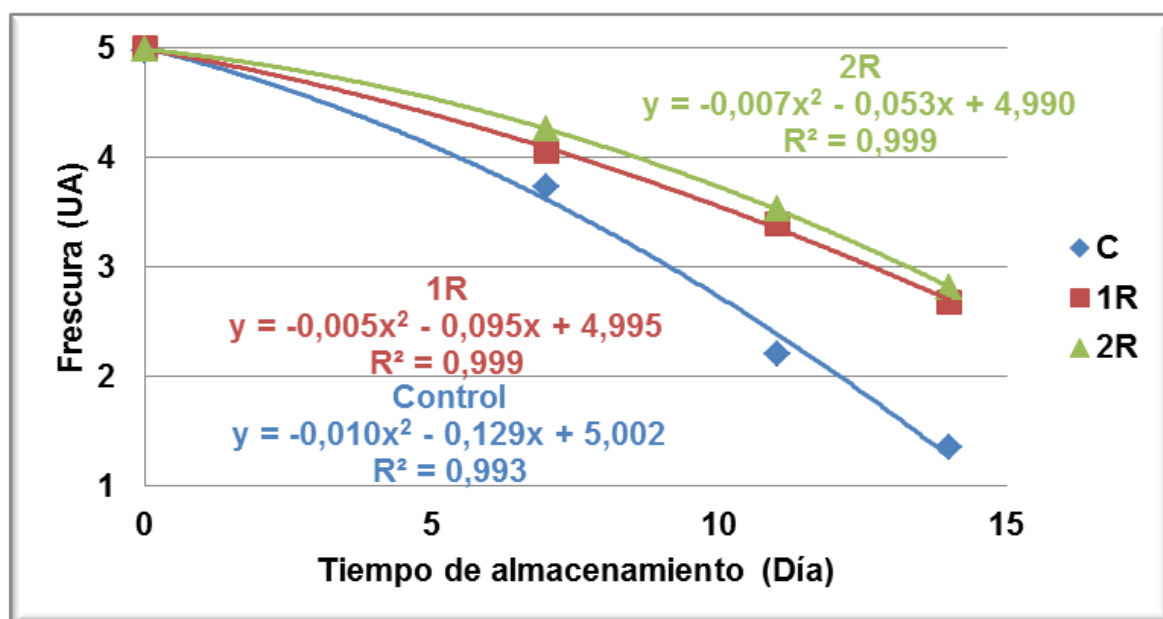
Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figura 52.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de olor rancio de la carne cruda de cordero expuesta hasta 14 días en condiciones de venta al por menor.



C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figura 53.** Estimación del tiempo de vida útil de los lomos crudos procedentes de corderos suplementados con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1, de acuerdo con su pérdida de frescura.



C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

R<sup>2</sup>: Coeficientes de regresión (polinómica).

### 5.3.2. Deterioro y vida comercial de carne cocinada.

La **Tabla 37** muestra los valores medios y desviaciones estándar para la composición proximal de las hamburguesas cocinadas procedentes de los corderos Control, 1R y 2R. El porcentaje medio de grasa de las hamburguesas tras el cocinado estuvo alrededor del 6%, similar al de los experimentos previos.

La suplementación dietética con 200 y 400 mg kg<sup>-1</sup> ER 1:1 no afectó ( $P>0,05$ ) a los porcentajes medios de humedad, grasa y proteína total de las hamburguesas cocinadas, por lo que no existieron diferencias de composición proximal entre tratamientos.

**Tabla 37.** Composición proximal (humedad, grasa total y proteína total) de las hamburguesas cocinadas (día 0 de almacenamiento) procedentes de corderos suplementados dietéticamente con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1.

	% Humedad	% Grasa	% Proteína
	<i>M±D</i>	<i>M±D</i>	<i>M±D</i>
C	64,9 ± 2,36	6,15 ± 1,63	25,3 ± 2,97
1R	64,6 ± 2,08	6,40 ± 1,17	26,1 ± 1,15
2R	64,9 ± 1,15	6,54 ± 1,05	25,9 ± 1,42

M±D: Media ± desviación estándar.

C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

La **Tabla 38** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los valores de TBARS y color CIELAB de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos sin suplementar y suplementados con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. De nuevo el tiempo de exposición modificó fuertemente ( $P\leq 0,001$ ) el valor de TBARS y el color objetivo de las hamburguesas cocinadas. Sin embargo, en contraste con el experimento 2, donde se utilizó el mismo extracto a



una dosis mayor, la dieta no afectó ( $P>0,05$ ) al índice TBARS ni a ninguna de las coordenadas de color objetivo.

La **Tabla 39** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los valores de TBARS y color CIELAB de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos sin suplementar y suplementados con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Como en los experimentos anteriores, las hamburguesas cocinadas experimentaron una fuerte oxidación lipídica y cierta decoloración durante su almacenamiento en refrigeración, aerobiosis e iluminación; Los cambios cromáticos estuvieron asociados a los valores de  $H^*$  y  $L^*$ , mientras que la coordenada  $C^*$  se mantuvo estable.

Se confirmó de nuevo que las condiciones de exposición (tipo catering) testadas presentaban un fuerte efecto prooxidante sobre la carne picada cocinada.

Con relación a la dieta, las hamburguesas Control, 1R y 2R presentaron valores medios similares ( $P>0,05$ ) de TBARS y de las coordenadas de color CIELAB en todos los días de exposición, por lo que la suplementación dietética con 200 y 400 mg  $kg^{-1}$  de ER 1:1 no resultó efectiva para retrasar la oxidación lipídica ni el deterioro del color en las hamburguesas cocinadas refrigeradas (**Figuras 54 y 55**).

**Tabla 38.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la carne cocinada (hamburguesas) de cordero expuesta hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA).

	<i>Dieta</i>		<i>Tiempo</i>		<i>Dieta x Tiempo</i>	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
TBARS	2,29	N.S.	241,1	***	0,49	N.S.
Luminosidad L*	0,44	N.S.	24,7	***	0,75	N.S.
Rojo-verde a*	0,61	N.S.	374,3	***	0,12	N.S.
Amarillo-azul b*	0,04	N.S.	13,6	***	0,98	N.S.
Tinte C*	0,01	N.S.	0,48	N.S.	0,64	N.S.
Tono H*	0,88	N.S.	592,6	***	2,23	N.S.

Grados de libertad: Dieta (2); Tiempo (2); Dieta x tiempo (4).

Niveles de significación: \*\*\*  $P \leq 0,001$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*  $P \leq 0,05$ ; N.S.  $P > 0,05$  (no significativo).

**Tabla 39.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la oxidación de lípidos y el color objetivo de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.

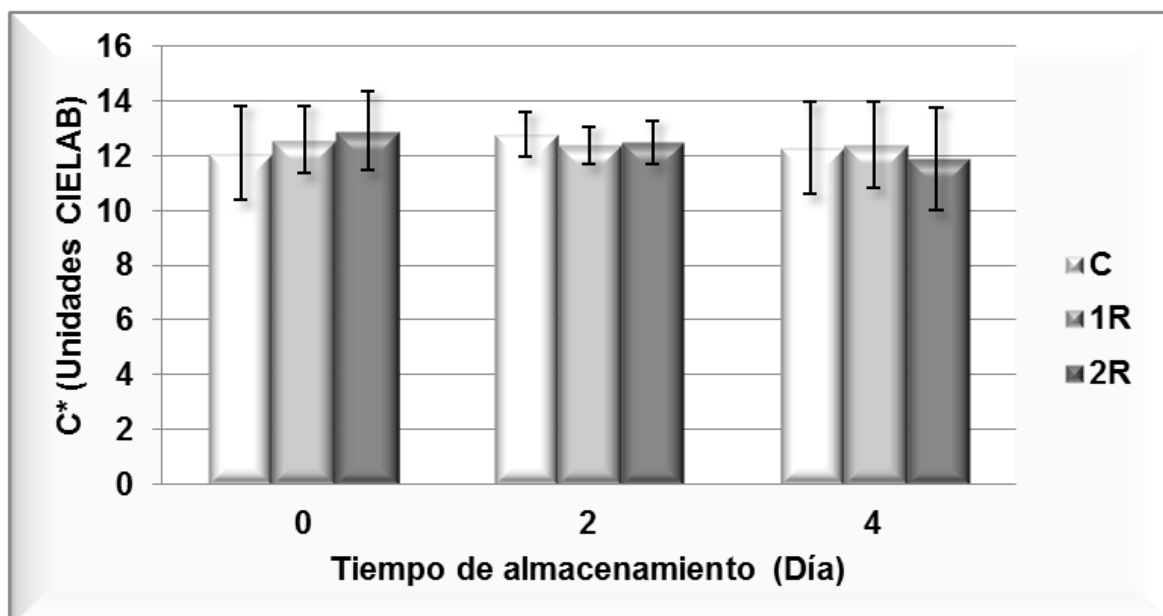
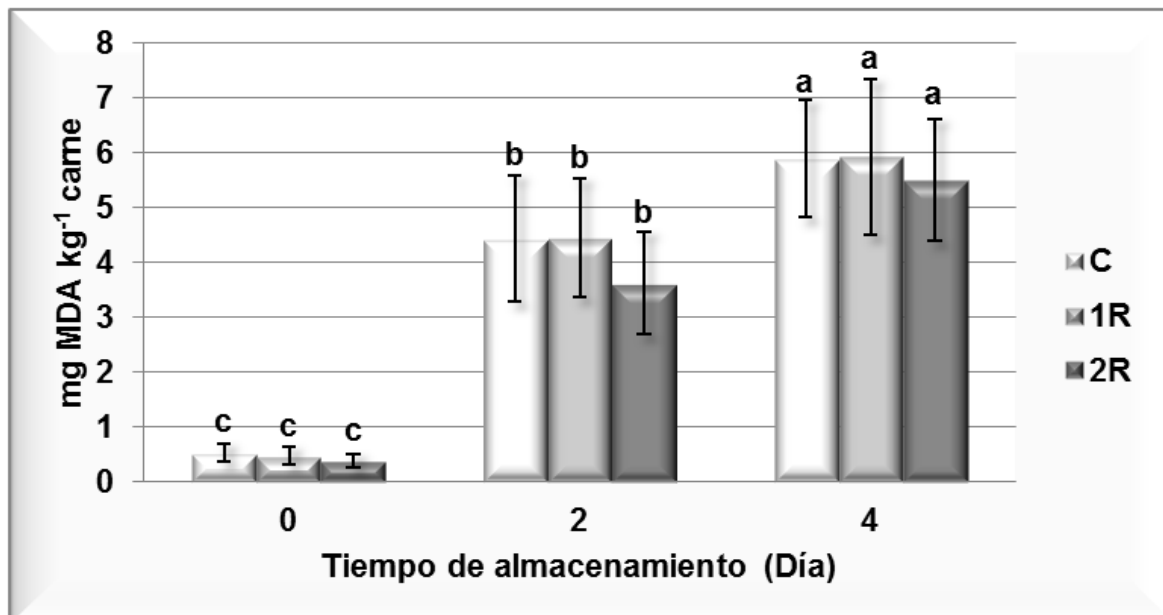
		<i>Día 0</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 4</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
TBARS	C	0,53±0,16 <sup>c</sup>	4,44±1,15 <sup>b</sup>	5,90±1,06 <sup>a</sup>
	1R	0,47±0,17 <sup>c</sup>	4,45±1,09 <sup>b</sup>	5,93±1,43 <sup>a</sup>
	2R	0,38±0,13 <sup>c</sup>	3,62±0,93 <sup>b</sup>	5,51±1,11 <sup>a</sup>
Luminosidad L*	C	51,4±3,62 <sup>d</sup>	55,7±1,76 <sup>ab</sup>	56,9±2,30 <sup>a</sup>
	1R	51,1±2,40 <sup>d</sup>	55,2±1,45 <sup>ab</sup>	56,7±2,42 <sup>ab</sup>
	2R	52,2±3,41 <sup>cd</sup>	54,3±2,15 <sup>bc</sup>	55,5±3,30 <sup>ab</sup>
Rojo-verde a*	C	10,4±1,49 <sup>a</sup>	9,30±1,66 <sup>b</sup>	8,50±1,47 <sup>c</sup>
	1R	10,7±0,60 <sup>a</sup>	9,11±1,68 <sup>b</sup>	8,70±1,48 <sup>c</sup>
	2R	10,8±1,81 <sup>a</sup>	9,18±1,70 <sup>b</sup>	8,30±1,34 <sup>c</sup>
Amarillo-azul b*	C	6,37±1,01 <sup>c</sup>	8,85±0,57 <sup>a</sup>	8,90±1,24 <sup>ab</sup>
	1R	6,67±0,89 <sup>c</sup>	8,43±0,43 <sup>ab</sup>	8,85±1,21 <sup>ab</sup>
	2R	7,12±0,80 <sup>bc</sup>	8,54±0,57 <sup>ab</sup>	8,49±1,44 <sup>ab</sup>
Tinte C*	C	12,1±1,71	12,8±0,82	12,3±1,71
	1R	12,6±1,24	12,4±0,68	12,4±1,58
	2R	12,9±1,44	12,5±0,80	11,9±1,86
Tono H*	C	31,6±1,96 <sup>c</sup>	43,6±1,37 <sup>b</sup>	46,3±0,78 <sup>a</sup>
	1R	32,0±3,00 <sup>c</sup>	42,8±2,35 <sup>b</sup>	45,5±1,82 <sup>a</sup>
	2R	33,4±3,29 <sup>c</sup>	42,9±2,68 <sup>b</sup>	45,6±2,96 <sup>a</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para P≤0,05 (Test LSD).

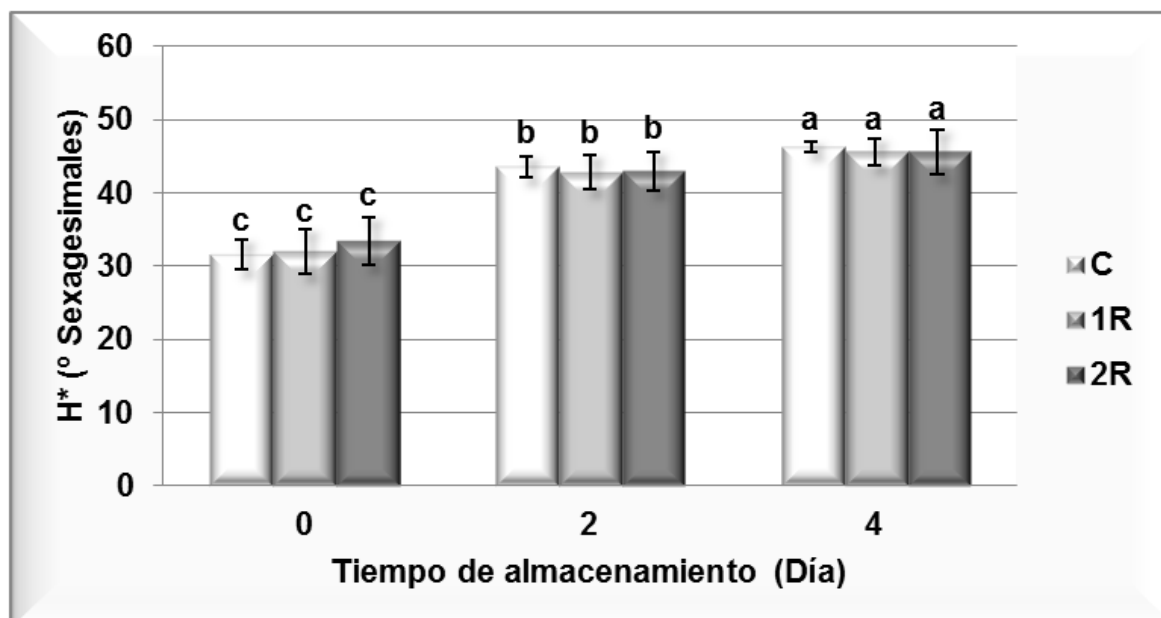
Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figuras 54.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre el valor medio de TBARS y tinte (C\*) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figura 55.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg  $\text{kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre el valor medio del ángulo de tono ( $H^*$ ) de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg  $\text{kg}^{-1}$ ; 2R: cebo 400 mg  $\text{kg}^{-1}$ .

La **Tabla 40** muestra los estadísticos F y P (ANOVA) para los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos sin suplementar y suplementados con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Confirmando los datos de TBARS y color objetivo, el tiempo de exposición afectó fuertemente ( $P \leq 0,001$ ) a todos los atributos sensoriales estudiados, mientras que la dieta también afectó ( $P \leq 0,05$ ), aunque en menor medida, a todos los atributos sensoriales evaluados, excepto el color y la jugosidad. La magnitud de los estadísticos F en ambos tratamientos daría una meridiana idea del impacto de cada uno de ellos sobre la calidad sensorial de la carne cocinada.

La **Tabla 41** muestra los valores medios y desviaciones estándar para los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas procedentes de corderos sin suplementar y suplementados con 200 ó 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso. Una vez más, el análisis sensorial de las hamburguesas mostró una rápida

pérdida de calidad durante su exposición, asociada principalmente al deterioro del color y al aumento de la rancidez de la carne.

Como en los experimentos 1 y 2, la carne cocinada sufrió un fuerte deterioro del olor y sabor propios (**Figura 56**) asociado fundamentalmente a la aparición de olores y sabores rancios y a recalentado (**Figuras 57 y 58**), detectados nuevamente a partir del segundo día de exposición. De igual modo, en lo referente al aspecto y a la textura, se detectó un deterioro del color y una pérdida gradual de terneza y jugosidad de las hamburguesas durante su almacenamiento.

Las puntuaciones medias de todos los atributos analizados por el panel fueron similares ( $P > 0,05$ ) en las hamburguesas 1R que en las hamburguesas Control durante todo el tiempo de exposición, coincidiendo con lo observado en el análisis físico-químico. En cambio, las hamburguesas 2R obtuvieron mejores valoraciones medias ( $P \leq 0,05$ ) que las hamburguesas Control en el olor propio, olor a recalentado y sabor rancio (menos intensos los dos últimos), así como en la valoración de frescura (no recalentado) en el segundo día de exposición, antes de que la carne cocinada presentara un fuerte deterioro, lo cual contrastaría con la falta de eficacia de la dosis de  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 para retrasar la oxidación lipídica. No obstante, las diferencias observadas entre muestras Control y 2R para las puntuaciones medias de otros atributos que aportan información similar, como el olor rancio, o el sabor propio y a recalentado, no llegaron a ser relevantes ( $P > 0,05$ ) desde un punto de vista estadístico.

En cualquier caso, la suplementación dietética de los corderos con  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1 resultó en cierta medida eficaz para retrasar el deterioro sensorial de las hamburguesas cocinadas expuestas en condiciones de catering, objetivo que no fue conseguido mediante la dosificación con  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER 1:1.

Esta conclusión se confirmó al estimar la vida comercial de las hamburguesas cocinadas mediante ecuaciones de regresión exponencial (**Figura 59**). Según la estimación, el tiempo de vida útil de las hamburguesas Control y 1R fue de 2,1 días en ambos casos, mientras que el tiempo de vida útil

de las hamburguesas 2R fue de 2,3 días. Ello supuso un aumento de la vida útil equivalente a la mitad del logrado con 600 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1. Esta diferencia, aunque pueda parecer *a priori* cuantitativamente poco relevante, podría incrementarse en condiciones de conservación menos prooxidantes para la carne.

**Tabla 40.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre los atributos sensoriales de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering. Estadísticos F y P (ANOVA).

	TRAT		DÍA		TRAT x DÍA	
	F	P	F	P	F	P
Color cordero cocinado	0,50	N.S.	657,6	***	0,88	N.S.
Olor cordero cocinado	2,54	*	670,7	***	1,74	N.S.
Olor rancio	0,14	N.S.	457,1	***	0,05	N.S.
Olor recalentado	0,77	*	563,7	***	2,23	N.S.
Sabor cordero cocinado	0,74	*	690,9	***	1,84	N.S.
Sabor rancio	0,82	*	466,8	***	1,81	N.S.
Sabor recalentado	1,57	*	559,3	***	0,70	N.S.
Terneza	0,19	*	368,5	***	1,91	N.S.
Jugosidad	0,24	N.S.	265,9	***	0,50	N.S.
Frescura	1,68	*	745,9	***	0,68	N.S.

Grados de libertad: Dieta (2); Tiempo (2); Dieta x tiempo (4).

Niveles de significación: \*\*\* P≤0,001; \*\* P≤0,01; \* P≤0,05; N.S. P>0,05 (no significativo).

**Tabla 41.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre la calidad sensorial de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.

		<i>Día 0</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 4</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Color cordero cocinado	C	4,67±0,08 <sup>a</sup>	3,26±0,34 <sup>b</sup>	2,35±0,25 <sup>c</sup>
	1R	4,68±0,15 <sup>a</sup>	3,38±0,37 <sup>b</sup>	2,31±0,27 <sup>c</sup>
	2R	4,60±0,23 <sup>a</sup>	3,44±0,20 <sup>b</sup>	2,42±0,22 <sup>c</sup>
Olor cordero cocinado	C	4,84±0,09 <sup>a</sup>	2,92±0,42 <sup>c</sup>	1,92±0,42 <sup>d</sup>
	1R	4,91±0,10 <sup>a</sup>	2,86±0,37 <sup>c</sup>	2,01±0,26 <sup>d</sup>
	2R	4,90±0,07 <sup>a</sup>	3,29±0,44 <sup>b</sup>	2,00±0,20 <sup>d</sup>
Olor rancio	C	1,00±0,00 <sup>c</sup>	2,35±0,37 <sup>b</sup>	3,31±0,31 <sup>a</sup>
	1R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	2,40±0,32 <sup>b</sup>	3,40±0,37 <sup>a</sup>
	2R	1,00±0,00 <sup>c</sup>	2,38±0,41 <sup>b</sup>	3,34±0,34 <sup>a</sup>
Olor recalentado	C	1,02±0,04 <sup>d</sup>	2,55±0,38 <sup>b</sup>	3,60±0,28 <sup>a</sup>
	1R	1,01±0,03 <sup>d</sup>	2,65±0,29 <sup>b</sup>	3,55±0,35 <sup>a</sup>
	2R	1,00±0,00 <sup>d</sup>	2,26±0,52 <sup>c</sup>	3,68±0,21 <sup>a</sup>
Sabor cordero cocinado	C	4,84±0,10 <sup>a</sup>	2,91±0,50 <sup>bc</sup>	1,93±0,31 <sup>d</sup>
	1R	4,89±0,08 <sup>a</sup>	2,84±0,38 <sup>c</sup>	2,05±0,13 <sup>d</sup>
	2R	4,90±0,08 <sup>a</sup>	3,18±0,50 <sup>b</sup>	1,88±0,15 <sup>d</sup>
Sabor rancio	C	1,11±0,12 <sup>d</sup>	2,55±0,36 <sup>b</sup>	3,23±0,37 <sup>a</sup>
	1R	1,04±0,06 <sup>d</sup>	2,40±0,28 <sup>bc</sup>	3,38±0,28 <sup>a</sup>
	2R	1,00±0,00 <sup>d</sup>	2,23±0,44 <sup>c</sup>	3,39±0,26 <sup>a</sup>
Sabor recalentado	C	1,04±0,08 <sup>d</sup>	2,66±0,46 <sup>bc</sup>	3,68±0,24 <sup>a</sup>
	1R	1,01±0,03 <sup>d</sup>	2,71±0,27 <sup>b</sup>	3,61±0,28 <sup>a</sup>
	2R	1,00±0,00 <sup>d</sup>	2,42±0,51 <sup>c</sup>	3,58±0,27 <sup>a</sup>



Tabla 41 continuación.

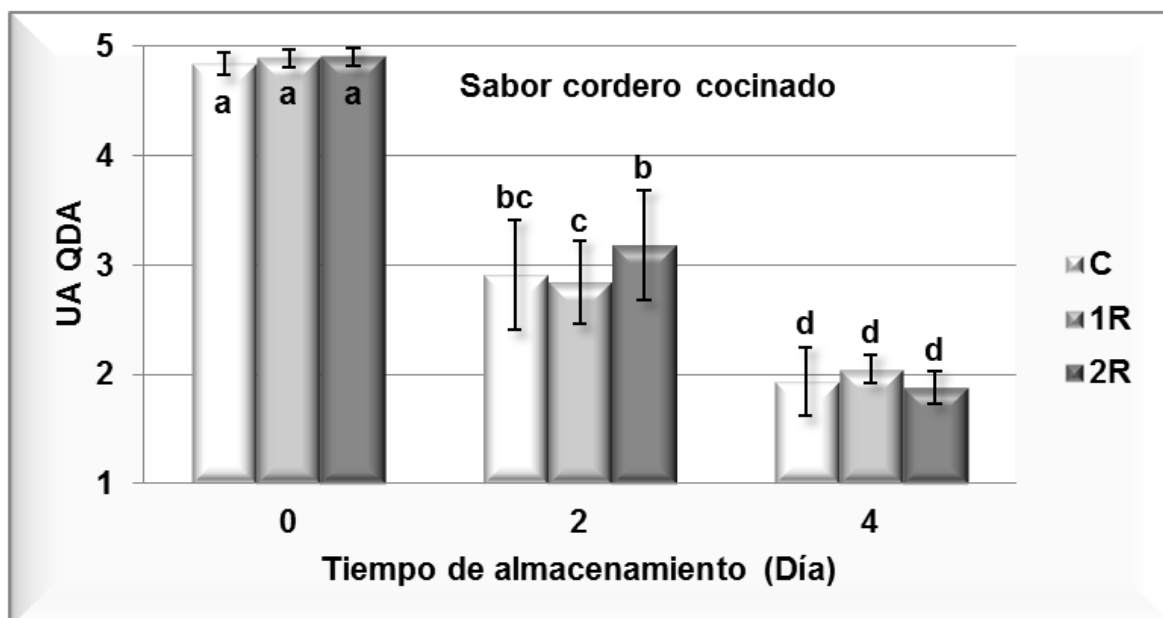
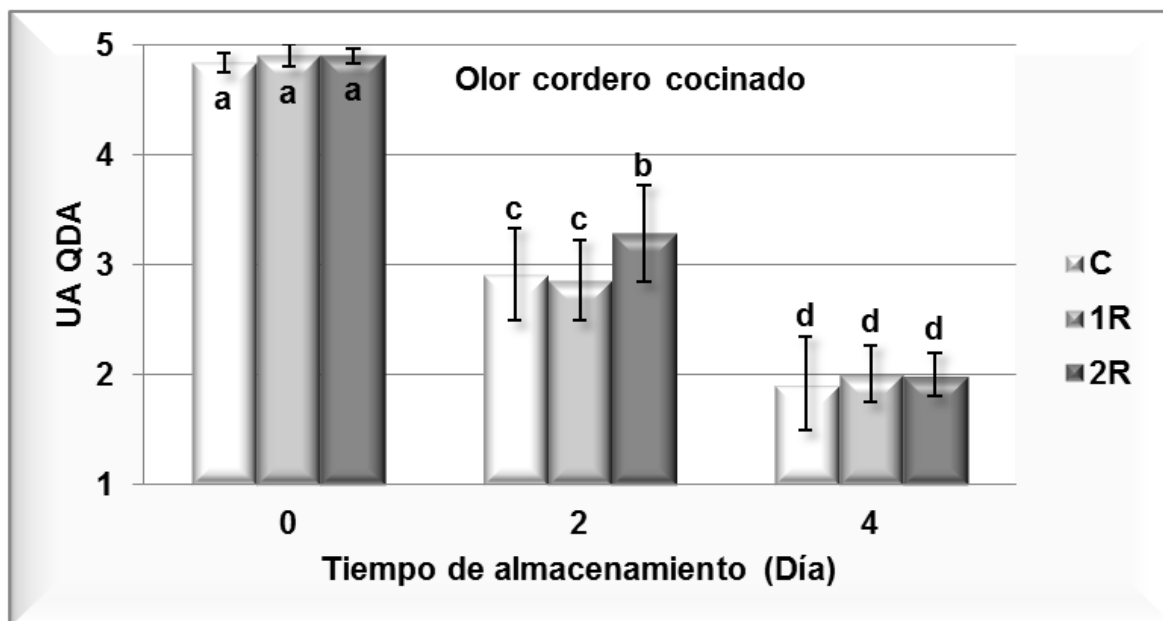
		<i>Día 0</i>	<i>Día 2</i>	<i>Día 4</i>
		<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>	<i>M ± D</i>
Terneza	C	4,65±0,16 <sup>a</sup>	3,84±0,38 <sup>b</sup>	3,07±0,23 <sup>c</sup>
	1R	4,79±0,15 <sup>a</sup>	3,75±0,17 <sup>b</sup>	2,94±0,23 <sup>cd</sup>
	2R	4,75±0,18 <sup>a</sup>	3,87±0,33 <sup>b</sup>	2,81±0,28 <sup>d</sup>
Jugosidad	C	4,47±0,32 <sup>a</sup>	3,34±0,43 <sup>b</sup>	2,55±0,39 <sup>c</sup>
	1R	4,64±0,15 <sup>a</sup>	3,38±0,19 <sup>b</sup>	2,43±0,31 <sup>c</sup>
	2R	4,57±0,26 <sup>a</sup>	3,46±0,43 <sup>b</sup>	2,51±0,41 <sup>c</sup>
Frescura	C	4,57±0,10 <sup>a</sup>	2,90±0,39 <sup>bc</sup>	1,83±0,29 <sup>d</sup>
	1R	4,62±0,09 <sup>a</sup>	2,82±0,26 <sup>c</sup>	1,82±0,30 <sup>d</sup>
	2R	4,61±0,08 <sup>a</sup>	3,10±0,51 <sup>b</sup>	1,91±0,14 <sup>d</sup>

M±D: Medias ± desviaciones estándar.

Medias con diferentes superíndices son diferentes para  $P \leq 0,05$  (Test LSD).

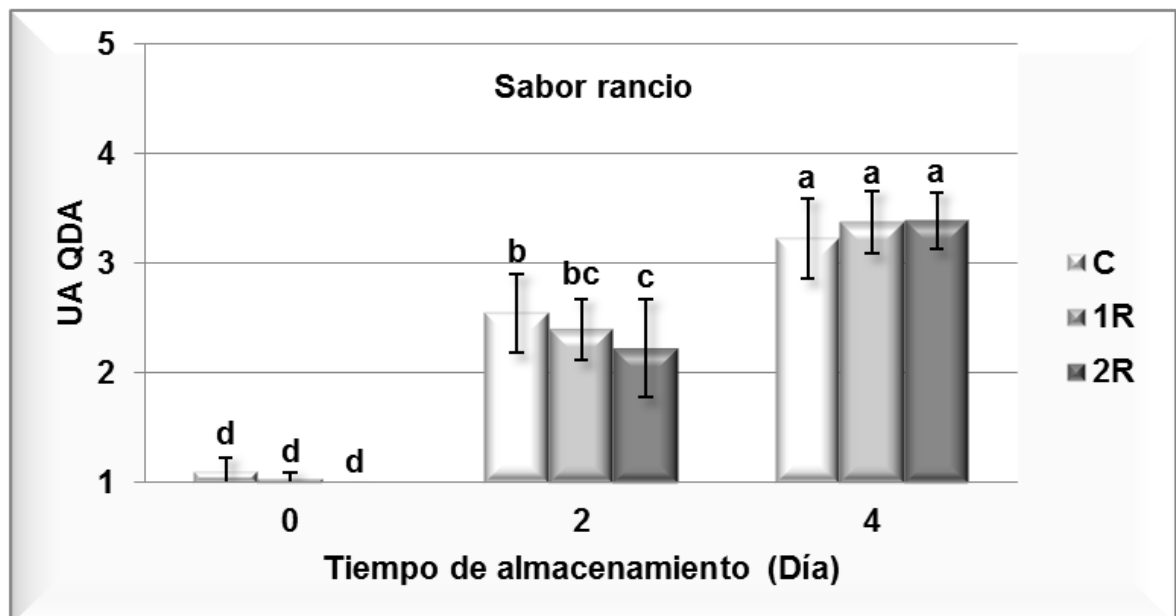
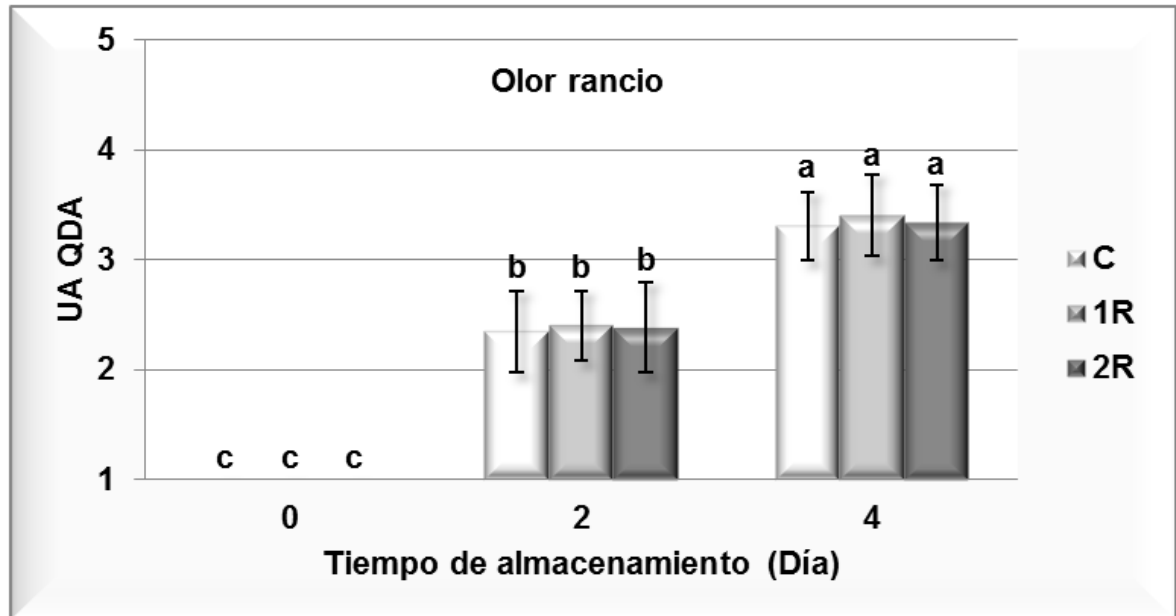
Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figuras 56.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las notas medias de olor y sabor propios de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



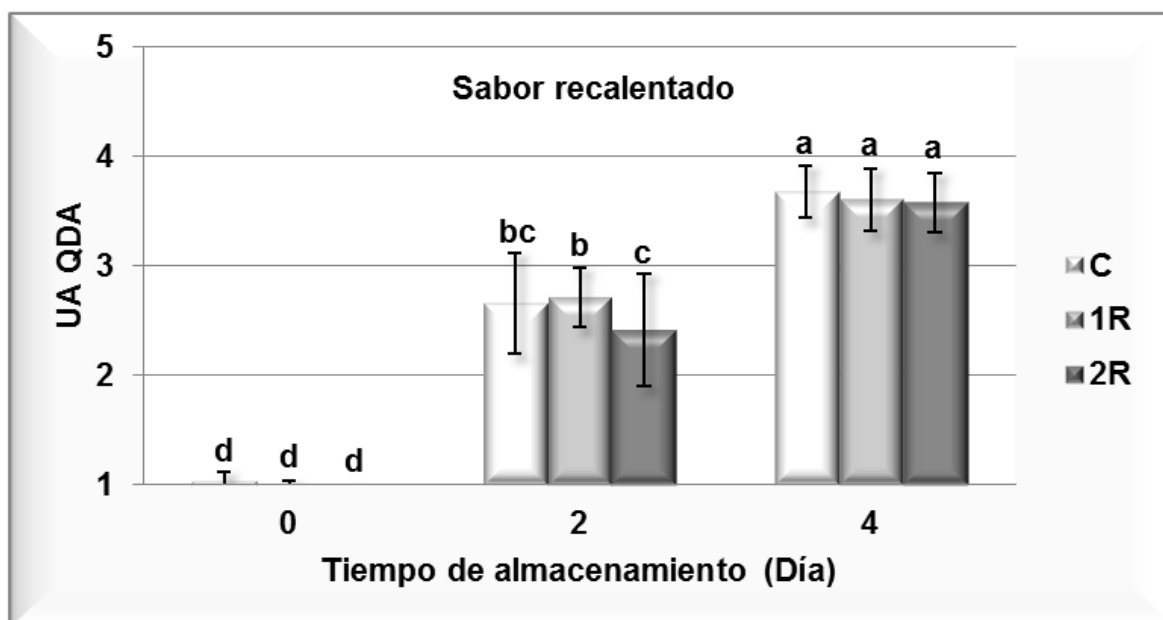
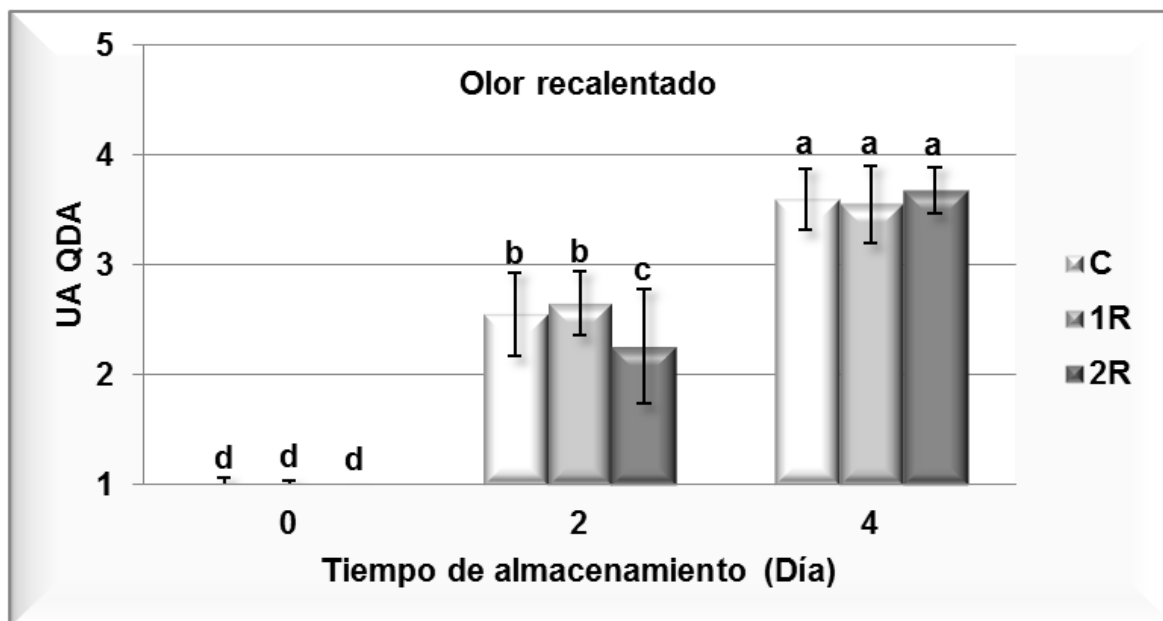
Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figuras 57.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg  $\text{kg}^{-1}$  de ER 1:1 sobre las notas medias de olor y sabor rancio de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



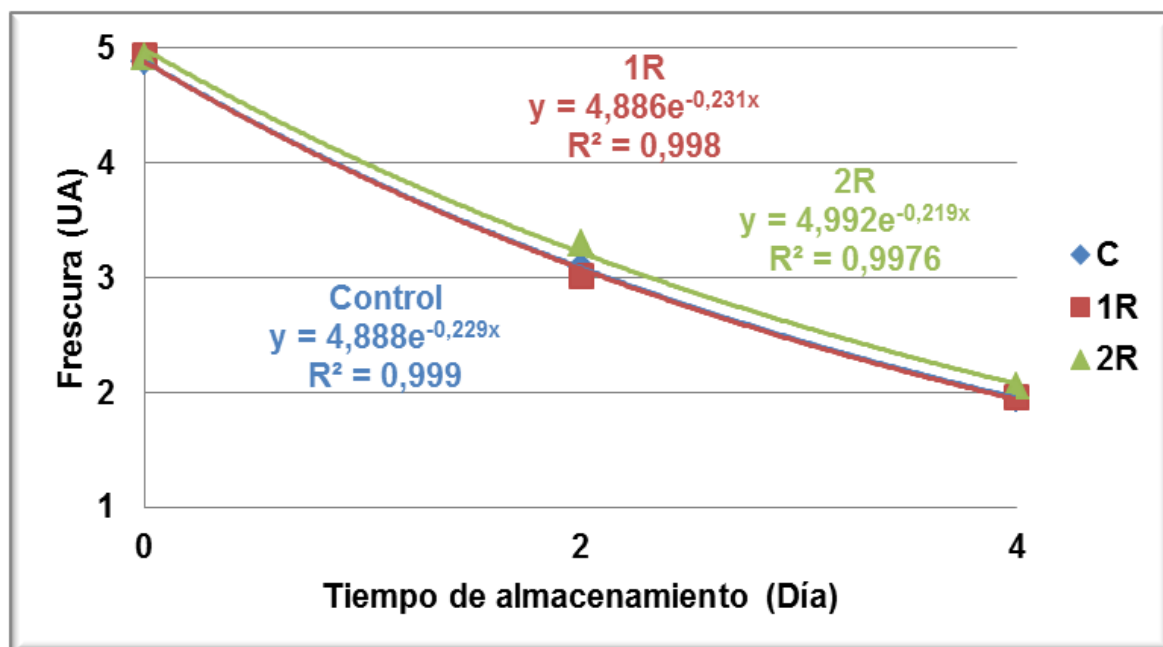
Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg  $\text{kg}^{-1}$ ; 2R: cebo 400 mg  $\text{kg}^{-1}$ .

**Figura 58.** Efecto de la suplementación dietética de corderos con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1 sobre las nota medias de olor y sabor a recalentado de las hamburguesas cocinadas de cordero expuestas hasta 4 días en condiciones de catering.



Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

**Figura 59.** Estimación del tiempo de vida útil de hamburguesas cocinadas de corderos sometidos a diferente grado de suplementación con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1, de acuerdo con su pérdida de frescura.



Niveles de suplementación: C: Control; 1R: cebo 200 mg kg<sup>-1</sup>; 2R: cebo 400 mg kg<sup>-1</sup>.

R<sup>2</sup>: Coeficientes de regresión (exponencial).

Por tanto, la suplementación de los corderos de cebo con 400 mg de ER 1:1 por kg de pienso consiguió extender ligeramente la vida comercial de las hamburguesas cocinadas refrigeradas, expuestas en condiciones usuales de comercialización para catering y restauración, mientras que la dosificación con 200 mg kg<sup>-1</sup> resultó insuficiente para tal propósito. La información obtenida sugiere que 400 mg kg<sup>-1</sup> podría ser la dosis mínima efectiva de este extracto de romero para mejorar la capacidad de conservación de la carne picada cocinada en las condiciones experimentales ensayadas.

## 5.4. Correlaciones.

### 5.4.1. Carne cruda.

La **Tabla 42** muestra los coeficientes de correlación de Pearson (R) entre los principales parámetros físico-químicos, microbiológicos y sensoriales analizados para evaluar la calidad de la carne cruda de cordero, envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración, en los tres experimentos realizados para la presente tesis (TBARS, POx, coordenadas L\*, C\* y H\*, aerobios mesófilos totales, psicrófilos totales y mohos y levaduras, color del magro, olor propio, olor rancio y valoración de la frescura). Todos estos parámetros estuvieron significativamente ( $P \leq 0,05$ ) correlacionados entre sí, a excepción de las coordenadas L\* y C\*.

La valoración sensorial del grado de frescura, el indicador global de calidad empleado, mostró una fuerte correlación ( $[R] > 0,93$ ;  $P \leq 0,001$ ) con los atributos color del magro, olor propio y olor rancio, ya que los panelistas se basaron en dichos atributos para hacer la valoración. A su vez, todos los atributos sensoriales señalados mostraron un alto nivel de correlación entre ellos.

Con respecto al análisis físico-químico, el índice TBARS también presentó una fuerte correlación ( $[R] > 0,83$ ;  $P \leq 0,001$ ) con todos los atributos sensoriales analizados, incluida la frescura, demostrando ser una técnica eficaz para estimar el grado de deterioro de la carne cruda, a pesar de haber sido calificada como poco fiable por parte de algunos autores. Los valores de H\* también se correlacionaron fuertemente ( $[R] > 0,83$ ;  $P \leq 0,001$ ) con el color del magro y la valoración de frescura, siendo la coordenada de color CIELAB que mejor permitió relacionar los datos objetivos obtenidos con el colorímetro, con los subjetivos, obtenidos mediante evaluación sensorial.

Otros parámetros físico-químicos relacionados con el deterioro oxidativo de la carne cruda, POx, L\* y C\*, también se correlacionaron con los atributos sensoriales, pero en menor medida que el índice TBARS y H\*, aunque de forma similar a los recuentos microbiológicos.

En resumen, los parámetros estudiados, ordenados de mayor a menor en función de su nivel de correlación con la valoración de frescura, fueron: color del magro > olor rancio > olor propio > TBARS > H\* > POx > mohos y levaduras > L\* > aerobios mesófilos totales > psicrófilos totales > C\*. Esto confirmó que la pérdida de frescura de la carne cruda durante su almacenamiento estuvo relacionada principalmente con su estado de oxidación y, en menor medida, con su deterioro microbiológico.

**Tabla 42.** Coeficientes de correlación de Pearson (R) entre índices TBARS y POx, coordenadas CIELAB y atributos sensoriales, en carne cruda de cordero envasada en atmósfera modificada y almacenada en refrigeración.

	TBARS	POx <sup>+</sup>	L*	C*	H*	AM	PT	ML	CM	OP	OR
POx <sup>+</sup>	0,70 <sup>***</sup>										
L*	0,46 <sup>***</sup>	0,53 <sup>***</sup>									
C*	-0,41 <sup>***</sup>	-0,26 <sup>**</sup>	-0,07 <sup>NS</sup>								
H*	0,70 <sup>***</sup>	0,67 <sup>***</sup>	0,68 <sup>***</sup>	-0,56 <sup>***</sup>							
AM	0,56 <sup>***</sup>	0,41 <sup>***</sup>	0,41 <sup>***</sup>	-0,32 <sup>***</sup>	0,52 <sup>***</sup>						
PT	0,61 <sup>***</sup>	0,45 <sup>***</sup>	0,26 <sup>***</sup>	-0,31 <sup>***</sup>	0,35 <sup>***</sup>	0,68 <sup>***</sup>					
ML	0,62 <sup>***</sup>	0,20 <sup>*</sup>	0,33 <sup>***</sup>	-0,21 <sup>***</sup>	0,36 <sup>***</sup>	0,57 <sup>***</sup>	0,75 <sup>***</sup>				
CM	-0,85 <sup>***</sup>	-0,65 <sup>***</sup>	-0,64 <sup>***</sup>	0,49 <sup>***</sup>	-0,84 <sup>***</sup>	-0,59 <sup>***</sup>	-0,55 <sup>***</sup>	-0,61 <sup>***</sup>			
OP	-0,83 <sup>***</sup>	-0,71 <sup>***</sup>	-0,58 <sup>***</sup>	0,43 <sup>***</sup>	-0,75 <sup>***</sup>	-0,56 <sup>***</sup>	-0,54 <sup>***</sup>	-0,57 <sup>***</sup>	0,88 <sup>***</sup>		
OR	0,85 <sup>***</sup>	0,69 <sup>***</sup>	0,58 <sup>***</sup>	-0,46 <sup>***</sup>	0,77 <sup>***</sup>	0,57 <sup>***</sup>	0,59 <sup>***</sup>	0,63 <sup>***</sup>	-0,91 <sup>***</sup>	-0,89 <sup>***</sup>	
F	-0,86 <sup>***</sup>	-0,67 <sup>***</sup>	-0,60 <sup>***</sup>	0,51 <sup>***</sup>	-0,83 <sup>***</sup>	-0,59 <sup>***</sup>	-0,58 <sup>***</sup>	0,62 <sup>***</sup>	0,96 <sup>***</sup>	0,93 <sup>***</sup>	-0,94 <sup>***</sup>

Niveles de significación: \*\*\* P≤0,001; \*\* P≤0,01; \* P≤0,05; <sup>NS</sup> P>0,05 (no significativo).

TBARS: índice de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; POx: índice de cuantificación de carbonilos totales; L\*: Luminosidad; C\*: Chroma; H\*: ángulo Hue; AM: aerobios mesófilos totales; PT: psicrófilos totales; ML: mohos y levaduras; CM: color del magro; OP: olor propio; OR: olor rancio; F: frescura. +: 112 casos incluidos (POx). Resto de variables: 288 casos incluidos.



#### 5.4.2. Carne cocinada.

La **Tabla 43** muestra los coeficientes de correlación de Pearson (R) entre los principales parámetros físico-químicos y sensoriales analizados para evaluar la calidad de la carne cocinada de cordero, envasada en aerobiosis y almacenada en refrigeración, en los tres experimentos realizados para la presente tesis (TBARS, coordenadas L\*, C\* y H\*, color propio, olor propio, olor rancio, olor recalentado, sabor propio, sabor rancio, sabor recalentado y valoración de frescura). Todos estos parámetros estuvieron significativamente ( $P \leq 0,01$ ) correlacionados entre sí.

Como en el caso de la carne cruda, la valoración de frescura en la carne cocinada también se correlacionó fuertemente ( $[R] > 0,87$ ;  $P \leq 0,001$ ) con el resto de atributos sensoriales analizados, siendo nuevamente éstos parámetros los que tuvieron los mayores coeficientes de correlación entre sí.

Como en la carne cruda, el índice TBARS presentó una fuerte correlación ( $[R] > 0,84$ ;  $P \leq 0,001$ ) con todos los atributos sensoriales estudiados, mostrándose como una técnica adecuada para evaluar también el estado de conservación de la carne cocinada. Por el contrario, las correlaciones entre la coordenada H\* y las puntuaciones sensoriales fueron muy inferiores a las observadas en el caso de la carne cruda, siendo mejores en esta ocasión las obtenidas con la coordenada C\*. Aun así, las tres coordenadas de color objetivo (L\*, C\* y H\*) presentaron coeficientes modestos con los atributos sensoriales estudiados, por lo que el análisis de color CIELAB en la carne cocinada no mostró ser tan eficaz para evaluar su deterioro como en el caso de la carne cruda, debido probablemente a la mayor distorsión de los valores de reflectancia en muestras de carne picada cocinada con respecto a la de la carne íntegra.

En definitiva, los parámetros que mejor se correlacionaron con la valoración de la frescura fueron: olor propio > sabor propio > sabor recalentado > color propio > TBARS > olor recalentado > olor rancio > sabor recalentado > C\* > L\* > H\*. Por tanto, se confirmó que el deterioro de la calidad de la carne cocinada durante su almacenamiento estuvo claramente asociado con el grado de oxidación de la grasa y, en menor medida, del deterioro del color.

**Tabla 43.** Coeficientes de correlación de Pearson (R) entre índice TBARS, coordenadas CIELAB y atributos sensoriales, en carne cocinada de cordero almacenada en aerobiosis y refrigeración.

	TBARS	L*	C*	H*	CP	OP	OR	ORE	SP	SR	SRE
L*	0,41 <sup>***</sup>										
C*	-0,61 <sup>***</sup>	-0,23 <sup>***</sup>									
H*	0,37 <sup>***</sup>	0,31 <sup>***</sup>	-0,18 <sup>**</sup>								
CP	-0,86 <sup>***</sup>	-0,42 <sup>***</sup>	0,50 <sup>***</sup>	-0,30 <sup>***</sup>							
OP	-0,90 <sup>***</sup>	-0,38 <sup>***</sup>	0,54 <sup>***</sup>	-0,34 <sup>***</sup>	0,90 <sup>***</sup>						
OR	0,85 <sup>***</sup>	0,38 <sup>***</sup>	-0,49 <sup>***</sup>	0,31 <sup>***</sup>	-0,84 <sup>***</sup>	-0,90 <sup>***</sup>					
ORE	0,89 <sup>***</sup>	0,41 <sup>***</sup>	-0,49 <sup>***</sup>	0,52 <sup>***</sup>	-0,86 <sup>***</sup>	-0,93 <sup>***</sup>	0,87 <sup>***</sup>				
SP	-0,89 <sup>***</sup>	-0,37 <sup>***</sup>	0,52 <sup>***</sup>	-0,30 <sup>***</sup>	0,89 <sup>***</sup>	0,97 <sup>***</sup>	-0,93 <sup>***</sup>	-0,90 <sup>***</sup>			
SR	0,84 <sup>***</sup>	0,39 <sup>***</sup>	-0,49 <sup>***</sup>	0,37 <sup>***</sup>	-0,83 <sup>***</sup>	-0,90 <sup>***</sup>	0,97 <sup>***</sup>	0,87 <sup>***</sup>	-0,92 <sup>***</sup>		
SRE	0,89 <sup>***</sup>	0,39 <sup>***</sup>	-0,49 <sup>***</sup>	0,49 <sup>***</sup>	-0,87 <sup>***</sup>	-0,93 <sup>***</sup>	0,88 <sup>***</sup>	0,97 <sup>***</sup>	-0,91 <sup>***</sup>	0,89 <sup>***</sup>	
F	-0,90 <sup>***</sup>	-0,37 <sup>***</sup>	0,57 <sup>***</sup>	-0,21 <sup>**</sup>	0,91 <sup>***</sup>	0,94 <sup>***</sup>	-0,89 <sup>***</sup>	-0,90 <sup>***</sup>	0,93 <sup>***</sup>	-0,87 <sup>***</sup>	-0,92 <sup>***</sup>

Niveles de significación: \*\*\*  $P \leq 0,001$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*  $P \leq 0,05$ ; <sup>NS</sup>  $P > 0,05$  (no significativo).

TBARS: índice de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; L\*: Luminosidad; C\*: Chroma; H\*: ángulo Hue; CP: color propio; OP: olor propio; OR: olor rancio; ORE: olor recalentado; SP: sabor propio; SR: sabor rancio; SRE: sabor recalentado; F: frescura.

Casos incluidos: 216.

### 5.5. Comparativa de los ensayos primero, segundo y tercero.

Finalmente se procedió a comparar los efectos (tomando como referencia las muestras Control de cada experimento) para tener una mejor visualización y comprensión de los resultados obtenidos y comentados en los tres capítulos anteriores.

Las **Tablas 44 y 45** resumen los resultados obtenidos en la carne cruda a 7 y 14 días de almacenamiento, momento en que se produjo el deterioro definitivo de la misma, procedente de los tres experimentos anuales.

**Tabla 44.** Comparación de efectos de los diferentes tratamientos dietéticos a base de extracto de romero realizados en corderos de engorde. Carne cruda envasada en atmósfera protectora.

	Día	ER 2:1		ER 1:1	
		600 mg kg <sup>-1</sup>	600 mg kg <sup>-1</sup>	400 mg kg <sup>-1</sup>	200 mg kg <sup>-1</sup>
TBARS	7	+++	+++	++	+
	14	++	+++	+	+
Luminosidad L*	7	-	-	-	-
	14	-	-	+	+
Rojo-verde a*	7	-	-	-	-
	14	-	+	+	+
Amarillo-azul b*	7	-	-	-	-
	14	-	-	+	+
Tinte C*	7	-	-	-	-
	14	-	++	+	+
Tono H*	7	-	-	-	-
	14	-	++	+	+
pH	7	-	-	-	-
	14	-	-	-	-

**Tabla 44 continuación.**

	Día	ER 2:1		ER 1:1	
		600 mg kg <sup>-1</sup>	600 mg kg <sup>-1</sup>	400 mg kg <sup>-1</sup>	200 mg kg <sup>-1</sup>
Mesófilos totales	7	-	-	+	+
	14	-	-	+	+
Psicrófilos totales	7	-	-	-	-
	14	-	+	+	+
Mohos y levaduras	7	-	-	-	-
	14	-	-	-	+
Enterobacterias	7	-	-	-	-
	14	-	-	-	-
Color magro	7	-	-	-	-
	14	+	++	+	+
Color grasa	7	-	-	-	-
	14	-	-	+	+
Exudados	7	-	-	-	-
	14	-	-	-	-
Olor propio	7	-	++	-	-
	14	-	-	+	+
Olor rancio	7	-	-	-	-
	14	+	++	+	+
Frescura	7	-	+	+	-
	14	-	++	+	+

+ Efecto; - sin efecto.

**Tabla 45.** Resumen de resultados de los tres experimentos (Exp.) obtenidos en carne cruda de cordero.

Exp.	Ratio	Dosis (mg kg <sup>-1</sup> )	Días de control	Análisis Físico-Químico y Microbiológico	Análisis Sensorial
1	2:1	600	0, 7, 14, 21	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fuerte reducción de la oxidación lipídica.</li> <li>- Moderado efecto antimicrobiano.</li> <li>- Ligera mejora de la estabilidad del color objetivo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Moderado retraso del deterioro del color del magro y del color de la grasa.</li> <li>- Ligera prevención del desarrollo del olor rancio.</li> </ul>
2	1:1	600	0, 7, 14, 21	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fuerte reducción de la oxidación lipídica.</li> <li>- Moderado efecto antimicrobiano.</li> <li>- Ligera mejora de la estabilidad del color objetivo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Moderado retraso del deterioro del color del magro y de la pérdida del olor propio.</li> <li>- Ligera prevención del desarrollo del olor rancio.</li> </ul>
3	1:1	200 /400	0, 7, 11, 14	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fuerte reducción de la oxidación lipídica.</li> <li>- Reducción de la oxidación proteica.</li> <li>- Moderado efecto antimicrobiano.</li> <li>- Mejora de la estabilidad del color objetivo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Retraso del deterioro del color del magro, color de la grasa y olor propio.</li> <li>- Prevención del desarrollo del olor rancio.</li> </ul>

Las **Tablas 46** y **47** resumen los resultados obtenidos en la carne picada cocinada a 2 y 4 días de exposición, momento en que se produjo el deterioro definitivo de la misma, procedentes de los tres experimentos anuales.

**Tabla 46.** Comparación de efectos de los diferentes tratamientos dietéticos a base de extracto de romero realizados en corderos de engorde. Carne picada cocinada expuesta en condiciones de catering.

	Día	ER 2:1		ER 1:1	
		600 mg kg <sup>-1</sup>	600 mg kg <sup>-1</sup>	400 mg kg <sup>-1</sup>	200 mg kg <sup>-1</sup>
TBARS	2	-	++	-	-
	4	-	+	-	-
Luminosidad L*	2	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
Rojo-verde a*	2	+	-	-	-
	4	+	-	-	-
Amarillo-azul b*	2	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
Tinte C*	2	+	-	-	-
	4	+	-	-	-
Tono H*	2	+	-	-	-
	4	+	-	-	-

Tabla 46 continuación.

	Día	ER 2:1		ER 1:1	
		600 mg kg <sup>-1</sup>	600 mg kg <sup>-1</sup>	400 mg kg <sup>-1</sup>	200 mg kg <sup>-1</sup>
Color	2	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
Olor	2	-	+	+	-
	4	-	+	-	-
Olor rancio	2	-	-	-	-
	4	-	+	-	-
Olor recalentado	2	-	-	+	-
	4	-	+	-	-
Sabor	2	-	+	-	-
	4	-	+	-	-
Sabor rancio	2	-	+	+	-
	4	-	+	-	-
Sabor recalentado	2	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
Terneza	2	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
Jugosidad	2	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
Frescura	2	-	-	-	-
	4	-	-	-	-

+ Efecto; - sin efecto.

**Tabla 47.** Resumen de resultados de los tres experimentos (Exp.) obtenidos en carne picada cocinada de cordero.

Exp.	Ratio	Dosis (mg kg <sup>-1</sup> )	Días de control	Análisis Físico-Químico	Análisis Sensorial
1	2:1	600	0, 2, 4	- Moderado retraso del deterioro del color objetivo.	- Sin efecto.
2	1:1	600	0, 2, 4	- Reducción de la oxidación lipídica.	- Retraso del deterioro del olor y sabor a carne cocinada. - Prevención del desarrollo de rancidez y sabor a recalentado.
3	1:1	200/400	0, 2, 4	- Sin efecto.	- Ligero retraso del deterioro del olor a carne cocinada (con dosis de 400 mg kg <sup>-1</sup> ). - Ligera prevención del desarrollo del olor recalentado y del sabor rancio (con dosis de 400 mg kg <sup>-1</sup> ).

+ Efecto; - sin efecto.



## 6. DISCUSIÓN.

La **carne cruda** se caracteriza por ser un producto altamente perecedero cuya calidad puede verse alterada durante los periodos de almacenamiento, exposición y venta, debido principalmente a fenómenos de tipo oxidativo y/o microbiológico. Frente a estos fenómenos suelen establecerse medidas preventivas con el fin de extender lo máximo posible su tiempo de vida comercial.

Las carnes rojas, como la de cordero, son envasadas en MAP con elevados porcentajes de oxígeno (70% - 80%), para favorecer la formación de oximioglobina y producir un deseado enrojecimiento de la carne (Kerry y col., 2006), y de dióxido de carbono (20% - 30%), el cual es absorbido por el agua y los lípidos de la carne, logrando su efecto conservante cuando alcanza niveles de saturación o equilibrio (Gill y Penney, 1988), capaces de inhibir el crecimiento de la mayoría de las bacterias del deterioro, responsables de la formación de colonias en superficie y de la producción de olores pútridos y relacionados con la descomposición de la carne (Jakobsen y Bertelsen, 2002).

La carne envasada se suele exponer en vitrinas refrigeradas iluminadas que a su vez permiten controlar el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes durante su comercialización (Zhou y col., 2010). La RTS especifica un recuento de  $6 \log \text{ufc g}^{-1}$  como límite máximo legal de aerobios mesófilos totales en carnes refrigeradas. Las principales bacterias psicrófilas capaces de alterar la carne cruda envasada en esta MAP son algunas bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* (géneros *Serratia* spp. y *Proteus* spp. principalmente), bacterias ácido-lácticas (géneros *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp. y *Leuconostoc* spp.) y *Brochothrix thermosphacta* (Esmer y col., 2011; Doulgeraki y col., 2012), entre otras, que suelen conformar los recuentos bacterianos de las carnes crudas refrigeradas. Las enterobacterias y las bacterias patógenas más comunes presentes en la carne (*E. Coli* y *Salmonella* spp.) son inhibidas bajo estas condiciones de almacenamiento, condiciones que, a su vez, hacen que la proliferación de mohos y levaduras sea irrelevante (McMillin, 2008).

El uso de atmósferas ricas en oxígeno y dióxido de carbono ha demostrado ser muy eficaz para controlar la calidad microbiológica de la carne

cruda de cordero (Lauzurica y col., 2005; Berruga y col., 2005; Nieto y col., 2010<sup>a</sup>, 2010<sup>b</sup>; Morán y col., 2012<sup>a</sup>; Fernandes y col., 2014).

Sin embargo, la alta concentración de oxígeno en los envases y la acción prooxidante de la luz fluorescente fomentan los procesos de desnaturalización y oxidación de las proteínas y lípidos musculares, con la formación gradual de metamioglobina, la consecuente decoloración y el desarrollo de rancidez, los cuales serían los principales factores limitantes de la vida útil de la carne. Todos estos procesos pueden conducir a una serie de alteraciones sensoriales, como el pardeamiento del tejido muscular magro, el oscurecimiento de la grasa intramuscular e intermuscular, la pérdida de líquidos por exudación de agua y otros componentes disueltos, la desaparición del típico olor a sangre o metálico y el desarrollo del olor rancio. El tiempo durante el cual el lomo crudo de cordero puede permanecer aceptable almacenado en las condiciones ensayadas (MAP, refrigeración e intensa iluminación) sería de 8-9 días (McMillin, 2008; Soldatou y col., 2009; Nieto y col., 2010<sup>b</sup>; Karabagias y col., 2011; Bañón y col., 2012). El deterioro del color y el olor se producirían de forma casi simultánea en la carne cruda envasada en MAP rica en oxígeno y dióxido de carbono (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>, 2010<sup>b</sup>).

Para la monitorización de la oxidación de la carne roja durante suelen emplearse diversos parámetros objetivos. Los cambios en el valor del tinte y en particular, del ángulo H\*, suelen aportar una buena información sobre el pardeamiento gradual de la carne y además presentan una buena correlación con el contenido en metamioglobina de la misma (Ripoll y col., 2011). El índice TBARS es el método más utilizado para cuantificar *grosso modo* el grado de oxidación lipídica en la carne. Soldatou y col. (2009) indicaron que la rancidez podía ser detectada en la carne cruda de cordero cuando el índice TBARS alcanzaba valores mayores de 4,4 mg MDA kg<sup>-1</sup>, dependiendo obviamente de la experiencia y la sensibilidad de los panelistas. Como se ha indicado anteriormente, las condiciones prooxidantes del almacenamiento de la carne alteran las mioproteínas, pudiendo afectar al grado de exudación y/o al flavor de la carne (Jayasingh y col., 2002; Fernandes y col., 2014). Se han detectado niveles de carbonilos superiores a 4,5 nmol mg<sup>-1</sup> en proteínas miofibrilares en

carne deteriorada de cordero, sin embargo, hasta la fecha no ha sido establecido ningún valor límite de aceptación para la oxidación de proteínas (Estévez, 2011). La medida de capacidad de retención de agua es otro parámetro muy empleado para cuantificar la exudación y valorar el aspecto de la carne cruda envasada, si bien la exudación de la carne fue irrelevante en las condiciones ensayadas. Otros autores han encontrado valores de CRA entre el 16% y el 22% en carne de cordero envasada en condiciones similares (Morán y col., 2010<sup>a</sup>). Otros parámetros más específicos utilizados para evaluar el grado de oxidación de la carne son la determinación de diferentes VOCs (Volatile Organic Compounds) y COPs (Cholesterol oxidation products).

Los fenómenos microbiológicos de deterioro van a tener una escasa importancia en la **carne cocinada** expuesta en condiciones de catering, aunque, bacterias lácticas u otras podrían proliferar en los productos envasados a vacío o en atmósferas modificadas. La carne cocinada refrigerada sufre una intensa oxidación en contacto con el aire, que altera rápidamente su olor y sabor. El propio cocinado provoca la desnaturalización de las mioproteínas y la degradación del grupo hemo. La alteración de los grupos hemo de las mioproteínas produciría una liberación masiva de iones  $\text{Fe}^{2+}$  que aumentaría la concentración de hierro libre (Chen y col., 1984), lo cual favorece a su vez los cambios en la permeabilidad de la membrana y la salida de estos iones  $\text{Fe}^{2+}$  y de otros cationes divalentes que son los principales catalizadores de las reacciones de oxidación de los lípidos de la carne (Mielche y Bertelsen, 1993).

Además, el calentamiento afecta a la compartimentación celular, alterando las membranas musculares y liberando ácidos grasos poliinsaturados que constituyen los fosfolípidos de la membrana, lo cual puede facilitar la interacción de los ácidos grasos insaturados con agentes oxidantes, tales como  $\text{Fe}^{2+}$  liberados y otros cationes divalentes (Mielche y Bertelsen, 1993; Hernández y col., 1999), promoviendo y acelerando las reacciones de oxidación lipídica, favoreciendo el desarrollo de rancidez y provocando un rápido deterioro de la calidad de la carne (Chen y col., 1984; Tichivangana y Morrissey, 1985). Cabe indicar que existe una estrecha interrelación entre los distintos fenómenos oxidativos que ocurren de forma simultánea en la carne (Estévez y Cava, 2004).

Otros factores que también pueden fomentar las reacciones de oxidación en la carne cocinada serían el picado previo y el mayor o menor contenido en grasa, junto con el tiempo y las condiciones de almacenamiento más o menos prooxidantes de la carne tras el cocinado. En la actualidad cada vez está más extendida la comercialización y distribución de platos preparados a base de carne, por lo que se optó por emplear condiciones de exposición similares a las de los comedores colectivos donde el público accede directa o indirectamente a los platos cocinados expuestos en lineales o vitrinas. Los platos cocinados pueden pasar horas, e incluso días, desde que son elaborados hasta que son consumidos en este tipo de sistemas. A medida que transcurre más tiempo tras el cocinado, se va produciendo una pérdida de la aceptación debido principalmente al progresivo deterioro del olor y sabor y, en menor medida, a la alteración del aspecto (Ramarathnam y col., 1993). Además, como se ha indicado anteriormente, la carne cocinada o recalentada es muy sensible a la oxidación lipídica, que genera compuestos volátiles responsables del deterioro del flavor y de la aparición de la rancidez (Reid y col., 1993; Gil, 2002). El valor umbral de MDA a partir del cual la carne cocinada de ternera comienza a ser inaceptable ha sido establecido en  $2,3 \text{ mg MDA kg}^{-1}$  (Campo y col., 2006).

Las hamburguesas cocinadas presentaron una fuerte tendencia a la oxidación y, más concretamente, a generar olores y sabores rancios y a recalentado. El enranciamiento fue claramente detectado por el panel, alterando el flavor de la carne en poco más de dos días, momento en el cual el flavor rancio y a recalentado llegó a predominar sobre el flavor propio de la carne cocinada. Existen diferentes causas que pueden contribuir a intensificar la oxidación de la carne cocinada. En primer lugar, el picado aumenta considerablemente la superficie de contacto y favorece la presencia de oxígeno ocluido en la carne. El cocinado es probablemente el principal factor prooxidante en este caso. La carne cruda prácticamente carece de compuestos volátiles y de olor propio, de modo que prácticamente todos los compuestos volátiles responsables del flavor de la carne cocinada de cordero se van a generar durante el tratamiento térmico, incluidos algunos compuestos indeseables, como determinados aldehídos, alcoholes y otros compuestos de la oxidación lipídica asociados al flavor rancio y a recalentado (Almela y col., 2009). La exposición en

aerobiosis e iluminación durante horas o días también ejercería una fuerte acción prooxidante sobre las hamburguesas cocinadas, a pesar de estar refrigeradas. Otros cambios observados en la carne cocinada, como el oscurecimiento de la superficie y la pérdida de jugosidad, podrían explicarse en parte por los fenómenos de oxidación y deshidratación favorecidos por la ventilación del aire en las vitrinas, al estar las hamburguesas envasadas con film permeable al vapor de agua.

Como se ha visto, los fenómenos de tipo oxidativo serían los principales responsables del deterioro de la carne de cordero, ya que la calidad microbiológica de la misma estaría asegurada por las condiciones de envasado en el caso de carne cruda, y por el tratamiento térmico en el caso de carne cocinada. Por tanto, el objetivo primordial de la suplementación dietética de los ovinos sería mejorar el estatus antioxidante de la carne de cordero, tanto cruda, como cocinada, para lograr extender lo máximo posible su tiempo de vida útil. Para ello es fundamental emplear compuestos con actividad antioxidante que cumplan una serie de premisas, en concreto, que sean biodisponibles para los ovinos y con una adecuada tasa de deposición muscular, que presenten actividad antioxidante sobre la carne procesada y, a ser posible, que sean termoestables para poder permanecer activos tras el cocinado. Por este motivo, para el presente trabajo de investigación se seleccionaron dos extractos liposolubles de romero ricos en ácido carnósico y carnosol, los dos compuestos polifenólicos más abundantes en el romero y con mayores posibilidades de cumplir las premisas antes citadas.

Los mecanismos de acción antioxidante de los compuestos polifenólicos son bien conocidos. El ácido carnósico y el carnosol serían responsables del 90% del potencial antioxidante de los extractos de romero (Aruoma y col., 1992; Frankel y col., 1996). Ambas moléculas pueden ser depositadas en el músculo de cordero en concentraciones capaces de inhibir la oxidación del mismo (Moñino y col., 2008; Jordán y col., 2014). Ambos diterpenos pueden inhibir las reacciones en cadena de oxidación de los lípidos gracias a sus anillos fenólicos, inhibiendo la formación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, tanto en alimentos, como en sistemas biológicos (Aruoma y col., 1992). Además,

pueden actuar como agentes quelantes de metales (Makris y Rossiter, 2000) y ejercer un efecto positivo sobre la ordenación lipídica y sobre la cubierta fosfolipídica de las membranas celulares (Pérez-Fons y col., 2009).

Los diterpenos ácido carnósico y carnosol son a su vez compuestos bioactivos capaces de inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas, Gram negativas y de levaduras (Moreno y col., 2006; Jordán y col., 2012), gracias a su acción sobre las membranas celulares de los microorganismos (Raccach, 1984). Ambos compuestos pueden interactuar con las membranas celulares bacterianas deformando su estructura y alterando su funcionalidad (Fung y col., 1977), favoreciendo la filtración de sus componentes celulares, provocando cambios en sus ácidos grasos, proteínas y fosfolípidos constituyentes (Pérez-Fons y col., 2009), interrumpiendo la función de las mitocondrias, el transporte de electrones y el metabolismo energético, disminuyendo la captación de nutrientes y provocando cambios en la síntesis del material genético (ADN y ARN) (Nychas, 1995).

El cocinado podría transformar parte de los productos derivados de ambos diterpenos depositados en el músculo y dar lugar a diversos productos de degradación, afectando a su potencial actividad antioxidante (Schwarz y Ternes, 1992). Por lo tanto, hay que tener en cuenta que una dosis de extracto efectiva para retrasar la oxidación en la carne cruda podría no resultar efectiva en la carne cocinada. Aunque no se dispone de estudios sobre estabilidad térmica de los polifenoles del romero en matrices cárnicas, se sabe que éstos podrían ser bastante estables a las temperaturas habituales de cocinado, ya que han demostrado cierta capacidad para prevenir la oxidación y el enranciamiento en estudios de vida útil realizados en filetes cocinados de cordero, los cuales se conservaron en condiciones similares a las del presente estudio (Nieto y col., 2011<sup>a</sup>).

Como se ha documentado, los estudios realizados sobre la mejora de la calidad de la carne de animales de abasto mediante la suplementación dietética con compuestos y extractos de origen vegetal (tocoferol, carotenos, catequinas, etc.) son numerosos, al igual otros referentes a la adición exógena de romero y sus derivados a productos cárnicos para mejorar la conservación de éstos. Sin

embargo, hasta la fecha, los estudios específicos sobre el empleo del romero como suplemento dietético son escasos.

Los estudios disponibles que abordan la suplementación dietética de los ovinos, madres y/o corderos, con derivados del romero con el objeto de mejorar la calidad de carne son los trabajos de Caputi-Jambrenghi y col. (2005), Nieto y col. (2010<sup>a</sup>, 2011<sup>a</sup>), Morán y col. (2012<sup>a</sup>, 2012<sup>b</sup>, 2013), Smeti y col. (2013) y Vasta y col. (2013). En dichos estudios se han investigado, tanto subproductos de la industria del romero (hoja libre de aceite esencial), de los cuales se obtienen los extractos ricos en ácido carnósico y carnosol, como principios activos (ácido carnósico) y aceites esenciales.

Caputi-Jambrenghi y col. (2005) emplearon un extracto de romero de composición desconocida en corderos pesados de raza “Gentile di Puglia”, empleando dosis de 500 y 1000 mg por kg de pienso. Estos autores analizaron lomo crudo fileteado envuelto en film de polietileno y almacenado en refrigeración (0 - 4 °C) y aerobiosis hasta 7 días, y sugirieron una posible relación dosis-efecto en la utilización del extracto, al observar que el uso de la dosis más alta del mismo mejoró la estabilidad del color, analizado mediante el sistema Hunter Lab, y previno el deterioro lipídico del músculo, analizado mediante el índice TBARS, mientras que el uso de la dosis más baja no afectó al color de la carne y únicamente de forma leve a su nivel de oxidación lipídica. Además, en este estudio también se observó que la suplementación con 500 mg de vitamina E por kg de pienso resultó efectiva para mejorar la estabilidad del color y reducir la oxidación lipídica en la carne cruda almacenada bajo las condiciones indicadas.

Nieto y col. (2010<sup>a</sup>, 2011<sup>a</sup>) llevaron a cabo un estudio muy similar al nuestro en carne de cordero de raza Segureña, empleando, en este caso, hoja de romero libre de aceite esencial, un subproducto de la industria del romero. El objetivo fue evaluar el efecto conservante sobre la carne de cordero cruda y cocinada de la suplementación dietética de las ovejas durante la gestación y la lactancia con dos niveles diferentes de hoja de romero libre de aceite esencial, incorporada al pienso en cantidades considerables, concretamente un 10% y un 20%. Aunque la composición en polifenoles de la hoja destilada de romero no

fue detallada, sí lo fue la riqueza en polifenoles procedentes del romero en el pienso (ver **Tabla 2**), encontrando que era particularmente rica en ácido carnósico y carnosol. El lomo de los corderos fue fileteado y envasado en atmósfera modificada (70/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y almacenado en condiciones de venta al por menor (4 ± 2 °C y 620 lx) hasta 21 días. Como en el presente estudio, la suplementación de las ovejas con subproducto de romero estabilizó el color, rebajó aproximadamente a la mitad los niveles de MDA de la carne, retrasó la aparición del olor rancio y también redujo los recuentos de aerobios mesófilos totales, psicrófilos totales y mohos y levaduras. Para estudiar la estabilidad de la carne cocinada se emplearon filetes de pierna expuestos en similares condiciones de catering. La suplementación dietética con subproducto de romero también permitió reducir los niveles de oxidación lipídica en este caso y, aunque no resultó totalmente efectiva para evitar el deterioro sensorial de la carne cocinada, sí sirvió para retrasar levemente el enranciamiento de ésta. Estos autores hicieron un segundo estudio con hoja destilada de tomillo (Nieto y col., 2010<sup>b</sup>, 2011<sup>b</sup>). A diferencia del pienso de romero, el pienso de tomillo contenía unos niveles bajos de carnosol (Moñino, 2010) y resultó menos efectivo que el pienso de romero para extender la vida comercial de la carne cruda y cocinada. Esta información resultó clave para diseñar los extractos de romero tipificados empleados en el presente estudio.

Morán y col. (2012<sup>a</sup>, 2012<sup>b</sup>, 2013) investigaron el potencial del ácido carnósico dietético como conservante en carne cruda y cocinada de cordero. Para ello incorporaron dicho compuesto, en dosis de 600 y 1200 mg kg<sup>-1</sup>, al pienso de corderos ligeros de raza Merina los cuales fueron suplementados durante 49 días. Los músculos *longissimus thoracis*, *longissimus lumborum* y *gluteus medius* fueron empleados para el estudio de carne cruda y el músculo *vastus intermedius* para el estudio de carne cocinada. La carne cruda fue fileteada, envasada en MAP (35/35/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>) y almacenada en refrigeración (3 ± 1 °C) bajo luz fluorescente (12 h día<sup>-1</sup>) hasta 14 días. La suplementación con ácido carnósico permitió reducir los niveles de MDA, pero no modificó el perfil de ácidos grasos de la carne cruda, además, demostró ser poco efectiva para evitar el deterioro del color (CIELAB), para reducir la oxidación proteica (POx) y para reducir los recuentos de *Pseudomonas*, psicrófilos totales, enterobacterias y



bacterias ácido-lácticas. También se realizó un análisis sensorial de la carne recién cocinada (prueba triangular), no apreciándose en ningún caso diferencias organolépticas atribuibles al tratamiento dietético. Aun así, la suplementación con ácido carnósico sí resultó efectiva en otros análisis donde la carne fue cocinada tras varios días de almacenamiento en condiciones de venta al por menor, ya que redujo la formación de COPs en carne almacenada 7 días, se mejoró el perfil de VOCs (con la dosis de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en carne almacenada 3 días y aumentó la terneza en carne almacenada 0, 7 y 14 días, resultados que podrían poner de manifiesto la termoestabilidad del ácido carnósico en la carne cocinada. Por otro lado, estos autores tampoco observaron una reducción del deterioro microbiológico ni de la oxidación proteica, derivadas de la suplementación con vitamina E en una dosificación de 600 mg por kg de pienso, en la carne cruda. Sin embargo, dicha suplementación sí resultó efectiva para mejorar la estabilidad del color (CIELAB) y reducir de forma destacada la oxidación lipídica (TBARS) en la carne cruda, y para disminuir la formación de COPs, mejorar el perfil de volátiles y aumentar el grado de terneza en la carne cocinada.

Vasta y col. (2013) estudiaron la composición de la grasa intramuscular y el perfil de compuestos orgánicos volátiles de carne cruda de corderos de raza Barbarine suplementados dietéticamente con  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  de aceite esencial de romero, no observando diferencias atribuibles a dicho tratamiento. Smeti y col. (2013) también estudiaron el efecto de la inclusión de aceite esencial de romero en la dieta de corderos de raza Barbarine, en este caso empleando una dosis de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$ , con el objetivo de mejorar la estabilidad de la carne durante el almacenamiento. Estos autores tampoco observaron diferencias en los niveles de MDA asociadas a la suplementación, ni en las coordenadas de color CIELAB de carne cruda envasada con film permeable al oxígeno y almacenada en refrigeración ( $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y oscuridad hasta 9 días. Además, tampoco apreciaron ninguna mejora en la valoración sensorial de la carne horneada ( $180 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) atribuible al tratamiento dietético. Los resultados de estos dos estudios sugirieron que el aceite esencial de romero podría ser, en las dosis ensayadas, poco efectivo como suplemento dietético para mejorar la calidad y la capacidad

conservante de la carne de cordero, a pesar de ser el componente de mayor valor económico de la planta.

Además de los ya comentados, existen otros estudios de suplementación dietética de ovinos con tocoferol (Vitamina E) para la mejora de la conservación de la carne.

Macit y col. (2003<sup>a</sup>) observaron que la suplementación de corderos de la raza Awassi con 45 mg de vitamina E por animal y día, durante 75 días, no produjo una mejora en el color (CIELAB) pero sí permitió reducir la oxidación lipídica (TBARS) en la carne cruda almacenada en aerobiosis, refrigeración (4 °C) y bajo luz fluorescente hasta 12 días. En un estudio similar a éste, diferenciado únicamente en la raza de los corderos (raza Morkaraman en lugar de Awassi), Macit y col. (2003<sup>b</sup>) indicaron que la suplementación con Vitamina E no sólo resultó efectiva para reducir la oxidación lipídica en la carne, sino que también lo fue para mantener el color rojo de ésta, al mejorar los valores de la coordenada a\* durante el almacenamiento.

Lauzurica y col., (2005) ensayaron tres niveles de suplementación con vitamina E (250, 500 y 1000 mg por kg de pienso) en corderos de raza Manchega, indicando que la utilización de la menor de las tres dosis permitió reducir la oxidación de la grasa (TBARS) y de los pigmentos (CIELAB) en la carne cruda envasada en MAP (70/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>), almacenada en refrigeración (2 ± 1 °C) y en ausencia de luz hasta 14 días. Además, estos autores observaron que mediante la utilización de la mayor de las tres dosis se logró obtener estos mismos resultados tras 28 días de almacenamiento. Sin embargo, el uso de la Vitamina E no afectó en ningún caso a los recuentos microbiológicos de aerobios mesófilos totales, bacterias ácido-lácticas y enterobacterias en la carne.

Ripoll y col. (2011) indicaron que la suplementación de corderos con 500 mg de vitamina E por kg de pienso aumentó la estabilidad del color (CIELAB) y redujo el nivel de oxidación de lípidos (TBARS) y el porcentaje de metamioglobina en la carne cruda envasada en MAP (40/30/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>/Ar) y almacenada en refrigeración (4 °C) y ausencia de luz hasta 13 días.

Kasapidou y col. (2012) ensayaron varias dosificaciones con vitamina E (30, 60, 120, 250 y 500 mg por kg) en el pienso de corderos cruzados de las razas Suffolk y Charolais, observando que únicamente el empleo de las dos dosis más altas permitió reducir el deterioro del color (CIELAB) y de la oxidación lipídica (TBARS) en la carne cruda envasada en MAP (75/25 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y almacenada en refrigeración (1 °C) y en ausencia de luz hasta 6 días.

Rivas-Cañedo y col. (2013) indicaron que la suplementación dietética de corderos de raza Manchega con vitamina E (300 mg por kg de pienso) retrasó los fenómenos oxidativos en la carne cruda envasada en MAP (70/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>), refrigerada (4 °C) y en ausencia de luz hasta 6 días, basando sus conclusiones en la mejora atribuible al tratamiento observada en el perfil de volátiles de la carne tras su cocinado.

Por último, Ripoll y col. (2013) estudiaron la suplementación dietética de corderos de la raza Rasa Aragonesa con vitamina E (500 mg por kg de pienso) en etapas de finalización de distinta duración (suplementación desde 10, 20 ó 30 días antes del sacrificio). Estos autores observaron que el tratamiento dietético permitió mejorar la estabilidad del color (CIELAB y Metamioglobina) y reducir la oxidación lipídica (TBARS) con las dos etapas de finalización de mayor duración, lográndose resultados más modestos con la etapa de 10 días.

Por otro lado, también son numerosos los estudios donde han sido evaluados otros compuestos y extractos de origen vegetal como suplementos dietéticos con potencial capacidad conservante de la carne de cordero.

Simitzis y col. (2008) observaron que la inclusión de aceite esencial de orégano, pulverizado en el pienso de corderos de raza Chios a razón de 1 ml por kg de pienso, permitió aumentar la estabilidad del color (CIELAB) y reducir la oxidación lipídica (TBARS) en la carne almacenada, tanto en refrigeración (4 °C) hasta 9 días, como en congelación (-20 °C) hasta 4 meses.

Luciano y col. (2009) indicaron que la suplementación dietética de corderos de raza Comisana con taninos de quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*), especie arbórea nativa de Sudamérica, en una dosis del 8,9% en el pienso, permitió estabilizar el color (CIELAB) de la carne cruda envasada en

MAP (80/20 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y almacenada en refrigeración (4 °C) y ausencia de luz hasta 14 días. Sin embargo, dicho tratamiento no afectó a la oxidación lipídica (TBARS) de la carne.

Nieto y col. (2010<sup>b</sup>, 2011<sup>b</sup>) observaron que la inclusión de hojas de tomillo, en dosificaciones del 3,7% y 7,5%, en el pienso de ovejas de raza Segureña, durante las etapas de gestación y lactación, permitió reducir los recuentos microbiológicos (aerobios mesófilos totales y psicrófilos totales), disminuir el grado de oxidación lipídica (TBARS) y mejorar la calidad sensorial de la carne cruda de sus corderos, envasada en MAP (70/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y almacenada en refrigeración (4 ± 2 °C) bajo luz fluorescente (620 lx) hasta 21 días. Además, la más alta de las dos dosificaciones mejoró también la estabilidad del color objetivo (CIELAB). En este mismo estudio, estos autores observaron que el tratamiento dietético también redujo la oxidación lipídica (TBARS), mejoró el perfil de VOCs y retrasó el deterioro de la calidad sensorial de la carne cocinada (72 °C) de los corderos, almacenada en aerobiosis, refrigeración (4 ± 2 °C) y bajo intensa iluminación (620 lx) hasta 4 días.

Jerónimo y col. (2012) indicaron que la suplementación dietética de corderos de raza Merina con extracto de semilla de uva y con hojas y tallos de jara pringosa (*Cistus ladanifer* L.), arbusto nativo de la cuenca del Mediterráneo, en dosificaciones en el pienso del 2,5% y 25%, respectivamente, permitió reducir los niveles de oxidación lipídica (TBARS) en la carne almacenada en aerobiosis, refrigeración (2 °C) y bajo intensa iluminación hasta 7 días. Sin embargo, dicha suplementación no resultó efectiva para estabilizar el color (CIELAB) de la carne cruda ni para mejorar las características sensoriales de la carne cocinada.

Rivas-Cañedo y col. (2013) observaron, en el estudio indicado anteriormente, que la suplementación con extracto de vino tinto (900 mg por kg de pienso) también retrasó los fenómenos oxidativos en carne cruda de cordero.

Luciano y col. (2013) indicaron que la suplementación del pienso de corderos de raza Appenninica con orujo de oliva, en una dosis del 35%, mejoró la estabilidad oxidativa (TBARS y COPs) en carne cruda envasada en MAP

(80/20 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y almacenada en refrigeración (4 °C) y ausencia de luz hasta 11 días.

Andrés y col. (2014) observaron que la suplementación dietética de corderos de raza Merina, con una dosis de 2000 mg de quercetina por kg de pienso, mejoró la estabilidad del color (CIELAB) y redujo la oxidación lipídica (TBARS) y los recuentos de psicrófilos totales en la carne cruda almacenada en aerobiosis, refrigeración (3 ± 1 °C) y bajo luz intensa hasta 14 días. Además, dicho tratamiento también permitió reducir el contenido de COPs de la carne una vez cocinada (75 °C), sin embargo, no afectó a su perfil de volátiles y determinó un empeoramiento de su textura instrumental, al producir un descenso en su nivel de ternura.

Inserra y col. (2014) indicaron que la suplementación del pienso de corderos de raza Comisana con pulpa seca de frutos cítricos, en dosis del 24% y 35%, no mejoró la estabilidad del color (CIELAB) en la carne cruda, almacenada en aerobiosis, refrigeración (4 °C) y oscuridad hasta 6 días, pero sí resultó efectiva para reducir la oxidación lipídica (TBARS) en la misma. Gravador y col. (2014) demostraron la eficacia de dicho tratamiento dietético para reducir la oxidación de proteínas (POx) en un estudio realizado con las mismas condiciones.

En último lugar, cabe señalar que también existen estudios basados en la suplementación dietética con romero y derivados realizados con otras especies distintas del cordero, los cuales consideramos interesantes detallar a pesar de que sus resultados puedan no ser extrapolables a los obtenidos en la presente tesis.

López-Bote y col. (1998) estudiaron el efecto de la suplementación dietética de pollos con oleorresina de romero, en dosis de 500 mg kg<sup>-1</sup> en el pienso, sobre la oxidación de lípidos (TBARS) y sobre la formación de COPs en la carne envuelta en film y conservada en diversas condiciones de almacenamiento: refrigerada (4 °C) hasta 9 días, congelada (-20 °C) hasta 4 meses y refrigerada tras el cocinado (70 °C) hasta 4 días, expuesta o no bajo luz fluorescente en todos los casos. Estos autores observaron que el tratamiento

con oleroresina resultó efectivo para mejorar la estabilidad oxidativa de la carne en todos los casos.

Cullen y col. (2005) no observaron diferencias atribuibles a la incorporación de romero liofilizado al pienso de cerdos, en dosis de  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $10000 \text{ mg kg}^{-1}$ , sobre los atributos sensoriales de la carne cocinada ( $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

O'grady y col. (2006) investigaron sobre la suplementación dietética de terneros con un extracto de romero con una relación aproximada de 2:1 entre ácido carnósico (26,7%) y carnosol (12,1%), similar a la del extracto empleado en el primer experimento de la presente tesis. La dosis ensayada fue de  $1000 \text{ mg}$  de extracto por animal y día (durante 103 días). Estos autores observaron que la inclusión del extracto en la dieta de los terneros no mejoró la estabilidad oxidativa, estimada en base a los valores del índice TBARS y de las coordenadas de color CIELAB, de la carne cruda almacenada en MAP ( $80/20 \text{ O}_2/\text{CO}_2$ ), refrigeración ( $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y bajo luz fluorescente ( $616 \text{ lx}$ ) hasta 8 días. Dicha suplementación tampoco redujo la oxidación lipídica de la carne cocinada ( $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) envasada, tanto en MAP ( $70/30 \text{ N}_2/\text{CO}_2$ ), como en aerobiosis, y almacenada en refrigeración e iluminada hasta 11 días, ni mejoró las propiedades sensoriales de la misma almacenada bajo dichas condiciones hasta 6 días.

Govaris y col. (2007) estudiaron el efecto antioxidante y antimicrobiano sobre la carne derivado de la inclusión de hojas deshidratadas y flores de romero a la dieta de pavos, en dosificaciones de  $5000$  y  $10000 \text{ mg kg}^{-1}$  en el pienso. A consecuencia de dicha suplementación, estos autores observaron una reducción de la concentración de MDA y de los recuentos de aerobios mesófilos totales, psicrófilos totales y enterobacterias en la carne cruda almacenada en aerobiosis, refrigeración ( $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y ausencia de luz hasta 12 días.

Botsoglou y col. (2007) realizaron un experimento muy similar al anterior, empleando también hojas deshidratadas de romero, en dosificaciones de  $5000$  y  $10000 \text{ mg kg}^{-1}$ , para suplementar el pienso de pavos. En este caso, gracias al tratamiento dietético se redujeron los niveles de MDA, tanto en carne cruda, como en carne cocinada ( $85 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ), almacenada en aerobiosis, refrigeración ( $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) y ausencia de luz hasta 9 días.

Janz y col. (2007), por su parte, no encontraron diferencias atribuibles a la incorporación de aceite esencial de romero al pienso de cerdos, en una dosis de 500 mg kg<sup>-1</sup>, sobre el grado de oxidación lipídica (TBARS) ni sobre las características organolépticas de la carne cocinada (75 °C) y almacenada en refrigeración (0 - 1 °C) bajo iluminación artificial hasta 4 días.

Por último, Haak y col. (2008) utilizaron una dosis baja (40 mg kg<sup>-1</sup>) de extracto de romero con un porcentaje de diterpenos fenólicos y flavonoides del 7,2% para suplementar la dieta de cerdos. Estos autores indicaron, en base a los resultados obtenidos mediante el análisis de las coordenadas de color CIELAB, el índice TBARS y el índice POx, que dicho tratamiento no resultó efectivo para mejorar la estabilidad oxidativa de la carne cruda y cocinada (70 °C), almacenada en aerobiosis, refrigeración (4 °C) y bajo luz fluorescente (900 lx) hasta 8 días.

La mayoría de los estudios dietéticos realizados para mejorar la capacidad endógena de conservación de la carne de cordero y de otras especies mediante el empleo de derivados del romero coinciden en general en el gran valor de éste como fuente de compuestos antioxidantes y/o antimicrobianos capaces de depositarse en el tejido muscular a concentraciones suficientes para conservar la carne procesada. No obstante, algunos de los estudios dietéticos realizados en ovinos con romero difieren en sus resultados, probablemente debido a distintos factores de variación, como la distinta composición de los productos dietéticos ensayados, las diferencias de dosificación y del periodo de administración a los ovinos, las diferencias en la alimentación y la edad de los corderos muestreados, o las diferencias en el procesado y la conservación de la carne, entre otros. Este hecho determinaría la importancia de poder controlar todo lo posible la composición de los extractos de romero y sus condiciones de uso en alimentación animal con el fin de garantizar su éxito como suplemento dietético.

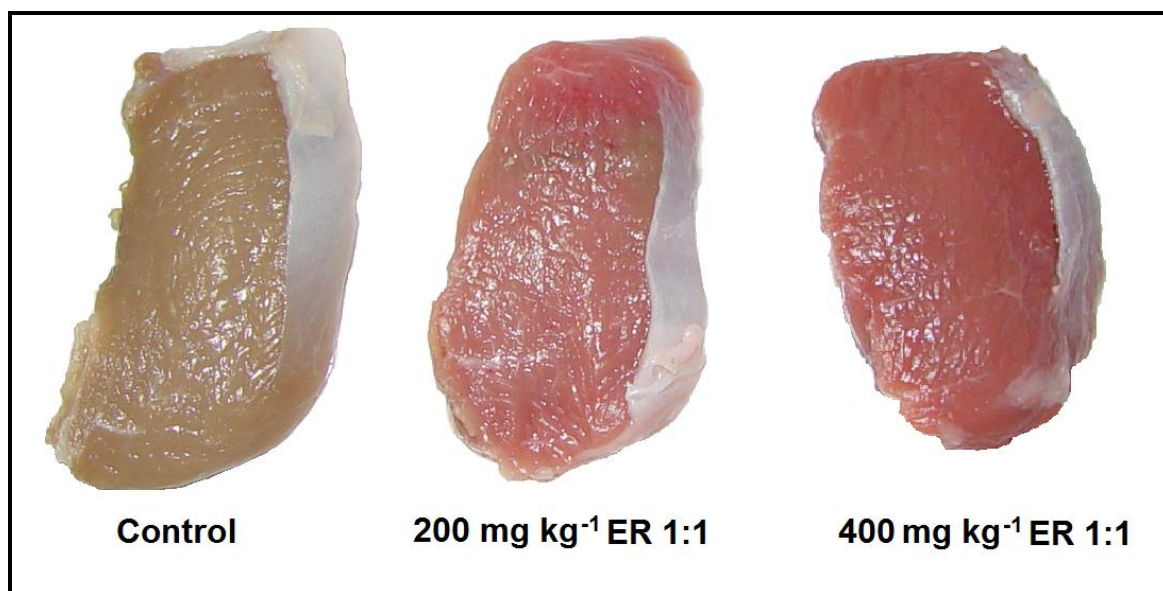
En lo concerniente a la discusión de los resultados obtenidos en la presente tesis, en general, la suplementación dietética con los dos extractos de romero testados claramente contribuyó a retrasar el pardeamiento de la carne cruda envasada en atmósfera hiperoxigenada. Esto fue corroborado por las medidas de reflectancia y la evaluación sensorial. La **figura 60** muestra

explícitamente la mejora del color experimentada por la carne de cordero suplementado con extracto de romero enriquecido en carnosol. Nieto y col. (2010<sup>a</sup>) obtuvieron resultados similares empleando hoja libre de aceite esencial con un alto contenido en ácido carnósico y carnosol en ovejas getantes y lactantes. Por el contrario, el efecto protector del color de otras dietas a base de romero sería dudoso, bien sea empleando extractos (Caputi-Jambrenghi y col., 2005), ácido carnósico (Morán y col., 2012<sup>a</sup>) o aceite esencial (Smeti y col., 2013). Por tanto, sólo algunas dietas a base de romero serían eficaces para retrasar el pardeamiento de la carne cruda.

De todos los resultados obtenidos, quizás el dato más concluyente fue la drástica reducción de los niveles de MDA en la carne de cordero suplementado con ambos extractos de romero, con independencia de la dosis en el caso del extracto enriquecido con carnosol. Dicha reducción también fue conseguida empleando hoja libre de aceite esencial en ovejas (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>), extracto de romero (Caputi-Jambrenghi y col., 2005), ácido carnósico (Morán y col., 2012<sup>b</sup>), pero no con aceite esencial (Smeti y col., 2013), indicando que las dietas a base de romero serían particularmente eficaces para inhibir la oxidación de los lípidos de la carne cruda. La suplementación con extracto de romero enriquecido en carnosol (desconocemos si también en el caso de extracto 2:1) también demostró su eficacia para retrasar la oxidación de las mioproteínas. Por ejemplo, este hecho no se produjo en la carne cruda de cordero suplementado con ácido carnósico (Morán y col., 2012<sup>b</sup>). La actividad antioxidante de ambos extractos fue lo suficientemente intensa para retrasar el deterioro del olor y la aparición de rancidez en la carne cruda. Esto también se consiguió al emplear hoja libre de aceite en ovejas (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>), mientras que otros estudios no evaluaron el olor de la carne cruda.



**Figura 60.** Carne cruda de cordero procedente de corderos sin suplementar o suplementados con 200 ó 400 mg kg<sup>-1</sup> de ER 1:1, almacenada 11 días en condiciones de venta al por menor.



El papel antimicrobiano de los dos extractos de romero ensayados tendría menos relevancia por las razones anteriormente comentadas. Los recuentos de aerobios mesófilos totales, psicrófilos totales y de mohos y levaduras fueron en general bajos o moderados. Además, los valores de pH se mantuvieron estables durante los tres experimentos y, por tanto, todo parece indicar que la actividad microbiológica tampoco habría generado niveles relevantes de ácido láctico, ni de compuestos nitrogenados, asociados con los fenómenos de acidificación y putrefacción típicos de la carne deteriorada, tal como corroboró la falta de olores ácidos, pútridos o a moho. En cualquier caso, el empleo de ambos extractos de romero también contribuyó en cierta medida a controlar la calidad microbiológica de la carne, a pesar de que no se alcanzaron en ningún caso poblaciones de bacterias capaces de alterarla. Nieto y col. (2010<sup>a</sup>), empleando la misma atmósfera protectora, también encontraron cierta actividad antimicrobiana cuando se suplementaba la dieta de las ovejas con hoja de romero libre de aceite, Morán y col. (2012<sup>a</sup>) no encontraron efecto antimicrobiano, mientras que otros estudios dietéticos sobre romero no recogen datos microbiológicos. Las enterobacterias empleadas como índice de higiene tampoco pudieron proliferar

en la carne cruda conservada en las condiciones ensayadas, mientras que análisis puntuales realizados en este (datos no mostrados) y en anteriores estudios (Nieto y col., 2010<sup>a</sup>, 2010<sup>b</sup>) ya habrían demostrado que determinadas bacterias patógenas, como *Escherichia Coli*, *Salmonella* spp. y *Listeria Monocytogenes*, cuyo control recoge la legislación, no pueden proliferar en la carne de cordero refrigerada y envasada en atmósfera rica en dióxido de carbono y oxígeno.

Los extractos de romero ensayados serían menos eficaces para retrasar la oxidación de la carne cocinada expuesta en vitrinas refrigeradas. En este caso, la carne sería un substrato fuertemente oxidado y podría haber una mayor degradación de los compuestos bioactivos del romero depositados en el músculo debido al tratamiento culinario. La riqueza en carnosol del extracto y su nivel de suplementación resultaron decisivos para poder obtener resultados positivos en la carne cocinada. La utilización de elevadas dosis de extracto de romero 2:1 en madres y corderos apenas afectó a la oxidación lipídica o al deterioro sensorial. En cambio, la efectividad del extracto de romero enriquecido en carnosol demostró ser dosis-dependiente, al registrarse resultados cada vez mejores a medida que se aumentó su dosis en el pienso. Los datos de color objetivo y subjetivo coinciden en que las 3 dosis de este extracto fueron poco eficaces para retrasar el oscurecimiento de las hamburguesas cocinadas, aunque se trataría de una cuestión menor, en la medida en que la aceptabilidad de la carne cocinada, expuesta al aire y recalentada, depende sobre todo del grado de enrunciado de la misma.

Únicamente el empleo de una dosis de 600 mg kg<sup>-1</sup> de extracto de romero enriquecido en carnosol permitió reducir la oxidación lipídica y, en consecuencia, retrasar claramente el deterioro del olor y sabor a carne cocinada y prevenir de forma efectiva el desarrollo de rancidez y de sabor a recalentado. Por tanto, cabe pensar que, en este caso, la degradación térmica sufrida por los diterpenos de romero y/o sus compuestos derivados con potencial actividad antioxidante sobre la carne no impidió que éstos pudieran permanecer activos tras el cocinado. En cambio, al reducir la dosis de extracto de romero enriquecido en carnosol a 400 mg kg<sup>-1</sup> se consiguió retrasar el deterioro del olor y sabor de las hamburguesas

cocinadas de forma moderada, pero la oxidación lipídica no quedó claramente inhibida a pesar de que la rancidez fue menos intensa. Hay que tener en cuenta que las hamburguesas cocinadas se mantuvieron expuestas durante mucho tiempo, hasta cuatro días, en condiciones fuertemente prooxidantes, y los resultados quizás hubieran sido diferentes en condiciones menos drásticas. Por tanto, no se podría descartar el empleo de esta dosis de extracto si se quiere extender el efecto antioxidante a la carne cocinada. Finalmente, el empleo de una dosis de  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  no sería eficaz en la carne cocinada, aunque sí en la carne cruda, cuestión que habría que valorar a la hora de plantear posibles estrategias dietéticas basadas en la suplementación con extractos de romero para mejorar la calidad de la carne de cordero.

Teniendo en cuenta los resultados de los tres experimentos, la dosis mínima de extracto de romero enriquecido en carnosol requerida para aumentar la vida comercial de carne de cordero quedó establecida en  $200 \text{ mg kg}^{-1}$ , en el caso de la carne cruda, y en  $600 \text{ mg kg}^{-1}$ , en el caso de carne cocinada. La suplementación adicional de las ovejas gestantes y lactantes con extracto de romero 2:1 no contribuyó a mejorar los resultados y por ello fue descartada. La etapa de suplementación se limitaría al cebo de los corderos, con el consiguiente ahorro en los costes derivados del uso de este extracto.

La ingesta de carnosol parece jugar un papel clave en la eficacia antioxidante del extracto de romero y en la prevención del enranciamiento de la carne cocinada. Diversos estudios en músculo y tecnológicos apuntarían en este sentido. Moñino y col. (2008) comprobaron que el ácido carnósico se depositaba en el músculo de cordero a una concentración más alta que el carnosol, pero encontraron que se requerían ciertas concentraciones de éste último para mejorar el estatus antioxidante del músculo, sugiriendo que el carnosol podría desempeñar un papel importante en la estabilización de ácido carnósico y, por lo tanto, en su capacidad antioxidante sobre el músculo de cordero. Nieto y col. (2011<sup>a</sup>, 2011<sup>b</sup>) confirmaron lo apuntado por Moñino y col. (2008), al comprobar que la deposición de carnosol era clave para extender el efecto antioxidante a la carne cocinada. Un reciente estudio realizado sobre los mismos corderos usados en los experimentos primero y segundo (Jordán y col., 2014) confirmó que sólo

se producía deposición muscular (músculos *Deltoideus* y *Addominis*) de carnosol al emplear el extracto 1:1, y que se depositaba un derivado del ácido carnósico (5,6-dihidroxi-7-isopropil-1,1-dimetil-2,3-dihidrofenantren-9(1H)-ona) al emplear ambos extractos. La capacidad antioxidante endógena de ambos músculos, medida mediante las técnicas FRAP, DPPH y ABTS, fue claramente mayor al emplear el extracto de romero enriquecido en carnosol, comparado con el extracto 2:1 y las muestras Control. En este sentido, los resultados en cuanto a conservación de la carne obtenidos por Morán y col. (2012<sup>a</sup>, 2012<sup>b</sup>, 2013) al emplear exclusivamente ácido carnósico apuntarían la importancia del carnosol en los extractos dietéticos para ovinos.

Por tanto, el empleo de extractos de romero enriquecidos en carnosol ofrecería mayores garantías a la hora de conseguir resultados positivos. No obstante, resulta crucial asegurar que el proceso de fabricación de los piensos, y en particular, el tratamiento térmico aplicado para fabricar los gránulos o pellets, van a producir una mínima destrucción de los compuestos bioactivos del romero añadidos al mismo.

La información generada por el presente y anteriores trabajos (Moñino y col., 2008; Jordán y col., 2010; Nieto y col., 2010<sup>a</sup>, 2011<sup>a</sup>; Jordán y col., 2014), ha permitido obtener y registrar la patente Nacional número 201230114 “Extracto de romero y su uso en alimentación animal”. Dicha patente se refiere a la composición del extracto vegetal procedente de hoja de romero compuesto por los diterpenos, ácido carnósico y carnosol, al empleo de dicho extracto en la fabricación de pienso para alimentación animal, al propio pienso suplementado con dicho extracto y también al método de obtención del extracto vegetal de la invención.

## 7. CONCLUSIONES.

**Primera.** La suplementación dietética de los corderos ternascos de raza Segureña con extractos tipificados de romero, ricos en ácido carnósico y carnosol, mejora la capacidad conservante endógena de la carne, debido a que inhibe la oxidación y, en menor medida, el deterioro microbiológico de la misma.

**Segunda.** La extensión de dicha suplementación a las ovejas durante la gestación y lactación no mejora la capacidad de conservación de la carne, siendo aconsejable limitar el tratamiento dietético a los corderos de cebo por motivos económicos.

**Tercera.** La carne cruda reforzada con conservantes endógenos de romero es más resistente a la decoloración, a la oxidación lipídica y proteica, y a la proliferación de microorganismos, de modo que su deterioro sensorial es más lento y su tiempo de vida comercial es más prolongado.

**Cuarta.** La ingesta de carnosol es clave para la eficacia antioxidante de este tipo de extractos de romero, ya que al enriquecer el extracto con carnosol se consigue retrasar la oxidación y el enranciamiento de la carne cocinada, lo que a su vez indicaría cierta termorresistencia de los conservantes endógenos asimilados por los ovinos y depositados en el músculo.

**Quinta.** Se recomienda suplementar a los corderos de cebo con al menos 200 mg de extracto enriquecido en carnosol por kilogramo de pienso para mejorar la calidad tecnológica de la carne cruda y aumentar dicha dosis a 600 mg para extender el efecto conservante a la carne cocinada.

**Sexta.** La incorporación a través de la dieta de diterpenos de romero ha resultado ser una estrategia eficaz para mejorar la calidad tecnológica de la carne de cordero sin necesidad de añadir conservantes.

## 8. RESUMEN.

La presente Tesis Doctoral aborda el uso dietético en ovinos de raza Segureña de dos extractos tipificados de romero (ER), compuestos por diferentes proporciones de ácido carnósico y carnosol, con el objeto de mejorar la capacidad de conservación endógena de la carne de cordero. En el curso de la investigación se evaluaron diversos factores, como la época de suplementación a los ovinos, la composición y la dosis de ER, con el fin de intentar optimizar el método de suplementación. El objetivo práctico del trabajo fue extender la vida comercial de la carne procesada, cruda y cocinada, envasada y expuesta en condiciones de venta al por menor.

La investigación se realizó en tres fases. En un primer experimento se suministraron  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de un ER compuesto por ácido carnósico y carnosol (2:1) a la ovejas gestantes y lactantes, y también a los corderos de cebo. En un segundo experimento se suministraron  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de un ER enriquecido en carnosol (1:1) sólo a los corderos de cebo. En un tercer experimento se repitió el ensayo anterior reduciendo la dosis de ER 1:1 a 200 y  $400 \text{ mg kg}^{-1}$ . La carne cruda (lomo) fue envasada en atmósfera protectora (70/30  $\text{O}_2/\text{CO}_2$ ) y almacenada hasta 21 días en una vitrina a  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  y 800 lx. La carne cocinada (hamburguesas de pierna) fue envasada en aerobiosis hasta 4 días en una vitrina a  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  y 800 lx. El deterioro de la carne se determinó en base a diversos parámetros físico-químicos (pH, color CIELAB, índice TBARS y carbonilos totales), microbiológicos (aerobios mesófilos, psicrófilos, enterobacterias y mohos y levaduras) y sensoriales (apariencia, olor, flavor y textura).

Dependiendo del método empleado, la suplementación de la dieta con ER mejoró con más o menos eficacia la capacidad conservante endógena de la carne de cordero cruda y/o cocinada. La extensión de la suplementación con ER 2:1 a las ovejas madres no mejoró los resultados y fue descartada por motivos económicos. El uso de  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  de ambos ER (2:1 y 1:1) en los corderos de cebo prolongó el enrojecimiento, inhibió la oxidación lipídica y redujo la carga microbiológica de la carne cruda, retrasando su deterioro sensorial y, por tanto, prolongando su vida comercial. Sin embargo, sólo el ER 1:1 fue eficiente para retrasar la oxidación lipídica y el enranciamiento de la carne cocinada, por lo que se optó por emplear este ER en el pienso de engorde para corderos. La ingesta de carnosol resultó ser un factor clave para la eficacia de los extractos. Al intentar reducir la dosis de ER 1:1 a 200 y  $400 \text{ mg kg}^{-1}$  con el objeto de optimizar económicamente el pienso, de nuevo se consiguió extender la vida comercial de la carne cruda, pero no se consiguió mejorar con claridad la conservación de la carne cocinada. Por lo tanto, se recomienda suplementar a los corderos de cebo con al menos  $200 \text{ mg kg}^{-1}$  de ER enriquecido en carnosol para mejorar la calidad tecnológica de la carne cruda de cordero y aumentar dicha dosis a  $600 \text{ mg kg}^{-1}$  para extender el efecto conservante de dicho ER a la carne cocinada. La incorporación a través de la dieta de ambos diterpenos procedentes de extractos tipificados de romero ha resultado ser una estrategia eficaz para mejorar la capacidad antioxidante y antimicrobiana endógena de la carne de cordero y mejorar así sus cualidades tecnológicas sin necesidad de añadir conservantes.

---

## 9. BIBLIOGRAFÍA.

- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists) (1984). In S. Williams (Ed.), *Official methods of analysis*. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- A.S.T.M. (American Society for Testing and Materials) (1968). *Manual of sensory testing methods*. Philadelphia, 434.
- Abdalla, A.E., & Roozen, J.P. (1999). Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food Chemistry*, 64, 323-329.
- Abuja, P.M., & Albertini, R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clínica Chimica Acta*, 306, 1-17.
- Addis, P.B., & Pearson, A.M. (1986). Sensory evaluation techniques to assess oxidative rancidity. En: *Proceedings of 38<sup>th</sup> Annual Reciprocal Meat Conference*, p. 99. National Live Stock and Meat Board, Chicago, Illinois, USA.
- Addis, P.B., & Park, S.W. (1989). Role of lipid oxidation products in atherosclerosis. En: *Food Toxicology: A Perspective on the Relative Risks*. S.L. Taylor y R.A. Scalan (Ed.). p. 297-330. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Addis, P.B., & Warner, G.J. (1991). The potential health aspects of lipid oxidation products in food. En: *Free radicals and food additives*. Arouma, O.I., Halliwell, (Eds.). pp. 77-119. Taylor and Francis Ltd. London, UK.
- Ahn, J., Grün, I.U., & Fernando, L.N. (2002). Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolics compounds in cooked ground beef. *Journal of Food Science*, 67, 1364-1369.
- Ahn, J., Grün, I.U., & Mustapha, A. (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change and lipid oxidation in cooked beef. *Food microbiology*, 24(1), 7-14.

- Aksu, M.I., & Kaya, M. (2005). The effect of  $\alpha$ -tocopherol and butylated hydroxyanisole on the colour properties and lipid oxidation of kavurma, a cooked meat product. *Meat science*, 71(2), 277-283.
- Alcaraz, F.J., Sánchez, O., & Correal, E. (1989) Catálogo de plantas aromáticas, condimentarias y medicinales de la Región de Murcia. Monografías INIA-MAPA, 75, 1-12.
- Almela, E., Jordán, M.J., Martínez, C., Sotomayor, J.A., Bedia, M., & Bañón, S. (2009). El flavor de la carne cocinada de cordero. *Eurocarne* Nº 178. Julio-Agosto, 1-12.
- Almela, E., Jordán, M.J., Martinez, C., Sotomayor, J.A., Bedia, M., & Bañón, S. (2010). Ewe's diet (pasture vs grain-based feed) affects volatile profile of cooked meat from light lamb. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(17), 9641-9646.
- Al-Sereiti, M.R., Abu-Amer, R.M., & Sen, P. (1999). Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its therapeutic potentials. *Indian Journal of Experimental Biology*, 37, 124–130.
- Amerine, M., Pangborn, R., & Roessler, E. (1965). En: *Principles of Sensory Evaluation of Food*, (New York).
- Andersen, H.J., Bertelsen, G., & Skibsted, L.H. (1989). Colour stability of minced beef. Ultraviolet barrier in packaging material reduces light-induced discoloration of frozen products during display. *Meat Science*, 25(2), 155-159.
- Andreo, A., Garro, O., & Judis, M. (2001). Modelo de oxidación lipídica en una emulsión cárnica en función del tiempo y temperatura de cocción. *Información Tecnológica*, 12(4), 21-24.
- Andrés, S., Huerga, L., Mateo, J., Tejido, M.L, Bodas, R., Morán, L., Prieto, N., Rotolo, L., & Giráldez, F.J. (2014). The effect of quercetin dietary supplementation on meat oxidation processes and texture of fattening lambs. *Meat Science*, 96(2), 806-811.



- Anzaldúa-Morales, A. (1994). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Capítulo III: Los jueces y las condiciones de prueba. Editorial ACRIBIA, S.A., Zaragoza, España.
- Anzaldúa-Morales, A., Lever C., & Vernon, E.J. (1983). Nuevos métodos de evaluación sensorial y su aplicación en reología y textura. *Tecnología Alimentaria*, 18(5), 4-9.
- Anzaldúa-Morales, A., & Brennan, J.G. (1984). La medición de la textura de frutas y verduras. I. Frutas y verduras frescas. *Tecnología Alimentaria*, 19(2), 22-26.
- Armenteros, M., Aristoy, M.C., Barat, J.M., & Toldrá, F. (2009). Biochemical changes in dry-cured loins salted with partial replacements of NaCl by KCl. *Food Chemistry*, 117(4), 627-633.
- Arthur, I. (2006). Shipboard refrigeration and the beginnings of the frozen meat trade. *The Journal of the Royal Australian Historical Society*, 92. Part 1.
- Aruoma, O.I., Halliwell, B., Aeshbach, R., & Löliger, J. (1992). Antioxidant and prooxidant properties of active rosemary constituents: Carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica*, 22, 257-268.
- Asenjo, B., Miguel, J.A., Ciria, J., & Calvo, J.L. (2005). Factores que influyen en la calidad de la carne. 1.3, 36-46. En: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los ruminantes. INIA-MEC. Madrid.
- Asghar, A., Gray, J.L., Buckley, D.J., Pearson, A.M., & Boren, A.M. (1988). Perspectives of warned-over flavor. *Food Technology*, 42, 102-108.
- Asghar, A., Gray, J.L., Booren, A.M., Gooma, E., Abouzide, M., & Miller, E.R. (1991). Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcellular deposition of  $\alpha$ -tocopherol in the muscle and on pork quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 57, 31-41.

- Ashmore, C. R., & Doerr, L. (1971). Comparative aspects of muscle fiber types in different species. *Experimental Neurology*, 31, 408.
- Aymerich, T., Picouet, P.A., & Monfort, J.M. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78, 114-129.
- B.O.E. (Boletín Oficial del Estado). (29-8-1979). Métodos de análisis de productos cárnicos.
- Bakirel, T., Bakirel, U., Keles, O.U., Ulgen, S.G., & Yardibi, H. (2008). *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 64-73.
- Bañón, S. (2012). 21 Shelf Life of Fresh and Frozen Pork. *Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality*, 308.
- Bañón, S., Díaz, P., Rodríguez, M., Garrido M.D., & Price, A. (2007). Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. *Meat Science*, 77, 626-633.
- Bañón, S., Serrano, R., & Jordán, M.J. (2012). Estabilización mediante refrigeración de la carne envasada de cordero en condiciones de venta al por menor. CYTEF-2012. VI Congreso Ibérico y VI Congreso Iberoamericano de Ciencias y Técnicas del Frío.
- Baratta, M.T., Dorman, D.J.H., Deans, S.G., Biondi, D.M., & Ruberto, G. (1998<sup>a</sup>). Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano, colliander essential oils. *Journal Essential Oil Research*, 10, 618-627.
- Baratta, M.T., Dorman, D.J.H., Deans, S.G., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., & Ruberto, G. (1998<sup>b</sup>). Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13, 235-244.
- Barbut, S. (2002). "Meat color and flavour" en poultry products processing: an industry guide, 429-465. CRC Press LLC, Florida.

- Barbut, S., Josephson, D.B., & Maurer, A.J. (1985). Antioxidant properties of rosemary oleoresin in turkey sausage. *Journal of Food Science*, 50, 1356-1359.
- Barnard, R.J., Edgerton, V.R., & Peter, J.B. (1970). *Journal Applied Physiology*, 28,762.
- Beattie, G.M., Itkin-Ansari, P., Cirulli, V., Leibowitz, G., Lopez, A.D., Bossie, S., Mally, M.I., Levine, F., & Hayek, A. (1999). Sustained proliferation of PDX-1+ cells derived from human islets. *Diabetes*, 48, 1013-1019.
- Beaufort, A., Cardinal, M., Le-Bail, A., & Midelet-Bourdin, G. (2009). The effects of superchilled storage at -2 degrees C on the microbiological and organoleptic properties of cold-smoked salmon before retail display. *International Journal of Refrigeration*, 32, 1850-1857.
- Bejarano, S. *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos. Volumen I y II.* (2001). Ediciones Martín y Macias.
- Bekbölet, M. (1990). Light effects on food. *Journal of food protection*, 53(5), 430-440.
- Belcher, J.N. (2006). Industrial packaging developments for the global meat market. *Meat Science*, 74(1), 143-148.
- Bendall, J.R., & Taylor, A.A. (1972). Consumption of oxygen by the muscle of beef animals and related species. II. Consumption of oxygen by post-rigor muscles. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 23, 707-719.
- Berlett, B.S., & Stadtman, E.R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20313-20316.
- Berruga, M.I., Vergara, H., & Gallego, L. (2005). Influence of packaging conditions on microbial and lipid oxidation in lamb meat. *Small Ruminant Research*, 57 (2-3), 257-264.
- Bertelsen, G., & Boegh-Soerensen, L. (1986). The effect of lighting on colour of beef. *Science et Technique du Froid (France)*.

- Bevilacqua, A.E., & Zaritzky, N.E. (1986). Rate of pigment modifications in packaged refrigerated beef using reflectance spectrophotometry. *Journal of Food Processing and Preservation*, 10(1), 1-18.
- Bjorneboe, A., Bjorneboe, G.E., & Drevon, C.A. (1990). Absorption, transport and distribution of Vitamin E. *Journal of Nutrition*, 120, 233-242.
- Blakistone, B.A. (1998). Meats and poultry. Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods. London: Blackie Academic & Professional (Chapter 10). 240-290.
- Bonoli, M., Pelillo, M., & Lercker, G. (2003). Fast separation and determination of carnosic acid and rosmarinic acid in different rosemary (*Rosmarinus officinalis*.) extracts by capillary zone electrophoresis with ultra violet-diode array detection. *Chromatography*. 57, 505-512.
- Bordrero, K.O., Pearson, A.M., & Magee, W.T. (1980). Optimum cooking times for flavor development and evaluation of flavor quality of beef cooked by microwave and conventional methods. *Journal of Food Science*, 45, 613.
- Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J., & Trakatellis, A.G. (1994). Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid methods for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1931-1937.
- Botsoglou, N.A., Christaki, E., Fletouris, D.J., Florou-Paneri, P., & Spais, A.B. (2002<sup>a</sup>). The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Science*, 62, 259-265.
- Botsoglou, N.A., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Fletouris, D.J., & Spais, A.B. (2002<sup>b</sup>). Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *British poultry science*, 43(2), 223-230.

- Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Florou-Paneri, P., Christaki, E., & Spais, A.B. (2003<sup>a</sup>). Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation. *Food Research International*, 36, 207-213.
- Botsoglou, N.A., Grigoropoulou, S.H., Botsoglou, E., Govaris, A., & Papageorgiou, G. (2003<sup>b</sup>). The effects of dietary oregano essential oil and  $\alpha$ -tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science*, 65, 1193-1200.
- Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Florou-Paneri, P., Christaki, E., & Spais, A.B. (2003<sup>c</sup>). The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Food Research International*, 36, 207-213.
- Botsoglou, N.A., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Giannenas, I., & Spais, A.B. (2004). Performance of rabbits and oxidative stability of muscle tissues as affected by dietary supplementation with oregano essential oil. *Archives of Animal Nutrition*, 58(3), 209-218.
- Botsoglou, N.A., Govaris, A., Giannenas, I., Botsoglou, E., & Papageorgiou, G. (2007). The incorporation of dehydrated rosemary leaves in the rations of turkeys and their impact on the oxidative stability of the produced raw and cooked meat. *International journal of food sciences and nutrition*, 58(4), 312-320.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and Antioxidant properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia Officinalis* L., *Laminaceae*) essential oils. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 55, 7879-7885.
- Braden, K.W., Blanton, J.R., Montgomery, J.L., Santen, E.V., Allen, V.G., & Miller, M.F. (2007). Tasco supplementation: effects on carcass characteristics, sensory attributes and retail display shelf-life. *Journal of Animal Science*, 85, 754-768.

- Braggins, T.J. (1996). Effects of stress-related changes in sheepmeat ultimate pH on cooked odour and flavour. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 44, 2352-2360.
- Brantner, A., Males, Z., Pepeljnjak, S., & Antolic, A. (1996). Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* mill. *Journal of Ethnopharmacology*, 52, 119-122.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Review Nutrition Reviews*, 56(11), 317-333.
- Brennand, C.P., & Lindsay, R.C. (1982). Sensory discrimination of species-related meat flavours. *Lebensm. Wiss. Technol*, 15, 249-252.
- Brewer, M.S. (2009). Irradiation effects on meat flavor: A review. *Meat Science*, 81, 1-14.
- Brody, A.L. (1996). Envasado de carne en atmósferas modificadas y a vacío. En: *Envasado de alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío*. Brody, A. L. (Eds.). Zaragoza: Acribia. 21-43.
- Brody, A.L. (2009). Innovations in fresh prepared meal delivery systems. *Food Technology*, 63, 84-86.
- Brody, A.L., Bugusu, B., Han, J.H., Koelsch Sand, C., & McHugh, T.H. (2008). Innovative food packaging solutions. *Journal of Food Science*, 73, 107-116.
- Bruun-Jensen, L., Skovgaard, I.M., Skibsted, L.H., & Bertelsen, G. (1994). Antioxidant synergism between tocopherols and ascorbyl palmitate in cooked, minced turkey. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 199, 210-213.
- Bruun-Jensen, L., Skovgaard, I.M., Madsen, E.A., Skibsted, L.H., & Bertelsen, G. (1996). The combined effect of tocopherols, L-ascorbyl palmitate and L-ascorbic acid on the development of warmed-over flavour in cooked, minced turkey. *Food Chemistry*, 55(1), 41-47.

- Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J., & Abram, M. (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*, 127(4), 1821-1827.
- Buck, D.F., & Edwards, M.K. (1997). Antioxidants to prolong shelf life. *Food Technology International*, 2: 29-33.
- Buckley, D.J., & Morrissey, P.A. (1992). Vitamin E and meat quality. Roche. *Vitamins and Fine Chemicals*.
- Buckley, D.J., Morrissey, P.A., & Gray, J.I. (1995). Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *Journal of Animal Science*, 73, 3122-3130.
- Burt, S.A. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Burton, G.W., & Traber, M.G. (1990). Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annual Review of Nutrition*, 10, 357-364.
- C.I.E. (1978). Recommendations on uniform color spaces-color difference equations psychometric color terms. Commission International de L'Eclairage. Paris. Supplement 2 to CIE Publication 15 (E-1.3.1) 1971/(TC-1.3).
- Calkins, C.R., Goll, S.J., & Mandigo, R.W. (1986). Retail display lighting type and fresh pork color. *Journal of Food Science*, 51, 1141-1175.
- Calkins, C.R., & Hodgen, J.M. (2007). A fresh look at meat flavor. *Meat Science*, 77, 63-80.
- Camo, J., Beltrán, J.A., & Roncalés, P. (2008). Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science*, 80, 1086-1091.
- Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D., & Richardson, R.I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303-311.

- Cannon, J.E., Morgan, J.B., Schmidt, G.R., Tatum, J.D., Sofos, J.N., Smith, G.C., Delmore, R.J., & Williams, S.N. (1995). Growth and fresh meat quality characteristics of pigs supplemented with vitamin E. *Journal of Animal Science*, 74, 98-105.
- Cao, G., Alessio, H.M., & Culter, R.G. (1993). Oxigen-radical adsorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biological Medicine*, 14.
- Caputi-Jambrenghi, A., Colonna, M.A., Giannico, F., Favia, R., Minuti, F., & Scafizzari, M. (2005). Dietary supplementation of garlic and rosemary: Effects on colour stability and lipid oxidation in lamb meat. *Italian Journal of Animal Science*, 4(2), 366-368.
- Carreras, I., Guàrdia, M.D., Guerrero, L., & Sárraga, C. (2003). Sensory and chemical analyses of meat from broilers fed antioxidant supplemented diets. 5<sup>th</sup> Pangborn Sensory Science Symposium. July 20-24, Boston. USA.
- Celiktas, O.Y., Kocabas, E.E., Bedir, E., Sukan, F.V., Ozek, T., & Baser, K.H.C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100(2), 553-559.
- Chan, M.M.Y., Ho, C.T., & Huang, H.I. (1995). Effects of three dietary phytochemicals from tea, rosemary and turmeric on inflammation-induced nitrite production. *Cancer letters*, 96(1), 23-29.
- Chan, E.W.C., Kong, L.Q., Yee, K.Y., Chua, W.Y., & Loo, T.Y. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of some fresh and dried *Labiatae* herbs. *Free Radicals and Antioxidants*. 2 (3), 20-27.
- Chang, H.C., Churchwell, M.I., Delclos, K.B., Newbold, R.R., & Doerge, D.R. (2000). Mass spectrometric determination of genistein tissue distribution in diet-exposed Sprague-Dawley rats. *Journal of Nutrition*, 130, 1963-1970.
- Chang, S.S., & Petterson, R.J. (1977). Symposium: The basis of quality in muscle foods. Recent developments in the flavor of meat. *Journal of Food Science*, 42, 298-305.



- Cheftel, J.C., & Culioli, J. (1997). Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, 46(3), 211-236.
- Chen, C.C., Pearson, A.M., Gray, J.I., Fooladi, M.H., & Ku, P.K. (1984). Some factors influencing the nonheme iron content of meat and its implications in oxidation. *Journal of Food Science*, 49, 581-584.
- Chen, C. H., Pearson, A. M., & Gray, J. I. (1992). Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chemistry*, 43, 177-183.
- Chen, C.W., & Ho C.T. (1995). Antioxidant proprieties of polyphenols extracted from green and black teas. *Journal of Food Lipids*. 2, 25-36.
- Chio, K.S., & Tappel, A.L. (1969). Synthesis and characterization of the fluorescent products derived from malonaldehyde and amino acids. *Biochemistry*, 8, 2821- 2827.
- Chiofalo, V., Liotta, L., Fiumanò, R., Riolo, E.B., & Chiofalo, B. (2012). Influence of dietary supplementation of *Rosmarinus officinalis* L. on performances of dairy ewes organically managed. *Small Ruminant Research*, 104(1), 122-128.
- Church, N. (1994). Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. *Trends Food Science Tecnology*, 5, 345-352.
- Cohen-Tannoudji, J., Einhorn, J., & Signoret, J.P. (2003). Ram sexual pheromone: First approach of chemical identification. *Physiology & Behavior*, 56, 955-961.
- Coldham, N.G., & Sauer, M.J. (2000). Pharmacokinetics of 14 C Genistein in the Rat: Gender-Related Differences, Potential Mechanisms of Biological Action, and Implications for Human Health. *Toxicology and applied pharmacology*, 164(2), 206-215.
- Coma, V. (2008). Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Science*, 78, 90-103.

- Conner, D.E. (1993). Naturally occurring compounds. In: Davidson, P.M., Branen, A.L. (Eds.), *Antimicrobials in foods*, 13. Marcel Dekker, New York, 441-468.
- Coppen, P.P. (1983). Use of antioxidants. En: J. C. Allen & R. J. Hamilton (Eds.), *Rancidity in foods* (p. 76). London: Applied Science.
- Correal, E., & Sotomayor, J.A. (2001). Rosemary.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564-582.
- Crespy, V., Morand, C., Besson, C., Cotelle, N., Vezin, H., Demigne, C., & Remesy, C. (2003). The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the nature of the compound. *American Journal of Physiological Gastrointestinal Liver Physiology*, 284, 980-988.
- Cross, H.R., Standfield, Marilyn, S., & Frank, W.J. (1978). Objective measurements of texture in ground beef patties. *Journal of Food Science*, 43, 1510.
- Cross, H.R., Standfield, Marilyn, S., & Elder, R.S. (1979). Comparison of roasting versus broiling on the sensory characteristics of beef longissimus. *Journal of Food Science*, 44, 310.
- Cui, T., Nakamura, K., Tian, S., Kayahara, H., & Tian, Y. (2006). Polyphenolic content and physiological activities of Chinese hawthorn extracts. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 70(12), 2948.
- Cullen, S.P., Monahan, F. J., Callan, J.J., & O'Doherty, J.V. (2005). The effect of dietary garlic and rosemary on grower-finisher pig performance and sensory characteristics of pork. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 44, 57-67.
- Cuvelier, M.E., Richard, H., & Berset, C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(5), 645-652.

- Cuvelier, M.E., Bondety, V., & Berset, C (2000). Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: Structure-activity relationship. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 77, 819-823.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174-181.
- Davidson, P.M. (1993). Parabens and phenolic compounds. En: P. M. Davidson y A. L. Branen (Eds.), *Antimicrobials in foods* (pp. 263–306). New York: Marcel Dekker.
- De Winne, A., & Dirinck, P. (1996). Studies on vitamin E and meat quality. 2. Effect of feeding high vitamin E levels on chicken meat quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1691-1696.
- Decker, E.A., Xiong, Y.L., Calvert, J.T., Crum, A.D., & Blanchard, S.P. (1993). Chemical, physical, and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(2), 186-189.
- Del Baño, M.J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Del Rio, J.A., Ortunto, A., Quirin, K.W., & Gerard, D. (2003). Phenolics diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 4247-4253.
- Dal Bosco, A., Gerencsér, Z., Szendrő, Z., Mugnai, C., Cullere, M., Kovács, M., & Dalle Zotte, A. (2014). Effect of dietary supplementation of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) and Thyme (*Thymus vulgaris*) on rabbit meat appearance, oxidative stability and fatty acid profile during retail display. *Meat science*, 96(1), 114-119.
- Del Campo, J., Amiot, M.L., & Nguyen, T.C. (2000). Antimicrobial effect of rosemary extracts. *Journal of Food Protection*, 63, 1359-1368.

- Delaquis, P.J., Ward, S.M., Holley, R.A., Cliff, M.C., & Mazza, G. (1999). Microbiological, chemical and sensory properties of pre-cooked roast beef preserved with horseradish essential oil. *Journal of Food Science*, 64, 519-524.
- Devatkal, S.K., & Naveena, B.M. (2010). Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. *Meat science*, 85(2), 306-311.
- Devine, C.E., Graafhuis, A.E., Muir, P.D., & Chrystall, B.B. (1993). The effect of growth rate and ultimate pH on meat quality of lambs. *Meat science*, 35(1), 63-77.
- Devore, V.R., & Greene, B.E. (1983). Thiobarbituric acid values and glutathione peroxidase activity in meat from chickens fed a selenium-supplemented diet. *Journal of Food Science*, 48, 300-301.
- Di Mascio, P., Kaiser, S., & Sies, H. (1989). Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysic*, 274, 532-538.
- Díaz, P., Price, A., Rodríguez, M., Garrido, M.D., & Bañón, S. (2005). Empleo de té verde, semilla de uva y clara de huevo deshidratada para mejorar la salubridad de los productos cárnicos. En: *Proceedings of the third Jornadas de Actualización en Alimentación y Salud*, 52, 20-21 October, Murcia, Spain.
- Djenane D., Sánchez-Escalante A., Beltrán J.A., & Roncalés P. (2002). Ability of  $\alpha$ -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks displayed in modified atmosphere. *Food Chemistry*, 76, 407-415.
- Dorman, D.J.H., Peltoketo, A., Hiltunen, R., & Tikkanen, M.J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83(2), 255-262.

- Doulgeraki, A.I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G.J.E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International journal of food microbiology*, 157(2), 130-141.
- Dupuy H.P., Bailey M.E., St. Angelo A.J., Vercellotti J.R., & Legendre M.G. (1987). Instrumental analysis of volatiles related to warmed-over flavor of cooked meats. En: *Warmed-Over Flavor of Meat*. Pp 165-191. St. Angelo, A.J.; Bailey, M.E. (Eds). Academic Press, Inc., Orlando, FL. USA.
- Echevarne, C., Renerre, M., & Labas, R. (1990). Metmyoglobin reductase activity in bovine muscles. *Meat Science*, 27(2), 161-172.
- Economou, K.D., Oreopoulou, V., & Thomopoulos, C.D. (1991). Antioxidant properties of some plant extracts of the Labiatae family. *Journal of the American Oil Chemical Society*, 68, 109-113.
- Egan, A.F. (1983). Lactic acid bacteria of meat and meat products. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49(3), 327-336.
- Eilert, S.J. (2005). New packaging technologies for the 21st century. *Meat Science*, 71: 122-127.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Emser, M., & Wood, J.D. (2000). The effects of diet and bred on the volatile compounds of cooked lamb. *Meat Science*, 55, 149-159.
- Elmore, J.S., Cooper, S, L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., & Wood, J.D. (2005). Dietary manipulation of fatty acid acomposition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69, 233-242.
- Enser, M. (1987). What is lipid oxidation. *Food Science and Technology Today*, 1, 172-173.

- Esmer, O.K., Irkin, R., Degirmencioglu, N., & Degirmencioglu, A. (2011). The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. *Meat science*, 88(2), 221-226.
- Essén-Gustavsson, B., McMiken, D., Karlström, K., Lindholm, A., Persson, S., & Thornton, J. (1989). Muscular adaption of horses during intensive training and detraining. *Equine Veterinary Journal*, 21, 27-33.
- Esterbauer, H., Schaur, R.J., & Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4- hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11, 81-128.
- Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science*, 89, 259-279.
- Estévez, M., & Cava, R. (2004). Lipid and protein oxidation, release of iron from heme molecule and colour deterioration during refrigerated storage of liver pâté. *Meat Science*, 68(4), 551-558.
- Estévez, M., Ventanas, S., & Cava, R. (2005). Protein oxidation in frankfurters with increasing levels of added rosemary essential oil: Effect on colour and texture deterioration. *Journal of Food Science*, 70, 427-432.
- Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, S., & Barroso, J.V. (2012). Oxidación de proteínas cárnicas (I): importancia científica y tecnológica. *Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico*, (208), 56-65.
- Estrada, M.M. (2007). Prevención de la oxidación lipídica de la carne cocinada de cordero mediante la suplementación dietética con hoja destilada de romero (*Rosmarinus officinalis*). Tesis de Máster. I Máster Oficial en Tecnologías Alimentarias. Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Universidad de Murcia. Pp. 10-15, 29-31.
- F.D.A. (2004). GRAS notice number GRN 000143. United States Food and Drug Administration, Washington, DC, USA.

- Fang, X., & Wada, S. (1993). Enhancing the antioxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol with rosemary in inhibiting catalyzed oxidation caused by  $\text{Fe}^{2+}$  and hemoprotein. *Food Research Internacional*, 26, 405-411.
- Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A., Hwei, F.M., & El-Baroty, G.S.A. (1989). Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 66, 792-799.
- Farber, J.M. (1991). Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology: a review. *Journal of Food Protection*, 54, 58-70.
- Faustman, C., Cassens, R.G., Schaefer, D.M., Buege, D.R., & Scheller, K.K. (1989). Vitamin E supplementation of Holstein steer diets improves sirloin steak colour. *Journal of Food Science*, 54, 485-486.
- Faustman, C., & Cassens, R.G. (1990<sup>a</sup>). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *Journal Muscle Foods*, 1, 217-43.
- Faustman, C., & Cassens, R.G. (1990<sup>b</sup>). Influence of aerobic metmyoglobin reducing capacity on color stability of beef. *Journal of Food Science*, 55, 1278-1283.
- Faustman, C., Chan, W.K., Schaefer, D.M., & Havens, A. (1998). Beef color update: the role for vitamin E. *Journal of Animal Science*, 76(4), 1019-1026.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., & Suman, S.P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86, 86-94.
- Fernandes, R.D.P.P., Freire, M.T.D.A., de Paula, E.S.M., Kanashiro, A.L.S., Catunda, F.A.P., Rosa, A.F., & Trindade, M.A. (2014). Stability of lamb loin stored under refrigeration and packed in different modified atmosphere packaging systems. *Meat Science*, 96(1), 554-561.
- Fernández San Juan, P.M. (2002). Aditivos alimentarios: evaluación de la inocuidad, clasificación y funciones tecnológicas. Centro Nacional de Alimentación. Instituto Salud Carlos III.

- Fernández-Ginés, J.M., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J.A., Sayas-Barbera, E., & Sendra, E. (2001). Adición de vitamina E a dietas de animales de abasto: efecto sobre la carne y productos cárnicos. *Alimentaria*, Octubre: 31-37.
- Fernández-López, J., Sevilla, L., Sayas, E., Marín, F.R., & Pérez-Álvarez, J.A. (2001). Antioxidant effects of Hyssop (*Hissopus officinalis*, L.) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in a model pork system. En: 2001 IFT Annual Meeting. New Orleans, Louisiana, USA.
- Fernandez-López, J., Sevilla, L., Sayas-Barberá, M.E., Navarro, C., Marín, F., & Pérez- Alvarez, J. A. (2003). Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract in cooked pork meat. *Journal of Food Science*, 68, 660-664.
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Álvarez, J. A., & Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69(3), 371-380.
- Fisher, K.H., Laskawy, G., & Grosch, W. (1985). Quantitative analysis of the autoxidation products of cholesterol in foods of animal origin. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 181, 14-19.
- Fooladi, M.H., Pearson, A.M., Coleman, T.H., & Merkel, R.A. (1979). The role of nitrite in preventing development of warmed-over flavour. *Food Chemistry*, 5. 283-285.
- Ford, A.L., & Park, R.J. (1980). Odour and flavour in meat. *Developments in Meat Science*, 1, 219-248.
- Formanek, Z., Kerry, J.P., Higgins, F.M., Buckley, D.J., Morrissey, P.A., & Farkas, J. (2001). Addition of synthetic and antural antioxidants to  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. *Meat Science*, 58, 337-341.
- Frankel, E.N. (1991). Recent advances in lipid oxidation. A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54, 495-511.



- Frankel, E.N., Huang, S.W., Aeschbach, R., & Prior, E. (1996). Antioxidant activity of rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in water emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 131-135.
- Fuentes, V., Ventanas, J., Morcuende, D., Estévez, M., & Ventanas, S. (2010). Lipid and protein oxidation and sensory properties of vacuum-packaged dry-cured ham subjected to high hydrostatic pressure. *Meat science*, 85(3), 506-514.
- Fung, D.Y., Taylor, S., & Kahan, J. (1977). Effects of butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT) on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus*. *Journal of Food Safety*, 1(1), 39-51.
- Galipalli, S., Gadiyaram, K.M., Kouakou, B., Terrill, T.H., & Kannan, G. (2004). Physiological responses to preslaughter transportation stress in Tasco-supplemented Boer goats. *South African Journal of Animal Science*, 34(5).
- Galobart, J., Barroeta, A.C., Baucells, M.D., Codony, R, M., & Ternes, W (2001). Effect of dietary supplementation with rosemary extract and  $\alpha$ -tocopherol acetate on lipid oxidation in eggs enriched with w3-fatty acids. *Poultry Science*, 80, 460-467.
- Ganhão, R., Morcuende, D., & Estévez, M. (2010). Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat science*, 85(3), 402-409.
- García-Macías, J.A., Gispert, M., Olivier, M.A., Diestre, A., Alonso, P., Muñoz-Luna, A., Siggers, K., & Cuthbert-Heavens. (1996). The effect of cross, slaughter weight and halothane genotype on leanness and meat and fat quality in pig carcass. *Animal Science*, 63, 487-496.
- Garriga, M., Aymerich, M.T., Costa, S., Monfort, J.M., & Hugas, M. (2002). Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. *Food Microbiology*, 19, 509-518.

- Gee, D.L., & Brown, W.D. (1980). The effect of carbon monoxide on bacterial growth. *Meat Science*, 5, 215-222.
- Georgantelis, D., Blekas, G., Katikou, P., Ambrosiadis, I., & Fletouris, J. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation and color stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, 75, 256-264.
- Gil, M.D. (2002). Efecto del método de cocinado y de la suplementación de la dieta con vitamina E sobre la calidad de la carne de cerdo durante su almacenamiento en refrigeración. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Departamento de Tecnología de los alimentos, Nutrición y Bromatología. Murcia (España).
- Gil, M.D., Bañón, S., Laencina, J., Cayuela, J.M., & Garrido, M.D. (2001). Utilización de extractos de plantas como antioxidantes naturales en carne y productos cárnicos: revisión. *Eurocarne*, 101, 29-41.
- Gill, C.O. (1990). Controlled atmosphere packaging of chilled meats. *Food Control*, 1, 74-78.
- Gill, C.O., & Penney, N. (1988). The effect of the initial gas volume to meat weight ratio on the storage life of chilled beef packaged under carbon dioxide. *Meat Science*, 22(1), 53-63.
- Gonthier, M.P., Verny, M.A., Besson, C., Remesy, C., & Scalbert, A. (2003). Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats. *Journal of Nutrition*, 133, 1853-1859.
- Gordon, M.H. (1990). The mechanism of antioxidant action *in vitro*. En: B. J. F. Hudson, *Food antioxidants*. New York: Elsevier Science Publishing, 1-18.
- Govaris, A., Botsoglou, N., Papageorgiou, G., Botsoglou, E., & Ambrosiadis, I. (2004). Dietary versus post-mortem use of oregano oil and/or  $\alpha$ -tocopherol in turkeys to inhibit development of lipid oxidation in meat during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 55, 115-123.

- Govaris, A., Florou-Paneri, P., Botsoglou, E., Giannenas, I., Amvrosiadis, I., & Botsoglou, N. (2007). The inhibitory potential of feed supplementation with rosemary and/or  $\alpha$ -tocopheryl acetate on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast during refrigerated storage. *Food Science and Technology. LWT*, 40, 331-337.
- Gravador, R.S., Jongberg, S., Andersen, M.L., Luciano, G., Priolo, A., & Lund, M. N. (2014). Dietary citrus pulp improves protein stability in lamb meat stored under aerobic conditions. *Meat Science*. (In Press, Accepted Manuscript).
- Gray, J.I. (1978). Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 55, 697-704.
- Gray, I., & Pearson, A.M (1987). Rancidity and warmed-over-flavour. En: A.M. Pearson & T.R. Dutson (Eds). *Advances in meat research, restructured meat and poultry products* (Vol. 3, pp. 221-269). New York: Van Nostrand Reinhold Co.
- Gray, J.I., & Crackel, R.L. (1992). Oxidative flavour changes in meat: Their origin and prevention. En: *The Chemistry of Muscle-Based Foods*. p. 145-168.
- Gray, J.I., & Monahan, F.J. (1992). Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 3, 315-319.
- Gray, J.I., Goma, E.A., & Buckley, D.J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43, 111-123.
- Greene, B.E. (1969). Lipid oxidation and pigment changes in raw beef. *Journal of Food Science*, 47, 52-55.
- Gruen, I.U., Fernando, L.N., & Ahn, J. (2005). Reduction of warmed-over flavor by natural antioxidants systems. Paper 59-5 presented at Ann. Mtg., Inst. of Food Technologists, New Orleans, LA., July 15-20.
- Guardiola, F., Cabony, R., Addis, P.B., Rafecas, M., & Boatella, J. (1996). Biological effects of oxysterols: Current status. *Food Chemistry and Toxicology*, 34, 193.

- Guerrero, L. (1995). Métodos descriptivos de análisis sensorial. (I). Métodos clásicos de obtención de perfiles. Alimentación, Equipos y Tecnología. Diciembre. 41-46.
- Güntensperger, B., Hämmerli-Meier, D.E., & Escher, F.E. (1998). Rosemary extract and precooking effects on lipid oxidation in heat-sterilized meat. *Journal of Food Science*, 63, 955-957.
- Guo, F.M., Kwakkel, R.P., Soede, J., Williams, B.A., & Verstegen, M.W.A. (2004). Effect of a Chinese herb medicine formulation, as an alternative for antibiotics, on performance of broilers. *British Poultry Science*, 45(6), 793-797.
- Gyesley, S.W. (1991). Total Systems Approach to Predict Shelf Life of Packaged Foods. Food Packaging. ASTM STP 1113-EB.
- Ha, J.K., & Lindsay, R.C. (1991). Volatile alkylphenols and thiophenol in species-related characterizing flavors of red meats. *Journal of Food Science*, 56, 1197-1202.
- Haak, L., Raes, K., Van Dyck, S., & De Smet, S. (2008). Effect of dietary rosemary and  $\alpha$ -tocopheryl acetate on the oxidative stability of raw and cooked pork following oxidized linseed oil administration. *Meat science*, 78(3), 239-247.
- Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Richard, N.T., Hartzfeld, P.W., & Riechel, T.L. (1998). High molecular weight plants polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1887-1892.
- Hall, J.L., Harrison, D.L., & Mackintosh, D.L. (1962). Counter effect of sodium chloride and sage on development of peroxide in frozen stored sausage. *Food Technology*, 16, 102-104.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in Enzymology*, 186, 1-85.

- Halliwell, B., Aeschbach, R., Löliger, J., & Aruoma, O.I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 33(7), 601-617.
- Hamilton, R.J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F.B., & Pierce, H. (1997). Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chemistry*, 60, 193-199.
- Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A., Bertelsen, G., & Skibsted, L.H. (2004). Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science*, 68, 479-484.
- Hayes, J.E., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M.N., O'Brien, N.M., & Kerry, J.P. (2009). The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat science*, 83(2), 201-208.
- Helander, I.M., Latva-Kala, K., & Lounatmaa, K. (1998). Permeabilizing action of polyethyleneimine on *Salmonella typhimurium* involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide. *Microbiology*, 144(2), 385-390.
- Hercberg, S., Preziosi, P., Briançon, S., Galan, P., Triol, I., Malvy, D., & Favier, A. (1998). A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU. VI. MAX study-design, methods, and participant characteristics. *Controlled clinical trials*, 19(4), 336-351.
- Hernández, P., Navarro, J.L., & Toldrá, F. (1998). Lipids composition and lipolytic enzyme activities in porcine skeletal muscle with different oxidative pattern. *Meat Science*, 49, 1-10.
- Hernandez, P., Navarro, J.L., & Toldrá, F. (1999). Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products: dry-cured loin and pickled-cured loin. *Meat Science*, 51, 123-128.

- Hernández, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J., & Megías, M.D. (2004). Influence of two plants extracts on broilers performance, digestibility and digestive organ size. *Poultry Science*, 83, 169-174.
- Higgins, F.M., Kerry, J.P., Buckley, D.J., & Morrissey, P.S. (1998). Effect of dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation on  $\alpha$ -tocopherol distribution in raw turkey muscles and its effect on the storage stability of cooked turkey meat. *Meat Science*, 50(3), 373-383.
- Hong, S.J., Kim, S.I., Kwon, S.M., Lee, J.R., & Chung, B.C. (2002). Comparative study of concentration of isoflavones and lignans in plasma and prostatic tissues of normal control and benign prostatic hyperplasia. *Yonsei Medicine Journal*, 43, 236-241.
- Honikel, K.O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat science*, 49(4), 447-457.
- Hopia, A., Huang, S.W., Schwarz, K., German, B.J., & Frankel, E.N. (1996). Effect of different lipid systems on antioxidant activity of rosemary constituents carnosol and carnosic acid with and without  $\alpha$ -tocopherol. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 2030-2036.
- Hopkins, D.L., Fogarty, N.M., & Menzies, D.J. (1996). Muscle pH of lamb genotypes. *Australian Society of Animal Production*, 21, 347.
- Horie, T., Mizuma, T., Kasai, S., & Awazu, S. (1998). Conformational change in plasma albumin due to interaction with isolated rat hepatocyte. *American Journal of Physiology*, 254, 465-470.
- Horstein, I., & Crowe, P.F. (1963). Meat flavour: lamb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 11, 147-149.
- Horváthová, E., Slameňová, D., & Navarová, J. (2010). Administration of rosemary essential oil enhances resistance of rat hepatocytes against DNA-damaging oxidative agents. *Food chemistry*, 123(1), 151-156.

- Höulihaan, C.M., Ho, C.T., & Chang, S.S. (1984). Elucidation of the chemical structure of a novel antioxidant, rosmaridiphenol, isolated from rosemary. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 61, 1036-1039.
- Höulihaan, C.M., Ho, C.T., & Chang, S.S. (1985). The structure of rosmariquinone: a new antioxidant isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 61, 1036-1039.
- Hoving-Boling, A.H., Eikelenboom, G., Van Diepen, J.T.M., Jongbloed, A.W., & Houben, J.H. (1998). Effect of dietary vitamin E supplementation on pork quality. *Meat Science*, 49, 205-212.
- Huang W.H., & Greene B.E. (1978). Effect of cooking method on TBA numbers of stored beef. *Journal of Food Science*, 43, 1201-1209.
- Huff Lonergan, E., Zhang, W., & Lonergan, S.M. (2010). Biochemistry of *postmortem* muscle: Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, 86(1), 184-195.
- Hugas, M., Garriga, M., & Monfort, J.M. (2002). New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. *Meat Science*, 62, 359-371.
- Huisman, M., Madsen, H.L., Skibsted, L.H., & Bertelsen, G. (1994). The combined effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis*. L) and modified atmosphere packaging as protein against warmed over flavour in cooked minced meat. *Z Lebensmittel Untersuch Forsch*, 198, 57-59.
- I.F.T. (1975). *Sensory Evaluation Guide for Testing Food and Beverages products*. Institute of Food Technologists. *Food Technology*, 35, 50-59.
- Ibáñez, E., Kubatova, A., Señoráns, F. J., Cavero, S., Reglero, G., & Hawthorne S.B. (2003). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary plants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 375-382.

- Igbinedion, J.E., Cahill, V.R., Ockerman, H.W., Parrett, N.A., & Vanstavern B.D. (1983). Effects of packaging method, display light and storage time on the microbial growth and rancidity of fresh pork. *Journal of Food Science*, 48, 848- 852.
- Igene, J.O., & Pearson, A.M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over flavor development in meat model systems. *Journal of Food Science*, 44, 1285-1290.
- Imaida, K., Fukishima, S., Shirai, T., Ohtami, M., Nakamishi, K., & Ito, N. (1983). Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of gamma-glutamyl transpeptidase positive for development in the liver of rats. *Carcinogenesis*, 4, 895-899.
- Innun, A. (2013). I-SEEC 2012. *Proceeding-Science and Engineering*, 1, 6.
- Inserra, L., Priolo, A., Biondi, L., Lanza, M., Bognanno, M., Gravador, R., & Luciano, G. (2014). Dietary citrus pulp reduces lipid oxidation in lamb meat. *Meat science*, 96(4), 1489-1493.
- Ismail, S.A.S., Deak, T., Abd El-Rahman, H.A., Yassien, M.A.M., & Beuchat, L.R. (2001). Effectiveness of immersion treatments with acid, trisodium phosphate, and herb decoctions in reducing population of *Yarrowia lipolytica* and naturally occurring aerobic microorganism on raw chicken. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 13-19.
- ISO 10399. (2004). Sensory analysis - Methodology - Duo-trio test. <http://www.iso.org>
- ISO 13299. (2003). Sensory analysis – Methodology - General guidance for establishing a sensory profile. <http://www.iso.org>
- ISO 1442. (1997). Determination of moisture content. In *International standards meat and meat products*. <http://www.iso.org>



- 
- ISO 1443. (1973). Determination of total fat content. In International standards meat and meat products. <http://www.iso.org>
- ISO 1443. (1973). Determination of total fat content. In International standards meat and meat products. <http://www.iso.org>
- ISO 15214. (1998). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal methods for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria Colony-count technique at 30 degrees C. <http://www.iso.org>
- ISO 17410. (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal methods for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. <http://www.iso.org>
- ISO 17410. (2001). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. <http://www.iso.org>
- ISO 21527-1. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95. <http://www.iso.org>
- ISO 21527-2. (2008). Determination of total fat content. In International standards meat and meat products. <http://www.iso.org>
- ISO 21528-2. (2004). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae*. Part 2: Colony-count method. <http://www.iso.org>
- ISO 2917. (1999). Measurement of the pH. In International standards meat and meat products. <http://www.iso.org>
- ISO 4120. (2004). Sensory analysis - Methodology - Triangle test. <http://www.iso.org>
- ISO 4121. (2003). Sensory analysis Methodology. Evaluation of food products by methods using scales. <http://www.iso.org>

- ISO 4833. (2003). Microbiology of food animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Colony-count technique at 30 °C. <http://www.iso.org>
- ISO 5495. (2005). Sensory analysis - Methodology - Paired comparison test. <http://www.iso.org>
- ISO 8586. (2012). Sensory analysis - General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors. <http://www.iso.org>
- ISO 937. (1981). Determination of nitrogen content. In International standards meat and meat products. <http://www.iso.org>
- Jakobsen, M., & Bertelsen, G. (2002). The use of CO<sub>2</sub> in packaging of fresh red meats and its effect on chemical quality changes in the meat: A review. *Journal of Muscle Foods*, 13(2), 143-168.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkarni, A.D., & Madhavi, D.L. (1995). Lipid oxidation in biological and food systems. Food antioxidants , technological, toxicological and health perspectives. Madhavi, D.L., Deshpande, S.S y Salunke, D.K. New York. Marcel Dekker Inc. 5-63.
- Jamroz, D., Wiliczek, A., Wertelecki, T., Orda, J., & Skorupinska, J. (2005). Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *British Poultry Science*, 46 (4), 485-493.
- Jamshidi, R., Afzali, Z., & Afzali, D. (2009). Chemical composition of hydrodistillation essential oil of rosemary in different origins in Iran and comparison with other Countries. *American-Eurasian Journal of Agriculture Environment Science*, 5, 78-81.
- Janz, J.A.M., Morel, P.C.H., Wilkinson, B.H.P., & Purchas, R.H. (2007). Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality. *Meat Science*, 75, 360-365.

- Jay, J.M., Loessner, M.J., & Golden, D.A. (2005). "Listeriosis de origen alimentario". Microbiología moderna de los alimentos. Ed. Acribia, S.A., Zaragoza, España.
- Jayasingh, P., (2001). Evaluation of carbon monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef. *Meat Science*, 59, 317-324.
- Jayasingh, P., Cornforth, D.P., Brennand, C.P., Carpenter, C.E., & Whittier, D.R. (2002). Sensory Evaluation of Ground Beef Stored in High - oxygen Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Food Science*, 67(9), 3493-3496.
- Jenkins, W.A., & Harrington, J.P. (1991). Packaging foods with plastics.
- Jensen, C., Lauridsen, C., & Bertelsen, G. (1998<sup>a</sup>). Dietary vitamin E: quality and storage stability of pork and poultry. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 62-72.
- Jensen, C., Flensted-Jensen, M., Skibsted, L.H., & Bertelsen, G. (1998<sup>b</sup>). Warmed-over flavour in chill-stored pre-cooked pork patties in relation to dietary rapeseed oil and vitamin E supplementation. *Zeitschrift-Lebensmittel-Untersuchung-Und- Forschung*, 207, 154-159.
- Jeremiah, L.E. (2001). Packaging alternatives to deliver fresh meats using short or long term distribution. *Food Research International*, 34, 749-772.
- Jerónimo, E., Alfaia, C.M., Alves, S.P., Dentinho, M.T., Prates, J.A., Vasta, V., & Bessa, R.J. (2012). Effect of dietary grape seed extract and *Cistus ladanifer* L. in combination with vegetable oil supplementation on lamb meat quality. *Meat science*, 92(4), 841-847.
- Jo, C., Lee, J.I., & Ahn, D.U. (1999). Lipid oxidation, color changes and volatiles production in irradiated pork sausage with different fat content and packaging during storage. *Meat Science*, 51, 355-361.

- Johnston, J.E., Sepe, H.A., Miano, C.L., Brannan, R.G., & Aderton, A.L. (2005). Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat Science*, 70, 627-631.
- Jordán, M.J., Moñino, M.I., Martínez, C., Lafuente, A., & Sotomayor, J. A. (2010). Introduction of distillate Rosemary leaves into the diet of the Murciano-Granadina goat: Transfer of polyphenolic compounds to goats' milk and the plasma of suckling goat kids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8265-8270.
- Jordán, M.J., Lax, V., Rota, M.C., Lorán, S., & Sotomayor, J.A. (2012). Relevance of carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid concentrations in the *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Rosmarinus officinalis* L. methanolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(38), 9603-9608.
- Jordán, M.J., Lax, V., Rota, M.C., Lorán, S., & Sotomayor, J.A. (2013). Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control*, 30(2), 463-468.
- Jordán, M.J., Castillo, J., Bañón, S., Martínez-Conesa, C., & Sotomayor, J.A. (2014). Relevance of the carnosic acid/carnosol ratio for the level of rosemary diterpene transfer and for improving lamb meat antioxidant status. *Food Chemistry*, 151, 212-218.
- Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Ait-Kaki, Z., & Benlabed, K. (2005). Comparative antibacterial activity of five *Lamiaceae* essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, Constantine, 15 (3), 129-133.
- Kaneko, R., Hattori, S., Furuta, S., Hamajima, M., Hirata, Y., Watanabe, K., Seno, H., & Ishii A. (2006). Sensitive analysis of aconitine, hypaconitine, mesaconitine y jesaconitine in human body fluids and *Aconitum* tubers by LC/ESI-TOF-MS. *Journal of Mass Spectrometry*, 41, 810-814.

- Kanner, J. (1994). Oxidative process in meat and meat products: quality implications. *Meat Science*, 36(1), 169-189.
- Karabagias, I., Badeka, A., & Kontominas, M.G. (2011). Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat science*, 88(1), 109-116.
- Karamanoli K., Vokou D., Menkissoglu U., & Constantinidou, H.I. (2000). Bacterial colonization of phyllosphere of mediterranean aromatic plants. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 2035-2048.
- Karami, M., Alimon, A.R., Sazili, A.Q., Goh, Y.M., & Ivan, M. (2011). Effects of dietary antioxidants on the quality, fatty acid profile, and lipid oxidation of *Longissimus* muscle in Kacang goat with aging time. *Meat Science*, 88, 102-108.
- Karre, L., López, K., & Getty, K.J. (2013). Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat science*, 94(2), 220-227.
- Kasapidou, E., Wood, J.D., Richardson, R.I., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., & Enser, M. (2012). Effect of vitamin E supplementation and diet on fatty acid composition and on meat colour and lipid oxidation of lamb leg steaks displayed in modified atmosphere packs. *Meat science*, 90(4), 908-916.
- Ke, P.J., Cervantes, E., & Robles-Martínez, C. (1984). Determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) in fish tissue by an improved distillation spectrophotometric method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35, 1248-1254.
- Kemp, C.M., Sensky, P.L., Bardsley, R.G., Buttery, P.J., & Parr, T. (2010). Tenderness - An enzymatic view. *Meat Science*, 84, 248-256.
- Kennedy, C., Buckley, D.J., & Kerry, J.P. (2004). Display life of sheep meats retail packaged under atmospheres of various volumes and composition. *Meat Science*, 68, 649-658.

- Kerry, J.P., O'Sullivan, M.G., Buckley, D.J., Lynch, P.B., & Morrissey, P.A. (2000). The effect of dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation and modified atmosphere packaging (MAP) on the quality of lamb patties. *Meat Science*, 56, 61-66.
- Kerry, J.P., O'Grady, M.N., & Hogan, S.A. (2006). Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*, 74, 113-130.
- Khan, N. (1995). Pigmenting properties of carotenes. *Feed Mix*, 3(3), 18-21.
- Kim, Y.H., Nam, K.C., & Ahn, D.U. (2002). Volatile profiles, lipid oxidation and sensory characteristics of irradiated meat from different animal species. *Meat Science*, 61, 257-265.
- Kim, Y.H., Huff-Lonergan, E., Sebranek, J.G., & Lonergan, S.M. (2010). High-oxygen modified atmosphere packaging system induces lipid and myoglobin oxidation and protein polymerization. *Meat science*, 85(4), 759-767.
- King, A.J., Uijttenboogaart, T.G., & Vries, A.D. (1995).  $\alpha$ -Tocopherol,  $\beta$ -Carotene and Ascorbic Acid as Antioxidants in Stored Poultry Muscle. *Journal of food science*, 60(5), 1009-1012.
- Knight, T.W., Tervit, H.R., & Lynch, P.R. (1983). Effects of boar pheromones, ram's wool and presence of bucks on ovarian activity in anovular ewes early in the breeding season. *Animal Reproduction Science*, 6, 129-134.
- Knut, F., & Nolet, G. (2006). Envasado con CO: Una nueva tecnología de envasado sin oxígeno para la industria cárnica de la Unión Europea. *Eurocarne*, 143, 195-199.
- Koreleski, J., & Swiatkiewicz, S. (2007). Dietary supplementation with plant extracts, xanthophylls and synthetic antioxidants: Effect on fatty acid profile and oxidative stability of frozen stored chicken breast meat. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 16(3), 463.

- Kropf, D.H. (1980). Recip. Meat Conf. Proc., 33Nat. Live Stock and Meat Board, Chicago, p. 15.
- Kropf, D.H. (1998). Pork Facts-Meat Display Lighting. Des Moines, Iowa, National Pork Producers Council, pp. 1-8. NPPC Publications: Washington D.C. USA.
- Kubow, S. (1993). Lipid oxidation products in food and atherogenesis. Nutrition reviews, 51(2), 33-40.
- Labadie, J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth meat is an ecological niche. Meat Science, 52, 299-305.
- Ladikos, D., & Lougovois, V. (1990). Lipid oxidation in muscle foods: a review. Food Chemistry, 35, 295-314.
- Lagouri, V., Blekas, G., Tsimidou, M., Kokkini, S., & Boskou, D. (1993) Composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. Z Lebensmittel Untersuch Forsch, 197, 20-23.
- Lai, S.H., Gray, J.I., Smith, D.M., Booren, A.M., Crackel, R.L., & Buckley, D.J. (1991). Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets. Journal of Food Science, 56, 616-620.
- Lanari, M.C., Schaefer, D.M., & Scheller, K.K. (1995). Dietary vitamin E supplementation and discoloration of pork bone and muscle following modified atmosphere packaging. Meat Science, 41, 237-250.
- Lancon, A., Delma, D., Osman, H., Thenot, J.P., & Latruffe, B.J. (2004). Human hepatic cell uptake of resveratrol: involvement of both passive diffusion and carrier-mediated process. Biochemical and Biophysical Research Communications, 316(4), 1132-1137.
- Larmond, E. (1977). Laboratory methods for sensory evaluation of foods. Publication 1637/E. Ottawa: Agriculture Canada.

- Lauridsen, C., Buckley, D.J., & Morrissey, P.A. (1997). Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on alpha-tocopherol levels and fatty acid profiles in chicken muscle membranal fractions and on susceptibility to lipid peroxidation. *Meat Science*, 46, 9-22.
- Lauridsen, C., Jensen, S.K., Skibsted, L.H., & Bertelsen, G. (2000). Influence of supranutritional vitamin E and copper on  $\alpha$ -tocopherol deposition and susceptibility to lipid oxidation of porcine membranal fraction of *M. Psoas major* and *M. Logissimus dorsi*. *Meat Science*, 54, 377-384.
- Lauzurica, S., De la Fuente, J., Díaz, M.T., Álvarez, I., Pérez, C., & Cañeque, V. (2005). Effect of dietary supplementation of vitamin E on characteristics of lamb meat packed under modified atmosphere. *Meat Science*, 70, 639-646.
- Lawlor, S.M., & O'Brien, N.M. (1995). Astaxanthin: Antioxidant effects in chicken embryo fibroblast. *Nutrition Research*, 15, 1695-1704.
- Lawrie, R.A. (1991). *Meat Science* (5<sup>th</sup> Ed.). Pergamon Press, Oxford.
- Lawrie, R.A. (1998). The eating quality of meat. En: *Meat Science*. 6<sup>th</sup> edition. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Lawrie, R.A., & Ledward, D.A. (2006). *Lawrie's Meat Science*. Seventh English, edition ed. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.
- Ledward, D.A. (1991). Letter to the editor: Meat color stability. *Journal of Food Science*, 56, VII.
- Ledward, D.A. (1992). Color in raw and cooked meat. En: *The chemistry of Musclebased Foods*, D.A. Leward, D.E Jonhston and M.K. knight (Ed.), p. 33-68. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham house, Science park, Cambridge.
- Lee, S.K., Mei, L., & Decker, E.A. (1996). Lipid oxidation in cooked turkey as affected by added antioxidant enzymes. *Journal of Food Science*, 61, (4), 726-728.



- Lee, K.G., & Shibamoto, T. (2002). Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4947-4952.
- Lehninger, A.L. (1982). *Principles of Biochemistry*. Worth Publishers. New York.
- Leistner, L. (2000). Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*, 55(1), 181-186.
- Leistner, L., & Gorris, L.G. (1995). Food preservation by hurdle technology. *Trends in Food Science & Technology*, 6(2), 41-46.
- Lennersten, M.S. (1995). The influence of light and packaging materials on oxidative deterioration in foods: a literature review. 620, 27-32.
- Lillard, D.A. (1987). Oxidative deterioration in meat, poultry, and fish. En: *Warmed- Over Flavor of Meat*, pp. 41-47. St. Angelo, A.J.; Bailey, M.E. (Eds.). Academic Press. Orlando, FL.
- Linares, M.B. (2007). Factores que afectan a la calidad de la carne de cordero de raza manchega. Relación con el bienestar animal. Tesis doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha.
- Lindahl, G., Karlsson, A.H., Lundström, K., & Andersen, H.J. (2006). Significance of storage time on degree of blooming and colour stability of pork loin from different crossbreeds. *Meat science*, 72(4), 603-612.
- Liu, Q., Lanari, M.C., & Schaefer, D.M. (1995). A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73, 3131-3140.
- Löliger, J. (1991). The use of antioxidants in foods. En: *Free radicals and food additives*. pp. 121-150. O.I. Aruoma; B. Halliwell (Eds.). Taylor & Francis, London.
- López-Bote, C.J., Gray, J.I., Gomaa, E.A., & Flegal, C.J. (1998). Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *British poultry Science*, 39, 235-240.

- López-Bote, C.J., & Menoyo, D. (2000). La alimentación como factor de diferenciación de productos en el cerdo. *Eurocarne*, 87, 67-77.
- Lorenzo, J.M., & Gómez, M. (2012). Shelf life of fresh foal meat under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. *Meat science*, 92(4), 610-618.
- Luciano, G., Monahan, F.J., Vasta, V., Biondi, L., Lanza, M., & Priolo, A. (2009). Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat science*, 81(1), 120-125.
- Luciano, G., Pauselli, M., Servili, M., Mourvaki, E., Serra, A., Monahan, F.J., Lanza, M., Priolo, A., Zinnai, A., & Mele, M. (2013). Dietary olive cake reduces the oxidation of lipids, including cholesterol, in lamb meat enriched in polyunsaturated fatty acids. *Meat Science*, 93(3), 703-714.
- Lund, M.N., Lametsch, R., Hviid, M.S., Jensen, O.N., & Skibsted, L.H. (2007). High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine *longissimus dorsi* during chill storage. *Meat Science*, 77(3), 295-303.
- Lund, M., Jungwirth, P., & Woodward, C.E. (2008). Ion specific protein assembly and hydrophobic surface forces. *Physical review letters*, 100(25), 258105.
- Lundquist, B.R. (1994). El envasado de la carne y los productos cárnicos. En ciencia de la carne y de los productos cárnicos. J.F. Price y B.S. Schweigert, Ed acribia S.A. pp 441-445.
- Luño, M., Beltrán, J.A., & Roncalés, P (1998). Shelf-life extensión and colour stabilisation of beef packaged in a low O<sub>2</sub> atmosphere containing CO: Loin steaks and ground meat. *Meat Science*, 48(1/2), 75-84.
- M.A.G.R.A.M.A (2013). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. [www.magrama.gob.es](http://www.magrama.gob.es)
- MacDonald, B., Gray, J.L., Kakuda, Y., & Lee, M.L. (1980). Role of nitrite in cured meat flavor chemical analysis. *Journal of Food Science*, 45, 889-891.
- MacDougall, D.B. (1982). *Food Chemistry*, 9, 75.

- Macit, M., Aksakal, V., Emsen, E., Esenbuğa, N., & Irfan Aksu, M. (2003<sup>a</sup>). Effects of vitamin E supplementation on fattening performance, non-carcass components and retail cut percentages, and meat quality traits of Awassi lambs. *Meat science*, 64(1), 1-6.
- Macit, M., Aksakal, V., Emsen, E., Aksu, M.I., Karaoglu, M., & Esenbuga, N. (2003<sup>b</sup>). Effects of vitamin E supplementation on performance and meat quality traits of Morkaraman male lambs. *Meat science*, 63(1), 51-55.
- MacLeod, G., & Seyyedain-Ardebelli, M. (1986). Natural and simulated meat flavour (with particular reference to beef). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 14, 309-437.
- Madhavi, D.L., & Carpenter, C.E. (1993). Ageing and processing affect color, metmyoglobin reductase and oxygen consumption of beef muscles. *Journal of Food Science*, 58, 939-942.
- Magnussen, O.M., Haugland, A., Torstveit Hemmingsen, A.K., Johansen, S., & Nordtvedt, T.S. (2008). Advances in superchilling of food – process characteristics and product quality. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 418-424.
- Makris, J., & Rossiter, T. (2000). Heat-induced, metal-catalyzed oxidative degradation of quercetin and rutin (Quercetin 3-O-rhamnosylglucoside) in aqueous model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 3830-3838.
- Manach, C., Morand, C., Texier, O., Favier, M. L., Agullo, G., Demigné, C., & Rémésy, C. (1995). Quercetin metabolites in plasma of rats fed diets containing rutin or quercetin. *The Journal of Nutrition*, 125(7), 1911-1922.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.

- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 230-242.
- Mann, T.F., Reagen, J.O., Lillard, D.A., Campion, D.R., Lyon, C.E., & Miller, M.E. (1989). Effects of phosphate in combination with nitrite or Maillard reaction products upon warmed-over flavor in precooked, restructured beef chuck roast. *Journal of Food Science*, 54, 1431-1433, 1437.
- Marmer, W.N., Maxwell, R.J., & Willians, J.E. (1984). Effect of dietary regimen and tissue site in bovine fatty acid profiles. *Journal Animals Science*, 59, 109-121.
- Martinaud, A., Mercier, Y., Marinova, P., Tassy, C., Gatellier, P., & Renerre, M. (1997). Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2481-2487.
- Martínez, L., Cilla, I., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (2007<sup>a</sup>). Effect of illumination on the display life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. Influence of the addition of rosemary, ascorbic acid and black pepper. *Meat science*, 75(3), 443-450.
- Martínez, C., Jordán, M.J., Moñino, M.I., Lafuente, A., Quilez, M., & Sotomayor, J.A. (2007<sup>b</sup>). Identification of polyphenolic components in Murciano-Granadina goat milk and suckling goat kid plasma. *Planta Medica*, 73(09), 323.
- Marusich, W.L., & Bauernfiend, J.C. (1981). Oxycarotenoids in poultry feed. En: *Carotenoids as colorants and Vitamin A precursors*, pp. 320-341. Bauernfield, J. (Ed.). New York.
- Masuda, T., Inaba, Y., & Takeda, Y. (2001). Antioxidant mechanism of carnosic acid: structural identification of two oxidation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5560-5565.

- Masuda, T., Inaba, Y., Maekawa, T., Takeda, Y., Tamura, H., & Yamaguchi, H. (2002). Recovery mechanism of the antioxidant activity from carnosic acid quinone, an oxidized sage and rosemary antioxidant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5863-5869.
- Maubach, J., Bracke, M.E., Heyerick, A., Depypere, H.T., Serreyn, R.F., Mareel, M.M., & De Keukeleire, D. (2003). Quantitation of soy-derived phytoestrogens in human breast tissue and biological fluids by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 784(1), 137-144.
- McCarthy, T.L., Kerry, J.P., Higgins, F.M., Buckley, D.J., Lynch, P.B., & Morrissey, P.A. (1998). Assessment of natural food ingredients as antioxidants in fresh and previously frozen pork. En: A. Diestre & JM Monfort, *Proceedings of the 44<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology*, August, 674-675.
- McCarthy, T.L., Kerry J.P., Kerry J.F., Lynch P.B., & Buckley, D.J. (2001<sup>a</sup>). Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. *Meat Science*, 57, 177-184.
- McCarthy T.L., Kerry J.P., Kerry J.F., Lynch P.B., & Buckley D.J. (2001<sup>b</sup>). Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. *Meat Science*, 58, 45-52.
- McCormick, R.J. (2009). En: M. Du, & R.J. McCormick (Eds.), *Collagen Applied Muscle Biology and Meat Science*, 129-148. Boca Raton, FL., CRC Press.
- MacLeod, G., & Coppock, B.M. (1977). A comparison of the chemical composition of boiled and roasted aromas of heated beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(1), 113-117.
- McMillin, K.W., Huang, N.Y., Ho, C.P., & Smith, B.S. (1999). Quality and shelf-life of meat in case-ready modified atmosphere packaging. En: *Quality Attributes of Muscle Foods*, 73-93. Springer US.

- McMillin, K.W. (2008). Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science*, 80, 43-65.
- Medina, R., & Miralles, S. (2000). Aceite esencial de tomillo mendocino (*Acantholippia seriphioides*): efecto antioxidante en medallones de carne vacuna.
- Mei, L., Crum, A.D., & Decker, E. A. (1994). Development of lipid oxidation and inactivation of antioxidant enzymes in cooked pork and beef. *Journal of Food Lipids*, 1, 273-283.
- Melody, J.L., Lonergan, S.M., Rowe, L.J., Huiatt, T.W., Mayes, M.S., & Huff-Lonergan, E. (2004). Early *postmortem* biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *Journal of Animal Science*, 82(4), 1195-1205.
- Melton, S.T. (1983). Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology*, 37(7), 105-116.
- Mielche, M.M., & Bertelsen, G. (1993). Effects of heat treatment on warmed-over flavour in ground beef during aerobic chill storage. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschun*, 197, 8-13.
- Mielnik, M.B., Aaby, K., & Skrede, G. (2003). Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. *Meat science*, 65(3), 1147-1155.
- Milos, M., Mastelic, J., & Jerkovic, I. (2000). Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *Hirtum*). *Food Control*, 71, 79-83.
- Minolta (1993). *Precise Color Communications*. Minolta Camera Co. Osaka, Japan.
- Mitsumoto, M. (2000). Dietary delivery versus exogenous addition of antioxidants. En: *Antioxidants in muscle foods*. Decker, E., Faustman, C., and Lopez-Bote, C. (Eds.). Toronto: John Wiley and Sons, Inc. 315-343.

- Mitsumoto, M., Arnold, R.N., Schaefer, D.M. & Cassens, R.G. (1993). Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef. *Journal of Animal Science*, 71, 1812-1816.
- Mitsumoto, M., O'Grady, M.N., Kerry, J.P. & Buckley, D.J. (2005). Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Science*, 69, 773-779.
- Moghtader, M., & Afzali, D. (2009). Study of the antimicrobial properties of the essential oil of Rosemary. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 5(3), 393-397.
- Mohler, K. (1982). Nitrat-und Nitritgehalt der Nahrungsmittel. In *Nitrat-Nitrit-Nitrosamine in Gewässern: Symposium aus Anlass des Abschlusses des Schwerpunktprogrammes Nitrat, Nitrit, Nitrosamine in Gewässern*/bearbeitet von F. Selenka.
- Monahan, F.J. (2000). Oxidation of Lipids in Muscle Foods: Fundamental and Applied Concerns. En: Decker, E., Faustmann, C. y López-Bote, C. J. *Antioxidants in Muscle Foods, Nutritional Strategies to Improve Quality*, 229. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Monahan, F.J., Buckley, D.J., Gray, J.I., Morrissey, P.A., Asghar, A., Hanrahan, T.J., & Lynch, P.B. (1990<sup>a</sup>). Effect of dietary vitamin E on the stability of raw and cooked pork. *Meat Science*, 27, 99-108.
- Monahan, F.J., Buckley, D.J., Morrissey, P.S., Lynch, P.B. & Gray, J.I. (1990<sup>b</sup>). Effect of dietary  $\alpha$ -tocopherol supplementation on  $\alpha$ -tocopherol levels in porcine tissues and on susceptibility to lipid peroxidation. *Food Science and Nutrition*, 42, 203.
- Monahan, F.J., Buckley, D.J., Morrissey, P.S., Lynch, P.B. & Gray, J.I. (1992). Influence of dietary fat and  $\alpha$ -tocopherol supplementation on lipid oxidation in pork. *Meat Science*, 31, 229-241.

- Monahan, F.J., Crackel, R.L., Gray, J.I., Buckeley, D.J., & Morrissey, P.A. (1993). Catalysis of lipid oxidation in muscle model systems by haem and inorganic iron. *Meat Science*, 34(1), 95-106.
- Moñino, M.I. (2010). Incorporación de hoja destilada de romero y tomillo en la dieta de oveja Segureña: estudio de la transmisión de antioxidantes a carne de cordero. M<sup>a</sup> Inmaculada Moñino Frutos; directores: M<sup>a</sup> José Jordán Bueso y José Antonio Sotomayor Sánchez.
- Moñino, M.I., Martínez, C., Sotomayor, J.A., Lafuente, A., & Jordán, M.J. (2008). Polyphenolic transmission to segureño lamb meat from ewes dietary supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3363-3367.
- Moody, W.G. (1983). Beef flavor- a review. *Food Technology*, 37(5), 227-232.
- Morán, L., Rodríguez-Calleja, J.M., Bodas, R., Prieto, N., Giráldez, F.J., & Andrés, S. (2012<sup>a</sup>). Carnosic acid dietary supplementation at 0.12% rates slows down meat discoloration in *gluteus medius* of fattening lambs. *Meat science*, 90(3), 789-795.
- Morán, L., Andrés, S., Bodas, R., Prieto, N., & Giráldez, F.J. (2012<sup>b</sup>). Meat texture and antioxidant status are improved when carnosic acid is included in the diet of fattening lambs. *Meat science*, 91(4), 430-434.
- Morán, L., Giráldez, F.J., Panseri, S., Aldai, N., Jordán, M.J., Chiesa, L.M., & Andrés, S. (2013). Effect of dietary carnosic acid on the fatty acid profile and flavour stability of meat from fattening lambs. *Food chemistry*, 138(4), 2407-2414.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S. & Vojnov, A.A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 40 (2), 223-231.
- Mor-Mur, M., & Yuste, J. (2003). High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: physical properties and sensory analysis. *Meat Science*, 65(3), 1187-1191.



- Morrissey, P.A., Buckley, D.J., Sheehy, P.J.A., & Monahan, F.J. (1994). Vitamin E and meat quality. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53, 289-295.
- Morrissey, P.A., Buckley, D.J., Sisk, H., Lynch, P.B., & Sheehy, P.J.A. (1996). Uptake of  $\alpha$ -tocopherol in porcine plasma and tissues. *Meat Science*, 44, 275-283.
- Mottram, D.S., Edwards, R.A., & Macfie, H.J.H. (1982). A comparison of the flavour volatiles from cooked beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33, 934-944.
- Mottram, D.S. (1994). Flavor of Meat and Meat Products. Ed. Blackie Academic & Professional. Canada. 210-230.
- Mottram, D.S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62(4), 415-424.
- Mullan, M., & McDowell, D. (2003). 10 Modified atmosphere packaging. *Food packaging technology*, 303.
- Mullen, W., Graf, B.A., Caldwell, S.T., Hartley, R.C., Duthie, G.G., Edwards, C.A., & Crozier, A. (2002). Determination of flavonol metabolites in plasma and tissues of rats by HPLC-radiocounting and tandem mass spectrometry following oral ingestion of [2-<sup>14</sup>C] quercetin-4'-glucoside. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6902-6909.
- Murchie, L.W., Cruz-Romero, M., Kerry, J.P., Linton, M., Patterson, M.F., Smiddy, M., & Kelly, A.L. (2005). High pressure processing of shellfish: a review of microbiological and other quality aspects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(3), 257-270.
- Murphy, A., Kerry, J.P., Buckley, D.J., & Gray, I. (1998). The antioxidative properties of rosemary oleoresin and inhibition of oof-flavours in precooked roast beef slices. *Journal of Science Food and Agriculture*, 77, 235-243.

- Naemura, A., Ura, M., Yamashita, T., Arai, R., & Yamamoto, J. (2008). Long-term intake of rosemary and common thyme herbs inhibits experimental thrombosis without prolongation of bleeding time. *Thrombosis Research*, 122(4), 517-522.
- Naidoo, K., & Lindsay, D. (2010). Survival of *Listeria monocytogenes*, and enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pasteurii*, during two types of biltong manufacturing processes. *Food Control*, 21(7), 1042-1050.
- Nakatani, N., & Inatani, R. (1984). Two antioxidative diterpenes from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) and a revised structure for rosmanol. *Agriculture Biological Chemistry*, 48, 2081-2085.
- Nam, K.C., Du, M., Jo, C., & Ahn, D.U. (2001). Cholesterol oxidation products in irradiated raw meat with different packaging and storage time. *Meat Science*, 58, 431-435.
- Nassu, R.T., Gonçalves, L.A.G., Pereira da Silva, M.A.A., & Beserra, F.J. (2003). Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, 63(1), 43-49.
- Nicod, H. (1990). L'organisation pratique de la mesure sensorielle. La formation du groupe. Evaluation sensorielle. Manuel Méthodologique.
- Nicolaou, N., Xu, Y., & Goodacre, R. (2012). Detection and quantification of bacterial spoilage in milk and pork meat using MALDI-TOF-MS and multivariate analysis. *Analytical Chemistry*, 84(14), 5951-5958.
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., & Garrido, M.D. (2010<sup>a</sup>). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): Influence on lamb meat quality. *Meat Science*, 84(1), 23-29.
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., & Garrido, M.D. (2010<sup>b</sup>). Effect on lamb meat quality of including thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves in ewe's diet. *Meat Science*, 85(1), 82-88.

- Nieto, G., Estrada, M., Jordán, M.J., Garrido, M.D., & Bañón, S. (2011<sup>a</sup>). Effects in ewe diet of rosemary by-product on lipid oxidation and the eating quality of cooked lamb under retail display conditions. *Food Chemistry*, 124(4), 1423-1429.
- Nieto, G., Bañón, S., & Garrido, M. D. (2011<sup>b</sup>). Effect of supplementing ewes' diet with thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat. *Food Chemistry*, 125(4), 1147-1152.
- Nissen, H., Sorheim, O., & Dainty, R. (1996). Effects of vacuum, modified atmospheres and storage temperature on the microbial flora of packaged beef. *Food Microbiology*, 13, 183-191.
- Nissen, L.R., Byrne, D.V., Bertelsen, G., & Skibsted, L.H. (2004). The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. *Meat Science*, 68, 485-495.
- Nolan, N.L., Bowers, J.A., & Kropf, D.H. (1989). Lipid oxidation and sensory analysis of cooked pork and turkey stored under modified atmospheres. *Journal of Food Science*. 54, 846-849.
- Nowlan, S.S., Dyer, W.J., & Keith, R.A. (1974). Superchilling - a new application for preserving freshness of fish fillets during marketing. *Canadian Institute of Food Science & Technology Journal*, 7, 16-19.
- Nychas, G.J.E. (1995). Natural antimicrobials from plants. En: *New methods of food preservation*, 58-89. Springer US.
- O'Grady, M.N., Monahan, F.J., Burke, R.M., & Allen, P. (2000). The effect of oxygen level and exogenous  $\alpha$ -tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs. *Meat Science*, 55, 39-45.
- O'Grady, M.N., Maher, M., Troy, D.J., Moloney, A.P., & Kerry, J.P. (2006). An assessment of dietary supplementation with tea catechins and rosemary extract on the quality of fresh beef. *Meat Science*, 73, 132-143.

- O'Sullivan, C.M., Kerry, J.P., Buckley, D.J., & Morrissey, P.A. (1997). Addition of food ingredients to chicken patties: Assessment of their antioxidative properties. En: Proceedings of the 28<sup>th</sup> Annual Food Science and Technology Research Conference, 34. University College, Cork.
- Ockerman, H., & Basu, L. (2004). Carcass chilling and boning. En: J. Werner Klinth (Ed.), Encyclopedia of Meat Sciences, 144-149. Oxford: Elsevier.
- Offord, E.A., Guillot, F., Aeschbach, R., Löliger, J., & Pfeifer, A.M.A. (1997). Antioxidant and biological properties of rosemary components: Implications for food and health. In Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications, p. 88-96. Shahidi, F. (Ed.). American Oil Chemists' Society Press, Champaign, IL.
- Oi, N., Hashimoto, T., & Kanazawa, K. (2008). Metabolic conconversion of dietary quercetin from its conjugate to active aglicone following the induction of hepatocarcinogenesis in fisher 344 rats. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 56, 577-583.
- Okamura, N., Fujimoto, Y., Kuwabara, S., & Yagi, A. (1994). High-performance liquid chromatography, 679, 381-386.
- Okoh, O.O., Sadimenko, A.P., & Afolayan, A.J. (2010). Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. Food Chemistry, 120(1), 308-312.
- Olafsdottir, G., Lauzon, H.L., Martinsdóttir, E., Oehlenschläuger, J., & Kristbergsson, K. (2006). Evaluation of shelf life of superchilled cod (*Gadus morhua*) fillets and the influence of temperature fluctuations during storage on microbial and chemical quality indicators. Journal of Food Science, 71(2), 97-109.
- Oliver, C.N., Ahn, B.W., Moerman, E.J., Goldstein, S., & Stadtman, E.R. (1987). Age-related changes in oxidized proteins. Journal of Biological Chemistry, 262(12), 5488-5491.

- Oluwatuyi, M., Kaatz, G.W., & Gibbson, S. (2004). Antibacterial and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, 40, 223-231.
- Onega, E., Miguel, E., Blázquez, B., & Ruiz de Huidobro, F. (2001). Evolución de algunos parámetros de calidad de la carne de vacuno en los seis primeros días post mortem. *ITEA*, 22, 568-570.
- Ordoñez, J.A., & Ledward, D.A. (1977). Lipid and myoglobin oxidation in pork stored in oxygen and carbon dioxide enriched atmospheres. *Meat Science*, 1(1), 41-48.
- Orlien, V., Hansen, E., & Skibsted, L.H. (2000). Lipid oxidation in high-pressure processed chicken breast muscle during chill storage: critical working pressure in relation to oxidation mechanism. *European Food Research & Technology*, 211, 99-104.
- Osswald, T.A., Baur, E., Brinkmann, S., Oberbach, K., & Schmachtenberg, E. (2006). *International plastics handbook*. Hanser Publishers, Munich, 507-699, 708.
- Ouali, A. (1990). Meat tenderization: Possible causes and mechanisms. A review. *Journal of Muscle Foods*, 1(2), 129-165.
- Ouali, A., Herrera-Méndez, C.H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., & Sentandreu, M.A. (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*, 74(1), 44-58.
- Ouali, A., Gagaoua, M., Boudida, Y., Becila, S., Boudjellal, A., Herrera-Méndez, C.H., & Sentandreu, M.A. (2013). Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. *Meat science*, 95(4), 854-870.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., & Begin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology, Québec/Mannitoba*, 37, 2-3, 155-162.

- Pandit, V.A., & Shelef, L.A. (1994). Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food microbiology*, 11, 57-63.
- Paniang-Vait P., King A.J., Jones A.D., & German B.G. (1995). Cholesterol oxides in foods of animal origin. *Journal of Food Science*, 60(5), 1159-1174.
- Papageorgiou, V., Mallouchos, A., & Komaitis, M. (2008). Investigation of the antioxidant behavior of air-and freeze-dried aromatic plant materials in relation to their phenolic content and vegetative cycle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5743-5752.
- Park, R.J., Ford, A.L., & Ratcliffe, D. (1975). Effect on meat flavour of period of feeding a protected lipid supplement to lambs. *Journal Food Science*, 40, 1217-1221.
- Parr, A.J., & Bolwell, G.P. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 985-1012.
- Parry, R.T. (1995). "Introducción. Envasado de alimentos en atmósferas modificadas". R.T. Parry (Ed.), pág. 13-31. A. Madrid Vicente, Ediciones, Madrid, España.
- Passamonti, S., Vrhovsek, U., & Mattivi, F. (2002). The interaction of anthocyanins with bilitranslocase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 296, 631-636.
- Patente Nacional nº 201230114: "Extracto de romero y su uso en alimentación animal". Agente: Herrero & Asociados. Fecha de registro: 27/01/2012. Autores: Bañon, S., Sotomayor, J.A., Benavente, O, Castillo, J., & Jordán, M.J.
- Patterson, M. (1999). High pressure treatment of foods. En: R. K. Robinson, C. A. Batt, y P.P. Patel (Eds.), *Encyclopaedia of Food Microbiology*, 2, 1059-1065. London Academic Press.

- Pearce, K. (2008). (1 ed.). Sheep CRC Program 3: Next Generation Meat Quality Project. Phenotyping the Information Nucleus Flocks: Operational Protocol Series, Vol. 1. (pp. 107). Perth, Western Australia: Murdoch University.
- Pearce, K.L., Masters, D.G., Smith, G.M., Jacob, R.H., & Pethick, D.W. (2005). Plasma and tissue  $\alpha$ -tocopherol concentrations and meat colour stability in sheep grazing saltbush (*Atriplex* spp.). *Australian Journal of Agriculture Research*, 56, 663-672.
- Pearson, A.M., Gray, J.I., Wolzak, A.M., & Hornstein, N.A. (1983). Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technology*, 37, 121-129.
- Pegg, R.B., & Shahidi, F. (2004). Heat effects on meat. Flavour Development. En: *Encyclopedia of Meat Sciences*, 1ed. Ed. Academic Press. Oxford. Pp. 570-578.
- Pérez-Fons, L., Garzón, M.T., & Micol, V. (2009). Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 161-171.
- Petersen, M., & Simmonds, M.S.J. (2003). "Rosmarinic acid", *Phytochemistry*. 62, 121-125.
- Pie, J.E., Spatris, K., & Seillan, C. (1990). Evaluation of oxidative degradation of cholesterol in food and food ingredients- Identification and quantification of cholesterol oxides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 451-457.
- Pietta, P., Simonetti, P., Gardana, C., & Mauri, P. (2000). Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) of *Ginkgo biloba* flavonol and *Camellia sinensis* catechin metabolites. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 23, 223-226.

- Pikul, J., & Kummerow, F.A. (1990). Relative role of individual phospholipids on thiobarbituric acid reactive substances formation in chicken meat, skin and swine aorta. *Journal of Food Science*, 55(5), 1243-1254.
- Pikul, J., & Kummerow, F.A. (1991). Thiobarbituric acid reactive substance formation as affected by distribution of polyenoic fatty acids in individual phospholipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 451-457.
- Piñol, M.T., Palazón, J., & Cuisidó, R.M. (2000). Introducción al metabolismo secundario. En: Azcón, J. y M. Bieto (Eds). *Fundamentos de fisiología vegetal*. Primera Edición. McGraw-Hill/Interamericana de España, S. A. U. Edicions Universitat de Barcelona. 261-283.
- Pla Torres, M. (2005). Capacidad de retención de agua. Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. *Monografías INIA: Madrid, España. Serie Ganadera*, (3), 243-250.
- Porter, N.A., Caldwell, S.E., & Mills, K.A. (1995). Mechanism of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30, 277-290.
- Poste, L.M., Willemont, C., Butler, G., & Patterson, C. (1986). Sensory aroma scores and TBA values as indices of warmed-over flavor in pork. *Journal of Food Science*, 51, 886-888.
- Prache, S., Cornu, A., Berdagué, J.L., & Priolo, A. (2005). Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants. *Small Ruminant Research*, 59, 157-168.
- Pratt, D.E., & Hudson, B.J. (1990). Natural antioxidants not exploited commercially. En: *Food antioxidants*, 171-191. Springer Netherlands.
- Petrón, M.J., Raes, K., Claeys, E., Lourenço, M., D. Fremaut, D., & De Smet, S. (2007). Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Science*, 75, 737-745.



- Prescott, J., Young, O., & O'Neill, L. (2001). The impact of variations in flavour compounds on meat acceptability: a comparison of Japanese and New Zealand consumers. *Food Quality and Preference*, 12, 257-264.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., & Bégin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37(2), 155-162.
- Reglamento (CE) 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de productos alimenticios.
- Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.
- Reglamento (CE) nº 854/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas para la organización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano.
- Reglamento (CE) nº 2073/2005 de la comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.
- Reglamento (CE) nº 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre aditivos alimentarios.
- Rababah, T.M., Hettiarachchy, N.S., & Horax, R. (2004). Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(16), 5183-5186.
- Raccach, M. (1984). The antimicrobial activity of phenolic antioxidants in foods: a review. *Journal of Food Safety* 6, 141-170.

- Radi, R., Denicola, A., Álvarez, B., Ferrer-Sueta, G., & Rubbo, H. (2000). The biological chemistry of peroxy-nitrite. Nitric oxide: biology and pathobiology, 57-82.
- Raharjo, S., & Sofos, J.N. (1993). Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: a review. Meat Science, 35, 145- 169.
- Ramarathnam, N., Rubin, L.J., & Diosady, L.L. (1993). Studies on meat flavor. 4. Fractionation, characterization, and quantitation of volatiles from uncured and cured beef and chicken. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41(6), 939-945.
- Ramírez, P., García-Risco, M.R., Santoyo, S., Señoráns, F.J., Ibáñez, E., & Reglero, G. (2006). Isolation of functional ingredients from rosemary by preparative-supercritical fluid chromatography (Prep-SFC). Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41(5), 1606-1613.
- Real Decreto 1376/2003, de 7 de noviembre, que establece las condiciones de producción, almacenamiento y comercialización de las carnes frescas y sus derivados en los establecimientos de comercio al por menor.
- Real Decreto 348/2001, de 4 de abril, por el que se regula la elaboración, comercialización e importación de productos alimenticios e ingredientes alimentarios tratados con radiaciones ionizantes.
- Real Decreto 728/2011, de 20 de mayo, por el que se modifica el Real Decreto 1376/2003, de 7 de noviembre, por el que se establecen las condiciones sanitarias de producción, almacenamiento y comercialización de las carnes frescas y sus derivados en los establecimientos de comercio al por menor.
- Reid, D.H., Young, O.A., & Braggins, T.J. (1993). The effects of antioxidative treatments on mutton flavour/odour intensity and species flavour differentiation. Meat Science, 35, 171-182.

- Reineccius, G. (1994). Flavour of aroma chemistry. En: Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products. Ed. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Renerre, M.T. (1990). Factors involved in the discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science & Technology*, 25(6), 613-630.
- Renerre, M., & Labas, R. (1987). Biochemical factors influencing metmyoglobin formation in beef muscles. *Meat Science*, 19, 151-165.
- Renerre, M., & Labadie, J. (1993). Fresh meat packaging and meat quality. En: *Proceedings of the 39<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology*, Calgary, Canada, 361-387.
- Renerre, M., Dumont, F., & Gatellier, P. (1996). Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipids and myoglobin. *Meat Science*, 43, 111-121.
- Renerre, M., Poncet, K., Mercier, Y., Gatellier, P. & Métro, B. (1999). Influence of dietary fat and vitamin E on antioxidant status of muscle of turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1), 237-244.
- Resurreccion, A.V.A., & Reynold Jr., A.E. (1990). Evaluation of Natural Antioxidants in Frankfurters containing Chicken and Pork. *Journal of Food Science*, 55, 629- 631, 654.
- Rezzoug, S. A., Boutekedjiret, C., & Allaf, K. (2005). Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 71(1), 9-17.
- Rhee, K.S., Vanderzant, C., Keeton, J.T., Ehlers, J.G., & Leu, R. (1985). Microbiological and shelf-life properties of ground beef containing glandless cottonseed flour. *Journal of Food Science*, 50, 1388-1391.
- Rhee, K.S., Anderson, L.M., & Sams, A.R. (1996). Lipid oxidation potential of beef, chicken and pork. *Journal of Food Science*, 61, 8-12.

- Richardson, T., & Korycka-Dahl, M. (1983). Lipid oxidation. En: *Developments in Dairy Chemistry-2*, 241-363). Springer Netherlands.
- Richheimer, S.L., Bernart, M.W., King, G.A., Kent, M.C., & Bailey, D.T. (1996). Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 507-514.
- Rios, L.Y., Bennett, R.N., Lazarus, S.A., Remesy, C., Scalbert, A., & Williamson, G. (2002). Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 1106-1110.
- Ripoll, G., Joy, M., & Muñoz, F. (2011). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Science*, 87(1), 88-93.
- Ripoll, G., González-Calvo, L., Molino, F., Calvo, J.H., & Joy, M. (2013). Effects of finishing period length with vitamin E supplementation and alfalfa grazing on carcass color and the evolution of meat color and the lipid oxidation of light lambs. *Meat Science*, 93(4), 906-913.
- Rivas-Cañedo, A., Fernández-García, E., & Nuñez, M. (2009). Volatile compounds in fresh meats subjected to high pressure processing: Effect of the packaging material. *Meat Science*, 81, 321-328.
- Rivas-Cañedo, A., Apeleo, E., Muiño, I., Pérez, C., Lauzurica, S., Pérez-Santaescolástica, C., & de la Fuente, J. (2013). Effect of dietary supplementation with either red wine extract or vitamin E on the volatile profile of lamb meat fed with omega-3 sources. *Meat science*, 93(2), 178-186.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.
- Ruberto, G., & Barata, M.T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model system. *Food Chemistry*, 69, 167-174.

- Rodríguez Giro, M. (1994). "Envasado bajo Atmósfera Protectora". Aplicación a la Industria Hortofrutícola. Alimentación, equipos y Tecnología, 1, 43-49.
- Rodríguez Cases, M. (2006). Empleo de extractos de té verde, semillas de uva y clara de huevo deshidratada para prolongar la vida comercial de las hamburguesas de cerdo. Universidad de Murcia.
- Rota, V., & Schieberle, P. (2006). Changes in key odorants of sheep meat induced by cooking. En: ACS Symposium Series. Ed. Amer Chemical Soc. USA. 920, 73-83.
- Rousset-Akrim, S., Young, O.A., & Berdagué, J.L. (1997). Diet and growth effects in panel assessment of sheepmeat odour and flavour. Meat Science, 45, 169-181.
- Ruíz, J.A., Pérez-Vendrell, A.M., & Esteve-García, E. (1997).  $\beta$ -carotene or  $\alpha$ -tocopherol in fed improve the oxidative stability of poultry meat. En: 11<sup>th</sup> European Symposium of Poultry Nutrition, p. 301. Fagor, Denmark.
- Saenz-López, R., Fernandez-Zurbano, P., & Tena, M.T. (2002). Capillary electrophoretic separation of phenolic diterpenes from rosemary. Journal of Chromatography, 953, 251-256.
- Sahoo, J., & Anjaneyulu, A.S.R. (1995). Modified atmosphere packaging of muscle foods: technology, shelf-life and safety aspects. Indian Food Industry, 14(3), 28-36.
- Sánchez-Escalante, A., Djenane D., Torresco, G., Beltrán, J.A., & 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.
- Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torresco, G., Beltrán, J.A., & Roncalés P. (2003). Antioxidant action of borage, rosemary, oregano, and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. Journal of Food Science, 68, 339-344.

- Sánchez-Escalante, A., Torrescano Urrutia, G.R., Camou Arriola, J.P., González Méndez, N.F., & Hernández Watanabe, G. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *Nacameh*, 2, 124-159.
- Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W.S., Lachance, P.A., Ho, C.T., & Rosen, R.T. (2002). Antioxidative Phenolic Compounds Isolated from Almond Skins (*Prunus amygdalus* Batsch). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50(8), 2459-2463.
- Sante, V., & Lacourt, A. (1994). The effect of dietary  $\alpha$ -tocopherol supplementation and antioxidant spraying on colour stability and lipid oxidation of turkey meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 65, 503-507.
- Savoini, G., Cattaneo, D., Paratte, R., Varisco, G., Bronzo, V., Moroni, P., & Pisoni, G. (2011). Dietary rosemary extract in dairy goats organically managed: effects on immune response, mammary infections and milk quality. *Italian Journal of Animal Science*, 2(1), 548-550.
- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130, 2073-2085.
- Schmid, G. (1982). *Química biológica. Las bases químicas de la vida.* 525-529. Interamericana Grafur S.A. Madrid, España.
- Schramm, D.D., Wang, J.F., Holt, R.R., Ensunsa, J.L., Gonsalves, J.L., Lazarus, S.A., Schmith, H.H., German, J.B., & Keen, C.L. (2001). Chocolate procyanidins decrease the leukotriene-prostacyclin ratio in humans and human aortic endothelial cells. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 36-40.
- Schreurs, M.N., Lane, G.A., Tavendale, M.H., Barry, T.N., & McNabb, W.C. (2008). Pastoral flavour in meat products from ruminants fed fresh forages and its amelioration by forage condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 146, 193-221.

- Schubring, R. (2009). "Superchilling"- an old variant to prolong shelf life of fresh fish and meat requicked. *Fleischwirtschaft*, 89(9), 104-113.
- Schwarz, K., & Ternes, W. (1992). Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. I. Determination of phenolic diterpenes with antioxidative activity amongst tocochromanols using HPLC. *Z Lebensm Unters Forsch*, 195, 95-98.
- Schwarz, K., Bertelsen, G., Nissen, L.R., Gardner, P.T., Heinonen, M.I., Hopia, A., Huynh-Ba, T., Lambelet, P., Mcphail, D., Skibsted, L.H., & Tijburg, L. (2001). Investigation of plant extracts for he protection of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *European Food Research Technology*, 212, 319-328.
- Schweigert, F.J., Rosival, I., Rambeck, W.A., & Gropp, J. (1995). Plasma transport and tissue distribution of [14C]  $\beta$ -carotene and [3H] retinol administered orally to pigs. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 65, 95-100.
- Huang, P.Y., & Scott, K.J. (1985). Control of rotting and browning of litchi fruit after harvest at ambient temperatures in China. *Tropical Agriculture*, 62(1), 2-4.
- Sebastián, I., Viallon, C., Berge, P., Dransfield, E., & Berdagué, J.L. (2003). Analysis of the volatile fraction and the flavour characteristics of lamb: relationships with the type of feeding. *Sciences des Aliments*, 23, 497-511.
- Sebranek, J.G., Sewalt, V.J.H., Robbins, K.L., & Houser, T.A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, 69, 289-296.
- Sebranek, J.G., Hunt, M.C., Cornforth, D.P., & Brewer, M.S. (2006). Carbon monoxide packaging of fresh meat. *Food Technology*, 60.
- Serrano, R., & Bañón, S. (2012). Reducing SO<sub>2</sub> in fresh pork burgers by adding chitosan. *Meat Science*, 92(4), 651-658.

- Setchell, K.D., Faughnan, M.S., Avades, T., Zimmer-Nechemias, L., Brown, N.M., Wolfe, B.E., & Cassidy, A. (2003). Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of <sup>13</sup>C-labeled tracers in premenopausal women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(2), 411-419.
- Sevanian, A., & Peterson, A.R. (1986). The cytotoxic and mutagenic properties of cholesterol oxidation products. *Food and Chemical Toxicology*, 24(10), 1103-1110.
- Shahidi, F., Wanasundara, P., & Janhita, P.K. (1992). Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 67-103.
- Shelef, L.A., Naglik, O.A., & Bogen, D.W. (1980) Sensitivity of some common foodborne bacteria to the spices sage, rosemary, and all spice, *Journal of Food Science*, 45, 1042-1044.
- Shikama, K. (1990). Autoxidation of oxymyoglobin: a meeting point of the stabilization and the activation of molecular oxygen. *Biological Reviews*, 65(4), 517-527.
- Shricker, B.R., & Miller, D.D. (1983). Effect of cooking and chemical treatment on heme and nonheme iron in meat. *Journal of Food Science*, 48, 1340-1343.
- Signorini, M.L., & Guerrero-Legarreta, I. (2009). Producción de aminas biogénicas en carne de bovino conservada con ácido láctico de origen químico y bacteriano. *Revista mexicana de ingeniería química*, 8(1), 41-49.
- Silliker, J.H., Woodruff, R.E., Lugg, J.R., Wolfe, S.K., & Brown, W.D. (1977). Preservation of refrigerated meats with controlled atmospheres: treatment and post-treatment effects of carbon dioxide on pork and beef. *Meat Science*, 1, 195-201.
- Simitzis, P.E., Deligeorgis, S.G., Bizelis, J.A., Dardamani, A., Theodosiou, I., & Fegeros, K. (2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat science*, 79(2), 217-223.



- Simitzis, P.E., Symeon, G.K., Charismiadou, M.A., Bizelis, J.A., & Deligeorgis, S. G. (2010). The effects of dietary oregano oil supplementation on pig meat characteristics. *Meat science*, 84(4), 670-676.
- Simitzis, P.E., Ilias Dimopoulos, V., Charismiadou, M.A., Biniari, E.E., & Deligeorgis, S.G. (2013). The effects of dietary hesperidin supplementation on lamb performance and meat characteristics. *Animal Science Journal*, 84(2), 136-143.
- Slinkard, K., & Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Smeti, S., Atti, N., Mahouachi, M., & Muñoz, F. (2013). Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils to increase the shelf life of Barbarine light lamb meat. *Small Ruminant Research*, 113(2), 340-345.
- Smid, E.J., Hendriks, L., Boerrigter, H.A.M., & Gorris, L.G.M. (1996). Surface disinfection of tomatoes using the natural plant compound *trans*-cinnamaldehyde. *Postharvest Biology and Technology*, 9(3), 343-350.
- Smith, L.L. (1981). Cholesterol Autoxidation. *Plenum Press*, New York.
- Smith, G.C., Seideman, S.C., Savell, J.W., Dill, C.W., & Vanderzant, C. (1983). Vacuum packaging versus modified atmosphere packaging of lamb loins. *Journal Food Protect*, 46 (1), 47-51.
- Sofos, J.N., Cabedo, L., Zerby, H., Belk, K.E., & Smith, G.C. (2000). Potential interactions between antioxidants and microbial meat quality. En: *Antioxidants in muscle foods*. Decker, E., Faustman, C., and Lopez-Bote, C. (Eds.). Toronto: John Wiley and Sons, Inc. 427-453.
- Soldatou, N., Nerantzaki, A., Kontominas, M.G., & Savvaidis, I.N. (2009). Physicochemical and microbiological changes of "Souvlaki"- A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelf-life using microbial, colour and lipid oxidation parameters. *Food Chemistry*, 113, 36-42.

- Sorheim, O., Kropf, D.H., Hunt, M.C., Karwosky, M.T., & Warren, K.E. (1996). Effects of modified gas atmosphere packaging on pork loin. Colour, display life and drip loss. *Meat Science*, 43, 203-212.
- Sorheim, O., & Nissen, H. (1996). Modified atmosphere packaging of red meats. *The European Food and Drink Review*, 4, 77-80.
- Sorheim, O., Aune, T., & Nesbakken, T. (1997). Technological, hygienic and toxicological aspects of carbon monoxide used in modified-atmosphere packaging of meat. *Trends Food Science Technology*, 8, 307-312.
- Sorheim, O., Nissen, H., & Nesbakken, T. (1999). The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. *Meat Science*, 52, 157-164.
- Sotomayor, J.A., Sanchez-Gómez, P., Soriano, M.C., & Correal, E. (1996). Las plantas aromático-medicinales como alternativa a los cultivos tradicionales de secano en la Región de Murcia. *Actas primer congreso de la naturaleza de la Región de Murcia*. ISBN: 84-605-5591-7. 31-42.
- Sotomayor, J.A. (1998). Estudio sobre plantas aromáticas de los géneros *Salvia* y *Thymus*, espontáneas en el Sureste Ibérico, para su establecimiento como cultivo. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Departamento de Biología Vegetal (Botánica); Murcia (España).
- St. Angelo, A.J., Vercellotti, J.R., Legendre, M.G., Vinnett, C.H., Kuan, J.W., James, C. Jr., & Dupuy, H.P. (1987). Chemical and instrumental analyses of warmed-over flavor in beef. *Journal of Food Science*, 52, 1163-1168.
- St. Angelo, A.J., Crippen, K.L., Dupuy, H.P., & James Jr., C. (1990). Chemical and sensory studies of antioxidant-treated beef. *Journal of Food Science*, 55(6), 1501-1505, 1539.
- Stapelfeldt, H., Bjorn, H., Skibsted, L.H., & Bertelsen, G. (1993). Effect of packaging and storage conditions on development of warmed-over flavour in sliced, cooked meat. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 196, 131-136.

- Stetzer A.J., Wicklund, R.A., Paulson, D.D., Tucker, E.M. Macfarlane, B.J., & Brewer, M.S. (2007). Effect of carbon monoxide and high oxygen modified atmosphere packaging (MAP) on quality characteristics of beef strip steaks. *Journal of Muscle Foods*, 18, 56-66.
- Stoick, S.M., Gray, J.I., Booren, A.M. & Buckley, D.J. (1991). Oxidative stability of restructured beef steaks processed with oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone and sodium tripolyphosphate. *Journal of Food Science*, 56, 597-600.
- Suomi, K. (1999). Effect of supplemental vitamin E on the performance of growing finishing pigs fed stored versus freshly harvested barley and on the storage stability and eating quality of frozen pork. *Agricultural and Food Science in Finland*, 8, 9-18.
- Sutherland, M.M., & Ames, J.M. (1996). Free fatty acids composition of the adipose tissue of intact and castrated lambs slaughtered at 12 and 30 weeks of age. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3113-3116.
- Suzuki, J., & Bailey, M.E. (1985). Direct sampling capillary glc analysis of flavor volatiles from ovine fat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33, 343- 347.
- Tang, S., Kerry, J.P., Sheehan, D., Buckley, D.J., & Morrissey, P.A. (2001). Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of long-term frozen chicken meat. *Meat Science*, 57, 331-336.
- Tarladgis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T., & Dugan, L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in food. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, 3, 44-48.
- Taylor, S.A. (1996). Modified atmosphere packing of meat. Meat quality and meat packaging, 301-311.
- Thippareddi, H. (1998). Modified atmosphere packaging (MAP): Microbial control quality. National Pork Board, Des Moines, IA., 1-8.

- Tichivangana, J.Z., & Morrissey, P.A. (1985). Metmyoglobin and inorganic metals as pro-oxidants in raw and cooked muscle systems. *Meat Science*, 15, 107-116.
- Trout, G.R., & Dale, S. (1990). Prevention of warmed-over flavor in cooked beef: effect of phosphate type, phosphate concentration, a lemon juice/phosphate blend, and beef extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(3), 665-669.
- Tsimidou, M., Papavergou, E., & Boskou, D. (1995) Evaluation of oregano antioxidant activity in mackerel oil. *Food Research International*, 28, 431-433.
- Tume, R.K., Sikes, A.L., & Smith, S.B. (2010). Enriching *M. sternomandibularis* with alpha-tocopherol by dietary means does not protect against the lipid oxidation caused by high-pressure processing. *Meat Science*, 84, 66-70.
- Tyczkowski, J.K., & Hamilton, P.B. (1986). Evidence for differential absorption of zeaxanthin, cryptoxanthin, and lutein in young broiler chickens. *Poultry Science*, 65(6), 1137-1140.
- Tyczkowski, J.K., Yagen, B., & Hamilton, P.B. (1988). Metabolism of cantaxanthin, a red diketocarotenoid, by chickens. *Poultry Science*, 67, 787-793.
- Urbain, W.M., & Campbell, J.F. (1994). La conservación de la carne. En *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. J.F. Price y B.S. Schweigert, Ed Acribia S.A. 337-371.
- Urquiaga, I., & Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33, 2, 55-64.
- Valenzuela, B.A., & Nieto, S.K. (1996). Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas y Aceites*. 47, 186-196.

- Valenzuela, B.A., Sanhueza, J., & Nieto, S. (2003). Natural antioxidants in functional foods: from food safety to health benefits. *Grasas y Aceites*, 54, 3, 295-303.
- Valero, M., & Salmerón, M.C. (2003). Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 73-81.
- Van Laack, R.L.J.M., Solomon, M.B., Warner, R., & Kauffman, R.G. (1996). A comparison of procedures for measurement of pigment concentration in pork. *Journal of Muscle Foods*, 7(2), 149-163.
- Van Oeckel, M.J., Warnants, N., & Boucqué, C.V. (1999). Measurement and prediction of pork colour. *Meat Science*, 52(4), 347-354.
- Van Soest, P.J. (1982). *Nutritional Ecology of the ruminant*. Comstock Publishing Associates a Division of Cornell University Press. London. UK (2 Ed) 253-280.
- Vasta, V., & Priolo, A. (2006). Ruminant fat volatiles as affected by diet. A review. *Meat Science*, 73(2), 218-228.
- Vasta, V., Aouadi, D., Brogna, D.M., Scerra, M., Luciano, G., Priolo, A., & Ben Salem, H. (2013). Effect of the dietary supplementation of essential oils from rosemary and artemisia on muscle fatty acids and volatile compound profiles in Barbarine lambs. *Meat Science*, 95(2), 235-241.
- Vekiari, S.A., Oreopoulou, V., Tzia, C., & Thomopoulos, C.D. (1993<sup>a</sup>). Oregano flavonoids as lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 70(5), 483-487.
- Vekiari, S.A., Tzia, C., Oreopoulou, V., & Thomopoulos, C.D. (1993<sup>b</sup>). Isolation of natural antioxidants from oregano. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 70(1), 25-28.

- Ventanas, S., Estévez, M., Tejeda, J.F., & Ruiz, J. (2006). Protein and lipid oxidation in *Longissimus dorsi* and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Science*, 72(4), 647-655.
- Ventanas, S., Ventanas, J., Tovar, J., García, C., & Estévez, M. (2007). Extensive feeding versus oleic acid and tocopherol enriched mixed diets for the production of Iberian dry-cured hams: Effect on chemical composition, oxidative status and sensory traits. *Meat Science*, 77(2), 246-256.
- Vergara, H., & Gallego, L. (2001). Effects of gas composition in modified atmosphere packaging on the meat quality of Spanish Manchega lamb. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1353-1357.
- Vergara, H., Gallego, L., García, A., & Landete-Castillejos, T. (2003). Conservation of *Cervus elaphus* meat in modified atmospheres. *Meat Science*, 65, 779-793.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Beest, M.V., Kruif, N.D., & Debevere, J. (1999). Developments in the active packaging of foods. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 77-86.
- Vossen, E., Utrera, M., De Smet, S., Morcuende, D., & Estévez, M. (2012). Dog rose (*Rosa canina* L.) as a functional ingredient in porcine frankfurters without added sodium ascorbate and sodium nitrite. *Meat science*, 92(4), 451-457.
- Wada, S., & Fang, X. (1992). The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and  $\alpha$ -tocopherol in sardine oil model system and frozen-crushed fish meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 16, 263-274.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G., & Fu, Y.J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108(3), 1019-1022.

- Warriss, P.D. (1990). The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass and meat quality. *Applied Animal Behaviour Science*, 28(1), 171-186.
- Warriss, P.D. (2000). *Meat Science: an introductory text*. Ed. CABI Publishing. Wallingford, Inglaterra.
- Weaver, A.D., Jouault, L., Bowker, B.C., Grant, A.L., & Gerrard, D.E. (2007). Sarcomeric thick and thin filament overlap influences *postmortem* proteolysis. *Midwestern Section of the American Society of Animal Science*, 120.
- Wiggers, S.B., Kroger-Ohlson, M.V., & Skibsted, L.H. (2004). Lipid oxidation in highpressure processed chicken breast during chill storage and subsequent heat treatment: effect of working pressure, packaging atmosphere and storage time. *European Food Research & Technology*, 219, 167-170.
- Wild, R. (1994). *The complete book of natural and medicinal cures*. Rodale Press, Inc., Emmaus, Pa.
- Wilkinson, B.H.P., Janz, J.A.M., Morel, P.C.H., Purchas, R.W., & Hendriks, W.H. (2006). The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master packaged fresh pork. *Meat Science*, 73(4), 605-610.
- Willemont, C., Poste, L.M., Salvador, J., & Wood, D.F. (1985). Lipid degradation in pork during warmed over flavor development. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 8(4), 316-322.
- Williams, G.W. (1991). Assessment of marketing strategies to enhance returns to lamb producers. Texas Agricultural Market Research Center Commodity Market Research Report No. CM-1-91. Texas A&M University, College Station.

- Wong, J.W., Hashimoto, K., & Shibamoto, T. (1995). Antioxidant activities of rosemary and sage extracts and vitamin E in a model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2707-2712
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Richardson, R.I., & Sheard, P.R. (1998). Meat quality: an integrated approach for the future. *Proceedings of the 15<sup>th</sup> IPVS congress, Birmingham*. 103-113.
- Woodall, A.A., Britton, G., & Jackson, M.J. (1996). Dietary supplementation with carotenoids: effects on  $\alpha$ -tocopherol levels and susceptibility of tissues to oxidative stress. *British Journal of Nutrition*, 76, 307-317.
- Xiong, Y.L., & Decker, E.A. (1995). Alterations of muscle protein functionality by oxidative and antioxidative processes. *Journal of Muscle Foods*, 6(2), 139-160.
- Xiong, Y.L., Decker, E., Faustman, C., & López-Bote, C.J. (2000). Protein oxidation and implications for muscle food quality. *Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality*, 85-111.
- Yanyun, Z., Wells, J.H., & McMillin, K.W. (1994). Application of dynamic modified atmosphere packaging systems for fresh red meats: review. *Journal of Muscle Foods*, 5, 299-328.
- Yildiz-Turp, G., & Serdaroglu, M. (1998). The effects of ascorbic acid, rosemary extract and  $\alpha$ -tocopherol/ascorbic acid on the some quality characteristics of chicken patties. En: A. Diestre & J.M. Monfort, *Proceedings of the 44<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology (672–673)*, August 30 - September 4, Barcelona, Spain.
- Young, O.A., Reid, D.H., & Scales, G.H. (1993). Effect of breed and ultimate pH on the odour and flavour of sheep meat. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 36, 363-370.
- Young, O.A., Berdagué, J.L., Viallon, C., Rousset-Akrim, S., & Theriez, M. (1997). Fat-borne volatiles and sheepmeat odour. *Meat Science*, 45, 169-181.



- Young, O.A., Priolo, A., Lane, G.A., Fraser, K., & Knight, T.W. (1999). Causes of pastoral flavour in ruminant fat. Paper presented at 45<sup>th</sup> International Congress of Meat Science & Technology, Yokohama, Japan, 1-6 August.
- Young, O.A., & Braggins, T.J. (2004). Sheepmeat odour and flavour. En: Flavour of Meat, Meat Products and Seafoods, 2ed. Ed: Blackie Academic & Professional. London. 102-123.
- Yu, L., Scanlin, L., Wilson, J., & Schmidt, G. (2002). Rosemary extracts as inhibitors of lipid oxidation and color change in cooked turkey products during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 67, 582-585.
- Zheng, W., & Wang, S.Y. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5165-5170.
- Zhong, R.Z., Tan, C.Y., Han, X.F., Tang, S.X., Tan, Z.L., & Zeng, B. (2009). Effect of dietary tea catechins supplementation in goats on the quality of meat kept under refrigeration. *Small Ruminant Research*, 87, 122-125.
- Zhou, G.H., Xu, X.L., & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat—A review. *Meat Science*, 86(1), 119-128.
- Zhu, L.G., & Brewer, M.S. (1998). Discoloration of fresh pork as related to muscle and display conditions. *Journal of Food Science*, 63, 763-767.