UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

ESCUELA DE INGENIERÍAS AGRARIAS

EFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE CONSERVANTES NATURALES SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE PICADA DE VACUNO

María Monteagudo Silgo

Badajoz, septiembre 2017

TRABAJO FIN DE GRADO

EFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE CONSERVANTES NATURALES SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE PICADA DE VACUNO

AUTOR:

Fdo: María Monteagudo Silgo

DIRECTOR/ES:

Director **Codirector**

Fdo: Juan Florencio Tejeda Sereno **Fdo:** Lourdes Martín Cáceres

TRIBUNAL CALIFICADOR:

Vocal Presidente Secretario

Fdo.:_____ Fdo.:_____ Fdo.:_____

Fecha lectura: Septiembre, 2017

INDICE

1. RESUMEN 6
2. INTRODUCCIÓN 8
2.1. LA CARNE DE VACUNO 8
2.1.1. Producción y consumo de carne de vacuno en España 9
2.1.2. Características de la carne de vacuno 11
2.1.3. Sistema de producción de la carne de vacuno 14
2.1.4. La raza Avileña-Negra Ibérica 15
2.2. DERIVADOS CÁRNICOS 17
2.2.1. Carne picada 18
2.2.2. *Burger m*eat 19
2.2.3. Aditivos autorizados en los preparados de carne 19
2.2.4. Sulfitos y derivados 21
2.3. ALTERNATIVAS A LOS ADITIVOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA CÁRNICA 22
3. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS 26
4. MATERIAL Y MÉTODOS 28
4.1. MATERIALES 28
4.1.1. Reactivos 28
4.1.2. Equipos utilizados 28
4.1.3. Muestras de carne picada 30
4.2. MÉTODOS 32
4.2.1. Diseño experimental. 32
4.2.2. Determinación del pH 33
4.2.3. Determinación instrumental del color de la carne picada 33
4.2.4. Determinación del contenido en humedad 33
4.2.5. Determinación del contenido en cenizas. 34
4.2.6. Extracción y cuantificación de la grasa. 34
4.2.7. Análisis del perfil de ácidos grasos 35
4.2.7.1. Metilación de ácidos grasos (Ácidos grasos totales) 35
4.2.7.2. Separación e identificación de los ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa……. 35

4.2.8. Oxidación lipídica 36
4.2.9. Análisis estadístico 37
5. RESULTADOS 39
5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA GENERAL DE LAS PIEZAS CÁRNICAS: AGUJA Y MORRILLO 39
5.2. EFECTO DE LA ADICIÓN DE DIFERENTES ADITIVOS A LA CARNE PICADA 42
5.2.1. Evolución de la composición general de la carne picada durante el almacenamiento 42
5.2.2. Evolución del pH, color y oxidación de las grasas en la carne picada durante el almacenamiento 47
5.2.3. Composición en ácidos grasos 51
6. CONCLUSIONES 58
7. BIBLIOGRAFÍA 60

CAPÍTULO I

RESUMEN

1. RESUMEN

En el presente trabajo se ha estudiado cómo afectan los extractos naturales de romero y melisa a la calidad de la carne picada procedente de ternera de raza Avileña-Negra Ibérica. Para ello se picaron dos músculos: aguja y morrillo, y se separaron tres lotes: un lote control que no llevó ningún aditivo (CNEG), un lote que llevó una mezcla de aditivos artificiales conocida como *burger meat* (CPOS) y por último el lote al que añadimos los antioxidantes naturales (ROM). Los tres lotes fueron envasados en atmósfera modificada y almacenados en refrigeración a 4±1ºC, durante 10 días. Los parámetros estudiados para determinar la efectividad de los extractos naturales fueron: pH, color, pérdidas de peso, contenido en cenizas, proteínas, grasa intramuscular, oxidación lipídica y porcentaje de ácidos grasos.

Los extractos naturales de romero y melisa empleados consiguen estabilizar el color de la carne picada pero no consiguen mantener el rojo característico que sí se conserva en el lote *burger meat* durante los 10 días de almacenamiento. La adición de extractos naturales consiguió mantener el nivel de oxidación lipídica del producto durante 10 días en comparación con la adición del preparado *burger meat.*

In the present project it has been studied how rosemary and lemon balm essences affects minced beef meat quality originating from the breeds Avileña-Negra Ibérica. To do so, both chuck and the back of the neck were minced and splited in three lots. The first one with no additive added (CNEG). The second one with an artificial additive mixture known as *burger meat* (CPOS) and the last one with natural antioxidants (ROM). All lots were packed under modified atmosphere and preserved in cooled storage between 4±1ºC in a ten-day period. The studied parameters to determine the natural essences efficiency were pH, color, weight losses, ash contents, proteins, intramuscular fat, lipid oxidation and fatty acids percentage.

Rosemary and lemon balm natural essences used succeed in stabilizing minced meat color, but failed in preserving the characteristic red color unlike the *burger meat* lot in which color was preserved properly during the ten-day period storage. The natural essence addition succeeded to preserve even reduce the product lipid oxidation during a ten-day period in comparison to the burger meat ready-made addition.

CAPITULO II

INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. LA CARNE DE VACUNO

En la Península Ibérica, la especie bovina ha tenido mucho protagonismo por su aptitud para el trabajo, derivando de ésta la oferta de carne de vacuno (ya que solo se consumían vacas y bueyes procedentes del desvieje) proporcionando carnes oscuras, duras y correosas (Gallego y col.,1979; Díaz., 2011).

Históricamente, las razas bovinas españolas han tenido un mayor desarrollo del tren anterior, del que se obtienen carnes se segunda calidad, y menor desarrollo del tren posterior, donde predominan las carnes de primera calidad, ya que los animales eran seleccionados por su aptitud para el trabajo.

A principios del siglo XX, Sanz Egaña descubrió que el sacrificio de urgencia como consecuencia de algún accidente del animal (como la rotura de alguna pata), daba lugar a la obtención de carne de ternera blanca que proporcionaban una carne suave y tierna, aunque no demasiado sabrosa. Por lo tanto, inicialmente en España no se disponía de carnes de vacuno de calidad, dado que o eran demasiado secas y duras o excesivamente tiernas y con frecuencia insípidas (Díaz., 2011), con excepciones, como ocurría en la costa malagueña, en donde gracias a las importaciones de Marruecos, se disponía de carne de mejor calidad (Gallego y col.,1979).

En la provincia de Ávila, cuya raza autóctona es objeto de estudio en este Trabajo Fin de Grado, se lleva a cabo una especialización hacia la producción de vacuno para cebo, creándose explotaciones dedicadas a la producción de carne, tanto de forma extensiva y tradicional como a través de innovaciones con cruces de razas, como la de los Zapardieles (procedente de El Barco y Piedrahíta), con otras razas Extremeñas, con una selección previa de las reses, para obtener una ganadería oscura, como prefería el mercado, por ser más fina (Gallego y col.,1979).

Cuando los avances en genética, alimentación y manejo se difundieron, la situación cambió radicalmente y las razas españolas (gallega, asturiana, pirenaica, avileña, morucha, retinta, entre otras) se empezaron a seleccionar por sus características genéticas y fenotípicas

favorables para la producción de carne. Se confirmó que la explotación extensiva, complementada con cebo intensivo, podía hacer a nuestras carnes homologables a las del resto de los países europeos (Díaz., 2011).

2.1.1. Producción y consumo de carne de vacuno en España

La producción de carne de vacuno se reparte mundialmente entre Estados Unidos, Brasil, la Unión Europea, China y Argentina, en orden de importancia (MERCASA, 2011). Como se puede observar en el gráfico (FIGURA 2.1), dentro de la Unión Europea, España ocupa el quinto lugar en producción de carne de ternera, superada por Francia, Alemania, Italia y Reino Unido (MERCASA, 2011).

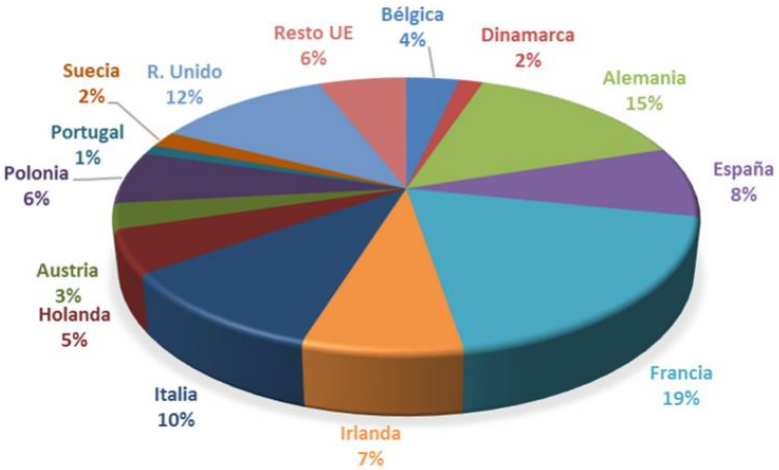

FIGURA 2.1. Producción de carne de vacuno en la Unión Europea.

(Fuente: MAPAMA, 2015)

Según el Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, el sector vacuno en España representa aproximadamente el 15,35% de la Producción Final Ganadera, ocupando el tercer puesto en repercusión económica, por delante de este sólo se encuentran el sector porcino y el sector lácteo (MAPAMA, 2016).

En el año 2007 como consecuencia de la primera crisis de precios de materias primas en España, tuvo lugar una caída de entre el 10 y el 15 % en la producción de carne de vacuno. No ha sido hasta el año 2017 cuando se han recuperado las cifras anteriores a este descenso (Ríos y Cuevas., 2017).

En los últimos años, la población española ha sufrido transformaciones sociodemográficas que han propiciado el cambio en los hábitos de consumo y la proliferación de cadenas de gran distribución con su oferta de venta en libre servicio. Desde el comienzo de la crisis económica española en el año 2008, los cambios se han basado en el incremento de la demanda de productos cárnicos de precio más bajo (Álvarez y col, 2014), facilitados por la proliferación en los lineales de productos cárnicos semielaborados frescos (p.e. hamburguesas y salchichas) o precocinados, envasados y preparados de manera que sean fáciles y rápidos de utilizar.

Sin embargo, la crisis provocada por el hallazgo de trazas de carne de caballo en procesados de carne de vacuno ocurrida a principios del año 2013, ocasionó un descenso en el consumo de estos productos cárnicos frescos o precocinados. Como consecuencia de esta crisis, numerosos estudios llevados a cabo pusieron de manifiesto el mal etiquetado del producto desde el punto de vista nutricional, origen de la carne, falta de especificaciones en cuanto origen y composición, y en algunos casos también anotaciones ambiguas que conducen a la confusión en el consumidor. Así mismo, se observaron también contaminaciones bacterianas con índices superiores a los presentes en la carne recién picada, así como presencia de tejidos extraños a la composición propia de la misma (Álvarez y col., 2014). En este marco, el estudio de la OMS, publicado en octubre de 2015, en el que se asociaba el consumo de carne y productos cárnicos con la mayor prevalencia del cáncer de colon, atribuyendo dicha relación a la presencia de diferentes tipos de compuestos (como aminas aromáticas, nitritos y nitratos) presentes en este grupo de alimentos, contribuyó a acentuar la situación de crisis del consumo de carne en general, y de carne de vacuno en particular (AECOC., 2016).

En cuanto a las cifras de consumo de carne de vacuno en España: Galicia, Castilla y León, País Vasco y Cantabria son las Comunidades que más carne de vacuno consumen, mientras que en el extremo opuesto se encuentran Murcia y Extremadura como las menos consumidoras (Murcia., 2016).

2.1.2. Características de la carne de vacuno

Desde el punto de vista nutricional, la carne tiene un papel muy importante en la alimentación humana, ya que su consumo, con moderación y variedad, es muy beneficioso para la salud (Varela y col., 2001).

La carne de vacuno tiene un contenido en macronutrientes diferente en función de la edad de sacrificio y del musculo del que se trate. Así, según la pieza, el contenido en grasa varía, presentando las partes más magras contenidos de en torno a 6 g de grasa por 100 g, mientras que las de más contenido lipídico pueden superar los 20 g por 100 g (MAPAMA, 2017).

En comparación con otras especies animales, la carne de cerdo es la que más grasa de media contiene, seguida de la carne de cordero y la de ternera, siendo la carne de pollo la que presenta los menores contenidos de grasa en términos medios, si bien estos valores varían en función de la edad de los animales, la pieza cárnica, etc. (Ruiz y col., 2009). Por tanto, la carne magra de ternera es muy recomendada para dietas hipocalóricas en las que se busca el consumo de carnes con alto nivel de proteínas (Rubio, 2004).

El contenido de grasa en las diferentes especies animales varía en función de la edad del animal, por lo tanto, en el vacuno mayor, como consecuencia de un mayor contenido en grasa intramuscular, la carne es más jugosa, lo cual es altamente apreciado por el consumidor.

En cuanto a las proteínas, la carne de ternera presenta un contenido medio de 20 g/100g, similar al de la carne de pollo, y superior al del cordero y cerdo (FAO, 2017). En general, el contenido de proteínas está inversamente relacionado con el contenido en grasa, ya que las partes más magras son las más proteicas (Díaz, 2011). Además la proteína de la carne de ternera es de alto valor biológico, pues contiene aminoácidos esenciales en cantidades importantes (Varela y col., 2001).

Por otro lado, la carne de ternera se puede considerar una buena fuente de minerales (Carvajal., 2001), fundamentalmente hierro, yodo, fósforo, potasio, manganeso, zinc y selenio que varían en cantidad según principalmente el tipo de alimentación del animal.

Las vitaminas de mayor presencia en la carne de vacuno son las del grupo B, especialmente la B2, que está presente en mayor medida en animales jóvenes (MAPAMA, 2017).

La calidad de la carne está definida tanto por su valor nutricional, como por sus características organolépticas, las cuales son percibidas directamente por el consumidor al comprar y comer el producto. De acuerdo con algunos estudios: el color, la textura, la jugosidad, el sabor y el aroma son atributos que van a influir en la palatabilidad de la carne, estas características están determinadas por la raza, edad del animal, alimentación, manejo, etc. (Sañudo., 1993; Beriain y Lizaso., 1998).

El color es uno de los factores más importante en la calidad de la carne, valorándose positivamente un color rojo brillante y siendo rechazada la carne con color rojo apagado o tonos pardos (Alberti y col., 1995). La intensidad del color rojo en la carne está directamente relacionada con la cantidad y estado químico de la mioglobina, si bien también influyen otras proteínas como como la hemoglobina y los citocromos (Goenada, 2010). Tras el sacrificio del animal y obtención de la carne, el color de la misma va variando según la proporción relativa de las distintas formas químicas que puede adoptar la mioglobina (Reyes., 2006). Las tres formas básicas en las que puede encontrarse la mioglobina son:

-Mioglobina reducida o desoximioglobina. De color rojo púrpura, se encuentra en el interior de la carne, y subsiste tras la muerte por la propia actividad reductora del músculo (Díaz, 2001).

-Mioglobina oxigenada u oximioglobina. Formada cuando la desoximioglobina se pone en contacto con el aire con la consiguiente oxigenación del pigmento; tiene un color rojo brillante y es el color deseado por el consumidor, por lo que es importante intentar alargar su presencia.(Clydesdale., 1985).

-Mioglobina oxidada o metamioglobina. Se forma por exposición prolongada de la oximioglobina al oxígeno o directamente desde la mioglobina reducida cuando las presiones de oxígeno son bajas, siendo de color marrón-pardo poco atractivo (Chamorro, 2017).

El segundo parámetro, que define la calidad organoléptica de la carne de vacuno es la terneza, que se puede definir como la facilidad de morder y masticar la carne (Andersen y col., 2005). Sobre la terneza influyen fundamentalmente tres componentes, en primer lugar, el tipo de fibras musculares, es decir, el tamaño de los haces de fibras musculares, y el número de fibras que cada uno de ellos contiene (Onega, 2003); En segundo lugar, la longitud del sarcómero y

de las miofibrillas, de forma que cuanto mayor es el estado de contracción mayor es la dureza; y por último, la cantidad y naturaleza del tejido conjuntivo, y en concreto la fracción que supone el colágeno, presente principalmente en fascias y tendones, de forma que una mayor cantidad de colágeno implica mayor dureza de la carne (Díaz, 2001).

La jugosidad, que puede ser definida como la percepción de más o menos sequedad de la carne durante la masticación (Loza., 2012), se puede separar en dos percepciones, una primera o inicial, que corresponde a la impresión de humedad durante los primeros mordiscos y que está producida por la liberación rápida de fluidos, y la segunda o sostenida que es debida a la liberación lenta de grasa y al potencial efecto estimulador de la grasa en la producción de saliva (Cardura y col., 2000). Por lo que la jugosidad está directamente relacionada con la capacidad de retención de agua y por la infiltración de grasa de la carne (Garriz., 2001), así la carne de animales maduros, con mayor infiltración grasa es más jugosa que la de los animales jóvenes, con menor contenido de grasa intramuscular (Cross., 1994) Factores como el contenido en glucógeno muscular o las formas de cocinado de la carne también influyen de forma destacada sobre la jugosidad de la carne (Varela y col., 2001).

Por último, el flavor, que corresponde a la suma de impresiones olfatorias y gustativas durante el consumo de la carne, está ligado a la existencia de compuestos volátiles y a la presencia de distintas sustancias solubles, presentes en concentraciones muy pequeñas, que no afectan al valor nutritivo pero sí a la aceptabilidad (Brewer., 2006). El contenido en lípidos de la carne, así como el tipo de fibras musculares, son parámetros que afectan al flavor de la carne, los cuales están a su vez determinados por la edad del animal, tipo de alimentación, condiciones de producción, etc. (Miller., 1994).Todos estas causas son factores *ante mortem* (Garriz., 2001), pero el flavor también está definido por algunos factores *post mortem*, ya que la carne queda sujeta a numerosas reacciones químicas y enzimáticas que afectan al sabor y aroma, destacando entre ellas las reacciones de oxidación de la grasa (Fernández, 2017). Las reacciones de oxidación de los lípidos tienen lugar mediante una reacción de propagación en cadena de radicales libres, en la que a partir de ácidos grasos, fundamentalmente ácidos grasos poliinsaturados, y oxígeno se van formando hidroperóxidos, que terminan derivando en compuestos (aldehídos, ácidos, cetonas, …) responsables del enranciamiento de la carne (Navarro y col., 2004). Ambos fenómenos, oxidación y cambios en el color de la carne, son responsables del acortamiento de la vida útil de la carne durante su almacenamiento (Colbert y Decker, 1991). Este problema es aún más acusado en las carnes y productos cárnicos

sometidos a cocinado y almacenados en refrigeración. Los procesos oxidativos que tienen lugar en este tipo de productos suelen conducir a la generación de compuestos volátiles con aromas desagradables, lo que se conoce con el término anglosajón *warmed over flavor*. El envasado en atmósferas modificadas de la carne y productos cárnicos puede contribuir al control de estos procesos, y por lo tanto, al alargamiento de la vida útil de los mismos (Gutierrez y col., 2010).

2.1.3. Sistema de producción de la carne de vacuno

El sector vacuno en España se encuentra estructurado en explotaciones de vacas madres, cuya función es cubrir la lactancia de sus terneros que posteriormente serán destinados a la producción de carne, y en explotaciones que se encargan de cebar a esos terneros. Las explotaciones de madres nodrizas dependen de las producciones de los pastos del medio en el que se encuentran (MAPAMA, 2017).

En el sistema de dehesa destacan las razas Retinta, Avileña y Morucha y los sementales utilizados son principalmente Charolés y Limousin que permiten acelerar los índices de crecimiento de los terneros producidos (Martín-Bellido y col., 2001). El pasto en este tipo de paisaje se produce principalmente durante la primavera y en menor medida durante las lluvias de otoño, teniendo un crecimiento nulo en verano e invierno. Los animales aprovechan en verano el pasto seco que quedó de la primavera, aunque con elevadas tasas de rechazo y baja eficacia digestiva.

Otro sistema de explotación extensivo de ganado bovino es el de pastizales en la España húmeda (MAPAMA, 2017), donde la mayor producción de pasto se da en primavera; durante esta época, entre un 35 y 50 % del pasto se conserva en forma de silo, para consumirlo como suplemento en las épocas de declive en la producción de forraje como es en invierno (Langro, 2007). Las principales razas explotadas bajo este sistema son la Rubia Gallega, Asturiana y Pirenaica. Este sistema se diferencia del sistema de dehesa en que las explotaciones son de menor dimensión, tienen una elevada cantidad y calidad de forraje y en la capacidad de cebo que tienen los animales durante el pastoreo (MAPAMA, 2017).

2.1.4. La raza Avileña-Negra Ibérica

La raza bovina autóctona española Avileña-Negra Ibérica es una de las 7 razas autóctonas consideradas oficialmente “de fomento”, es decir, sin riesgo de desaparición (Martín y col., 2008).

Es una raza muy adaptada al medio, procedente del Tronco Ibérico y originaria de las zonas montañosas del centro peninsular. Su libro genealógico data de 1933 (MAPAMA., 2010) y surge debido a los cruces de algunas razas con la Raza Serrana, perteneciente a la segunda mitad del siglo XIX (Asociación Española de Denominaciones de Origen., 2015).

FIGURA 2.2. Macho de la raza Avileña-Negra Ibérica.
(Fuente: MAPAMA., 2010)

Los animales de esta raza están bien proporcionados, de tamaño medio y perfil de recto a subcóncavo (MAPAMA., 2010). Los cuernos pueden ser de color negro pizarroso, aceitunado o bien blancos con puntas negras. Una característica a destacar es su alta fertilidad y la no presencia de partos distócicos (Martín y col., 2008).

Hoy en día es una raza muy extendida por la Península Ibérica, principalmente en las comunidades de Castilla y León, Extremadura, Madrid, Castilla-La Mancha, La Rioja, Aragón y Valencia (MAPAMA, 2010).

Son animales que están durante todo al año en el campo, salvo los terneros destetados y destinados a cebo (éstos últimos se alimentan exclusivamente mediante piensos autorizados por el Consejo Regulador, cuyas materias primas son de origen vegetal y mineral).

Dependiendo de la edad de los animales y de su alimentación, se distinguen varios tipos de animales, aunque el que más se comercializa es el Añojo, animal que permanece con la madre y es destetado con una edad mínima de 5 meses, alimentado con recursos autorizados y sacrificado entre los 12 y 24 meses (Asociación Española de Denominaciones de Origen., 2015).

Respecto al sistema de explotación, se da en régimen extensivo. Hoy en día se sigue practicando la trashumancia para aprovechar los pastos de las montañas y las dehesas. Parte de los movimientos se realizan a pie por las vías pecuarias. Las explotaciones presentan cargas ganaderas entre 0,2 y 0,4 UGM/Ha.

En los aspectos reproductivos destaca la elevada fertilidad con una media del 90%, la buena aptitud maternal y la no presencia de partos distócicos. Se practica la monta natural y la proporción es de 35-40 vacas por semental. La actividad económica se destina a la venta de reproductoras y sementales, y el resto a la producción de carne cuyos tipos son la ternera y el añojo. En este sentido los datos de crecimiento son de 1,5Kg. /día y rendimientos a la canal del 57% (MAPAMA., 2010).

Según la Orden de 10 de noviembre de 1993, por la que se modifica la Orden de 4 de diciembre de 1990, en la que se aprueba el Reglamento de la Denominación Específica “Carne de Avileño” y su Consejo Regulador, el ganado de raza Avileña-Negra Ibérica y el procedente del primer cruce entre reproductoras de raza Avileña-Negra Ibérica y sementales de las razas integradas en España Charolés y Limusín, es apto para suministrar la carne que ha de ser amparada por esta I.G.P.

En la alimentación suplementaria se utilizan, exclusivamente, piensos autorizados por el Consejo Regulador, para ello se publica una lista de materias primas que pueden utilizarse en los piensos.

Las canales aptas para ser amparadas por la I.G.P. serán aquellas que presenten una clasificación europea en un intervalo de conformación comprendida entre O y U+ y con un grado de engrasamiento comprendido entre 2 y 4.

Las características de la carne, después del sacrificio y faenado, son: consistencia firme al tacto, ligeramente húmeda y textura fina. El color es brillante entre rojo claro y rojo púrpura, con grasa de color blanco a crema y de una elevada apreciación global por su terneza, intensidad y calidad del sabor.

La Carne de Ávila tiene que cumplir un periodo de maduración mínimo de 4 días (Reglamento (CE) 1107/96).

2.2.DERIVADOS CÁRNICOS

El sector elaborador puede comercializar diversos derivados cárnicos cuyo marco legal viene recogido en diferentes normativas.

Según el Real Decreto 474/2014, se definen los derivados cárnicos como los productos alimenticios preparados total o parcialmente con carnes o menudencias de los animales y sometidos a operaciones específicas antes de su puesta al consumo (BOE, 2014).

Los derivados cárnicos pueden ser de dos tipos. Por una parte, se encuentran los derivados cárnicos tratados por calor, que son elaborados con carne a la que se le puede añadir sangre, grasa o menudencias, que se han sometido en su fabricación a un tratamiento térmico suficiente para alcanzar en su parte interna una coagulación parcial o total de sus proteínas, además pueden ser sometidos a tratamientos de ahumado y maduración. Estos a su vez se clasifican en derivados cárnicos esterilizados, derivados cárnicos pasteurizados y derivados cárnicos con tratamiento térmico incompleto (BOE, 2014).

Por otra parte, existen los derivados cárnicos no tratados por el calor, que son aquellos elaborados con carnes o carnes y grasa, así como otros productos alimenticios. En cuya fabricación no han sufrido ningún tratamiento, o bien, han sido sometidos a un proceso de curado-maduración acompañado o no de fermentación, de oreo, de marinado-adobado u otro

proceso tecnológico no térmico, suficiente para conferirles las características organolépticas propias.

Los derivados cárnicos no tratados por calor se clasifican teniendo en cuenta las diferentes técnicas que pueden ser utilizadas para su elaboración en: derivados cárnicos curado-madurados, derivados cárnicos oreados, derivados cárnicos marinado-adobados, derivados cárnicos salmuerizados y derivados cárnicos no sometidos a tratamiento (BOE, 2014).

El Reglamento 853/2004 establece las normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal y define los preparados de carne como: 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.

En esta definición de preparado de carne, se incluyen diferentes productos, entre los que cabe nombrar la carne picada y el *burger meat*.

2.2.1. Carne picada

El Reglamento 853/2004 define la carne picada como: carne deshuesada que ha sido sometida a una operación de picado en trozos y que contiene menos de 1% de sal (DOUE, 2004).

Este Reglamento 853/2004 se refiere a las normas específicas para la carne picada elaborada en las industrias cárnicas. Cabe distinguir una legislación diferente y concreta, el Real Decreto 1376/2003, 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 (BOE, 2003), para aquellos establecimientos de venta al por menor de carne picada y de preparados de carne elaborados en los locales adyacentes a los puntos de venta para suministro directo al consumidor, dadas las especiales características que distinguen al comercio minorista de la carne, unido a las particularidades de las materias primas y productos que se elaboran y comercializan, así como a su posición entre los procesos productivos y su posterior consumo.

En la carne picada, el proceso de picado aumenta la superficie expuesta de la carne, encontrándose todo el sustrato disponible para los microorganismos los cuales logran distribuirse homogéneamente en toda la masa cárnica. Esta fácil disponibilidad del sustrato y el efecto de disolución del picado, conlleva que las bacterias alcancen densidades superiores por gramo en la carne picada en comparación con la superficie de una pieza cárnica no sometida a picado (López, 2004).

2.2.2. *Burger m*eat

Conocidos los riesgos asociados con la contaminación microbiológica, dado que la carne picada es un producto muy perecedero y que la inocuidad de los alimentos es una cuestión de alta prioridad en el mercado (Loaharanu, 2001), en los últimos años es muy común la comercialización de "*burger meat*".

Según el Real Decreto 474/2014 se define el "*burger meat*" como: un derivado cárnico no sometido a tratamiento térmico, elaborado con carne picada y a la que se le adicionan otros ingredientes además de aditivos y que contienen una cantidad mínima de 4% de cereales y/o de hortalizas.

La incorporación de determinados aditivos autorizados en este producto (que se describen a continuación en el apartado 2.3), fundamentalmente en lo referente a conservantes, permite a los productores poner en el mercado un producto afín a la carne picada pero con una vida útil más prolongada, que pueda contrarrestar la elevada susceptibilidad a la alteración de este producto. Sin embargo, por otro lado, es claro que la utilización de aditivos provoca un rechazo en el consumidor.

2.2.3. Aditivos autorizados en los preparados de carne

En función del tipo de derivado cárnico, la legislación europea establece limitaciones al uso de aditivos alimentarios mediante el Reglamento 1333/2008 y sus modificaciones posteriores, especialmente mediante el Reglamento 1129/2011 y el Reglamento 601/2014 que

atañen a la categoría de carnes y a la utilización de aditivos alimentarios en preparados de carne.

Según la citada legislación, para preparados envasados de carne picada fresca y preparados de carne a los que se han añadido otros ingredientes distintos de los aditivos o de la sal, donde se incluye el producto *burger meat*, se distinguen los siguientes aditivos autorizados mostrados en la TABLA 2.1.

TABLA 2.1. Aditivos autorizados en los preparados de carne.

Numero E	Denominación
E 260	Ácido acético
E 261	Acetatos de potasio
E 262	Acetato de sodio
E 263	Acetato cálcico
E 270	Ácido láctico
E 300	Ácido ascórbico
E 301	Ascorbato sódico
E 302	Ascorbato cálcico
E 325	Lactato sódico
E 326	Lactato potásico
E 327	Lactato cálcico
E 330	Ácido cítrico
E 331	Citratos de sodio
E 332	Citratos de potasio
E 333	Citratos de calcio

Para los aditivos de la TABLA 2.1, debido a su no toxicidad, se permite su uso en dichos productos sin que se establezca una dosis máxima, sino basándose en las prácticas de buena fabricación empleadas por el fabricante.

Por otro lado, para *burger meat* se autorizan, además, los aditivos mostrados en la TABLA 2.2., teniendo fijada para la mayoría de ellos, a diferencia de los anteriores, una dosis máxima de aditivo por cantidad de masa de producto.

TABLA 2.2. Aditivos autorizados para *burger meat* y dosis máxima de cada uno de ellos por masa de producto.

Numero E	Denominación	Dosis máxima (mg/kg)
E 120	Cochinilla, ácido carmínico y carmines	100
E 129	Rojo Allura AG	25
E 150a-d	Caramelo	
E 220-228	Dióxido de azufre y sulfitos	450
E 338-452	Ácido fosfórico, fosfatos, di-, tri- y polifosfatos	5000

Se observa que los aditivos autorizados en estos preparados de carne van dirigidos a aumentar la vida útil del producto, ya que se trata básicamente de compuestos conservantes y antioxidantes. También se permite el uso limitado de varios colorantes, además de fosfatos que aumentan la capacidad de agua del producto.

Sin duda, de los aditivos autorizados, es el dióxido de azufre y los sulfitos los que provocan una mayor controversia y un mayor rechazo por parte del consumidor.

2.2.4. Sulfitos y derivados

Son aditivos conservantes, entre sus funciones más relevantes destaca su capacidad de inhibición del pardeamiento enzimático y no enzimático, el control e inhibición del crecimiento microbiano, la prevención del enranciamiento oxidativo y la modificación de las propiedades reológicas de los alimentos (Osakidetza, 2017). De este modo los sulfitos permiten alargar la vida del alimento, evitan que pierda su valor nutritivo y garantizan su seguridad.

Como ya se comentó anteriormente, el Reglamento 1333/2008 establece las concentraciones máximas de este compuesto en los alimentos en los que está permitido, siendo en preparados de carne como *burger meat* 450 mg/kg. Por otro lado, según la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición la Dosis Diaria Admisible de sulfitos es 0,7 mg por kilo de peso corporal y día.

Los sulfitos aprobados por la UE para el uso alimentario son que se muestran en la TABLA 2.3.

TABLA 2.3. Sulfitos aprobados por la UE para uso alimentario

Numero E	Denominación
E-220	Dióxido de azufre
E-221	Sulfito sódico
E-222	Sulfito ácido de sodio
E-223	Metabisulfito sódico
E-224	Metabisulfito potásico
E-226	Sulfito cálcico
E-227	Sulfito ácido de calcio
E-228	Sulfito ácido de potasio

Pese a las ventajas que ofrece el uso de sulfitos, no son inocuos del todo (Barros., 2009). Por un lado, una característica importante de este compuesto es que degradan la tiamina, aunque en los productos cárnicos esto no supone un grave problema ya que poseen un elevado contenido de esta vitamina (Zubeldia y Gomar, 1997). Por otro lado, estos aditivos pueden afectar a personas con trastorno del metabolismo de los sulfitos, caracterizado por un déficit de la enzima sulfito-oxidasa, habiéndose registrado en asmáticos reacciones adversas como dermatitis, dolor de cabeza, irritación del tracto gastrointestinal, urticarias, exacerbación del asma e incluso shock anafiláctico, y en algunos casos del trastorno metabólico hasta lesiones oculares y daño cerebral grave (Caracuel, 2015). En estos casos la solución es evitar la ingesta de alimentos que contengan estos compuestos.

2.3. ALTERNATIVAS A LOS ADITIVOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA CÁRNICA

El uso de compuestos sintéticos o artificiales se ha ido restringiendo en las últimas décadas debido a sus potenciales riesgos sanitarios (Kansci y col., 1997; Hirose y col., 1998), por lo que el interés en el desarrollo y uso de los antioxidantes naturales ha aumentado marcadamente. Otro hecho que ha motivado la búsqueda de antioxidantes alternativos es la demanda por parte de los consumidores de ¨productos naturales¨ (Kikuzaki y Nakatani, 1993). Algunos estudios han demostrado que los consumidores consideran más seguros y saludables

los productos elaborados a partir de ingrediente naturales (Jitoe y col., 1992), rechazando aquellos que registran aditivos sintéticos en su etiquetado.

La vitamina E, como antioxidante natural, ha demostrado una importante actividad en distintos tipos de carne, previa suplementación de la dieta del animal (cordero, cerdo, pollo y pescado) (Tang y col., 2001). Al igual que sucede en la carne de vacuno, sin alterar los atributos sensoriales al ser evaluados por panelistas (Albertí, 2012), como es el caso de los animales que ampara la IGP 'Carne de Ávila'. Sin embargo, la vitamina E no ha mostrado ser muy efectiva cuando esta se añadía a la carne picada durante su procesado. Esta situación justifica que en la última década se vengan realizando una serie de investigaciones con el objeto de identificar otras sustancias, capaces de inhibir las reacciones de autooxidación lipídica en productos cárnicos y carnes precocinadas, tras ser adicionadas durante las operaciones de procesado (Wanasundara y Shahidi, 1998).

Hay que mencionar el potencial carácter funcional de algunos de los extractos antioxidantes utilizados hasta la fecha. Los alimentos funcionales con actividad antioxidante favorecen la salud, reduciendo la oxidación lipídica y protegiendo contra el cáncer, mientras que otros compuestos muestran actividad antibacteriana y antiviral (Namiki, 1990) y reducen el riesgo de enfermedad cardiovascular (Duthie, 1991). La idea de utilizar alimentos con propósitos saludables, aparte de cómo fuente de nutrientes, abre un amplio campo en el sector cárnico. Andrés y col., 2010, observaron que el resveratrol, un compuesto extraído principalmente de las uvas y con actividad antimutágena y antiinflamatoria (Uenobe y col., 1997; Surh, 1999), presentaba un claro efecto antioxidante en hamburguesas refrigeradas durante 8 días, comparable al efecto de los antioxidantes artificiales. Estos mismos autores constataron la mayor eficacia de la adición de extractos comerciales de romero y melisa en comparación con BHT, en la conservación de las propiedades físico-químicas y sensoriales de hamburguesas precocinadas y almacenadas en refrigeración y en atmósferas modificadas (Lara y col., 2011).

Los antioxidantes naturales, extraídos de plantas como el romero, salvia, distintos vegetales, soja, cáscara de cítricos, sésamo, té, aceitunas y uvas pueden ser utilizados como alternativa a los antioxidantes sintéticos gracias a su equivalente e incluso mayor efecto antioxidante (Namiki, 1990). El pimentón y el ajo (Aguirrezabal y col.,, 2000) y la carnosina (O´Neill y col., , 1999; Bekhit y col., 2003), también se han utilizado como aditivos eficaces para disminuir la oxidación lipídica. Los resultados y conclusiones de los estudios realizados hasta

la fecha no son concluyentes o definitivos ya que muchos factores influyen sobre el nivel de actividad antioxidante mostrado por un determinado compuesto, tales como la pureza del extracto, el tipo de carne y la concentración del compuesto, entre otros. Por este hecho y seguramente también por la limitada disponibilidad (el rendimiento del proceso de extracción no supera a menudo el 0.05%) el uso de estos antioxidantes industrial o comercialmente no está generalizado en la industria cárnica. Con toda probabilidad, y como ya ha ocurrido con algunos antioxidantes naturales, con el tiempo y con las investigaciones necesarias, se encontrarán y validarán muchos compuestos naturales cuyo uso en la industria cárnica empiece a extenderse.

CAPÍTULO III

PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

3. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

La demanda de preparados cárnicos ha sufrido un aumento destacado en los últimos años en España. Sin embargo, como consecuencia fundamentalmente de la crisis de las hamburguesas de vacuno de carne acaecida en 2013, ha surgido en nuestro país la necesidad de un cambio en el sistema de producción y comercialización de estas carnes. Desde este punto de vista, desde la IGP Avileña-Negra Ibérica se ha promovido la producción de este tipo de preparados cárnicos buscando una calidad diferenciada, mediante estrategias como aumentar el valor añadido del producto a partir de piezas cárnicas de mayor categoría, o mediante el desarrollo de nuevos preparados de carne picada elaborados a partir de conservantes naturales.

En base a esto, se han planteado los siguientes objetivos en la realización del presente Trabajo Fin de Grado:

1. Caracterizar desde un punto de vista físico-químico las piezas cárnicas utilizadas en la elaboración de los preparados de carne picada.

2. Evaluar el efecto de la incorporación de extractos naturales (extractos deshidratados de romero y melisa) en los preparados de carne picada sobre las características físico-químicas en comparación con los aditivos comerciales sintéticos habitualmente utilizados.

3. Estudiar la eficacia antioxidante de estos extractos naturales con respecto a los aditivos comerciales en los preparados de carne picada envasada en atmósferas modificadas y conservadas en refrigeración durante 10 días.

CAPITULO IV
MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1.MATERIAL

4.1.1. Reactivos

Los productos químicos empleados en el desarrollo de la parte experimental de este estudio fueron suministrados por las firmas comerciales PANREAC (Barcelona, España), SIGMA ALDRICH (St. Louis, MO, EEUU) y SHARLAU (Barcelona, España); en todos los casos fueron al menos de calidad reactivo para análisis.

Los disolventes usados en el análisis cromatográfico fueron de calidad HPLC y suministrados por SHARLAU.

Los patrones de los ácidos grasos utilizados fueron suministrados por SIGMA ALDRICH.

Los gases empleados en la cromatografía gaseosa y en la evaporación de los disolventes procedían de la firma comercial LINDE S.L. (Barcelona, España).

Los extractos naturales utilizados como antioxidantes fueron proporcionados por "Nutrafur-Furfural Español S.A." (Murcia, España).

El aditivo *burger meat* utilizado fue proporcionado por "Sta. Catalina del Monte, Preparados para Industrias Cárnicas" (Murcia, España).

4.1.2. Equipos utilizados

Para la elaboración de la carne picada se utilizó una picadora de la marca RAMON, utilizando una placa de corte de tamaño 2 mm. Para el pesado de la carne picada en cada bandeja de envasado se utilizó una balanza de plataforma de la marca KERN.

Una vez dosificadas las bandejas con el peso adecuado de carne picada, se envasaron en una envasadora de campana de la marca EGARVAC (modelo Basic) y una termoselladora SMART 500 (ULMA PACKAGING).

Tras ser envasadas, las muestras se almacenaron en refrigeración a 4ºC en una de las cámaras de refrigeración situadas en el Instituto de Investigación de Recursos Agrarios (INURA) situado en el Campus Universitario hasta su posterior análisis.

Para medir el color de las hamburguesas en el momento de su elaboración y tras los periodos de almacenado se utilizó un colorímetro KONICA MINOLTA CM-600D.

El pH de las muestras se determinó mediante un pH-metro de punción de la marca CRISON, modelo PH 25+.

Tras el periodo de conservación en refrigeración de la carne fresca, y hasta el momento de su análisis, las muestras fueron almacenadas a -86ºC en un congelador de la marca FORMA SCIENTIFIC, Mod. 917.

Las muestras fueron picadas y homogeneizadas mediante un homogeneizador de cuchillas SORVAL OMNIMIXER, Mod. 17106.

Las muestras se mezclaron con los reactivos en agitatubos HEIDOLPH, Mod. Reax-top.

Las pesadas de precisión se realizaron en una balanza analítica METTLER TOLEDO, Mod. AB54-S (precisión de ± 0,0001 g.), mientras que para las pesadas rutinarias se utilizó una balanza analítica METTLER TOLEDO, Mod. B-2002S (precisión de ± 0,01 g.).

Para la desecación de las muestras, así como para la metilación de ácidos grasos, se empleó una estufa SELECTA, Mod. CONTERM 80L.

Para la incineración de la muestras en el análisis de cenizas se utilizó un horno mufla Nabertherm, Mod. L3.

Las centrifugaciones fueron realizadas en una centrífuga refrigerada EPPENDORF, Mod. Centrifuge 5810-R.

Para la eliminación de disolventes orgánicos se utilizó un rotavapor HEIDOLPH, Mod. Laborota 4000 conectado a una bomba de vacío DINKO, Mod. D-95. Caracterización físico-química de cacao CCN51 (Theobroma cacao L.) sometido a diferentes técnicas de fermentación.

La medida de la absorbancia en la determinación del contenido en malondialdehído se realizó con un espectrofotómetro UV-1800 de la casa comercial SHIMADZU. El espectrofotómetro utilizado en la medida de absorbancia en la determinación de oxidación proteica fue de la marca THERMO SPECTRONIC-BIOMATE 3.

Para el análisis de ácidos grasos se utilizó un cromatógrafo de gases HEWLETT PACKARD HP 4890 Series II equipado con un inyector Split/Splitless y con un detector de ionización de llama (FID). Toda la información fue recogida mediante sistema informatizado a través del programa de HEWLETT PACKARD ChemStation versión A.06.04. La columna de cromatografía usada para la separación de ácidos grasos fue una columna semicapilar HEWLETT PACKARD (30 m x 0,53 mm x 1,0 μm) con fase estacionaria polar (FFAP:Polietilenglicol-TPA modificado).

4.1.3. Muestras de carne picada

Para la elaboración de la carne picada objeto de este estudio se utilizaron las piezas comerciales conocidas como *Aguja* y *Morrillo* (FIGURA 4.1).

La aguja es una pieza cárnica localizada en el tercio anterior, entre las cinco primeras vértebras dorsales, y está integrada por la musculatura de las regiones interescapular dorsal y lateral del cuello. Es una pieza cárnica que corresponde a la categoría Primera B.

Por su parte, el morrillo corresponde a los músculos de la unión del cuello y del pecho en su porción posterior (músculo romboides), y corresponde a la categoría Tercera.

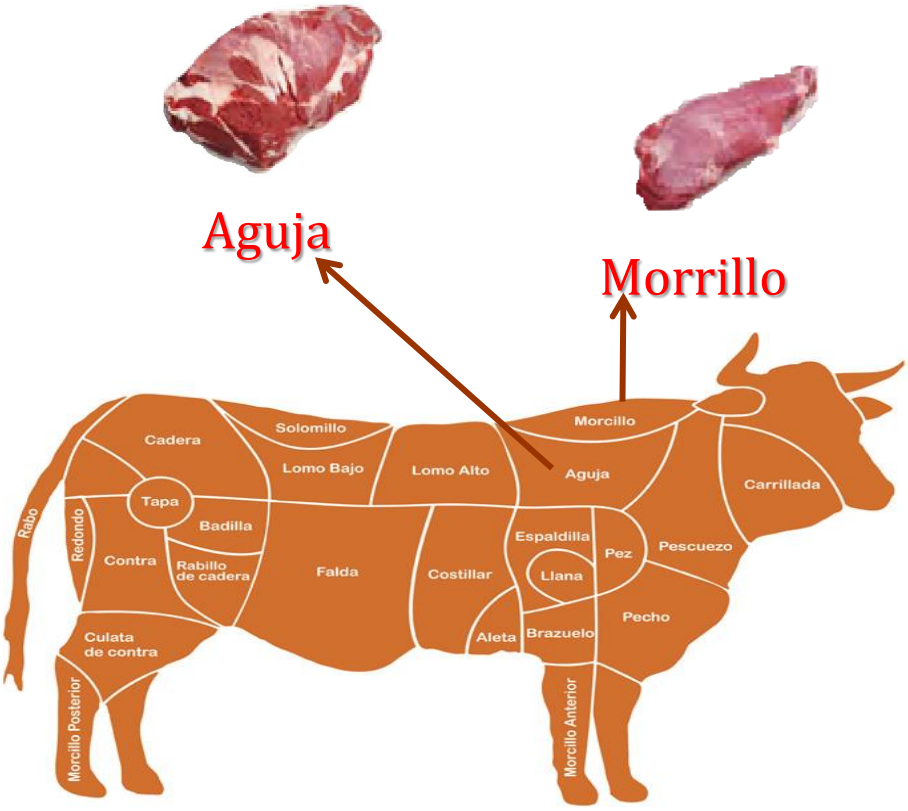

FIGURA 4.1. Localización en el animal de las piezas cárnicas aguja y morrillo

Todas las piezas utilizadas provenían de animales de tipo añojo (animales con edad comprendida entre los 12 y los 24 meses). Las canales seleccionadas pertenecen a la raza bovina autóctona del centro de la Península Ibérica Avileña-Negra Ibérica, amparada por la Indicación Geográfica Protegida "Ternera de Ávila" (FIGURA 4.2).

FIGURA 4.2. Logotipo de la IGP Ternera de Ávila

Todas las piezas cárnicas fueron proporcionadas por la Comercializadora de vacuno selecto Avileño-Negro Ibérico, S. Coop., situada en Ávila. Tras el sacrificio de los animales, pasado

el tiempo de maduración de la carne, se procedió al despiece de la canal, el envasado al vacío de las diferentes piezas cárnicas y su congelación a -20ºC. Las piezas cárnicas congeladas fueron trasladadas hasta las instalaciones del Instituto Universitario de Investigación de Recursos Agrarios (INURA) de Badajoz, donde fueron conservadas a -20ºC hasta el momento de su uso. Para la elaboración de la carne picada se utilizaron cantidades iguales de aguja y de morrillo.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Diseño experimental.

Se realizaron tres lotes experimentales de muestras de carne picada envasada en atmósferas protectoras según se describe en la TABLA 1: un lote control al que no se le añadió ningún extracto ni hortalizas (CNEG); un lote denominado positivo al que se le adicionó un 6% del preparado comercial *burger meat* (CPOS); y otro lote con adición de 1000 mg/Kg de cada uno de los extractos de romero y melisa objeto de estudio (ROM). De cada uno de los lotes se elaboraron un total de 32 bandejas de carne picada (n=96).

TABLA 4.1.Formulación de los preparados de carne picada en los diferentes lotes estudiados

Lote	**Composición (g)**					
	Carne picada	**Agua (hielo)**	**Hortalizas***	**Aditivos**		
				Burger meat	Romero	Melisa
CNEG	1000	100	40	-	-	-
CPOS	1000	100	-	60	-	-
ROM	1000	100	40	-	1	1

*Harinas de arroz y maíz deshidratadas.

La carne picada de cada uno de los lotes en estudio se envasó en barquetas de polipropileno (130x160x50 mm3, SARABIA PLASTICS, Alicante). En cada bandeja se envasaron 200g de carne picada.

Las barquetas se sellaron con una película de poliéstermetilcelulosa PLPMC (WIPACK, Hamburgo, Alemania) con una permeabilidad al oxígeno de 114 $cm^3/cm^2/24h$. Para introducir la mezcla de gases en los envases se utilizó el equipo de envasado SMART500, ULMA PACKAGING (Sevilla, España). La mezcla de gases consistía en un 70% de O_2 y un 30% de CO_2. Las bandejas se almacenaron a 4ºC y en condiciones de iluminación artificial de la

cámara de refrigeración. Posteriormente, para el análisis de la evolución de los distintos parámetros, se tomaron muestras de cada lote el mismo día del picado (día 0) y tras 3, 7 y 10 días de almacenamiento en refrigeración.

4.2.2. Determinación del pH

Para medir el PH de las muestras se utilizó un pH-metro con electrodo de punción específico para productos cárnicos. El pH se determinó sobre las partes magras del musculo, ya que la grasa tiene un PH distinto al de la carne y podría derivar en resultados erróneos, análogamente ocurre con el tejido conectivo y la sangre. Tanto en el músculo como en la carne picada se llevaron a cabo dos medidas por muestra.

4.2.3. Determinación instrumental del color de la carne picada

La medida del color se llevó a cabo sobre la superficie tanto de los músculos analizados como de la carne picada después de la apertura de los envases, para evitar posibles degradaciones, según las recomendaciones de determinación del color de la *American Meat Science Association* (AMSA, 2012).

Se realizaron tres medidas en diferentes áreas de la superficie de la carne picada, determinándose los parámetros L* (luminosidad), a* (coordenada rojo/verde) y b* (coordenada amarillo/azul). A partir de estas queda representado el espacio CIELAB de las muestras. Se utilizó un iluminante D65 y un ángulo de visión de 0º. Antes de su uso, el colorímetro fue estandarizado usando una placa blanca (mod. CR-A43).

4.2.4. Determinación del contenido en humedad

La determinación del contenido en humedad se utilizó el método descrito por la AOAC (2000). Se tomaron crisoles de cerámica y fueron secados previamente en estufa a 100°C durante 30 minutos y pesados en una balanza de precisión tras el secado de los mismos a temperatura ambiente en un desecador (PC). Posteriormente se tomaron 3 g de muestra de carne picada (PM) y se pesaron en el crisol. Las muestras en los crisoles se dejaron en estufa

durante 24 h a 103°C hasta obtener peso constante (PS).El contenido en humedad fue calculado por diferencia de pesada entre el peso de muestra seca y el peso de muestra húmeda. Los resultados fueron expresados en porcentaje con respecto a la cantidad inicial de muestra de carne picada:

$$.\%\ Humedad\ = 100 - \left(\frac{PS-PC}{PM}\right) \times 100$$

4.2.5. Determinación del contenido en cenizas.

La determinación de cenizas se llevó a cabo mediante gravimetría tras la destrucción de la materia orgánica a una temperatura de 550°C (AOAC, 2000). Se partió de la muestra deshidratada previamente en el análisis de humedad, la cual fue incinerada en horno Mufla durante 10 horas.

El contenido de cenizas se calculó por diferencia de pesadas, siendo los resultados expresados en porcentaje.

$$\%\ Cenizas\ = 100 - \left(\frac{PS - PC}{PM}\right) \times 100$$

4.2.6. Extracción y cuantificación de la grasa.

Para la extracción de la grasa se usó el método Bligh y Dyer (1959). Diez g de muestra fueron homogeneizados junto con 30mL de una mezcla de cloroformo:metanol 1:2, después se centrifugaron y se recogió el sobrenadante. Se repitió el proceso de nuevo, en esta ocasión únicamente se añadió 10mL de cloroformo y se volvió a recoger el sobrenadante, uniéndolo con el anterior. Por último, se evapora el cloroformo en el rotavapor hasta que quede únicamente la grasa.

El contenido en grasa se expresó en forma de porcentaje.

4.2.7. Análisis del perfil de ácidos grasos

4.2.7.1. Metilación de ácidos grasos (Ácidos grasos totales)

Para el análisis de los ácidos grasos de las diferentes fracciones de grasa es necesaria su derivatización de los correspondientes ésteres metílicos. Para ello, se utilizaron 50 mg de grasa, que se hicieron reaccionar con 1mL de metilato sódico (0,5% de sodio metálico en metanol anhidro). La mezcla se mantuvo en la estufa durante 30 minutos a 80°C. Los tubos se agitaron cada 15 minutos. Transcurrido este tiempo se añadió 1mL de sulfúrico en metanol (5% de ácido sulfúrico) a cada tubo y, de nuevo fueron llevado a la estufa a 80°C durante 30 minutos. Transcurrida la media hora y tras enfriarse los tubos, se les añadió 3mL de hexano y 1mL de una disolución sobresaturada de cloruro sódico. Las muestras fueron agitadas en un agitatubos durante 1 minuto, seguido de un tiempo de reposo para asegurar la separación entre la fase acuosa y etérea. Se recogió la fase etérea superior, que contenía ésteres metílicos y fue dispuesta en viales con cierre de aluminio que se utilizaron para el análisis cromatográfico

4.2.7.2. Separación e identificación de los ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa

Se utilizó un cromatógrafo de gases HEWLETT PACKARD HP 4890 Series II equipado con un inyector Split/Splitless y con un detector de ionización de llama (FID). Toda la información fue recogida mediante sistema informatizado a través del programa de HEWLETT PACKARD ChemStation versión A.06.04. La columna de cromatografía usada para la reparación de ácidos grasos fue una semicapilar HEWLETT PACKARD (30(ESPACOm x 0,53mm x 1,0µm) con fase estacionaria polar (FFAP:Polietilenglicol-TPA modificado) y un inyector automático 7683B Series Agilent Technologies.

La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación de los tiempos de retención de los ésteres metílicos con patrones sometidos a las mismas condiciones de ensayo que las muestras y se trabajó con las siguientes condiciones cromatográficas:

-Flujo de gas portador (N2) 1,8mL/min.

-Volumen de inyección: 1µL

-Temperatura del horno (isotermo) 200º C

-Temperatura del inyector. 250º C

-Temperatura del detector 250º C

-Relación de split: 1:50

4.2.8. Oxidación lipídica.

La determinación de la oxidación lipídica se llevó a cabo mediante la técnica del análisis de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico o TBARs (Sorensen y Jorgensen, 1996). Este proceso se basa en la capacidad de reacción de productos secundarios de la oxidación, en este caso aldehídos, con este ácido. El TBA forma un complejo con el malonaldehído visible a 540nm por espectrofotometría, por lo que mediante esta prueba seremos capaces de determinar la concentración de estos productos secundarios en nuestra muestra, y por consiguiente podremos saber qué grado de oxidación presentan.

Se pesaron 2g de cada muestra triturada en tubos de centrífuga con ayuda de una balanza de precisión. Añadimos a cada tubo con muestra 9mL de TCA, solución elaborada a razón de 0,1% de propilgalato (PG), 0,1% de ácido etilendiaminatetraacético (EDTA) y 7,5% de ácido tricloroacético (TCA), con agua MilliQ y en campana extractora. La mezcla se homigenizó manteniendo unas condiciones de frío con ayuda del homogeneizador OMNI MIXER a unas 5000 rpm durante 45 segundos. Los tubos fueron centrifugados durante 35 minutos a 12000 rpm y 2ºC. Del sobrenadante resultante se llevaron 3mL a tubos de rosca de vidrio, a los cuales se añadieron 3mL de una solución de TBA 0,02M elaborada en el momento de cada análisis. Se agitaron las muestras en un agitatubos y se calentaron en un baño con agua hirviendo a 100ºC durante 40 minutos, colocando los tubos de manera que el calor fluya por ellos de manera homogénea. Una vez transcurrido este tiempo se dejaron enfriar las muestras en hielo y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 532nm y 600nm, este último para corregir la turbidez. Con el dato de absorbancia de cada muestra y a partir de la ecuación de la recta patrón elaborada previamente con concentraciones conocidas de malonaldehído (MDA), se calcularon los mg de MDA de las muestras por cada kg de carne.

4.2.9. Análisis estadístico

Los resultados del análisis estadístico se expresaron como media ± error estándar de la media para los lotes del estudio. Los datos obtenidos se analizaron utilizando el análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) mediante el programa SPSS, v.22.0, 2013 (SPSS Institute Inc., Cary, NC) con el fin de evaluar el efecto de la adición de extractos a la carne picada y el efecto del almacenamiento en condiciones de refrigeración de las muestras. En los casos en los que el efecto de algunas de estas variables independientes fue significativo, las medias se compararon mediante prueba de Tukey ($p<0,05$).

CAPITULO V

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA GENERAL DE LAS PIEZAS CÁRNICAS: AGUJA Y MORRILLO

El contenido en humedad de los músculos correspondientes a las piezas cárnicas estudiadas, aguja y morrillo, varía entre 72,9-74,3% (TABLA 5.1), no observándose diferencias significativas (P>0,05) entre estas dos piezas cárnicas en este parámetro. Estos valores están en consonancia con los aportados por otros autores en carne de ternera (Valero y col., 2017).

TABLA 5.1. Composición general de los músculos, aguja y morrillo

	Aguja	Morrillo	P
Humedad	72,97±2,79	74,31±1,62	ns
Cenizas	1,00±0,06	1,16±0,48	ns
Proteínas	21,12±1,01	21,78±1,15	ns
Grasa	4,90±2,03	3,49±1,53	*

Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001

En cuanto al contenido en cenizas, los valores están comprendidos entre 1,00 y 1,16%, estando en conformidad con los aportados por otros autores (Lindon y col., 2011). Como puede observarse en la TABLA 5.1, no existen diferencias significativas entre el músculo aguja y morrillo para esta determinación.

De la misma manera, los resultados sobre proteínas para ambos músculos, tampoco son diferentes estadísticamente, estando el rango de valores, 21,12 - 21,78%, en consonancia con los presentados por otros autores (Varela y col., 2001).

Con respecto a la grasa intramuscular el rango de valores es mayor, 3,49 – 4,9%; estas piezas cárnicas están lejos en cuanto al contenido lipídico de otras como la falda y el lomo, que pueden tener niveles de grasa intramuscular de hasta 8,8-17,2%, mientras que otras como la tapilla pueden tener contenidos de tan sólo el 2,0-3,2% (Valero y col., 2017). El contenido en grasa intramuscular, junto con la capacidad de retención de agua, desempeñan un papel fundamental en la jugosidad de la carne, siendo uno de los atributos sensoriales que más va a influir en la aceptabilidad general de la carne por parte del consumidor (Plaza, 2011). El contenido en grasa intramuscular resultó ser más elevado (P<0,05) en la aguja que en el morrillo.

La TABLA 5.2, nos muestra los valores de pH medidos en los músculos aguja y morrillo, estando comprendido entre 5,64 y 5,74, en consonancia con lo establecido por otros autores en músculo de ternera (Moreno y col., 1998).

TABLA 5.2. pH y color de las piezas cárnicas estudiadas, aguja y morrillo

		Aguja	Morrillo	P
pH		5,74±0,33	5,64±0,21	Ns
	L*	32,13±2,66	32,66±2,39	Ns
Color	**a***	20,19±2,91	18,85±1,45	Ns
	b*	21,92±5,12	21,49±1,59	Ns

Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001

El pH indica el momento óptimo para que se desarrolle correctamente el proceso de maduración de la carne, tras el rigor mortis. Durante este, en el músculo se produce una serie de cambios metabólicos y estructurales, entre los que destaca el incremento de ácido láctico y la calcificación de las células, registrado por una bajada de pH , este periodo dura 24 horas (Sierra y col., 2010).

Un valor de pH aceptable para dar comienzo la maduración es el que se encuentra entre 5 y 6 (Illescas., 2009). Cuando este es superior a 6, indica una de las anomalías más frecuentes en la carne de vacuno, las denominadas “carnes DFD”, oscuras, secas y firmes, que son producto, principalmente, del estrés antes de la muerte (Pérez., 2007).

Así, el pH constituye un indicador importante de la calidad final de la carne porque está relacionado con todos los parámetros tecnológicos y sensoriales que afectan al producto durante su vida útil (Mauro., 2016)

Tanto el pH, como el color, no son diferentes significativamente entre los músculos aguja y morrillo (P>0,05). Para este último, los valores están comprendidos entre 32,13-32,66 para “L*” que indica luminosidad, a medida que se incrementa el contenido en mioglobina, este disminuye (Illescas., 2009), entre 20,19-18,85 para “a*” que representa las coordenadas rojo/verde (+a* indica rojo, -a indica verde) y entre 21,92-21,49 para “b*”, coordenadas amarillo/azul (+b indica amarillo, -b indica azul). Este parámetro a* o intensidad del color rojo cobra gran importancia, ya que existe un número elevado de estudios que afirman que la carne de color rojo brillante es más apreciada por el consumidor (Renerre y Mazuel, 1985; Johansson, 1989).

El descenso del índice rojo (a*) es debido a la oxidación de la mioglobina (Hernández y col., 1999) y hace que el color de esa carne deje de ser atractivo para el comprador (Moore y col., 1991).

Una de las principales razones de la importancia del color en la carne es, como afirman algunos autores, cómo este determina las preferencias del consumidor (Pearson., 1966).

Algunos autores también relacionan la coloración al sabor de la carne, considerando la carne muy pálida, insípida, y la muy oscura demasiado sápida (Carballo y López de Torre, 1991).

La TABLA 5.3 muestra la cantidad, en porcentaje, de cada ácido graso en los músculos aguja y morrillo. El ácido graso mayoritario es el ácido oleico (C18:1 n9), presente en un 35,52-35,87%, en segundo lugar, el ácido palmítico (C16:0), en cantidades entre 24,59-25,61%, en tercer lugar, el ácido esteárico (C18:0), que varía entre 18,81-21,44% y por último, el ácido linoleico (C18:2 n-6), que varía entre 7,08-8,27%. Estos datos están en consonancia con los aportados por otros autores (Soján y col., 1999; Insausti y col., 2004)

El porcentaje de ácidos grasos saturados (AGS) totales varía entre 48,71-50,35%, los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) totales, entre 40,92-41,03% y los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), entre 8,62-10,38%. La distribución de la composición de estos músculos en los tres grandes grupos de ácidos grasos, coincide con los datos ofrecidos por otros autores (Rubio, 2004; Wood y col., 2008; Indurain y col., 2010)

En este sentido, si comparamos la carne de ternera con otras carnes, como la de conejo o la de cerdo, es la carne de ternera la que tiene mayor porcentaje de AGS y la de conejo la que menos (con un 33,43%), mientras que la de cerdo es la que posee más AGMI , sobre un 46,55%, siendo a su vez la carne de conejo la que presenta los mayores niveles de AGPI, alrededor de 21,79%, muy superiores a los contenidos de estos ácidos grasos en la carne de ternera (TABLA 5.3).

TABLA 5.3. Composición en ácidos grasos de las piezas cárnicas estudiadas: aguja y morrillo

Ácidos grasos	Aguja	Morrillo	P
C14:0	2,39±0,28	2,29±0,41	Ns
C15:0	0,54±0,10	0,64±0,24	Ns
C16:0	24,59±1,29	25,61±2,10	Ns
C16:1	2,43±0,42	2,81±0,68	Ns
C17:0	1,25±0,12	1,20±0,18	Ns
C17:1	0,66±0,13	0,67±0,17	Ns
C18:0	21,44±3,06a	18,81±2,62b	*
C18:1 n-9	35,87±3,54	35,52±3,36	Ns
C18:1 n-7	1,80±0,24	1,84±0,18	Ns
C18:2 n-6	7,08±2,58	8,27±3,17	Ns
C18:3 n-3	0,25±0,03	0,23±0,05	Ns
C20:0	0,15±0,04	0,16±0,04	Ns
C20:1	0,27±0,05	0,27±0,09	Ns
C20:2	0,06±0,02a	0,09±0,02b	**
C20:4 n-6	1,23±0,64	1,77±0,93	Ns
C20:3 n-6	0,01±0,01	0,02±0,02	Ns
AGS	50,35±3,89	48,71±3,10	Ns
AGMI	41,03±3,99	40,92±4,14	Ns
AGPI	8,62±3,23	10,38±4,13	Ns

Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001

Por lo que refiere a la cantidad de los distintos ácidos grasos presentes en los músculos aguja y morrillo, no existen diferencias significativas en la composición de la mayoría de los ácidos grasos entre estos músculos (P>0,05), a excepción del ácido esteárico (C18:0), que está significativamente más presente en el músculo aguja, y el ácido eicosadienoico (C20:2) que en contraposición con el anteriormente nombrado existe en mayor cantidad en el músculo morrillo.

5.2.EFECTO DE LA ADICIÓN DE DIFERENTES ADITIVOS A LA CARNE PICADA

5.2.1. Evolución de la composición general de la carne picada durante el almacenamiento

En la TABLA 5.4 se muestra la evolución del porcentaje de humedad, cenizas, grasa intramuscular y proteínas de las muestras de carne picada en los tres lotes estudiados (CNEG,

ROM y CPOS) durante 10 días de almacenamiento en refrigeración a 4±1ºC. Los valores presentados corresponden a las medias ± desviación típica de la media.

TABLA 5.4. Evolución del porcentaje de humedad, cenizas, grasa intramuscular y proteínas de las muestras (media ± desviación típica de la media) de carne picada de los distintos lotes estudiados, almacenadas durante 10 días en refrigeración a 4±1ºC.

Día	Lote	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteínas
	CNEG♣	72,90±1,62	0,83±0,03b	5,52±0,21	17,90±0,65a[1]
0	**CPOS**	74,29±0,28	2,18±0,46ª	5,56±0,48[1]	16,40±0,38b[1]
	ROM	74,26±0,88	0,83±0,02b	5,02±0,87	17,53±0,77ª
	P	ns	***	ns	***
	CNEG	74,65±1,35	0,83±0,03b	5,78±0,72	17,50±0,7a[2]
3	**CPOS**	73,36±1,27	2,33±0,27ª	6,19±0,73[1]	16,12±0,14b[12]
	ROM	74,98±1,47	0,83±0,1b	6,10±1,14	18,34±1,13ª
	P	ns	***	ns	***
	CNEG	75,53±2,50	0,83±0,22b	5,04±0,36a	17,62±1,36b[1]
7	**CPOS**	73,88±0,78	2,25±0,72a	3,67±0,97b[2]	15,47±0,51c[2]
	ROM	74,96±1,50	0,87±0,98b	4,94±0,93a	18,87±0,48a
	P	ns	***	*	***
	CNEG	75,37±2,26	0,82±0,26b	4,99±1,29	17,16±0,40b[2]
10	**CPOS**	74,00±0,51	2,12±0,20ª	5,01±0,95[1]	16,03±0,65c[12]
	ROM	74,36±1,94	0,87±0,10b	4,26±1,89	18,59±1,19a
	P	ns	***	ns	***

♣CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat*.
Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001; a, b, c: Diferentes letras indican diferencias significativas entre lotes dentro del mismo día, test de Tukey (P<0,05); 1, 2, 3: Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre tiempo de almacenamiento para un mismo lote, test de Tukey (P<0,05).

En la TABLA 5.5 se muestra el nivel de significación del efecto del tiempo de conservación de las bandejas de carne picada (0, 3, 7 y 10 días) en refrigeración a 4±1ºC, sobre el contenido en humedad, cenizas, grasa intramuscular y proteínas de las muestras de carne picada de los tres lotes estudiados (CNEG, ROM y CPOS).

TABLA 5.5. Niveles de significación del efecto del tiempo de almacenamiento (0, 3, 7 y 10 días) sobre la composición general de la carne picada en los distintos lotes.

Lote	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteínas
CNEG♣	ns	ns	ns	***
CPOS	ns	ns	***	*
ROM	ns	ns	ns	ns

♣CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat*.
Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001

La capacidad de retención de agua es un parámetro físico-químico importante por su contribución a la calidad de la carne (WIERBICKI y col., 1957) y la de sus productos derivados. La CRA de la carne está relacionada con la textura, terneza y color de la carne cruda y jugosidad y firmeza de la carne cocinada.

En nuestro estudio, el contenido en humedad de todas las muestras varió entre un 72,90-75,53% (TABLA 5.4). El efecto de la adición de extractos sobre el contenido en humedad de las muestras de carne no resultó estadísticamente significativo durante todo el almacenamiento (P>0,05).

En cuanto al efecto del tiempo de almacenamiento de las muestras en refrigeración, la humedad se mantuvo constante a lo largo de todo el almacenamiento (P>0,05) en los tres lotes estudiados, como se puede observar en la TABLA 5.5.

Aunque los valores de humedad del lote al que se adicionó extracto de romero y melisa (en adelante lote ROM) mostraron una tendencia descendente en cuanto al contenido de agua, sin embargo, no llegó a alcanzar valores de significación estadística (P>0,05).Algunos estudios sugieren que la incorporación de extractos con capacidad higroscópica sobre preparados cárnicos, puede tener un efecto de mantenimiento de la capacidad de retención de agua, permitiendo mantener constante la humedad del producto durante el periodo de almacenamiento en conservación en refrigeración (Fernández-López y col., 2005; Andrés y col., 2017).

Las pérdidas de peso durante el almacenamiento es un problema económico para el comercializador de carne cruda y derivados cárnicos frescos debido a las pérdidas de peso que se producen en el corte, generando acumulación y presencia de líquido alrededor de la carne cruda, provocando reducción en la aceptabilidad y rechazo por parte de los consumidores (Roseiro y col., 1994); y por otro lado, es también un problema para el sector transformador, debido a que la exudación contribuye a la pérdida de algunos nutrientes, como proteínas, lo que puede disminuir ostensiblemente el rendimiento durante el proceso de fabricación de derivados cárnicos (Eguinoa y col., 2006). Por tanto, es de suma importancia reducir dichas pérdidas para la industria cárnica.

En cuanto al contenido de cenizas de la carne picada, el efecto de la adición de aditivos resultó estadísticamente significativo durante todo el almacenamiento (P<0,05), siendo el lote

control positivo (en adelante CPOS) el que presentó los mayores valores de cenizas a lo largo de todo el tiempo de conservación en refrigeración, lo cual puede estar relacionado con la presencia de sales sódicas y potásicas en la mezcla del aditivo *burger meat*.

Sin embargo, el contenido en cenizas de ninguno de los tres lotes se vio afectado por el efecto del tiempo de almacenamiento (P>0,05), permaneciendo constante durante los 10 días (TABLA 5.5).

Con respecto al contenido en grasa, en nuestro estudio el rango de valores de este parámetro varía entre 3,67-6,19%. En este sentido, el valor medio establecido por el Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente para la carne de ternera es de un 5,4%, por lo que nuestros datos están en consonancia con lo establecido anteriormente.

El efecto de la adición de diferentes aditivos a la carne picada no ha presentado diferencias significativas (P>0,05) en el contenido de grasa intramuscular.

Sánchez y col., (2001) indican que para el consumidor español, el color, la dureza y el contenido de grasa son importantes para el consumidor final en el momento de la compra, por ello es esencial la conservación adecuada de esta para su comercialización.

En nuestro trabajo, el efecto del tiempo de almacenamiento de las muestras en refrigeración no resultó significativo sobre el contenido en grasa de las muestras de carne picada (P>0,05) en los lotes CNEG y ROM, como se puede observar en la TABLA 5.5. Sin embargo, en el caso del lote CPOS, sí que hubo una disminución significativa de este valor (TABLA 5.5), en origen, la carne tenía un contenido en grasa de 5,56, descendiendo, hasta llegar a 5,01, en el día 10 de almacenamiento. Si bien, el menor nivel se observó en el día 7 de almacenamiento, lo cual resulta difícil de explicar.

Se puede concluir, por lo tanto, que el contenido en grasa de los distintos lotes estudiados es independiente del efecto de los aditivos incorporados a la carne picada.

Por último, y siguiendo con el análisis composicional de la carne picada, se observa que el contenido en proteínas de la misma varía entre 15,47-18,87%.Como se puede observar en la TABLA 5.4, el contenido en proteínas es muy distinto (P<0,05) entre los tres lotes estudiados, siendo el lote CPOS el que presenta los valores más bajos de la misma. Esto puede estar relacionado con la relación inversa que existe entre el contenido en proteínas y grasa en la

carne (Valero., 2017), ya que este lote presentó mayor cantidad de grasa que los demás, aunque, no resultó estadísticamente significativo (P>0,05) .

Se han realizado gran cantidad de estudios en los que se ha estudiado la relación existente entre la oxidación lipídica y la de la mioglobina, las proteínas en el sistema biomembranar se hallan en una estrecha proximidad con los ácidos grasos poli-insaturados. Estas proteínas de la membrana pueden sufrir fácilmente daños causados por la oxidación lipídica (Greene., 1971; Faustman y col., 1989; Yin y Faustman., 1994).

En cuanto al efecto del tiempo de almacenamiento, el lote CPOS Y ROM han experimentado una tendencia descendente ligera muy similar, aunque esta, en el caso de CPOS fue significativa (P<0,05), no así en el lote ROM (P>0,05).

El lote CNEG experimentó una degradación de las proteínas mayor, quedando reflejado en la TABLA 5.5 (el nivel de significancia fue muy superior, P<0,001), dado que en el día 0, el contenido en proteínas fue de 17,90%, reduciéndose progresivamente con el paso de los días, hasta 17,165, valores que se obtuvieron para el día 10 de almacenamiento.

Se puede observar que el uso de aditivos, tanto sintéticos como naturales, ralentizan la degradación de las proteínas. Estos resultados están en consonancia con los aportados por otros autores que estudian el efecto de algunos aditivos sobre la degradación proteica durante la conservación de la carne (Armenteros., 2012).

5.2.2. Evolución del pH, color y oxidación de las grasas en la carne picada durante el almacenamiento

En la TABLA 5.6 se muestra la evolución de los valores de los diferentes parámetros del espacio CIELAB (L*, a*, b*), pH y oxidación (mg MDA / Kg carne), referidos a cada lote de carne picada estudiado, almacenadas durante 10 días en refrigeración a 4±1ºC.

TABLA 5.6. Evolución del color medido instrumentalmente (L*, a* y b*), pH y oxidación lipídica (mg MDA / Kg carne) (medias ± desviación típica) de las muestras de carne picada de los distintos lotes planteados, almacenadas durante 10 días en refrigeración a 4±1ºC.

Día	Lote	pH	L*	a*	b*	mg MDA / Kg carne
	CNEG♣	5,68±0,18[1]	48,33±1,24a[2]	23,98±1,10a[1]	22,86±0,47a[1]	0,76±0,07a[4]
0	**CPOS**	5,85±0,24	47,65±1,29a	23,18±0,67b	20,03±1,33b	0,27±0,04b[3]
	ROM	5,64±0,07[1]	45,06±1,49b[1]	23,39±1,38a[1]	22,43±0,43a[1]	0,23±0,09b
	P	ns	**	*	***	***
	CNEG	5,57±0,05b[1]	48,43±2,37a[2]	19,65±1,47b[2]	21,69±0,14b[1]	3,33±0,13a[3]
3	**CPOS**	5,70±0,57a	42,12±1,68b	23,42±2,43a	20,90±1,20b	0,97±0,27b[1]
	ROM	5,61±0,02b[1]	47,06±1,35a[1]	20,02±0,31b[2]	23,25±0,53a[1]	0,47±0,34b
	P	**	***	**	***	***
	CNEG	5,03±0,39b[2]	49,83±2,10a[2]	6,96±0,76c[3]	18,35±1,36b[2]	5,13±0,20a[2]
7	**CPOS**	5,59±0,23a	43,33±1,74b	21,42±1,95a	22,22±2,06a	0,62±0,17b[2]
	ROM	5,23±0,45ab[2]	50,30±1,67a[2]	11,09±1,84b[3]	19,56±0,92b[2]	0,28±0,80c
	P	ns	***	***	**	***
	CNEG	5,01±0,24b[2]	54,25±2,01a[1]	5,28±0,40c[4]	18,03±2,11b[2]	6,45±0,58a[1]
10	**CPOS**	5,70±0,23a	45,32±4,88b	21,16±2,44a	20,84±1,86a	0,76±0,19b[12]
	ROM	5,13±0,33b[12]	47,55±1,93b[1]	8,59±0,98b[4]	18,51±0,15b[3]	0,53±0,31b
	P	**	**	***	*	***

♣ CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat.*
Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001; a, b, c: Diferentes letras indican diferencias significativas entre lotes dentro del mismo día, test de Tukey (P<0,05); 1, 2, 3: Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre tiempo de almacenamiento para un mismo lote, test de Tukey (P<0,05).

En la TABLA 5.7 se muestra el nivel de significación del efecto del tiempo de almacenamiento (0, 3, 7 y 10 días) en refrigeración a 4±1ºC, sobre el color, pH y oxidación lipídica de las muestras de carne picada de los tres lotes estudiados (CNEG, ROM y CPOS).

El pH de la carne picada osciló entre valores de 5,01 y 5,85. En términos generales, se apreció una bajada de pH en los tres lotes estudiados a medida que avanzó el tiempo de conservación de las muestras en refrigeración, fundamentalmente a partir del día 3 (TABLA 5.6).

TABLA 5.7. Niveles de significación del efecto del tiempo de almacenamiento (0, 3, 7 y 10 días) sobre el color (L*, a*, b*), pH y oxidación (mg MDA / Kg carne) de la carne picada en los distintos lotes.

Lote	pH	L*	a*	b*	mg MDA / Kg carne
CNEG♣	***	***	***	***	***
CPOS	ns	ns	ns	ns	***
ROM	**	*	***	***	Ns

♣CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat.*
Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001

Respecto al efecto de la incorporación de aditivos sobre el valor de pH de la carne picada, se observó un efecto significativo en los días 3 y 7 de almacenamiento en refrigeración, presentando en ambos días un pH más bajo el lote CNEG (P<0,05), en contraposición con el lote CPOS que fue el que obtuvo valores de pH más elevados (P<0,05). La bibliografía publicada es diversa en este sentido, de forma que algunos estudios indican que la incorporación de extractos naturales en la carne picada no afecta al pH de la misma (Garrido y col., 2011; Andrés y col., 2016; Sirocchi y col., 2017); sin embargo, en otros trabajos se concluye que la adición de extractos de romero y de melisa o extractos de frutas lleva consigo un efecto significativo sobre los derivados cárnicos elaborados (Devatkal y col., 2010; Lara y col., 2011).

Tanto el lote CNEG como el ROM siguen la misma tendencia, en ambos el pH fue disminuyendo progresivamente, alcanzando su valor más bajo el día 10 de almacenamiento (P<0,05). Sin embargo el lote CPOS no presenta diferencias significativas con respecto al paso del tiempo, por lo que podemos decir que el preparado *burger meat* es el más efectivo para la conservación del pH (TABLA 5.7).Algunos estudios atribuyen la disminución del pH a lo largo del tiempo de almacenamiento al crecimiento de bacterias ácido lácticas y en consecuencia a los subproductos de su metabolismo, como amoníaco y varias aminas (Sánchez-Escalante y col., 2008; Sirocchi y col., 2017)

En las atmósferas modificadas que contienen elevadas concentraciones tanto de CO2 como de O2, el crecimiento de Pseudomonas está limitado por el CO2, mientras que las concentraciones elevadas de O2 mantienen el color rojo vivo de la mioglobina oxidada en la carne. Sin embargo, las bacterias acidolácticas heterofermentativas pueden ser más numerosas

debido al efecto estimulante del oxígeno sobre su crecimiento y, en determinadas circunstancias (Rosset, 1982).

En la TABLA 5.6 también queda reflejado la evolución del color de los diferentes lotes de derivados cárnicos estudiados, medido instrumentalmente mediante las coordenadas del espacio de color L*a*b*, también referido como CIELAB, una de las más utilizadas para la expresión de este parámetro. Este espacio de color es ampliamente usado porque correlaciona los valores numéricos de color consistentemente con la percepción visual humana (Konica Minolta, 2006).

El valor L* o luminosidad indica la luz reflejada en la superficie de la muestra al incidir sobre ella un haz de luz emitido por un colorímetro. Los valores a* y b* son las otras dos coordenadas de cromaticidad que corresponden, respectivamente, a la coordenada rojo-verde y a la coordenada amarillo-azul, describiendo la aproximación del color de la muestra a uno u otros colores con valores negativos o positivos (Konica Minolta, 2006).

La evolución del valor L* del lote CPOS con respecto al tiempo de almacenamiento en refrigeración no fue significativa ($P > 0,05$), sin embargo en el caso del lote ROM, sí que es notable un aumento progresivo de este valor ($P < 0,05$) y en mayor medida en el caso del lote CNEG, en el que el valor L* evoluciona desde un 48,33 hasta 54,25 en el día 10. Esto indicaría que la adición de antioxidantes naturales podría tener un efecto protector con respecto a las variaciones de luminosidad, evitando que las muestras adquieran un color más pálido, como ocurre en otros estudios en los que los lotes a los que se añadieron extractos de romero y melisa presentaron los valores más elevados de luminosidad (Lara y col., 2011).

La coordenada cromática a* disminuyó en todos los lotes a lo largo de los 10 días de almacenamiento, lo que indica que la intensidad del color rojo de las muestras se fue reduciendo a lo largo del estudio. No obstante, este descenso fue más acusado en el lote CNEG, seguido del lote ROM y finalmente del lote CPOS. En este último lote, el descenso de la intensidad del color rojo de la carne picada no fue significativo entre los 10 días de almacenamiento en refrigeración. Por lo tanto, se puede decir que la mezcla de aditivos *burger meat* proporcionó una mejor conservación del color rojo inicial de la carne picada durante su conservación en refrigeración, seguido de la mezcla compuesta por extractos de romero y de melisa (ROM), y finalmente, las muestras sin extractos añadidos (CNEG).

Respecto al afecto de la adición de antioxidantes, las diferencias entre los distintos lotes con extractos añadidos fueron significativas a partir del día 3 de almacenamiento. El lote CPOS fue el que presentó mayores valores de a* en los días 3, 7 y 10 (P<0,05). El lote ROM presentó una disminución de la coordenada cromática más lenta que el lote CNEG, alcanzando un valor de a* de 8,59 el décimo día de almacenamiento, mayor que los 5,28 que alcanzó el lote sin aditivos añadidos a los 10 días de almacenamiento en refrigeración, con significación estadística entre los datos (P<0,001). Esto quiere decir que la adición de extracto de romero y melisa tuvo un efecto protector ante la pérdida de color rojo de la carne, pues provocó que la velocidad de degradación de este parámetro fuese más lenta que en el lote en el que no se adicionó el extracto, aunque no llegó a alcanzar la estabilidad en el color rojo que proporciona la mezcla de aditivos *burger meat*, coincidiendo con lo observado en estudios similares (Lara y col., 2011; Andrés y col., 2017).

En cuanto a los valores de b*, los lotes CNEG Y ROM vieron disminuido su valor entre los días 0, 3, 7 y 10 de almacenamiento (P<0,05), sin embargo el lote CPOS no presento diferencias significativas en este parámetro con respecto al tiempo de almacenamiento.

Las diferencias entre lotes para este parámetro fueron muy variables a lo largo del periodo de conservación en refrigeración. Los resultados obtenidos indican por lo tanto, que la adición de extractos en la carne picada no tuvo un efecto claro sobre la variación de este parámetro de color a lo largo de los diez días de conservación de la carne picada en refrigeración. Algunos estudios ponen de manifiesto la ausencia de efecto del tiempo de almacenamiento de la carne sobre el parámetro de color b*, en consonancia, al menos en parte, con los resultados obtenidos en nuestro estudio (Fernández-López y col., 2005).

Finalmente, en relación a la oxidación lipídica analizada sobre las muestras de derivados de carne picada estudiados en este trabajo, se observa (TABLA 5.7) que los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) (mg de malondialdehído MDA / mg de carne) aumentaron de forma significativa durante el periodo de almacenamiento de las carne picada (P<0,001). Esto es debido a que los procesos de oxidación degradan los lípidos de las muestras generando a lo largo del tiempo sustancias secundarias resultantes de esta reacción, lo cual coincide con otros resultados (Fernández-López y col., 2005). Numerosos estudios publicados apuntan en la misma dirección (Estévez y col., 2006; Kim y col., 2010; García-Lomillo y col., 2017).

La adición de antioxidantes, tanto *burger meat* como extractos naturales de romero y melisa, redujo considerablemente los valores de oxidación lipídica en las muestras durante todo el periodo de almacenamiento, siendo el lote ROM el que mejor se ha conservado a lo largo del tiempo de almacenamiento estudiado, ya que no presenta diferencias significativas para este efecto ($P<0,05$). En el caso de CPOS, aunque está lejos de los valores que registró el lote sin aditivos (CNEG) para la oxidación de los lípidos en el décimo día (0,76 frente a 6,45, respectivamente), sí experimentó un aumento significativo en la oxidación lipídica a lo largo de los días ($P<0,05$).

Se puede intuir con esto que el uso de antioxidantes naturales frena la oxidación de lípidos. Andrés y col. (2017), comprobaron que diferentes extractos vegetales procedentes de subproductos industriales incidían sobre la oxidación de lípidos en carne de cordero y ternera, disminuyéndola.

Otros estudios compararon la eficacia del extracto de romero en salchichas de cerdo pre-cocidas y congeladas crudas con antioxidantes sintéticos, obteniendo como resultado, al igual que en nuestro estudio, que el antioxidante natural es más efectivo que el comercial (Sebranek y col., 2005).

5.2.3. Composición en ácidos grasos

Debido a que algunos procedimientos como el picado, cocción y conservación de la carne o sus derivados por medio de la refrigeración y/o congelación rompen la membrana de la célula muscular, facilitando la interacción de los lípidos insaturados con las sustancias pro-oxidantes, acelerando la oxidación de los lípidos y permitiendo el rápido deterioro de la calidad y el desarrollo de la rancidez (Valenzuela., 2006), resulta de gran importancia estudiar la evolución de los distintos ácidos grasos en cada uno de los lotes objeto de estudio a lo largo de los 10 días de conservación de las muestras en refrigeración.

En la TABLA 5.8, se muestra la evolución del contenido en ácidos grasos saturados (expresados en porcentaje con respecto al total de ácidos grasos identificados) de las muestras de carne picada en los tres lotes estudiados (CNEG, ROM y CPOS) durante 10 días de almacenamiento en refrigeración a 4ºC.

En términos generales, no se observa un efecto significativo del tiempo de almacenamiento de las muestras sobre la composición en ácidos grasos saturados, salvo en algunos ácidos grasos minoritarios, como el C14:0 y el C20:0, en el caso del C14:0, únicamente mostró diferencia significativa el lote CNEG ($P<0,001$) y para el carbono C20:0, los tres lotes sufrieron cambios significativos. El contenido total de AGS únicamente se vio afectado por el efecto del tiempo de almacenamiento en el caso del lote CNEG ($P<0,05$) (TABLA 5.9). El efecto de la adición de diferentes aditivos a las muestras de carne picada únicamente mostró diferencias significativas para el contenido total de AGS en los días 0 y 7, siendo en el primer caso, el lote CPOS el que mayor cantidad de AGS contenía (47,75) y en el caso del día 7, el lote ROM, era el que alcanzaba el mayor valor (47,45).

En la TABLA 5.10, se muestra la evolución del contenido en ácidos grasos monoinsaturados de las muestras de carne picada en los tres lotes estudiados (CNEG, ROM y CPOS) durante 10 días de almacenamiento en refrigeración a 4±1ºC. Los valores presentados corresponden a las medias ± desviación típica de la media.

Con respecto a los AGMI, el rango de valores varía entre 44,08-46,84% y no existen diferencias significativas en general en el efecto de la adición de antioxidante, únicamente se muestra en la TABLA 5.10 que el lote CNEG tiene mayor proporción de AGMI que los otros dos lotes ($P>0,01$).

El C18:1 n-9 es el AGMI mayoritario y presenta diferencias significativas con respecto al efecto de los antioxidantes, ya que tanto en el día 3 como en el día 10, el lote CPOS presentó menor cantidad de este ácido graso con respecto a los lotes CNEG y ROM, así queda demostrado el efecto inhibitorio de degradación de ácidos grasos en el caso de los antioxidantes naturales, como el extracto de romero, esto está en consonancia con lo aportados por otros autores (Cottone., 2010).

Puntualmente, en el C20:1, los tres lotes, CNEG, POS y ROM, mostraron diferencias significativas en el efecto del tiempo de almacenamiento en refrigeración, y el C18:1 n-9, en los lotes CNEG Y POS, pero el efecto del tiempo de almacenamiento no fue significativo estadísticamente en la composición general de estos ácidos grasos (TABLA 5.11).

TABLA 5.8. Evolución del contenido en ácidos grasos saturados (medias ± desviación típica) de las muestras de carne picada de los distintos lotes planteados, almacenadas durante 10 días en refrigeración a 4±1ºC.

Día	Lote	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	C20:0	AGS
	CNEG♣	2,30±0,01[2]	0,37±0,01	23,44±0,08b	0,86±0,17	19,39±0,51b	0,17±0,02[12]	46,52±0,31b
0	**CPOS**	2,23±0,11	0,37±0,04	23,78±0,37a	0,93±0,31	20,35±0,30a	0,09±0,10[2]	47,75±0,73a
	ROM	2,29±0,06	0,37±0,02	23,64±0,11ab	0,83±0,13	19,56±0,57b	0,14±0,01[2]	46,84±0,62b
	P	ns	Ns	ns	ns	**	ns	**
	CNEG	2,35±0,04[1]	0,37±0,04	23,88±0,56	0,80±0,07	18,86±0,59	0,09±0,09b[2]	46,34±0,06
3	**CPOS**	2,27±0,09	0,37±0,04	23,14±0,62	0,81±0,19	19,88±0,75	0,47±0,34a[1]	46,95±0,98
	ROM	2,35±0,13	0,37±0,03	23,65±0,44	0,81±0,17	19,80±0,89	0,13±0,03b[2]	47,10±1,34
	P	ns	Ns	ns	ns	ns	*	ns
	CNEG	2,24±0,00[3]	0,37±0,02	23,80±0,15	0,78±0,23	19,83±0,13ab	0,15±0,04[12]	47,18±0,16ab
7	**CPOS**	2,26±0,05	0,37±0,04	23,46±0,18	0,78±0,18	19,39±0,43b	0,16±0,03[2]	46,41±0,55b
	ROM	2,29±0,14	0,37±0,04	23,54±0,46	0,78±0,21	20,30±0,44a	0,17±0,00[1]	47,45±0,87a
	P	ns	Ns	ns	ns	**	ns	*
	CNEG	2,28±0,05[23]	0,40±0,02	24,06±0,43	0,85±0,13	19,63±0,97	0,19±0,04ab[1]	47,40±1,32
10	**CPOS**	2,38±0,09	0,37±0,02	23,66±0,63	0,79±0,20	20,15±1,15	0,30±0,15a[12]	47,66±1,56
	ROM	2,33±0,17	0,39±0,04	23,88±0,65	0,78±0,20	20,62±1,28	0,17±0,01b[1]	48,16±1,96
	P	ns	Ns	ns	ns	ns	*	ns

♣ CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat*. Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001; a, b, c: Diferentes letras indican diferencias significativas entre lotes dentro del mismo día, test de Tukey (P<0,05); 1, 2, 3: Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre tiempo de almacenamiento para un mismo lote, test de Tukey (P<0,05).

TABLA 5.9. Niveles de significación del efecto del tiempo de almacenamiento (0, 3, 7 y 10 días) sobre el contenido en ácidos grasos saturados de la carne picada en los distintos lotes.

Lote	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	C20:0	AGS
CNEG♣	***	Ns	ns	Ns	ns	*	*
CPOS	ns	Ns	ns	Ns	ns	*	ns
ROM	ns	Ns	ns	Ns	ns	***	ns

♣ CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat*.. Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001

TABLA 5.10. Evolución del contenido en ácidos grasos monoinsaturados (medias ± desviación típica) de las muestras de carne picada de los distintos lotes planteados, almacenadas durante 10 días en refrigeración a 4±1ºC.

Día	Lote	C14:1	C16:1	C17:1	C18:1 n-9	C18:1 n-7	C20:1	AGMI
	CNEG♣	0,39±0,05	2,83±0,26	0,59±0,09	40,79±0,46ab[2]	1,28±1,04	0,36±0,02a[12]	46,24±1,00
0	**CPOS**	0,38±0,03	2,77±0,06	0,57±0,12	39,80±0,88b[2]	1,23±0,96	0,19±0,15c[2]	44,95±0,14
	ROM	0,38±0,05	2,89±0,08	0,54±0,08	41,30±1,23a	0,43±0,09[1]	0,33±0,01b[1]	45,86±1,33
	P	ns	Ns	ns	*	ns	*	ns
	CNEG	0,42±0,09	3,02±0,24	0,58±0,07	41,16±0,36a[2]	1,22±0,89	0,17±0,19b[3]	46,56±0,73
3	**CPOS**	0,38±0,05	2,69±0,18	0,68±0,16	39,51±0,53b[2]	0,85±0,58	0,21±0,02b	45,46±1,61
	ROM	0,37±0,07	2,78±0,30	0,58±0,04	41,52±1,52a	0,34±0,06[2]	0,26±0,00a[23]	45,85±1,88
	P	ns	Ns	ns	**	ns	*	ns
	CNEG	0,37±0,06	2,53±0,50	0,58±0,06	40,36±0,03b[3]	1,24±0,95a	0,43±0,09a[1]	45,51±1,63
7	**CPOS**	0,39±0,05	2,58±0,46	0,52±0,08	41,64±1,01a[1]	0,36±0,03ab	0,34±0,01b[2]	45,83±1,57
	ROM	0,35±0,04	2,61±0,20	0,47±0,14	41,11±0,79ab	0,33±0,01b[2]	0,31±0,02b[12]	45,18±1,21
	P	ns	Ns	ns	*	*	**	ns
	CNEG	0,41±0,09	2,92±0,40	0,53±0,14	40,11±0,07a[1]	1,13±0,91	0,21±0,09b[23]	46,84±1,54a
10	**CPOS**	0,38±0,06	2,58±0,34	0,55±0,05	38,93±0,71c[2]	1,10±0,8	0,54±0,25a[12]	44,08±0,87b
	ROM	0,38±0,04	2,64±0,25	0,57±0,04	40,34±1,32b	0,34±0,00[2]	0,23±0,07b[3]	44,50±1,60b
	P	ns	Ns	ns	***	ns	**	**

♣ CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat*. Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001; a, b, c: Diferentes letras indican diferencias significativas entre lotes dentro del mismo día, test de Tukey (P<0,05); 1, 2, 3: Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre tiempo de almacenamiento para un mismo lote, test de Tukey (P<0,05).

TABLA 5.11. Niveles de significación del efecto del tiempo de almacenamiento (0, 3, 7 y 10 días) sobre el contenido en ácidos grasos monoinsaturados de la carne picada en los distintos lotes.

Lote	C14:1	C16:1	C17:1	C18:1 n-9	C18:1 n-7	C20:1	AGMI
CNEG♣	ns	Ns	ns	***	ns	**	ns
CPOS	ns	Ns	ns	***	ns	*	ns
ROM	ns	Ns	ns	ns	*	**	ns

♣ CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat*.. Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001

Por último, en la TABLA 5.12, se muestra la evolución del contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de las muestras de carne picada en los tres lotes estudiados (CNEG, ROM y CPOS) durante 10 días de almacenamiento en refrigeración a 4ºC.

El contenido en AGPI totales en la carne picada varió entre 7,05-8,27%, siendo el ácido linoleico (C18:2 n-6) el más abundante dentro de este grupo.

El efecto de la incorporación de antioxidantes a las muestras no resultó en diferencias significativas en la composición en AGPI (TABLA 5.12) en ninguno de los 4 días de estudio (0, 3, 7 y 10).

El efecto del tiempo de almacenamiento no resultó significativo en los AGPI, a excepción del C20:2, que presentó cambios significativos en los tres lotes, CNEG, POS y ROM (tabla 5.13). Podemos concluir que, en términos generales, no se observó un efecto significativo marcado sobre la composición en ácidos grasos de las muestras estudiadas debidas ni a la incorporación de antioxidantes (excepto en el caso del ácido oleico en el lote CPOS), ya sea por adición de *burguer meat* o antioxidantes de extractos vegetales, ni debido al tiempo de almacenamiento en refrigeración, excepto en algún ácido graso minoritario, como el C20:0 o el C20:1, cuyos porcentajes no superan el 0,2 y el 0,5 %, respectivamente.

Una posible justificación para estos escasos efectos sobre la composición en ácidos grasos parece ser debida a que el deterioro oxidativo de la carne picada se ha visto reducido por el uso de atmósferas modificadas para su almacenamiento en refrigeración; el uso de estas atmósfera modificadas consiste en variar intencionalmente la atmósfera gaseosa natural y en mantener dicha atmósfera en las condiciones determinadas durante el ciclo de distribución (Sánchez-Escalante., 2008).

Así, existen estudios que relacionan el uso de atmósferas modificadas con la prevención de la rancidez y el pardeamiento enzimático (Ospina y col., 2008), aunque también hay otros autores que relacionan niveles significativamente mayores de rancidez en carne envasada en atmósferas modificadas con niveles altos de oxígeno, en las que se favorece la oxidación de lípidos (John y col., 2005; Aspé y col., 2008).

TABLA 5.12. Evolución del contenido en ácidos grasos poliinsaturados (medias ± desviación típica de la media) de las muestras de carne picada de los distintos lotes planteados, almacenadas durante 10 días en refrigeración a 4±1ºC

Día	Lote	C18:2 n-6	C18:3 n- 6	CLA	C18:3 n-3	C20:2	C20:4 n-6	C20:3 n-6	AGPI
0	**CNEG♣**	5,51±0,51	0,16±0,09	0,26±0,06	0,22±0,19	0,06±0,01[2]	0,17±0,03b	0,86±0,19[1]	7,23±0,69
	CPOS	5,46±0,71	0,16±0,10	0,23±0,11	0,20±0,18	0,04±0,03[2]	0,28±0,08a	0,93±0,18	7,30±0,87
	ROM	5,54±0,44	0,18±0,12	0,22±0,03	0,21±0,17	0,05±0,01[1]	0,22±0,08ab	0,89±0,20	7,30±0,71
	P	ns	Ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
3	**CNEG**	5,17±0,79	0,18±0,10	0,27±0,08	0,23±0,22	0,04±0,01b[2]	0,19±0,01b	1,01±0,08[1]	7,09±0,68
	CPOS	5,44±0,79	0,21±0,02	0,33±0,02	0,21±0,17	0,22±0,18a[1]	0,38±0,17a	0,81±0,36	7,59±0,64
	ROM	5,41±0,37	0,15±0,10	0,25±0,06	0,22±0,19	0,04±0,01b[12]	0,16±0,02b	0,82±0,16	7,05±0,54
	P	ns	ns	ns	ns	*	**	ns	ns
7	**CNEG**	5,60±1,09	0,15±0,11	0,30±0,13	0,26±0,22	0,04±0,03[2]	0,13±0,13	0,84±0,52[1]	7,31±1,82
	CPOS	5,85±0,66	0,16±0,10	0,26±0,05	0,22±0,19	0,05±0,00[2]	0,21±0,05	1,01±0,30	7,76±1,01
	ROM	5,65±0,17	0,16±0,10	0,26±0,06	0,21±0,18	0,03±0,01[2]	0,17±0,01	0,91±0,14	7,37±0,33
	P	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
10	**CNEG**	4,37±0,58b	0,31±0,13	0,25±0,07	0,24±0,23	0,18±0,16[1]	0,10±0,02b	0,32±0,21c[2]	5,75±0,22c
	CPOS	5,67±0,11a	0,20±0,05	0,26±0,01	0,31±0,30	0,09±0,03[12]	0,50±0,32a	1,23±0,22a	8,27±0,69a
	ROM	5,64±0,23a	0,16±0,09	0,21±0,01	0,18±0,16	0,04±0,00[12]	0,16±0,01b	0,94±0,07b	7,34±0,37b
	P	***	ns	ns	ns	ns	**	***	***

♣ CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat*. Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001; a, b, c: Diferentes letras indican diferencias significativas entre lotes dentro del mismo día, test de Tukey (P<0,05); 1, 2, 3: Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre tiempo de almacenamiento para un mismo lote, test de Tukey (P<0,05).

TABLA 5.13. Niveles de significación del efecto del tiempo de almacenamiento (0, 3, 7 y 10 días) sobre el contenido en ácidos grasos poliinsaturados de la carne picada en los distintos lotes.

Lote	C18:2 n-6	C18:3 n-6	CLA	C18:3 n-3	C20:2	C20:4 n-6	C20:3 n-6	AGPI
CNEG♣	Ns	ns	ns	ns	*	ns	**	ns
CPOS	Ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns
ROM	Ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns

♣ CNEG: lote control sin aditivos; ROM: lote con extractos de romero + melisa; CPOS: lote con *burger meat*.. Niveles de significación: ns= no significativo; *=P<0,05; **=P<0,01; ***=P<0,001

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

-Las piezas cárnicas (aguja y morrillo) utilizadas para la elaboración de los derivados cárnicos de carne picada tienen una composición físico-química muy similar, siendo la aguja ligeramente más engrasada que el morrillo, aunque con contenidos en grasa inferiores a los de otras piezas cárnicas de menor categoría.

-Los extractos naturales de romero y melisa empleados, si bien consiguen estabilizar el color de la carne picada con respecto a la degradación del color que sufre el lote sin ningún extracto añadido, no logran, en cambio, mantener el color rojo característico de la carne picada que se mantiene en el lote *burger meat* durante los 10 días de conservación en refrigeración.

-La adición de extractos de romero y melisa en los derivados de carne picada consiguen mantener o incluso reducir el nivel de oxidación lipídica del producto durante la conservación en refrigeración durante 10 días en comparación con la adición del preparado *burger meat.*

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

- AECOC (2016). El sector de productos cárnicos se recupera tras el informe de la OMS.
- Aguirrezábal, M.M., Mateo, J., Domínguez, M.C. y Zumalacárregui, J.M. (2000). The effect of páprika, garlic and SALT on rancidity in dry sausages. *Meat Science*, **54**: 77-81.
- Alberti Lasalle P. (2012). Influencia de la alimentación con altos niveles de ácidos grasos insaturados en la calidad de la canal y de la carne de terneros sacrificados a dos niveles de acabado. *Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.*
- Alberti, P., Sanudo, C., Santolaria, P., Negueruela, Y., Olleta, J.L., Mamaqui, E., Campo, M.M. y Alvarez, F.S. (1995). Calidad de la carne de terneros de raza Parda Alpina y Pirenaica cebados con pienso rico en gluten feed y mandioca. *ITEA*, 630-632, Zaragoza, España.
- AMSA (American Meat Science Association). (2012). Meat Color Measurement Guidelines. Illinois. USA
- Andersen, H.J., Oksbjerg, N. y Therkildsen, M. (2005). Potential quality control tools in the production of fresh pork, beef and lamb demanded. *European society. Livestock Production Science*, **94**: 105-124.
- Andrés, A.I., Petrón, M. J., Delgado-Adámez, J., López, M., y Timón, M. L. (2016). Effect of tomato pomace extracts on the shelf-life of modified atmosphere-packaged lamb meat. *Journal of Food Processing and Preservation*. ISSN: 1745-4549
- Andrés, A.I., Petrón, M.J., Adámez, J.D., López, M. y., Timón, M.L. (2017). Food by-products as potential antioxidant and antimicrobial additives in chill stored raw lamb patties. *Meat Science*, **129**: 62–70.
- Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez, M. y Ventanas J. (2012). Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne*, Nº **207**: Junio 2012,64-71.
- Asociación Española de Denominaciones de Origen (2015). Historia, C.R.I.G.P. Carne de Ávila.
- Aspé, E.R., Roeckel, M.D., Martí, C. y Jiménez. R (2008). Envasado de Carne de Vacuno con Hueso y Grasa en Atmósfera Modificada con CO2 y CO. *Scielo*, **19:** 57-69.
- Barros C. (2009). Los aditivos en la alimentación de los españoles y la legislación que regula su autorización y uso. *VISION NET*. España. 2 : vol, pag 60-62.

- Bekhit, A.E., Geesink, D., Ilian, G.H., Moron, M.A. y Bickerstaffe, R. (2003). The effects of natural antioxidants on oxidative processes and metmyoglobin reducting activity in beef patties. *Food Chemistry*, **81**: 175-187.
- Beriain, M.J. y Lizaso, G. (1998). Calidad de la carne de vacuno. Vacuno de Carne: Aspectos Claves (Cood. Buxade, C.). 495-510. Mundi-Prensa., Madrid,. España. 495-510.
- Braña, D., Ramírez, E., Rubio, M.S., Sánchez, A., Torrescano, G., Arenas, M.L., Partida, J.A., Ponce, E. y Ríos, F. (2011). Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne. *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal*. Folleto Técnico, **11**.
- Brewer, S(2006). The Chemistry of Beef Flavor. Department of Food Science and Human Nutrition., *University of Illinois.* Executive summary.
- Caracuel, A.M. (2015). El uso de sulfitos como conservantes. *All about food Magazine.*
- Carballo, B. y Lopez de Torre, G. (1991). Manual de bioquimica y tecnologia de la carne. *Servicio de Investigacion Agraria de la Junta de Extremadura*
- Cardura, F., Grigioni, G.M., y Irurueta M., (2000). Evaluación organoléptica de calidad en carne a pedido del consumidor. *Sitio Argentino de Producción Animal*, **21.**
- Carvajal, G (2001). Valor nutricional de la carne de res, cerdo y pollo. *Corporación ganadera, CORFOGA*. San José. Costa rica.15-29.
- Chamorro, F.H. Ramírez Francisco Héctor (2017). Mioglobina Factor Principal del cual Depende el Color de la Carne. *Los Porcicultores y su Entorno*, **94**.
- Clydesdale, F.M. y F.J. Francis (1985). Pigmentos. Introducción a la Ciencia de los Alimentos., O.R. Fennema (ed.). Ed. Reverté., Barcelona. 457-468.
- Colbert, L.B. y Decker, E.A. (1991). Antioxidant activity of an ultrafiltration permeate from acid whey. *Journal of Food Science*, **56**:1248-1250.
- Cottone, E. (2010). Uso de extracto de romero en carnes. *Mundo Lácteo y Cárnico*, **2**(1). 21-24.
- Cross, H.R. (1994). Caracteríisticas organoléepticas de la carne. Parte 1. Factores sensoriales y evaluación. Price, J.F., Schweigert, B.S. Ciencia de la carne y de los productos carnicos. Ed. Acribia, Zaragoza. España.
- Daniel, M., Toro, M., Fernandez, J., y Diaz, C. (2017). Estrategias para la conservación de razas autóctonas. La raza bovina avileña-negra ibérica. *Dialnet*, **34**: 37-39.

- Devatkal, S. K., Thorat, P. y Manjunatha, M. (2012). Effect of vacuum packaging and pomegranate peel extract on quality aspects of ground goat meat and nuggets. *Journal of Food Science and Technology*.
- Díaz, I. (2017). Historia y presente de la carne de vacuno. Importancia alimentaria y cualidades nutricionales. *MERCASA*, **116**:78-81.
- Díaz, M.T. (2001). Características de la canal y de la carne de corderos lechales manchegos. Correlaciones y ecuaciones de predicción. *Universidad complutense de Madrid, Facultad de vetereniraia.* Memoria para optar al grado de doctor. 43- 50.
- Duthie, G.J. (1999). Natural antioxidants in the protection against cigarette smoke ingury. Antioxidant food sulements in human health. Academic press. San Diego. California.35-42.
- Estévez, M. y Cava, R. (2006). Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: contradictory effects in different types of frankfurters. *Meat Science*, **72**: 348-355.
- Faixova, Z. y S. Faix. (2008). Biological effects of rosemary (*Rosamrinus officinalis* L.). essential oil. *Folia Veterinaria*, **52**: 135-139.
- FAO (2014). Calidad de la carne. *Departamento de agricultura y protección al consumidor, FAO*
- FAO (2017). Composición de la carne. *Departamento de agricultura y protección al consumidor, FAO*
- Faustman, C., Cassens, R.G., Scheafer, D.M., Buege, D.R., Williams, S.N., y Sheller, K.K. (1989). Improvement of pigment and lipid stability in Holstein steer beef by dietary sulementation on vitamin *E. Journal of Food Science*, **54**: 858-862.
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson, L., Pérez-Alvarez, J.A., y Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: alication in beef meatballs. *Meat Science*, **69**: 371–380.
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pée´rez-Alvarez., J.A., y Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: alication in beef meatballs. *Meat Science*, **69**: 371–380.
- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Judge, M.D., y Merckel, R.A. (1975). Principles of Meat Science, W.H. Freeman and Compan. San Francisco. EEUU.

- Gallego, D., Iglesias, A., Jiménez, J., Roca, E., Sanz, J., y Zapata, S. (1979). Contribución al análisis histórico de la ganadería española., 1865-1929. Historia económica., *Santiago Zapata*, :120-125.
- García, J., González, M.L., Del Pino, R., Ortega, M. y Muñoz, P. (2017). Antioxidant effect of seasonings derived from wine pomace on lipid oxidation in refrigerated and frozen beef patties. *Food Science and Technology*, **77**: 85–91.
- Garrido, M. D., Auqui, M., Martí, N. y Linares, M. B. (2011). Effect of two different red grape pomace extracts obtained under different extraction systems on meat quality of pork burgers. *Food Science and Technology*, **44**: 2238-2243.
- Garriz, C. Carlos A. (2001). Calidad organoléptica de la carne vacuna, influencia de factores biológicos y tecnológicos. *Sitio Argentino de Producción Animal. FAC. AGR Y VET. UNRC*
- Gill, C.O. (1982). Microbial Interaction with meats. Meat Microbiology, *Brown, M.H (ed.).* Londres*on: Alied Science Publishers LTD*. 225-264.
- Goenaga, I. (2010). Estabilidad del color de la carne de ternera. *Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Pública de Navarra.* Trabajo fin de grado.
- Greene, B.E. (1971). Interrelations between myoglobin, lipids, flavor, and color of meat. *Meat Industry Research Conference Proceedings*, 27-34.
- Guinoa, P., Labairu, J. y Granada, A. (2006). Calidad de la canal porcina: efecto de la genética paterna. *ITG Ganadero.* Navarra *Agraria.* 57 -64.
- Gutiérrez, J.I., Tejeda, J.F., Carrapiso, A.I., Petrón, M.J., Lara, M.S. y Andrés, A.I. (2010). Shelf life of merino lamb meat retail packaged under atmospheres of various compositions *International Journal of Food Science and Technology*, **46**: 492-499.
- Hernandez, B., Aporta, J., Sañudo C. y Saenz, C. (1999). Pigment and colour changes in meat during ageing. *Proceedings of the 1st International Congress on pigments in Food Technology.* Sevilla. España. 301-305.
- Hirose, M., Takesada, Y., Tanaka, H., Tamano, S., Kato, T. y Shirai, T. (1988). Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis* **19**: 207-212.

- Honikel, K.O. (1987). How to measure the water-holding capacity of meat?. Recommendation of standarized methods. Evaluation and control of meat quality in pigs. (eds). Tarrant, P.V., Eikelenboom, G., Monin, G. y Martinus, N. Nijhoff Publishers. Dordretch. Holanda.
- Illescas J.L., Ferrer. S., y Bacho. O., (2009). Vacuno. Guía práctica *MERCASA*. :136-140.
- Indurain, G., Beriain, M. J., Sarries, M. V. y Insausti, K. (2010). Effect of weight at slaughter and breed on beef intramuscular lipid classes and fatty acid profile.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Alzueta, M.J. y Purroy, A. (2004). Lipid composition of the intramuscular fat of beef from Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Meat Science*, **66:** 639–646.
- IPCVA (2017). Calidad Organoleptica de la carne vacuna. *Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina*
- Jennings, T.G., Berry, B.W., y Joseph, A.L. (1978). Influence of fat thickness, marbling and length of aging on beef palability and shelf-life characteristics. *Journal of Animal Science*, **46**: 658-664.
- Jitoe, A., Masuda, T., Tenga, I.G.P., Suprapta, D.N., Gara, I.W. y Nakatani, N. (1992). Actividad antioxidante de extractos tropicales de jengibre y análisis de los curcuminoides contenidos. *Journal of Agricultura and Food Chemistry*, **40**:1337-1340
- Johansson, G. (1989). Relationships between different colour parameters fromreflectance measurements on bovine muscles. *Proceedings 35th International Congress of Meat Science and Technology*. vol. 2. 601-607.
- John, L. , Cornforth, D., Carpenter D.E., Sorheim O., Pettee B.C., y Whittier D.R. (2005). Color an thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0.4 % carbon monoxide, or vacuum , *Meat Science*, **69**: 441-449.
- Kansci, G., Genit, C., Meynier, A. y Gandemer, G. (1997). The antioxidant activity of carnosine and its consequences on the volatile profiles of liposomes suring iron/ascorbate induced phospholipids oxidation. *Food Chemistry*, **60**: 165-175.
- Kikuzaki, H. y Nakatami, N. (1993). Efectos antioxidantes de algunos componentes del jengibre. *Journal of Food Science*, **58**: 1407-1410.

- Kim, Y.H., Huff-Lonergan, E., Sebranek, J.G., y Lonergan, S.M. (2010). High-oxygen modified atmosphere packaging system induces lipid and myoglobin oxidation and protein polymerization. *Meat Science*, **85**: 759-767.
- Konica Minolta Sensing Americas, (2006-2017). Entendiendo el espacio de color CIE L*A*B*.
- Langro, A. (2007). El sistema de producción de carne en España. *DIALNET*. **31**
- Lara, M.S., Timón, M.L.l., y Andrés, A.I. (2011). Evaluation of two natural extracts (Rosmarinus officinalis L. and Melissa officinalis L.).). as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP. *Meat Science*, **88**:481-488
- Lara, M.S., Gutiérrez, J.I., Timón, M., Andrés, A.I. (2011). Evaluation of two natural extracts (*Rosmarinus officinalis L*. and *Melissa officinalis L*.). as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP. *Meat Science*, **88**: 481–488.
- Lindon, W., Linares, M. y Gallo, C., (2011). Composición química y calidad instrumental de carne de bovino, llama y caballo najo un sistema de crianza extensiva. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, **22**(4).301-311.
- Loaharanu P. (2001). Creciente demanda de alimentos inocuos. *Boletín del OIEA.* 43/2/2001.
- López, T. (2004). Los riesgos de la carne picada. *IBS Alimentaria.*
- López, J.H., Fernández, J., Pérez, J.A., y Viuda, M. (2014). Quality characteristics of pork burger added with albedo-fiber powder obtained from yellow passion fruit (Passiflora edulis var. flavicarpa).co-products *Meat Science*, **97:** 270-276.
- Loza, V. (2012). Efecto de la congelación, la alimentación y el espesor de grasa dorsal en el perfil aromático de la carne de terneros de la raza pirenaica. *Universidad Publica de Navarra.* Trabajo fin de grado.33-35.
- MAPAMA (2010). Razas de ganado del catálogo oficial de España *MAPAMA.*11
- MAPAMA (2015). Situación de mercado del sector de vacuno de carne. *MAPAMA*
- MAPAMA (2016). Caracterización del sector vacuno de carne 2016. *MAPAMA*
- MAPAMA (2017). Lean meat beef *Carne y productos cárnicos., MAPAMA*
- Martín, M., Escribano, M., Díaz, F., Rodríguez, A. y Pulido, F. (2001). Sistemas extensivos de producción animal. *Archivos de zootecnia*, **192**:467-478.
- Mauro, V. (2016). Maduración de la carne de vacuno: cómo se realiza y factores que la afectan. *Interempresas Media, S.L.U.*
- Mercasa (2011). Consumo de carne de vacuno en España. *Mercasa*

- Miller, R.K. (1994). Quality Characteristics. Muscle Foods: Meat Poultry and Seafood TechnologyMuscle Foods. Meat Poultry and Seafood Technology. Eds. D.M. Kinsman, A.W. Kotula, B.C. Breidenstein. Chapman y Hall. (eds).
- Moore, V.J., Young, O.A. (1991). The effects of electrical stimulation, thawing, ageing and packaging on the colour and display life of lamb chops. *Meat Science,* **30**(2):131-145.
- Moreno Grande, A., Rueda, V. Nuñez y Ceular, A.L. (1998). Análisis cuantitativo del pH de canales de vacuno en matadero. *Archivos de zootecnia*. **48**: 33-42.
- Murcia, J.L. José Luis (2016). Tendencias en el consumo mundial de carnes. Distribución y Consumo. *Mercasa , vol. 2.* **50.**
- Namiki, M. (1990). Antioxidantes / antimutagenos en los alimentos. *Critival Reviews of Food Science and Nutrition,* **29**: 273-300.
- Navarro, G., Brigas, L. y, Pacheco, R. (2004). Nueva herramienta para el estudio de la oxidación de los ácidos grasos, una de las causas fundamentales de la pérdida de calidad de los alimentos para la acuacultura. *Memorias de VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Sonora. México. Universidad de Sonora.* 4-16.
- O´Neill, L.M., Galvin, K., Morrisey, P.A. y Buckley, D.J. (1999). Effect of carnosine, salt and dierary vitamin E on the oxidative stability of chicken meat. *Meat Science,* **52**: 89-94.
- Onega, E. (2003). Evaluación de la calidad de carnes frescas: Aplicación de técnicas analíticas, instrumentales y sensoriales. *Tesis de la Universidad complutense de Madrid, Facultad de vetereniraia.*39-42.
- Osakidetza (2017). Aditivos Alimentarios.
- Ospina, S.M., y Cartagena, J.R. (2008). Modified atmosphere: an alternative for food preservation *Revista Lasallista de Investigación,* **2:**115-121.
- Pearson, A.M. (1966). Desirability of beef: its characteristics and their measurement. **25**: 843-850.
- Pérez-Linares, C., Figueroa,-Saavedra1 F. y Barreras,-Serrano A., (2007). Management factors associated to DFD meat in bovine on desertic. *Revista MVZ Córdoba,* **20**: 4688-4697.
- Pérez-Rodriguez M.L. (1992). Evolución de las sales nitrificantes en el proceso de elaboración y conservación de las salchichas tipo Frankfurt. *Tesis doctoral de la Universidad Complutense de Madrid.* 154-161.

- Plaza, García Jonás (2011). Evaluación de carne de vacuno por un panel de consumidores *Trabajo fin de grado de la Universidad Pública de Navarra.* :23-29.
- Purchas, R.V. (1978). A comparison of the fatness of weanei and unweaned lambs. *New Zealand Society for Animal Production online archive.*
- Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos. *«BOE»* núm. 147, de 18 de junio de 2014. 46058- 46078.
- Reglamento (CE).n° 1107/96 de la Comisión de 12 de junio de 1996 relativo al registro de las indicaciones geográficas y de las denominaciones de origen con arreglo al procedimiento establecido en el artículo 17 del Reglamento (CEE).nº 2081/92 del Consejo. *Diario Oficial* n° L 148 de 21/06/1996 . 0001 – 0010.
- 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. Diario Oficial de la Unión Europea.
- Reglamento (CE). 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008 sobre aditivos alimentarios.
- Renerre, M. y Mazuel, J.P. (1985). Relations entre methodes de mesures instrumentales et sensorielles de la couleur de la viande. *Sciences des Aliments*, **5**: 541-557.
- Reyes, P., Jeiner, J., y Totosaus, A.Pedro Reyes Luna, José Jeiner Pineda Rodríguez, Alfonso Totosaus (2006). Relación entre el contenido de mioglobina y oximioglobina con el color de carne fresca de res y pollo. *Laboratorio de Alimentos, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec*. Estado de México.
- Ríos, J. y Cuevas, S. (2017). Vacuno de Carne: La producción en España, en su mejor momento de la última década. *EFEAgro Información agroalimentaria.*
- Roseiro, L.C., Santos, C., y Melo, R. S. (1994). Muscle pH 6.0, color (L, a, b).and water holding capacity and the influence of postmortem meat temperature. *Meat Science,* **38**:353 359.
- Rosset, R. 1982. Chilling, freezing and thawing. En: Meat Microbiology, Brown, M.H. London: Alied Science Publishers LTD. Londres. 265-318.
- Rubio, J.A. (2014). Influencia del consumo de carne de porcino frente a la de vacuno en el perfil lipídico de sujetos sanos. *Tesis doctoral de la Universidad complutense de Madrid.* 40-42.

- Ruiz, E., del Pozo, S., Ávila, J.M. y, Varela, G. (2009). Determinación de macronutrientes y micronutrientes en el despiece de carne de las principales especies de abasto. *FEN-FEDECARNE.* 23-45.
- Sánchez-Escalante, A., Torrescano, G.R., Camou J.P., González, Méndez N.F. y Hernández, Watanabe G. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos *NACAMEH*, **2:** 124-159.
- Sañudo, C. (1992). La calidad organolepticaorganoléptica de la carne con especial referencia a la especie ovina: factores que la determinan, metodosmétodos de medida y causas de variación. *Curso Internacional de ProduccionProducción Ovina*. SIA, Zaragoza. España.
- Sañudo, C. (1993). Calidad organolepticaorganoléptica de la carne. *Tecnología y calidad de los productos carnicoscárnicos. Ponencias del curso celebrado en Pamplona. Gobierno de Navarra. Departamento de Agricultura, Ganadería y Montes*.
- Sebranek, J.G., V.J.H. Sewalt, K.L., Robbins y T.A. Houser, T.A. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, **69**(3): 289-296.
- Sierra, V., Guerrero, L., Fernandez, V., Martinez, A., Castro, P., Osoro, K., Rodriguez, M.J., Coto, A. y Olivian, M. (2010). Eating quality of beef from biotypes included in the PGI Ternera Asturiana showing distinct physicochemical characteristics and tenderization pattern. *Meat Science,* **86**(2):343-351.
- Sirocchi, V., Devlieghere, F., Peelman, N., Sagratini, G., Maggi, F., Vittori, S. y Ragaert, P. (2017). Efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. combinado con diferentes condiciones de envasado para prolongar la vida útil de la carne de vacuno refrigerada. *Sciencedirect,* **221**:1069-1076.
- Soján, B., Huerta, N., Arenas, de Moreno L., Colina, G., y Jerez-Timaure, N. (1999). Contenido de humedad, lípidos totales y ácidos grasos del músculo longissimus crudo de bovinos en Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición,* **67:**175-178.
- Sorensen, G. y Jorgensen, S.S. (1996). A critical examination of some experimental variable in the 2-thiobarbituric Acid (TBA).). test for lipid oxidation in meat products. *Z Lebensm Unters Forsch*, **202**: 202-210.
- Surh, Y-.J. (1999). Molecular mechanisms of chemopreventive effects of selected dietary and medicinal phenolics substances. *Mutation Research*, **428**: 305-327.

- Tang, S.Z., Kerry, J.P., Sheehan, D., Buckley, D.J. y., Morrissey P.A. (2001a). Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of longterm frozen stored chicken meat. *Meat Science,* **57**: 331-336.
- Uenobe, F., Nakamura, S.-I., y Miyazawa, M. (1997). Antimutagenic effect of resveratrol against Trp-P-1. *Mutation Research,* **373**: 197-200.
- Valenzuela, V.C. y Pérez M.P. (2016). Natural antioxidants obtained from fruits and vegetables and their effect over the shelf life of meat and meat products: an update *Revista Chilena de Nutrición,* **43**: 188-195.
- Valero, T., del Pozo, S., Ruiz, E., Ávila, J.M., Varela, G., (2017). Guía nutricional de la carne. *FEN-FEDECARNE.* :23-45.
- Varela G, Avila J, Cerdeño A, Mantecon A (2001). La carne de vacuno en la alimentación humana. *Fundación española de nutrición,* **16**: 15-26.
- Varela, A., Oliete, B., Monserrat, L., Carballo, J.A. y Sánchez, L. (2001). Efecto de la extensificación del manejo sobre la dureza, jugosidad y composición química de la carne de terneros de raza Rubia Gallega sacrificados sin destetar. *ITEA,* **22**: 562-564.
- Wanasundara, U.N. y Shahidi, F. (1996). Concentración asistida por lipasa de ácidos grasos poliinsaturados n-3 en acilgliceroles de aceites marinos. *Journal of American Oil Chemistry Society,* **73**:1183-1190.
- Wierbicki, E., Kunkle, L.E., y Deatherage, F.E. (1957). Changes in the water-holding capacity and cationic shifts during the heating and freezing and thawing of meat as revealed by simple centrifugal method for measuring shrinkage. *Food Technologyl,* **11:** 69-73.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson,R.I., Hughes, S.I. y Whittington, F.M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science,* **78:** 343 – 358.
- Yin, M.C. y Faustman, C. (1994). The influence of microsomal and cytosolic components on the oxidation of myoglobin and lipid in vitro. *Food Chemistry,* **51**:159-164.
- Zubeldia, L. y Gomar, J. (1997). Presencia de sulfitos en carne picada y preparados de carne elaborados en industrias de la comunidad valenciana. *Revista Española de Salud Pública,* **71**: 401-.407