

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**



**“EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ROMERO  
(*Rosmarinus officinalis*) Y HIERBA BUENA (*Mentha spicata*) EN  
HAMBURGUESA DE CARNE DE LLAMA (*Lama glama*)”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**DORIS DEANETH QUISPE VELASQUEZ**

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE**

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**PROMOCION: 2014-II**

**PUNO-PERU**

**2017**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

**“EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)  
Y HIERBA BUENA (*Mentha spicata*) EN HAMBURGUESA DE CARNE DE  
LLAMA (*Lama glama*)”**

**TESIS**

PRESENTADA POR:

DORIS DEANETH QUISPE VELASQUEZ

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL



**FECHA DE SUSTENTACION: 16 DE OCTUBRE DEL 2017**  
**APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:**

**PRESIDENTE** : .....

Ph.D. Juan Marcos ARO ARO

**PRIMER MIEMBRO** : .....

Mg.Sc. Florentino Víctor CHOQUEHUANCA CACERES

**SEGUNDO MIEMBRO** : .....

Mg.Sc. Marienela CALSIN CUTIMBO

**DIRECTOR DE TESIS** : .....

Ing. Edgar GALLEGOS ROJAS

**ASESOR DE TESIS** : .....

Ing. Whany QUISPE CHAMBY

PUNO - PERU  
2017

Área: Ingeniería y tecnología.

Tema: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes.

## DEDICATORIA

La presente Tesis está dedicada primeramente a Dios, ya que gracias a él he logrado concluir mi carrera.

A mis padres porque ellos siempre estuvieron a mi lado brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí una mejor persona, a mis hermanos por sus palabras y su compañía.

A mi esposo por sus palabras y su confianza, por su amor y por brindarme el tiempo necesario para realizarme profesionalmente, a mi querido hijo que fue mi motivación para seguir adelante.

A mis amigos, compañeros, y todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el logro de mis objetivos

**DORIS D. Q. V.**

## AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi gratitud a la *Universidad Nacional del Altiplano*, y a la *Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial* por haber contribuido a mi formación profesional.

Agradezco también a mi director y asesor de tesis por su tiempo y dedicación brindado para el logro de este trabajo de investigación.

## INDICE

	Pág.
INDICE DE FIGURAS	
INDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	
RESUMEN	
I. INTRODUCCION.....	11
II. REVISION BIBLIOGRAFICA .....	13
2.1. CARNE DE LLAMA ( <i>Lama glama</i> ).....	13
2.1.1. Clasificación.....	13
2.1.2. Composición química de la carne de llama .....	13
2.1.3. Calidad de la carne .....	14
2.1.4. Mecanismos de deterioro de la carne cruda y cocinada .....	15
2.2. HAMBURGUESA .....	17
2.2.1. Composición de la hamburguesa .....	17
2.3. ROMERO ( <i>Rosmarinus officinalis L.</i> ) .....	18
2.3.1. Principios activos antioxidantes y antimicrobianos .....	18
2.3.1. Uso de romero como aditivo en carne y derivados .....	19
2.4 HIERBA BUENA ( <i>Mentha spicata</i> ) .....	20
2.4.1. Composición química de la hierba buena ( <i>Mentha spicata</i> ) .....	20
2.5. ACEITES ESENCIALES.....	21
2.5.1. Extracción de aceite esencial por destilación por arrastre de vapor .....	23
2.6 MÉTODOS PARA EVALUAR LA CALIDAD DE LA CARNE CRUDA Y COCINADA.....	23
2.6.1. Químicos .....	23
2.6.2. Microbiológicos .....	24
2.6.3. Sensoriales .....	25
III. MATERIALES Y METODOS.....	27
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN .....	27
3.2 MATERIA PRIMA .....	27
3.3. EQUIPOS Y MATERIALES .....	27
3.3.1. Reactivos químicos .....	27
3.3.2. Materiales de laboratorio .....	28
3.3.3. Equipos de laboratorio y materiales para el proceso.....	29

3.4.	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	30
3.4.1.	Evaluación del análisis microbiológico en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero y hierba buena.....	30
3.4.2.	Evaluación de la oxidación lipídica en hamburguesas de carne de llama con aceite esencial de romero y hierba buena.....	30
3.4.3.	Evaluación sensorial de la hamburguesa de carne de llama.....	30
3.5.	METODOS DE ANALISIS .....	33
3.5.1.	Análisis microbiológico .....	33
3.5.2.	Determinación del índice de Peróxido.....	36
3.5.3.	Evaluación del índice de TBARS .....	36
3.5.4.	Evaluación del análisis sensorial .....	37
3.6.	ANALISIS ESTADISTICO .....	38
3.6.1.	Evaluación del análisis microbiológico.....	38
3.6.2	Evaluación de la oxidación lipídica.....	39
3.6.4	Evaluación sensorial.....	41
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	42
4.1.	RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO .....	42
4.2.	RESULTADOS DE LA OXIDACION LIPIDICA DE HAMBURGUESA DE CARNE DE LLAMA.....	48
4.2.1.	RESULTADOS DEL INDICE DE TBARS .....	48
4.2.2.	RESULTADOS DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS.....	52
4.4.	RESULTADOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL.....	55
	CONCLUSIONES .....	59
	RECOMENDACIONES .....	60
	BIBLIOGRAFIA .....	61

## INDICE DE FIGURAS

Pág.

<b>Figura 1</b>	Diagrama de flujo de la elaboración de hamburguesa de carne de llama .....	31
<b>Figura 2</b>	Crecimiento microbiano de <i>Staphylococcus aureus</i> en hamburguesa de carne de llama a) Con aceite esencial de Romero, b) Con aceite esencial de Hierba buena a diferentes concentraciones.....	44
<b>Figura 3</b>	Crecimiento microbiano de Aerobios mesófilos en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de a) Romero, b) Hierba buena a diferentes concentraciones. ....	47
<b>Figura 4</b>	Índice de TBARS en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de a) Romero, b) Hierba buena a diferentes concentraciones, n=3. ....	49
<b>Figura 5</b>	Índice de Peróxidos en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de a) Romero, b) Hierba buena a diferentes concentraciones, n=3. ....	54
<b>Figura 6</b>	Evaluación sensorial de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.....	56

INDICE DE TABLAS	Pág.
<b>Tabla 1</b> Composición química de la hamburguesa de carne cruda.....	17
<b>Tabla 2</b> Componentes y concentración de diferentes plantas con propiedades antioxidantes.....	20
<b>Tabla 3</b> Compuestos fenólicos encontrados en la Hierba buena ( <i>Mentha spicata</i> ).....	21
<b>Tabla 4</b> Formulación de hamburguesa de carne de llama.....	32
<b>Tabla 5</b> Escala de calificación para el análisis sensorial de la hamburguesa de carne de llama.....	38
<b>Tabla 6</b> Prueba de rango múltiple TUKEY del recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> , Aerobios mesofilos, índice de TBARS, Índice de Peróxidos, color, olor, sabor y textura. Con respecto a las fuentes de variación estudiadas.....	51
<b>Tabla 7</b> Análisis sensorial de la hamburguesa de carne de llama.....	55

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>%</b>	: Porcentajes
<b>°C</b>	: Grados Celsius
<b>AER</b>	: Aceites Esencial de romero.
<b>AEH</b>	: Aceites Esencial de hierba buena.
<b>ANOVA</b>	: Análisis de Varianza
<b>CVBB</b>	: Caldo Verde Brillante Bilis
<b>DCA</b>	: Diseño Completo al Azar
<b>C<sub>0</sub></b>	: Muestra control.
<b>C<sub>1</sub></b>	: Muestra con 0.5% de aceite esencial.
<b>C<sub>2</sub></b>	: Muestra con 1% de aceite esencial.
<b>GL</b>	: Grados de Libertad
<b>DS</b>	: Desviación Estándar.
<b>Mm</b>	: Milímetros
<b>MI</b>	: Mililitros
<b>C.V.</b>	: Coeficiente de variación.
<b>Meq/Kg</b>	: Miliequivalente de oxígeno por kilogramo de muestra.
<b>TBARS</b>	: Ácido <i>2-tiobarbitúrico</i>
<b>pH</b>	: Potencial de iones hidrógeno
<b>UFC/g</b>	: Unidad Formadora de Colonia por Gramo.

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis L.*) y hierba buena (*Mentha spicata*) en hamburguesa de carne de llama (*Lama glama*). Para lo cual se evaluó el análisis microbiológico, oxidación lipídica y análisis sensorial durante 12 días a 4°C. En donde las hamburguesas de carne de llama fueron sometidas a 5 tratamientos (0.5% y 1% de aceite esencial de romero; 0.5% y 1% de aceite esencial de hierba buena más una muestra control); con 5 tiempos (0, 3, 6, 9 y 12 días) para evaluar el índice de TBARS, índice de peróxidos, análisis microbiológico y análisis sensorial en el cual se evaluaron el color, olor, sabor y textura en 20 jueces consumidores tomados al azar. Los resultados del análisis microbiológico fue que los dos aceites esenciales tuvieron un efecto antimicrobiano en la hamburguesa de carne de llama ya que no hubo presencia de *E. Coli* ni *Salmonella sp.* en ninguna de las muestras; en cuanto al recuento de *Staphylococcus aureus* en la hamburguesa de carne de llama con 1% de aceite esencial de romero en el día 3 presentó 1.18 log ufc/g y en el día 12 se contó 2.51 log ufc/g, de igual forma en Aerobios mesófilos, se contó 5.72 log ufc/g y 6.3 log ufc/g en el día 0 y 12 respectivamente, lo que indica que hubo una reducción en la carga microbiana. En la evaluación del índice de TBARS, el aceite esencial de romero al 1% tuvo mejor efecto protector contra la oxidación lipídica ya que en el día 0 tuvo un índice de TBARS de 0.434 mg de MDA/kg y en el día 12, presentó 0.986 mg de MDA/kg a comparación del aceite esencial de hierbabuena que tuvo 0.452 y 1.517 MDA/kg en los mismos días de estudio. Del mismo modo en la evaluación del índice de peróxido, la hamburguesa con aceite esencial de romero al 1% presentó 2 meq O<sub>2</sub>/kg en el día 0 y 7,5 meq O<sub>2</sub>/kg en el día 12 y con el aceite esencial de hierbabuena 3.7 y 9.8 MDA/kg en el día 0 y 12 respectivamente. En la evaluación del análisis sensorial de la hamburguesa de carne de llama, el aceite esencial de romero al 1% afectó negativamente en la aceptación del olor (1.7 puntos) y sabor (1.6 puntos), mostrando una baja calificación a comparación de la muestra sin aceite esencial, en cambio en la evaluación de la textura y color la hamburguesa con aceite esencial de romero al 1% no presentó diferencia alguna con la hamburguesa sin aceite esencial. Con esto podemos concluir que el aceite esencial de romero y hierbabuena tienen un efecto protector contra la oxidación lipídica, un efecto antimicrobiano e influye negativamente en la calidad sensorial de la hamburguesa de carne de llama.

**Palabras Clave:** Aceite esencial, Actividad antioxidante, Actividad antimicrobiana y hamburguesa.

## I. INTRODUCCION

La vida útil de los productos de carne fresca es relativamente corta y prolongar esta vida útil se ha convertido en una necesidad. El problema latente que sufre la carne de llama durante su almacenamiento y conservación, es la descomposición debido al ataque microbiano, seguido por la degradación química por el alto contenido de proteínas, la oxidación de las grasas causada por el oxígeno atmosférico, lo que produce rancidez y olor desagradable en la carne, atribuyéndole al producto características indeseables de calidad. La conservación de los productos alimenticios sigue siendo hoy en día de vital importancia. La carne es un alimento muy perecible y como tal, dada su composición química exige para su conservación condiciones adecuadas, que le permitan ampliar su durabilidad (Varnan y Sutherland, 1998).

El aumento de la producción de carne de llama y Alpaca y la mejora de sus sistemas de mejoramiento representan la mejor estrategia para evitar la pobreza en poblaciones sudamericanas que viven en las zonas con temperaturas bajas. Además de este propósito humanitario, la alpaca y especialmente carne de llama son realmente requeridos por una parte importante de los consumidores procedentes de los países desarrollados, por el valor nutricional de estas carnes, debido a su reducida en grasa y colesterol, y también Porque la llama y la carne de alpaca es una fuente importante de proteína para la población andina (Pérez et al., 2000).

La producción de carne de llama en junio del 2015 fue de 163 toneladas a comparación de la producción en junio del 2016 que fue de 165 toneladas en la región de Puno de los cuales 28344 kg fueron beneficiados en camales (DRAP, 2016). Y con este aumento evidente de carne de llama, se busca hacer más investigaciones, para su producción y que valor agregado podemos darle, para que su consumo vaya en aumento, en nuestro País y para ello también debemos estudiar e indagar las formas de conservación a través de conservantes naturales, que están tomando más importancia a nivel mundial, así como los aceites esenciales ricos en antioxidantes, y con ello poder evitar los aditivos químicos, de los cuales cada vez se conocen más propiedades perjudiciales para la salud del ser humano. Con esta investigación se plantea estudiar el efecto de dos aceites esenciales en la conservación de la hamburguesa de carne de llama, para lo cual se planteó los siguientes objetivos específicos:

## Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de los aceites esenciales de Romero (*Rosmarinus officinalis L.*) y Hierba buena (*Mentha spicata*) en la carga microbiológica de la hamburguesa de carne de llama (*Lama glama*).
- Evaluar el efecto de los aceites esenciales de Romero (*Rosmarinus officinalis L.*) y Hierba buena (*Mentha spicata*) en la oxidación lipídica de la hamburguesa de carne de llama (*Lama glama*).
- Evaluación sensorial de hamburguesa de carne de llama con adición del aceite esencial con mejores propiedades antimicrobianas.

## II. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1. CARNE DE LLAMA (*Lama glama*)

La llama es el más común de los camélidos andinos, domesticados hace 4000-5000 años por los incas para su uso como animales de tracción y carne (Campero, 2005). Las llamas se adaptan a las áreas donde hay forraje grueso y los nutrientes son diluidos por carbohidratos estructurales que son difíciles de digerir (Sumar, 2010). La llama tiene un peso vivo maduro medio entre 75 (hembra) y 115 (macho) kg, variando según el genotipo y el sexo (Cardozo, 2007, Wurzinger *et al.*, 2005). Cristofanelli, Antonini, Torres, Polidori, & Renieri (2005) afirma que de los camélidos, la llama tiene méritos potenciales como fuente de carne (basada en evaluación de la carcasa y disección) en el altiplano andino, produciendo carcasas que son significativamente más grandes que las de las alpacas.

El consumo de la carne de llama es tradicional en la región andina, especialmente en Bolivia. El futuro desarrollo de la carne de llama es prometedor y ha sido exportado como carne exótica (Campero, 2005).

#### 2.1.1. Clasificación

La llama se encuentra dentro de la siguiente clasificación (Alvarez & Medellín 2005)

Reino: Animal

Sub reino: Eumetazoa

Clase: Mamíferos

Orden: Artiodáctilo

Familia : Camélido

Género: Lama

Especie: Glama

#### 2.1.2. Composición química de la carne de llama

La carne de llama es un fuente importante de nutrientes para la población andina (Pérez *et al.*, 2000), y tiene una alta biodisponibilidad hierro y zinc (3,26 y 4,44 mg /

100 g), casi el doble de la de otras fuentes de carne roja (Polidori *et al.*, 2007). Tanto la llama como la alpaca producen carne que tiene poca grasa (0,49-2,05%) y colesterol (51,1-56,29 mg / 100 g) en comparación con con otros animales de carne roja (Cristofanelli, Antonini, Torres, Polidori, & Renieri, 2004). Un menor contenido de grasa saturada y una mayor n-3 contenido de ácidos grasos que la carne de vacuno ha sido reportado (Coates & Ayerza, 2004).

### 2.1.3. Calidad de la carne

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

En términos generales, la composición de la carne se establece completamente durante la vida del animal, mientras que su calidad se ve fuertemente afectada por factores tanto ante mortem como post mortem (Gyesley, 1991). Todos los procesos que se producen tras el sacrificio son de gran importancia para los productos de calidad (Coma, 2008), porque la canal es mucho más susceptible que el animal vivo a tratamientos que puedan fomentar sus atributos de palatabilidad.

La calidad organoléptica o sensorial (Wal, 1991; Boccard, 1992), se puede definir como las características percibidas por los sentidos en el momento de la compra o del consumo, que influyen en la satisfacción sensorial (Sañudo, 2000). La caracterización de los factores determinantes de la calidad de la carne (Oliver *et al.*, 1990) está adquiriendo una importancia creciente, en gran parte debida al interés de los consumidores por adquirir productos de calidad controlada, lo que ha desembocado en el incremento de las denominaciones de origen o de los distintivos de calidad en los productos alimenticios, que aseguran unas condiciones de producción y obtención controladas por instituciones oficiales (García, 2000).

#### 2.1.4. Mecanismos de deterioro de la carne cruda y cocinada

La carne (principalmente la cruda) además de ser altamente susceptible a deterioro, también puede constituir un vehículo para la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) (Bhandare *et al.*, 2007; Podpečan *et al.*, 2007). Durante el sacrificio y procesamiento, todos los tejidos potencialmente comestibles pueden estar sujetos a contaminación por diversas fuentes, ya sea interna o externa al animal. En animales vivos, las superficies en contacto con el medio ambiente albergan una variedad de microorganismos, por lo que en muchas ocasiones los contaminantes se derivan de la piel del animal, o bien, de aquellos presentes en heces. Sin embargo, se ha determinado que las carnes procesadas son más susceptibles a contaminarse con microorganismos patógenos durante las diferentes etapas de su procesamiento (Datta *et al.*, 2012). La presencia de patógenos en la cadena de producción de un alimento, aún en bajos números, es indeseable y se considera como la mayor causa de enfermedades gastrointestinales alrededor del mundo (McDonald & Sun, 1999).

Para tratar de determinar la calidad microbiológica de la carne, frecuentemente se utiliza la búsqueda y cuantificación de microorganismos indicadores, los cuales, aunque pueden no ser patógenos, su presencia indica la probabilidad de que también pueden estar presentes microorganismos patógenos (Wolffs & Radstrom, 2006). Estas determinaciones incluyen la cuenta de bacterias mesofílicas viables totales (TVC por sus siglas en inglés, total viable count), coliformes totales, bacterias del grupo Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Streptococcus* fecales y *Aeromonas* (Algino *et al.*, 2009); aunque también se ha sugerido incluir en este rubro de indicadores a bacterias como *Listeria spp.*, enterococos y bifidobacterias (Dalcenserie *et al.*, 2008).

##### 2.1.4.1. Oxidación de la carne

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

La oxidación lipídica y la oxidación de los pigmentos se encuentran estrechamente relacionadas, ya que existe una significativa correspondencia entre la formación de MMb y la acumulación de productos de oxidación lipídica. Esta relación se puede producir porque los radicales libres producidos durante la oxidación lipídica actúan directamente como promotores de la oxidación hemínica y/o indirectamente alterando los sistemas de reducción de los pigmentos. Por otra parte, la oxidación de los pigmentos también puede actuar como catalizador de la oxidación lipídica (Andersen *et al.*, 1998; Gatellier *et al.*, 1995). La oxidación de lípidos se inicia con la sustracción de un radical hidrógeno de un grupo metileno alílico de un ácido graso insaturado, o bien por la adición de un radical a un doble enlace que reacciona rápidamente con oxígeno para formar un peroxiradical. El peroxiradical sustrae un hidrógeno de otra cadena de hidrocarburos, produciendo un hidroperóxido y un nuevo radical libre que puede perpetuar la reacción en cadena (Sánchez *et al.*, 2008).

#### 2.1.4.2. Deterioro microbiológico

Los alimentos de origen animal son fácilmente contaminados con microorganismos, los tipos de microorganismos que contaminan la carne y los productos al final del procesamiento pueden tener consecuencias importantes en el deterioro y la calidad de los mismos (Geornaras & Sofos, 2010). La contaminación microbiana de la carne es indeseable pero inevitable y depende de la calidad microbiológica de las canales utilizadas como materia prima. Las prácticas de higiene durante la manipulación, el tiempo y la temperatura de almacenamiento afectan de forma importante al crecimiento microbiano (Doyle & Buchanan, 2012.) En la carne se han encontrado varios cientos de especies de microorganismos. Estos microorganismos pueden dividirse en dos grupos generales, por una parte, los que son capaces de producir enfermedades en humanos, generalmente denominados patógenos, y por otra, la alteración de la carne conocidos como microorganismos alterantes (Monteville *et al.*, 2012). Como indicadores microbiológicos para evaluar la seguridad, las condiciones de saneamiento durante el procesamiento y mantenimiento de la calidad, se han utilizado microorganismos y distintos grupos microbianos entre los que se pueden destacar: mesófilos, psicrótrofos, coliformes, *Escherichia coli* y *estafilococos coagulasa* positivos (Alvarez *et al.*, 2002; Bermúdez & Rodríguez, 2001).

## 2.2. HAMBURGUESA

La hamburguesa es un preparado cárnico elaborado con carne picada a la que se le agrega sal, diversos condimentos y especias al gusto del elaborador (por este motivo existen una gran variedad en la composición de las hamburguesas), posteriormente la mezcla se amasa y se moldea, bien sea con la mano o con algún molde fabricado; para el proceso de moldeo se puede utilizar pan molido o film plástico para cubrir las superficies de la hamburguesa y evitar que la carne se pegue al molde, en las mesas o que las hamburguesas se adhieran entre ellas (Echeverri *et al.*, 2004).

La carne de hamburguesa es un producto que se elabora generalmente de res, de chanco o pollo, en los últimos tiempos se ha estado innovando con nuevos tipos de carne como por ejemplo la de pavo, conejo, sajino, venado, entre otros según sea su región. La formulación estándar de la hamburguesa puede ser cambiada al gusto del que la hace o según los requerimientos de los consumidores, siempre teniendo en cuenta que su conservación necesita de refrigeración y/o congelación, ya que de no ser guardada en la refrigeradora se tiene que consumir antes de las 24 horas de su preparación (Echeverri, 2004; Ramos *et al.*, 2009).

### 2.2.1. Composición de la hamburguesa

En la tabla 1 se muestra la composición química de la hamburguesa de carne cruda por cada 100 g de porción comestible. Se aprecia alto contenido en proteínas (14.0 g) y en grasa.

**Tabla 1:** Composición química de la hamburguesa de carne cruda.

Componente	Valor (en 100g comestible)
Humedad(g)	62.0
Proteínas(g)	14.0
Grasa total(g)	21.0
Fibra dietética(g)	0
Cenizas(g)	2.2

Fuente: Tor (2002)

### 2.3. ROMERO (*Rosmarinus officinalis L.*)

El romero es una planta perenne, leñosa y de porte arbustivo, con una vida media que varía entre 5 y 15 años. Puede alcanzar un tamaño de hasta 2 metros. Es una planta originaria de la región mediterránea, sobre todo de las áreas donde el suelo es especialmente seco, arenoso y rocoso. Se considera una planta autóctona de la Región de Murcia, tanto silvestre, como cultivada en secano. Es una especie termófila tolerante a la sequía, que crece en zonas soleadas, protegidas de vientos gélidos. Sus necesidades anuales de precipitación se encuentran entre 200 y 600 mm, presentando un crecimiento óptimo a partir de 350 mm (Correal & Sotomayor, 2001).

El uso del romero está fundamentalmente destinado a la extracción de aceites esenciales, proceso a partir del cual se genera un gran excedente de subproductos los cuales pueden ser utilizados en la industria alimentaria como fuente potencial de agentes antimicrobianos y antioxidantes naturales (Hagerman *et al.*, 1998).

Esta riqueza en compuestos polifenólicos del romero permite obtener extractos ricos en polifenoles hidrosolubles y liposolubles a partir de disolventes convencionales o fluidos supercríticos. La actividad antioxidante de los extractos de romero depende de su contenido en compuestos fenólicos, siendo más efectivos en sistemas lipídicos los extractos con mayor contenido en diterpenos fenólicos y mostrando el ácido rosmarínico la mayor actividad antioxidante en sistemas acuosos (Cuvelier *et al.*, 1996).

#### 2.3.1. Principios activos antioxidantes y antimicrobianos

El grupo de compuestos activos más importante por su potencialidad como conservantes es el de los polifenoles, entre los que destacan los diterpenos: ácido carnósico y carnosol, flavonoides: apigenina, genkwanina y luteolina, y ácidos fenólicos como el ácido rosmarínico, ácido cumárico y ácido gálico. Entre todos ellos, el ácido carnósico es el compuesto fenólico mayoritario y presenta actividades antimicrobiana y antioxidante en los productos cárnicos (Masuda *et al.*, 2001).

Los mayores responsables de la actividad antioxidante de los extractos liposolubles de romero son el ácido carnósico, compuesto mayoritario de tipo fenólico presente en las hojas de romero, y el carnosol, los cuales actúan como potentes secuestradores de radicales peroxilo y frente a la peroxidación de los lípidos de membrana.. Además del ácido rosmarínico, otros compuestos presentes en el romero

muestran también actividad antibacteriana, la cual, incluso sin llegar a ser tan notoria como la antioxidante, permite que su aceite esencial sea utilizado como agente antibacteriano y antifúngico. (Rezzoug *et al.*, 2005).

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

La adición de romero a distintos tipos de carne y productos cárnicos frescos tuvo efecto inhibitor del enranciamiento y del deterioro microbiológico, siendo el ácido carnósico el componente con mayor actividad antioxidante, mientras que el 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno y camphor son los compuestos antimicrobianos más activos. La adición de extracto de romero mejoró la estabilidad oxidativa en productos, como salchichas frescas de cerdo y hamburguesas de ternera (Georgantelis *et al.*, 2007). La adición de extractos de romero a hamburguesas de vacuno, en dosis de 1000 mg kg<sup>-1</sup> combinadas con dosis de 500 mg kg<sup>-1</sup> de ácido ascórbico, proporcionó valores de TBARS significativamente inferiores a los obtenidos, tanto para muestras control, como para hamburguesas tratadas con otros antioxidantes naturales (taurina y/o carnosina) (Sánchez *et al.*, 2003).

Además, la termorresistencia mostrada por el extracto de romero posibilita su uso como antioxidante en carnes precocinadas y en productos cárnicos cocidos, inhibiendo la aparición del aroma y sabor a recalentado. La adición de hojas secas de romero a albóndigas de cerdo retardaron la aparición del aroma a recalentado durante su almacenamiento en frío. Fernández *et al.* (2001) demostraron la efectividad del extracto de romero inhibiendo la peroxidación lipídica y la formación de sabores indeseables durante el cocinado y almacenamiento en carne de vacuno y de cerdo, respectivamente.

**Tabla 2:** Componentes y concentración de diferentes plantas con propiedades antioxidantes.

Nombre común de la planta	Nombre científico de la planta	Componente	Concentración máxima del componente en el aceite esencial (%)
Cilantro	<i>Coriandrum sativum</i>	Linalool	26
		E-2-decanal	20
		Trans-cinnamaldehído	65
Canela	<i>Cinnamomum zaylandicum</i>	Carvacrol	64
		Timol Terpineno	2-52
		Cymeno	52
		Pineno	2-25
		Acetato de bornil	0-17
		Canfor	2-14
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	1,8 Cineol	3-89
		Eugenol	75-85
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Acetato de eugenil	8-15
Clavo	<i>Syzygium aromaticum</i>	Timol	10-64
		Carvacrol	2-11
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Terpineno	2-31
		Cimeno	10-56

(Bauer *et al.*, 2001)

## 2.4 HIERBA BUENA (*Mentha spicata*)

En términos generales se puede considerar que el compuesto principal que se encuentra en el aceite esencial de *Mentha spicata* es la carvona con cerca del 66%, otros componentes menores que se pueden encontrar son (-) Limoneno, 1,8 cineol, linalol entre otros. Todos los compuestos mencionados anteriormente comparten características cercanas. A presión atmosférica normal, ebulen junto a agua en el rango de 99.4°C y 99.6°, tienen calores de vaporización entre 85.3 y 88.0 cal/g (Hoffman, 2005).

### 2.4.1. Composición química de la hierba buena (*Mentha spicata*)

La composición química de las hojas de hierba buena y de su aceite varían con la naturaleza de la planta, variedad, región geográfica y condiciones de procesamiento. McKay & Jeffrey (2006) afirma que el contenido de polifenoles totales de hojas en hierbabuena es de aproximadamente 19-23 por ciento (flavonoides 12 por ciento), que

incluye 59-67 por ciento eriocitrina y ácido rosmarínico, 7-12 por ciento luteolina 7-Orutinósido, 6-10 por ciento hesperidina.

**Tabla 3:** Compuestos fenólicos encontrados en la Hierba buena (*Mentha spicata*).

Compuesto	%(Min- Max)	Compuesto	%(Mi n- Max)	Compuesto	%(Min- Max)
Isovaleraldehido	0-0,1	p-cimeno	0-0,4	Hidrato de cis-sabineno	0-0,1
Alfa pineno	0,2-0,9	Terpinoleno	0-0,4	Beta- cariofileno	0-1,9
Alfa tujeno	0-0,7	Acetato de 3 octilo	0-0,4	Terpinen-4-ol	0-1,4
Trans-2,5- dietiltetrahidrofurano	0-0,1	(z)-3-hexenol	0-0,1	Cis- dihidricarvon	0-2,5
Sabineno	0-0,5	1-octen-3-ol	0-1,5	Carvomenton a	0-1,9
Mirceno	1,5-4,4	Mentona	0-0,9	Trans- dehidrocarvo	0-0,2
Alfa terpineno	0-0,2	Hidrato de trans-sabineno	0-1,2	Gama- muuroleno	0-0,4
Beta pineno	0,7-0,8	3-octanol	0,4- 2,2	(E)-beta- farneseno	0-0,7

Brahmi *et al.*,(2015)

## 2.5. ACEITES ESENCIALES

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

Los compuestos bioactivos, también conocidos como fitoquímicos o fitonutrientes, son sustancias biológicamente activas que suelen estar presentes en los alimentos de origen vegetal. Son metabolitos secundarios que se encuentran extensamente distribuidos por todas las plantas superiores, donde intervienen en funciones fisiológicas tan diversas como el crecimiento, la reproducción y los procesos

defensivos frente a patógenos, predadores o radiación ultravioleta. Los compuestos bioactivos con actividad antioxidante son útiles durante el procesado y almacenamiento de los alimentos debido a que la auto-oxidación de los lípidos genera radicales libres, consiguiéndose retardar los procesos oxidativos y mejorar la calidad nutricional de los alimentos mediante su empleo como potenciales agentes conservantes (Urquiaga & Leighton, 2000). Al interior de la célula también puede estar condicionado por la propia estructura estereoespacial de la molécula tipo y la disposición de sus sustituyentes (Lancon *et al.*, 2004).

Diversos estudios realizados en carne y derivados en fresco, han evidenciado la capacidad de las catequinas y teflavinas del té para retrasar e inhibir las reacciones de autooxidación, gracias a su magnífica actividad de captación de radicales. Otros trabajos han puesto de manifiesto el poder antioxidante de orégano seco y su aceite esencial en carne de pollo cruda y cocinada, así como en carne de pavo. Las hojas secas, flores, extractos y aceite esencial de orégano han sido investigados al añadirlos en varios sistemas alimentarios, manteca de cerdo y aceite de caballa. También se han realizado estudios añadiendo vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol de forma exógena a la carne de cerdo, observándose una disminución de los procesos de oxidación, sin embargo, la efectividad del  $\alpha$ -tocoferol disminuye considerablemente cuando se administra de forma exógena, ya que la adición directa de  $\alpha$ -tocoferol a la carne no asegura que éste llegue a integrarse en las membranas musculares, las cuales tienen un papel fundamental en la estabilidad de lípidos y pigmentos, perdiendo efectividad y limitando su aplicación como aditivo en la industria cárnica (Mitsumoto *et al.*, 2005).

La mayoría de los compuestos con potencial actividad antioxidante y/o antimicrobiana presentes en la naturaleza se encuentran en las plantas, si bien existen otros de origen animal, como por ejemplo, el quitosano, con aptitudes para ser utilizados como conservantes naturales en carne (Serrano & Bañón, 2012). El quitosano es una forma desacetilada de la quitina, polisacárido que se encuentra en el caparazón de cangrejos y langostinos. Es capaz de causar importantes alteraciones estructurales y funcionales en los microorganismos, imposibilitando su supervivencia, y capaz de captar y eliminar los radicales libres de la carne e inhibir mediante quelación la actividad catalítica de los iones de hierro (Georgantelis *et al.*, 2007).

La adición directa de conservantes naturales a la carne permite realizar una dosificación exacta, rápida y económica, además, puede servir para modificar el valor nutritivo de los productos cárnicos pasando a desempeñar una función de ingrediente (Fernández *et al.*, 2001). Sus principales inconvenientes suelen ser su reducido espectro de actividad y sus limitaciones sensoriales, ya que, en algunos casos, los ingredientes naturales pueden modificar las propiedades organolépticas del alimento, aportando características de aspecto, olor y/o sabor anómalos e indeseables a la carne (Zhou *et al.*, 2010).

### **2.5.1. Extracción de aceite esencial por destilación por arrastre de vapor**

En la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por este y otros “no volátiles”. Lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, denominándose este “vapor de arrastre”, pero en realidad su función no es la de arrastrar el componente volátil, sino condensarse formando otra fase inmisible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación (Martínez, 2003).

La destilación por arrastre de vapor es un método sencillo y de bajo costo, pero su inconveniente es que requiere largos periodos de tiempo y tiene rendimientos bajos en comparación con otros métodos (Sefidkon *et al.*, 2006; Guan *et al.*, 2007; Da Porto *et al.*, 2009).

## **2.6 MÉTODOS PARA EVALUAR LA CALIDAD DE LA CARNE CRUDA Y COCINADA**

### **2.6.1. Químicos**

- Índice de peróxidos.

Es una técnica que se emplea para determinar la oxidación inicial de los productos cárnicos. Los radicales hidroperóxidos (peróxidos) son compuestos primarios resultantes de la oxidación lipídica. Mediante este método se les hace reaccionar con yoduro potásico, dándose lugar a la liberación de yodo. La cantidad liberada de éste se valora posteriormente con tiosulfato de sodio. El resultado de esta técnica se expresa como miliequivalentes de oxígeno activo contenidos en un kilogramo de materia grasa

de muestra. El valor depende del grado de insaturación de la grasa y del tratamiento tecnológico al cual ha sido sometida la muestra. (López-Bote, Gray, Gomaa & Flegal, 1998)

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

Contenido de TBARS, que refleja el contenido de malonaldehído, de los productos de degradación de hidroperóxidos y peróxidos lipídicos formado durante la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados (Gomes, Silva, Nascimento, & Fukuma, 2003), es ampliamente utilizado como indicador del grado de oxidación lipídica y se considera una calidad importante de los productos carnicos (Tang, *et al.*, 2001). Aunque el ensayo TBARS es sensible y ampliamente utilizado, no es específica en altas condiciones oxidativas, el TBARS reacciona con un número de componentes como los productos de descomposición de aldehídos compuestos volátiles, que están presentes en la los productos cárnicos al final del almacenamiento. Al evaluar la estabilidad oxidativa de la carne y los productos cárnicos se observa un incremento de las TBARS conforme aumenta el tiempo de almacenamiento hasta alcanzar un valor máximo, a partir del cual, los valores comienzan a disminuir debido a la reactividad del MDA frente a los grupos amino de aminoácidos y de moléculas de ADN, por otro lado los valores de TBARS tienen relación con la intensidad de olor y flavor desagradable en carnes frescas y cocinadas, es por ello que este método se utiliza en numerosos trabajos para estudiar los cambios oxidativos acontecidos durante el almacenamiento (Kerry *et al.*, 2000; Andreo, Garro & Judis, 2001).

### 2.6.2. Microbiológicos

La presencia de agentes patógenos en los productos de origen animal representa un riesgo para la salud pública razón por la cual, en la actualidad, no solo basta con producir la cantidad de proteína necesaria para alimentar a una población cada vez más numerosa, sino que además es indispensable que esos alimentos sean totalmente sanos para los consumidores (Molero *et al.*, 2006). Las canales y cortes de carne pueden contaminarse debido a agentes físicos, químicos y biológicos en cualquier punto de la cadena productiva, por lo que deben establecerse controles y aplicar las buenas prácticas de manufactura (Mossel, 2003). La carne que es procesada o manipulada inadecuadamente, puede ser una importante fuente de infecciones o de intoxicaciones

alimentarias. Los agentes biológicos más comunes de ETAs en las carnes frescas son *Salmonella sp*, *Stafilococcus aureus*, *Clostridium perfringens* y *E. coli* O157:H7 (Dykes, 2004).

### **Bacterias mesófilas**

Se considera como “Patógeno Universal” debido a que cuenta con mecanismos de adaptación a diversas condiciones ambientales y por tanto posee una amplia distribución en el medio (Koneman, 2008; Vadillo *et al.*, 2002). Se identifican dos tipos de Salmonelosis humanas: las debidas a serotipos estrictamente humanos, que causan síndromes tifoideos con presencia de bacterias en sangre, y las ocasionadas por serotipos ubicuos, que provocan diarrea, vómitos y fiebre (Mossel, 2003; Kammenou *et al.*, 2003; Siriken, 2004). *Salmonella spp.*, es responsable de un amplio número de manifestaciones clínicas en los seres humanos como fiebres entéricas, gastroenteritis, bacteriemia, infecciones localizadas y estado de portador crónico. Se transmite por la ingesta de microorganismos presentes en alimentos provenientes de animales infectados, o contaminados con las heces de un animal o persona infectada (Jay, 2002).

### ***Escherichia coli***

Pertenece a la flora normal del intestino humano, de ésta se conocen hasta el momento seis serotipos que pueden ser patógenos y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea, síndrome urémico hemolítico, colitis hemorrágica y cuadros de disentería (Cicuti *et al.*, 2006). Este microorganismo se clasifica en base al grado de patogenicidad y manifestaciones clínicas en: enterotoxigénica (ETEC), y de adherencia difusa (DAEC) (Mossel, 2003), (Dykes, 2004), (Cobbaut *et al.*, 2009), (Gallegos *et al.*, 2009).

### **2.6.3. Sensoriales**

Las pruebas empleadas para evaluar la preferencia, aceptabilidad o grado en que gusta un producto se conocen como "pruebas cuantitativas de consumo" o pruebas orientadas al consumidor (POC), ya que se llevan a cabo con paneles de consumidores no entrenados (Mora *et al.*, 2006).

Existen tres dimensiones básicas en este tipo de investigación:

a) Sensorial o hedónica.

- b) Conveniencia (facilidad para comprar, transportar, conservar, etc.).
- c) Beneficios del producto relacionados con la salud.

Las pruebas de preferencia y aceptación son las más conocidas (Lawless y Heymann, 2010), se usan indistintamente, pero son dos métodos distintos. En las pruebas de preferencia, a los consumidores se les solicita que indiquen cuál es la muestra de su preferencia. Mientras que en las pruebas de aceptación a los consumidores se presentan los productos y se les pidió que indiquen su nivel de agrado en una escala (Drake, 2007). Como se conoce, la calidad sensorial de un alimento no es una característica propia de este, sino es el resultado de la interacción alimento-hombre y se puede definir como la sensación humana provocada por determinados estímulos procedentes del alimento; que depende no sólo de la clase e intensidad del estímulo, sino también de las condiciones del ser humano. (O'Mahony & Rousseau, 2002; Lee *et al.*, 2007).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La determinación del efecto de los aceites esenciales de Romero (*Rosmarinus officinalis L.*) y Hierba buena (*Mentha spicata*) en la hamburguesa de carne de llama (*Lama glama*) se hizo en el laboratorio de Evaluación Nutricional, Laboratorio de Carnes y en el Laboratorio de Análisis Microbiológico de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA-PUNO.

#### 3.2 MATERIA PRIMA

La materia prima utilizada fue carne de llama (*Lama glama*), que se obtuvo de la provincia de Ilave de 1 año y medio de edad, que fue beneficiado en el Centro de beneficio cárnico Ilave.

#### 3.3. EQUIPOS Y MATERIALES

##### 3.3.1. Reactivos químicos

- Agar Plate count (APC), compuesto por: Triptona 5.0g/L, Dextrosa 1.0g/L, extracto de levadura 2.5g/L, Agar 12.0 g/L
- Agar Salmonella Shigella (SS), compuesto por: Extracto de carne 7.5g/L, peptona 9.0g/L, Lactosa 10.0g/L, Tiosulfato de sodio 2.0g/L, Citrato férrico de amonio 2.0g/L, Sales biliares 1.0 g/L, Citrato de trisodio 5.0 g/L, Rojo neutral 0.025 g/L, Agar 14.0 g/L.
- Agar Manitol salado (MSA), compuesto por: D-manitol, 10.0g/L, extracto de carne 1.0g/L, peptona 10.0g/L, Fenol rojo 0.025g/L, Cloruro de sodio 75.0g/L.
- Verde Brillante Bilis 2% (Caldo brilla), compuesto por Extracto de levadura 3,0g, peptona de proteosa bacto 10g, Lactosa 10g, Sacarosa 10g, Cloruro sódico 5g, rojo fenol 0.08g, agar 20g, verde brillante 12.5mg.
- Agua destilada.
- Solución de fenoltaleina 2%, PM: 318.327 g/mol
- Hidróxido de sodio 0.1N. MERCK

- Acido 2-tiobarbiturico, MERCK d:210 kg/m<sup>3</sup>, pH 1.7 - 1.9 (10 g/l, H<sub>2</sub>O, 20 °C).
- Ácido clorhídrico 4N.MERCK Concentración HCl en % m/m 31.5 Mín., Sustancias oxidantes como Cl<sub>2</sub> en mg/kg 50 Máx, Densidad a 20 °C en g/ml 1.155 Mín.
- Ácido sulfúrico 1N. PANREAC d: 1.84 g/cm<sup>3</sup> (20 °C), pH: 0.3 (49 g/l, H<sub>2</sub>O, 25 °C)
- Metanol al 99%. d: 0.792 g/cm<sup>3</sup> (20 °C), punto de inflamabilidad de 10°C, punto de ebullición es 64.5 °C (1013 hPa).

### 3.3.2. Materiales de laboratorio

- Placas Petri PIREX.
- Pipetas de 1,5 y 10ml.
- Matraz de 300, 500 y 1000 ml.
- Tubos de ensayo de 20, 50 y 100ml.
- Espatula de drigalsky.
- Gradillas de plástico capacidad de 60 tubos.
- Probetas 10, 50, 100 y 250ml.
- Fiolas de 20, 50 y 100 ml.
- Vasos precipitados 10, 250 y 500 ml PIREX.
- Tripode metal hierro.
- Crisoles de porcelana.
- Embudos de 100 y 200 ml.
- Mortero y pilón.
- Cuenta gotas.
- Mechero de Bunsen.

- Soporte universal.
- Papel aluminio.
- Pinzas de aluminio.
- Pabilo.
- Papel Kraft.
- Bandejas de espuma de poliestireno.
- Film plástico.

### **3.3.3. Equipos de laboratorio y materiales para el proceso**

- Autoclave modelo LS-BSOL-II, volumen de 50L.
- Espectrofotometro modelo 4802 UV/VIS, marca UNICOR.
- Equipo de destilación por arrastre de vapor.
- Equipo SOXHLET modelo SER 148, marca VELP.
- Equipo KJEDHAL modelo RS-1, marca SELECTA.
- Balanza electrónica ACCULAB SARTORIUSB sensible al 0,0001 g.
- Balanza analítica a precisión marca AND FR-300 Japon, capacidad de 0,0001 a 310g.
- Cuenta colonias marca LIGHTBOX.
- Mufla 0 a 600°C marca LABPOR.

### 3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El presente trabajo se realizó en tres etapas correspondientes a los tres objetivos específicos:

- En la primera etapa se evaluó el análisis microbiológico de las hamburguesas de carne de llama con aceite esencial de romero y hierba buena.
- En la segunda etapa se evaluó la oxidación (Índice de TBARS e Índice de peróxidos) en hamburguesas con aceite esencial de romero y hierba buena.
- En la tercera etapa se evaluó el análisis sensorial de la hamburguesa con mejor actividad antimicrobiana.

#### 3.4.1. Evaluación del análisis microbiológico en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero y hierba buena.

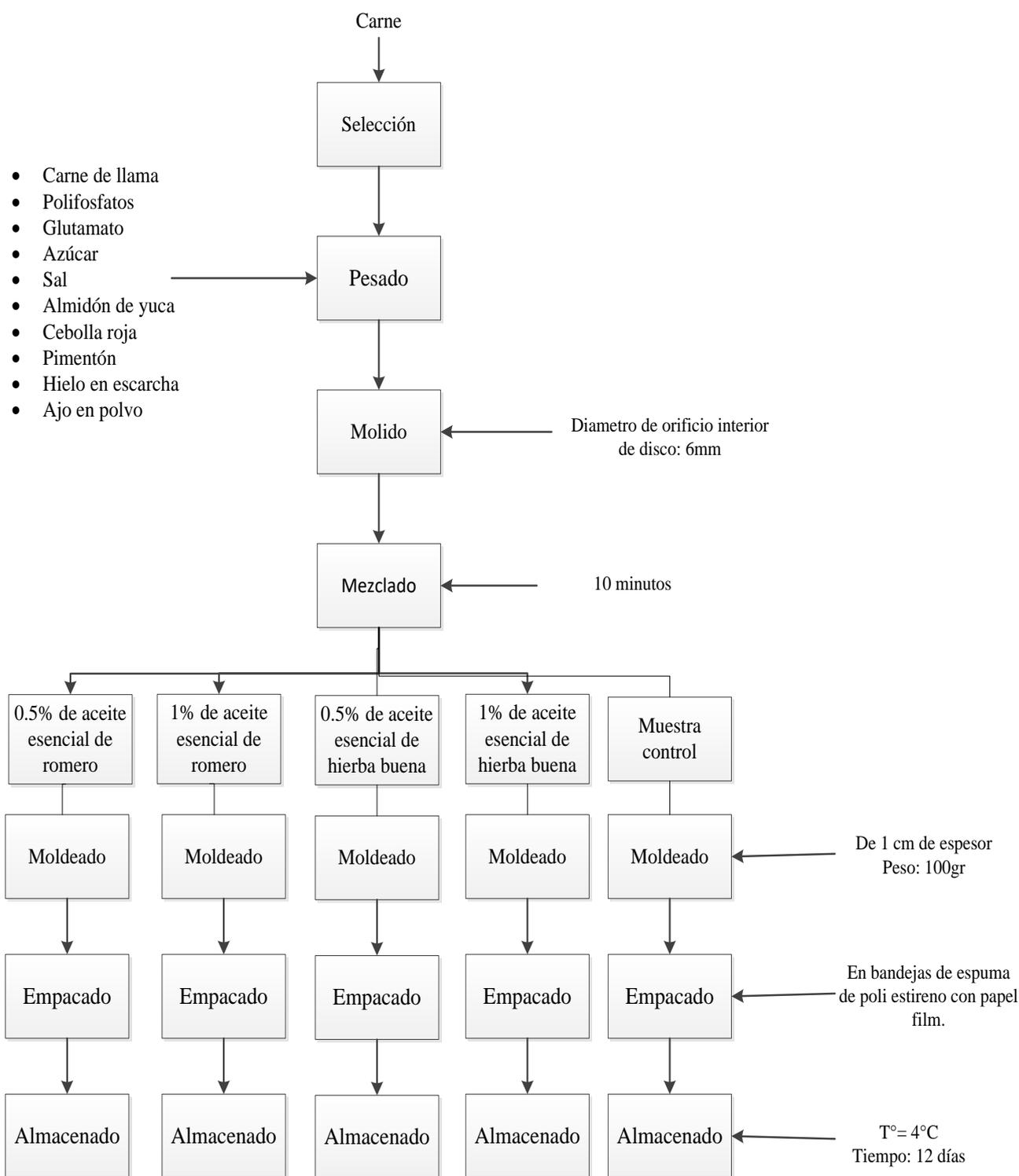
Durante esta etapa se evaluaron hamburguesas de carne de llama con 0.5% y 1% de aceite esencial de romero y hierba buena, y una muestra control como se muestra en la figura 1, en donde se hizo un recuento de aerobios mesófilos, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* y *E. coli.* según Yousef & Carlstrom (2006). durante 0, 3, 6, 9 y 12 días de almacenamiento a 4°C.

#### 3.4.2. Evaluación de la oxidación lipídica en hamburguesas de carne de llama con aceite esencial de romero y hierba buena.

En esta etapa se evaluaron el índice de TBARS según Hernández *et al.* (2008) e índice de peróxidos en hamburguesas de carne de llama mediante el método establecido por AOCS Cd 8b-90, expresando los valores como miliequivalentes de O<sub>2</sub> / Kg con 0.5% y 1% de aceite esencial de romero y hierba buena, y una muestra control durante 0, 9 y 12 días de almacenamiento a 4°C.

#### 3.4.3. Evaluación sensorial de la hamburguesa de carne de llama.

En esta etapa se evaluó el análisis sensorial teniendo como indicadores el color, olor, sabor y textura en 20 jueces (Cordero, 2014), pertenecientes a la escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial. Se aplicó una cartilla con una escala hedónica de 5 puntos (Lawless & Heymann, 2010).



**Figura 1:** Diagrama de flujo de la elaboración de hamburguesa de carne de llama

Para la elaboración de hamburguesas de carne de llama se siguieron los siguientes pasos:

- De la carne: La carne de llama que se utilizó se dejó la grasa que tenía.
- Selección: Se seleccionó la carne magra, libre de tendones y ligamentos.
- Pesado: Se pesó la carne de acuerdo con formulación. Se pesó los demás ingredientes, como se muestra en la Tabla 4.
- Picado: Se picó por separado la carne y la grasa a un tamaño que permita introducirlos fácilmente a la tolva del molino.
- Molido: Se hizo la molienda de la carne, con el disco de orificios grandes
- Mezclado: En un recipiente plástico de fondo hondo, se mezcló la carne, la grasa y los ingredientes, masajeando fuertemente hasta que todo se haya distribuido uniformemente.

**Tabla 4:** Formulación de hamburguesa de carne de llama.

INGREDIENTES	FORMULACIÓN (g)
Carne de llama	1153
Polifosfatos	2.0
Glutamato	2.31
Azúcar	6.93
Sal	53.3
Almidón de yuca	127.07
Cebolla roja	103.95
Pimentón	62.37
Hielo en escarcha	415.8
Ajo en polvo	23.1
Aceite esencial de romero	0.5 y 1%
Aceite esencial de hierba buena	0.5 y 1%

Fuente: (Rodriguez *et al.*, 2006)

- Moldeado: Para darle forma a la hamburguesa, se humedecieron las manos para facilitar esta operación. El peso promedio de las hamburguesas es de 100

gramos. Se utilizó plástico cortado en cuadros de 15 por 15 centímetros, los cuales sirvieron para separar las hamburguesas una de otra.

- Empacado: Se empaco en bandejas de espuma de poliestireno con film plástico.
- Almacenado: Las hamburguesas una vez armadas y envasadas se refrigeraron a 4°C.

### 3.5. METODOS DE ANALISIS

#### 3.5.1. Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos fueron llevados a cabo bajo la metodología descrita por (Yousef & Carlstrom, 2006).

##### a) Procedimiento para el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos

- Preparación de diluciones

Se pesaron en un vaso previamente tarado, 1 +/-0.1 gramos representativos de hamburguesa de carne de llama, seguidamente se añadió un volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (9ml), homogenizándolo en la licuadora y finalmente se obtuvo una dilución  $10^{-1}$ . Luego se tomó 1 ml del homogenizado y se colocó en un tubo con 9ml de diluyente, obteniéndose así la dilución  $10^{-2}$ , prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

- Siembra

Se pipetearon alícuotas de 1ml de las diluciones  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , sobre placas Agar Plate Count previamente temperada. Seguidamente se mezclaron las alícuotas con el agar, mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a 35-37°C durante 48 horas.

- Conteo de colonias

Transcurridas 48 horas de incubación se procedió al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo de muestra.

**b) Procedimiento para el recuento de *Staphylococcus aureus***

## Preparación de diluciones

Se pesaron en un vaso previamente tarado,  $1 \pm 0,1$  gramos representativos de hamburguesa de carne de llama, seguidamente se añadió un volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (9ml), homogenizándolo en la licuadora y finalmente se obtuvo una dilución  $10^{-1}$ . Luego se tomó 1ml de homogenizado y se colocó en un tubo con 9ml de diluyente, obteniéndose así la dilución  $10^{-2}$ , prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

## Siembra

Se pipetearon alícuotas de 1ml de las diluciones  $10^3$  y  $10^{-4}$ , sobre placas Agar Manitol Salt Phenol previamente temperadas. Seguidamente se mezclaron las alícuotas con el agar, mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a  $37 \pm 1$  °C durante 72 horas

## Conteo de colonias

Transcurridas 72 horas de incubación se procedió al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo de muestra.

**c) Procedimiento para la determinación de *Escherichia coli*.**

## Preparación de diluciones

Se pesaron en un vaso previamente tarado  $1 \pm 0.1$  gr representativos de hamburguesa de carne de llama, seguidamente se añadió 1volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra ( 9ml), homogenizándolo hasta conseguir 15.000 a 20.000 revoluciones en la licuadora y finalmente se obtuvo una dilución de  $10^{-1}$ . Luego se tomó 1ml del homogenizado y se colocó en un tubo con 9ml de diluyente obteniéndose así la dilución de  $10^{-2}$ , prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

## Procedimiento de prueba presuntiva

Se pipeteo 1ml de cada dilución decimal de la muestra, a cada uno de los tres tubos conteniendo caldo verde brillante- BRILLA 2% ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ ) para incubarlos a 35-

37°C por 24 horas. Después de este periodo, se seleccionaron los tubos gas- positivos para continuar con el procedimiento de determinación de bacterias coliformes de origen fecal.

#### Procedimiento de prueba confirmativa

A partir de los tubos de caldo brillante- brilla positivos, se realizó la prueba confirmativa usando 1ml de la muestra positiva en un tubo del mismo caldo verde brillante brilla. A continuación se incubó a 44.5°C durante 24 horas concluido el tiempo se observó si hay tubos de caldo verde brillante brilla positivos( gas), se añadió 0.2 ml de reactivo de KOVACS en los tubos de caldo brilla brillante. La aparición de color rojo en la parte superficial del cultivo indica que es positivo para la presencia de *E. coli*. La confirmación se sembró en agar EMB que se incubó por 24 horas a 37°C . Las colonias de *E. Coli* son de 2-3 mm de diámetro de color oscuro y con un brillo verde metálico muy característico en agar EMB.

#### **d) Procedimiento para la determinación de *Salmonella sp.***

##### Preparación de diluciones

Se pesaron en un vaso previamente tarado, 25 +/-0.1 gr representativos de hamburguesa de carne de llama, seguidamente se añadió 1 volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (225 ml), homogenizándolo en la licuadora y finalmente se obtuvo una dilución de  $10^{-1}$  . Luego se tomó 1ml de homogenizado y se colocó en un tubo con 9 ml de diluyente, obteniéndose así la dilución  $10^{-2}$ , prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

##### Siembra

Se pipetearon alícuotas de 1ml de las diluciones  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , sobre placas SS Agar previamente temperadas. Seguidamente se mezclaron las alícuotas con el agar mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a 35°C durante 72 horas.

Conteo de colonias Transcurridas 72 horas de incubación se procedió al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo de muestra

### 3.5.2. Determinación del índice de Peróxido

El método para la determinación de los peróxidos lipídicos es el “Índice de peróxidos volumétrico” AOAC 965.33. Se tomó una muestra seca en un vaso precipitado y se añadió un aproximado de 30 ml de éter de petróleo y se dejó reposar por un tiempo de 5 minutos, luego se filtró en un Erlenmeyer de 150 ml, después se añadió 30 ml de cloroformo más ácido acético, y se dejó en reposo por dos minutos para añadir agua destilada 50 ml y 5 ml de yoduro de potasio, y se agito.

Se dejó en reposo por 20 minutos en un lugar oscuro y se añadió 1ml almidón al 1% luego agitar. Después se tituló con tiosulfato de sodio 0.01N (tiene que tornar un color amarillo y después cristalino) y se midió el gasto (AOAC, 2005)

Valor de peróxido

$$\frac{meq}{kg} = \frac{(A - B) \times f \times 1000}{w}$$

A= Gasto de la muestra

B= Blanco

F= Normalidad de tiosulfato de sodio 0.01 N

W= peso de muestra

### 3.5.3. Evaluación del índice de TBARS

El grado de oxidación (sustancias que reaccionan con ácido 2-tiobarbitúrico, TBARS) se analizaron según lo informado por Hernández *et al.* (1994). Una muestra de 10 g se mezcló con 50ml de agua destilada a 50°C durante 2 min en una licuadora doméstica luego la muestra se transfirió a un matraz de destilación en donde se mezcló con 47.5 ml de agua destilada y 2.5 ml de HCl. Se destiló aproximadamente 50 ml y se transfirieron a un tubo de ensayo luego se añadió 5ml de ácido 2-tiobarbiturico (TBA)(0.2883g/100 ml de ácido acético al 90%). El control fue 5ml de agua. Los tubos se cerraron herméticamente, se agitaron y se colocaron en un baño de agua en ebullición por 35 min, y se enfrió en un baño de hielo durante 10 min. Finalmente, la absorbancia se midió a 530 nm en un espectrofotómetro (Beckman DU - 650). Los valores de TBARS fueron obtenidos por la siguiente ecuación:

$$\text{TBAR}(\text{mg malonaldeido/kg de muestra}) = 7D$$

Dónde:

D= Absorbancia a 530 nm

#### **3.5.4. Evaluación del análisis sensorial**

La evaluación sensorial se llevó a cabo a través de la aplicación de una prueba aceptación mediante una escala hedónica de 5 puntos. A través de estas prueba se conoció la opinión del juez respecto al producto analizado (Hleap & Molina, 2008).

El proceso se desarrolló con la participación de 20 jueces escogidos al azar (Cordero, 2014), de una población perteneciente a la comunidad de estudiantes de la Universidad Nacional del Altiplano, escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial. Esto se realizó con el fin de obtener una información de aceptabilidad por parte del consumidor final.

Con el fin de no alterar las apreciaciones por afecto del hambre o saciedad, el horario de la degustacion se hizo en horas de la mañana de 10 a 11 am. Para la degustación las hamburguesas fueron asadas en una parrilla y con el fin de propiciar una mejor presentación se cortaron en trozos pequeños proporcionalmente uniformes. En el desarrollo de la prueba de grado de satisfacción, se brindó a los consumidores las dos muestras de hamburguesas en orden y se buscó conocer su grado de aceptabilidad a través de una encuesta que incluyo una escala hedónica de cinco puntos, la cual abarco desde “excelente “asociado al número 5, hasta “Malo” correspondiente al número 1, según Lawless & Heymann (2010), con algunas modificaciones. La evaluación sensorial se realizó utilizando la cartilla de evaluación sensorial con una prueba de escala hedónica. Todas las características sensoriales fueron evaluadas por jueces consumidores quienes, llevaron una hoja de evaluación de acuerdo al siguiente puntaje de calificación

**Tabla 5:** Escala de calificación para el análisis sensorial de la hamburguesa de carne de llama.

PUNTAJE	CALIFICACION
5	Excelente
4	Muy bueno
3	Bueno
2	Regular
1	Malo

### 3.6. ANALISIS ESTADISTICO

#### 3.6.1. Evaluación del análisis microbiológico.

Se evaluó el análisis microbiológico de las hamburguesas de carne de llama con aceite esencial de Romero y Hierba buena, con tres concentraciones ( 0%, 0,5% y 1%) en hamburguesas de carne de llama durante 12 días de almacenamiento (0,3,6,9,12) a 4°C. usando un DCA (diseño completo al azar) con un arreglo factorial de 3x5x3(concentraciones, días, repeticiones) realizado para las hamburguesas con los dos aceites esenciales por separado , para lo cual las variables de estudio son:

#### Variables de Estudio para la hamburguesa con A.E.R.

##### o Muestras

Hamburguesas con aceite esencial de Romero ( 0%, 0,5% y 1%)

##### o Tiempos de almacenamiento

0 días

3 días

6 días

9 días

12 días

#### Variables de respuesta

- Aerobios mesófilos *ufc/g*
- *Staphylococcus aureus* *ufc/g*
- *E.coli* *ufc/g*
- *Salmonella sp.* *ufc/g*

Para la comparación se utilizó una prueba Tukey con un 95% de nivel de confianza

### **Variables de Estudio para la hamburguesa con A.E.H.**

#### **o Muestras**

Hamburguesas con aceite esencial de Hierba buena ( 0%, 0,5% y 1%)

#### **o Tiempos de almacenamiento**

0 días

3 días

6 días

9 días

12 días

#### **Variables de respuesta**

- Aerobios mesófilos ufc/g
- *Staphylococcus aureus* ufc/g
- *E.coli* ufc/g
- *Salmonella sp.* ufc/g

Para la comparación se utilizó una prueba Tukey con un 95% de nivel de confianza

### **3.6.2 Evaluación de la oxidación lipídica.**

#### **Evaluación del Índice de TBARS**

Se evaluó el índice de TBARS del aceite esencial de Romero y Hierba buena en tres concentraciones ( 0%, 0,5% y 1%) en hamburguesas de carne de llama durante 12 días de almacenamiento (0, 6 y 12) a 4°C. usando un DCA (diseño completo al azar) con un arreglo factorial de 3x3x3(concentraciones, días, repeticiones) realizado para las hamburguesas con los dos aceites esenciales.

### **Variables de Estudio para las hamburguesas con A.E.R.**

#### **o Muestras**

Hamburguesas con aceite esencial de Romero (0%, 0,5% y 1%)

#### **o Tiempos de almacenamiento**

0 días

6 días

12 días

#### **Variables de respuesta**

- Índice de TBARS (mg de malonaldehído/ kg de muestra)

Para la comparación se utilizó una prueba Tukey con un 95% de nivel de confianza

#### **Variables de Estudio para las hamburguesas con A.E.H.**

##### **o Muestras**

Hamburguesas con aceite esencial de Hierba buena (0%, 0,5% y 1%)

##### **o Tiempos de almacenamiento**

0 días

6 días

12 días

#### **Variables de respuesta**

- Índice de TBARS (mg de malonaldehído/ kg de muestra)

Para la comparación se utilizó una prueba Tukey con un 95% de nivel de confianza

#### **Evaluación del índice de peróxidos.**

Se evaluó el índice de peróxidos del aceite esencial de Romero y Hierba buena en tres concentraciones (0%, 0,5% y 1%) en hamburguesas de carne de llama durante 12 días de almacenamiento (0, 6 y 12) a 4°C. usando un DCA (diseño completo al azar) con un arreglo factorial de 3x3x3(repeticiones) realizado para las hamburguesas con los dos aceites esenciales.

#### **Variables de Estudio para las hamburguesas con A.E.R.**

##### **o Muestras**

Hamburguesas con aceite esencial de Romero (0%, 0,5% y 1%)

##### **o Tiempos de almacenamiento**

0 días

6 días

12 días

#### **Variables de respuesta**

- Índice de peróxidos( meq O<sub>2</sub>/ Kg)

Para la comparación se utilizó una prueba Tukey con un 95% de nivel de confianza

**Variables de Estudio para las hamburguesas con A.E.H.****o Muestras**

Hamburguesas con aceite esencial de Hierba buena (0%, 0,5% y 1%)

**o Tiempos de almacenamiento**

0 días

6 días

12 días

**Variables de respuesta**

- Índice de peróxidos( meq O<sub>2</sub>/ Kg)

Para la comparación se utiliza una prueba Tukey con un 95% de nivel de confianza

**3.6.4 Evaluación sensorial.**

Se realizó la evaluación sensorial (color, olor, sabor y textura) de las hamburguesas con aceite esencial de Romero al 1%, ya que este aceite esencial tubo mejor efecto antimicrobiano, y una muestra control, para ver el efecto del aceite esencial de romero en la aceptabilidad la hamburguesa de carne de llama, se usó un DCA (diseño completo al azar) con un arreglo factorial de 2x20x3(muestras, jueces, repeticiones)

**Variables de Estudio****o Muestras**

Hamburguesas con aceite esencial de Romero (0%, 1%)

**Variables de respuesta**

- Color
- Olor
- Sabor
- Textura

Para la comparación se utilizó una prueba Tukey con un 95% de nivel de confianza. Todos los datos se procesaron con el programa Statgraphics Centurion XVI.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

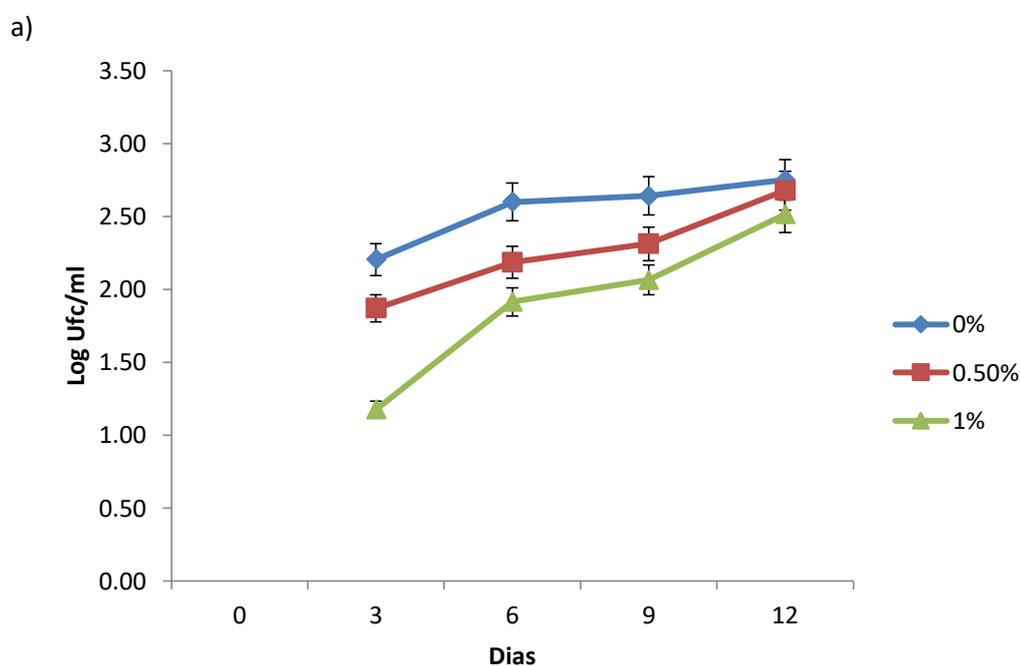
En la evaluación en las muestras con 0.5% y 1% de aceite esencial de romero y hierba buena, y una muestra control en un tiempo de (0, 3, 6, 9,12) días a temperatura de refrigeración (4°C). Se puede observar que no se encontró *Escherichia coli* ni *Salmonella sp.* desde el inicio hasta el final del periodo de estudio, ANEXO I (Cuadros 1 y 2), estos resultados están dentro de la norma técnica sanitaria 071, en donde indica que para hamburguesas el límite de *Salmonella sp.* y *E. coli* es ausencia. Estos resultados coinciden con Granados, Guzmán & Acevedo (2013), quienes estudiaron el efecto de extractos de romero en la evaluación de hamburguesas elaboradas con carne roja de atún en donde no se encontró *Salmonella sp.* ni *E. coli.* durante el tiempo de estudio. La efectividad del aceite esencial de romero frente a *Escherichia coli*, se relaciona con la eficacia de sus compuestos fenólicos que interacciona con la membrana celular de los microorganismos. Estos compuestos podrían inhibir las actividades de proteasas y proteínas transportadoras, que podrían afectar a las funciones bacterianas (Kchaou *et al.*, 2016; Reygaert, 2014). En diversos estudios se afirmó que diferentes aceites esenciales tienen la capacidad de alterar y penetrar en la estructura lipídica de la membrana celular del microorganismo, lo que conduce a la desnaturalización de las proteínas y a la destrucción de la membrana celular, haciéndola más permeable, terminando en ruptura o fuga del material del citoplasma, lisis celular y por ende, en la muerte del microorganismo (Holley & Patel, 2005; Fisher & Phillips, 2008)

El aceite esencial de romero y hierba buena al actuar como antibacteriano afecta la permeabilidad de la membrana bacteriana causando un flujo de salida de iones desde el interior de la célula hacia el exterior. La salida de iones es usualmente acompañada con otros constituyentes citoplasmáticos, y hasta una cierta cantidad de pérdida puede ser tolerada por la célula bacteriana sin perder la viabilidad, pero si el flujo de salida es muy prolongado, causaría el colapso de la célula (Helander *et al.*, 1998).

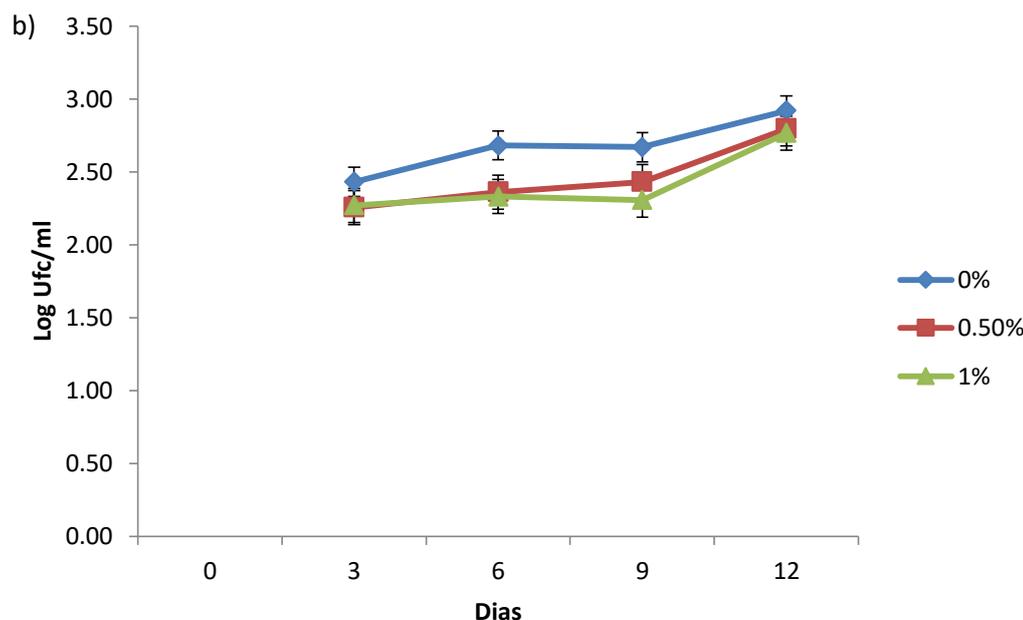
En la figura 2 se muestra la proliferación de *Staphylococcus aureus* , durante 12 días de almacenamiento, como podemos observar la muestra control tubo un aumento considerable de *Staphylococcus aureus*; en el día 3 de almacenamiento se encontraron 2.20 log ufc/g y a los 12 días 2.75 log ufc/g, mientras que la muestra con 1 % de aceite

esencial de romero , tuvo valores más bajos en el día 3 de almacenamiento se encontraron 1.18 log ufc/g y a los 12 días, 2.51 log ufc/g , de igual forma la muestra con 1% de aceite esencial de hierba buena en el día 3 presentó 2.27 log ufc/g y a los 12 días 2.77 log ufc/g, sin embargo todos los valores se mantuvieron dentro de los rangos establecidos por la NTS. N°071, la cual indica un límite de  $10^2$  ufc/g.

De acuerdo a estos resultados podemos comparar las hamburguesas con aceite esencial de hierba buena y aceite esencial de romero, este último presentó mayor reducción de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ya que con el aceite esencial de romero al 1% tuvo una reducción de 1.33 log y con aceite esencial de hierba buena al 1% tuvo una reducción de 0.5 log hasta los 12 días de almacenamiento estos resultados se pueden observar mejor en la Figura 2, donde se muestra que la hamburguesa con aceite esencial de romero, tiene una mayor reducción de la proliferación de *Staphylococcus aureus* a comparación de la hamburguesa con aceite esencial de hierbabuena, estos resultados coinciden con investigaciones de Shelef, Naglik & Bogen, (2013) donde el romero presentó un amplio espectro de acción antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*.



n=2



**Figura 2:** Crecimiento microbiano de *Staphylococcus aureus* en hamburguesa de carne de llama **a)** Con aceite esencial de Romero, **b)** Con aceite esencial de Hierba buena a diferentes concentraciones.

La presencia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos puede deberse a contaminación del mismo durante la manipulación por trabajadores que son portadores del microorganismo a nivel de fosas nasales, faringe y/o piel, esta bacteria también puede ser introducida en los alimentos por contaminación de los utensilios utilizados durante su procesamiento, además un recuento elevado de este patógeno puede estar asociado a prácticas de limpieza y desinfección inadecuadas, así como también a fallas en el control de la temperatura del proceso (Narvaez *et al.*, 2001).

En un estudio, se evaluó el potencial conservante del aceite esencial de romero a diferentes concentraciones en salami, para sustituir total o parcialmente aditivos como nitrito, butilhidroxianisol. El extracto de romero de mayor concentración presentó mayor control antibacterial in vitro frente a *Staphylococcus aureus* (Shan *et al.*, 2007). Por otro lado el efecto del aceite esencial de hierba buena se puede deber al notable potencial contra el crecimiento de microorganismos causantes de deterioro y patógenos presentes en carne y otros productos cárnicos ya que han mostrado poseer actividad antimicrobiana contra *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (Hygreeva *et al.*, 2014).

En el ANEXO 1, (cuadro 3 y 7), vemos el análisis de varianza para el recuento de *Staphylococcus aureus* con aceite esencial de romero y hierba buena, en la cual

podemos ver que existe diferencia significativa entre tratamientos y respecto al tiempo, lo cual indica que el tiempo y la concentración afectan significativamente en la proliferación de este microorganismo.

En la tabla 6, tenemos la prueba de comparación múltiple de Tukey, para la proliferación de *Staphylococcus aureus* con respecto al tiempo, donde nos indica que a mayor tiempo de almacenamiento el recuento microbiano aumenta, y con respecto a las concentraciones, a mayor concentración de aceite esencial, menor es el recuento de este microorganismo, siendo mejor la concentración de 1%, que las concentraciones 0.5% y 0%.

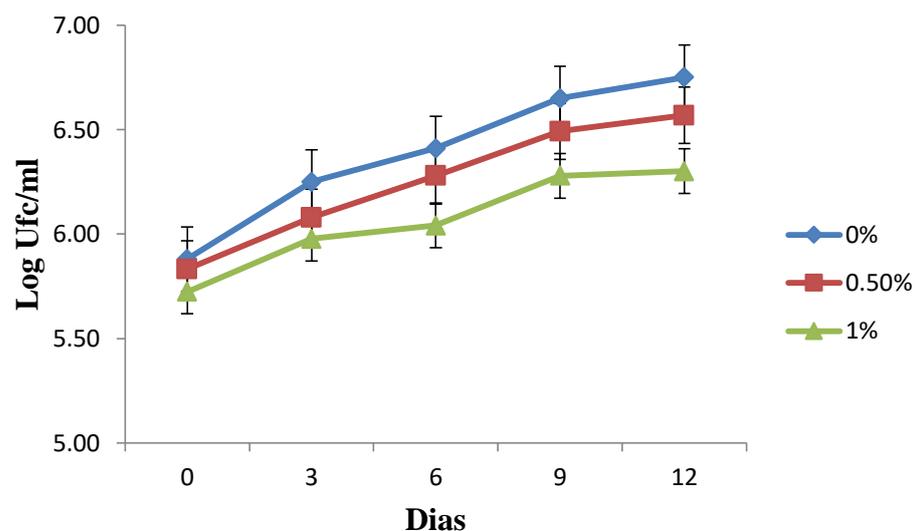
En la figura 3 se muestra la proliferación de Aerobios mesófilos en hamburguesas de carne de llama con aceite esencial de romero y hierba buena a diferentes concentraciones (0%, 0.5%, 1%), durante 12 días de almacenamiento a 4°C, en donde podemos notar que el aceite esencial de romero al 1%, tuvo un efecto positivo en la reducción logarítmica de esta bacteria ya que en el día 0 presentó valores de 5.72 log ufc/g y a los 12 días 6.30 log ufc/g y una reducción de 0.58 log a comparación de la muestra con aceite esencial de hierba buena al 1% que en el día 0 tuvo 5.72 log ufc/g y a los doce días 6.54 log ufc/g y una reducción de 0.82 log esto indica que los dos aceites tuvieron efectos antimicrobianos en la hamburguesa de carne de llama a comparación de la muestra control, que presento valores más altos en el recuento de aerobios mesofilos. Estos resultados difieren de resultados reportados por Hac-Szymanczuk, Lipinska & Stasiuk, (2011) quienes concluyeron que los extractos de romero no tuvieron ningún efecto en el crecimiento de aerobios mesófilos en derivados cárnicos. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero depende de la concentración usada (Sebrabnek, Sewalt, Robbins & Houser, 2005), por esta razón es que las hamburguesas con aceite esencial de romero al 1% son las que mayor reducción de aerobios mesófilos presentaron comparándolas con las hamburguesas con aceite esencial de hierba buena, esto se puede observar mejor en la figura 3.

El aceite esencial de romero contiene un conjunto de compuestos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas, destacándose el ácido carnósico por el poder antimicrobiano el cual actúa desnaturalizando las proteínas y lípidos de los microorganismos debido a su poder antioxidante, lo que origina la desorganización de la permeabilidad de la membrana celular (Oussalah, Caillet, Saucier, & Lacroix, 2006).

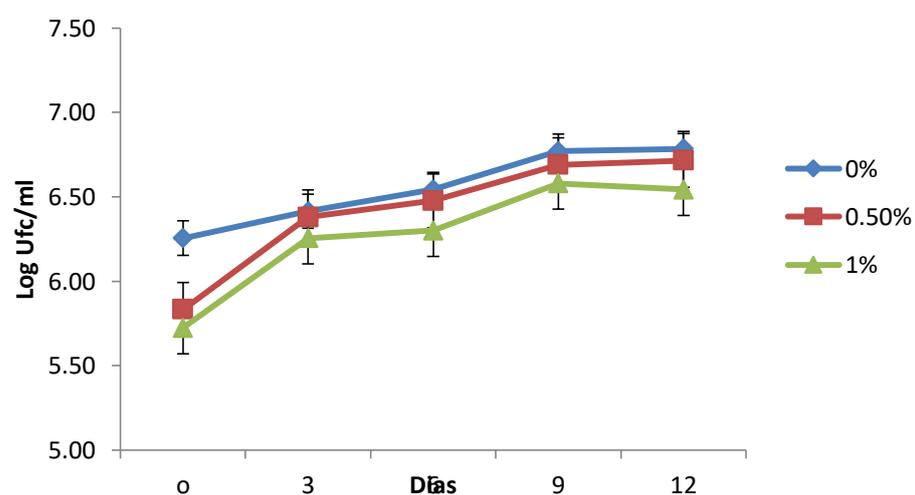
Del mismo modo el aceite esencial de hierba buena si tiene efectos antimicrobianos para este microorganismo tal como lo indica Salvá (2016) quien evaluó el efecto de aceite esencial de *Mentha spicata* sobre la estabilidad oxidativa y microbiológica es decir, carga microbiana aerobia mesófila, coliformes totales y presencia de *Salmonella sp*, al día 0, 3, 7, 10 y 15 de almacenamiento a 4°C de un embutido cocido de vísceras rojas de cuy, donde el aceite esencial de hierba buena tuvo un efecto positivo al favorecer en mantener el pH, retardar la oxidación lipídica en las tres concentraciones aplicadas y sobre la inhibición del crecimiento de Aerobios mesófilos al aplicarse al 0.5%.

En el ANEXO 1, (cuadro 12 y 16), vemos el análisis de varianza para el recuento de Aerobios mesofilos con aceite esencial de romero y hierba buena, en la cual podemos ver que existe diferencia significativa entre tratamientos y respecto al tiempo, lo cual indica que el tiempo y la concentración afectan significativamente en la proliferación de este microorganismo.

En la tabla 6, tenemos la prueba de comparación múltiple de Tukey, para la proliferación de Aerobios mesofilos con respecto al tiempo, donde nos indica que a mayor tiempo de almacenamiento el recuento microbiano aumenta, y con respecto a las concentraciones, a mayor concentración de aceite esencial, menor es el recuento de este microorganismo, siendo mejor la concentración de 1%, que las concentraciones 0.5% y 0% y asu vez todos los tiempos y concentraciones son diferentes entre si.



a)



b)

**Figura 3:** Crecimiento microbiano de Aerobios mesófilos en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de a) Romero, b) Hierba buena a diferentes concentraciones.

De la evaluación del efecto antimicrobiano de los dos aceites esenciales de romero y hierbabuena en la hamburguesa de carne de llama, podemos decir que el aceite esencial de romero es el que mejor resultados obtuvo en la inhibición de *Echerichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y Aerobios mesófilos, tal como lo describe Ardila (2009), que durante el periodo de almacenamiento de Salami, se observa que el extracto de *Rosmarinus officinalis* es el que mantiene mejores condiciones

antibacteriales en el producto analizado, en comparación con el *Allium sativum* y *Eugenia Caryophyllata*.

## **4.2. RESULTADOS DE LA OXIDACION LIPIDICA DE HAMBURGUESA DE CARNE DE LLAMA**

### **4.2.1. RESULTADOS DEL INDICE DE TBARS**

En la tabla 6, se presentan los resultados promedio del valor de TBARS de las muestras con 0.5% y 1% de aceite esencial de romero y hierba buena y una muestra control en un tiempo de (0, 6 y 12) días a temperatura de refrigeración de (4°C). Los datos completos se reportan en el ANEXO 2.

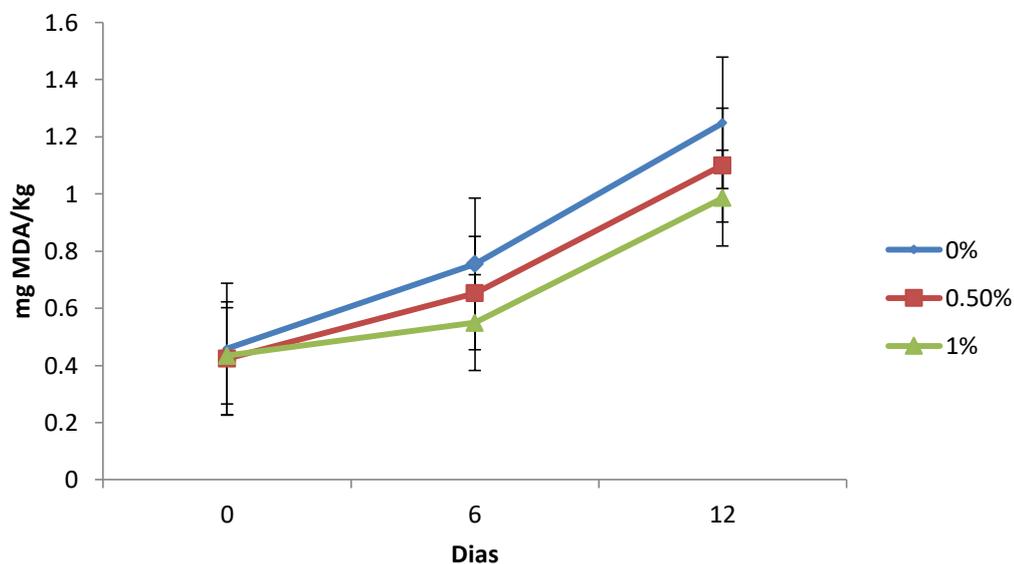
El análisis TBARS determina la formación de productos de la oxidación de lípidos, principalmente malondialdehído, En la tabla 8 se observa que en el día 0 se encontró que los valores TBARS ( $P < 0,05$ ) tenían poca diferencia para todas las muestras, estas aumentaron significativamente con la extensión del período de almacenamiento. Las muestras con A.E.R Y A.E.H. al 1% en el día 12 tuvieron 0.986 y 1.517 mg MDA/Kg respectivamente a comparación de la muestra control que presento 1.249 y 1.715 mg MDA/Kg , Los valores TBARS de todas las muestras tratadas fueron significativamente menores ( $P < 0,05$ ) que la muestra control pero a la vez todos están por debajo del límite descrito por (Nassu, 2001), quien indica que valores por encima de 2 mg MDA/Kg de muestra se considera rancios e inaceptables para el consumidor, entonces ambos aceites esenciales (A.E.R. y A.E.H.) tuvieron efectos protectores contra la oxidación lipídica en las hamburguesas de carne de llama.

El efecto inhibitor fue más en las muestras con 1% de aceite esencial que y 0.5%, en todos los tiempos de almacenamiento ( $P < 0,05$ ). El análisis de variación mostró que los valores de TBARS fueron significativamente afectados ( $P < 0,05$ ) tanto por tiempo de almacenamiento como por el tratamiento. Por lo tanto estos resultados sugieren que estos antioxidantes retrasaron la oxidación de los lípidos durante el almacenamiento.

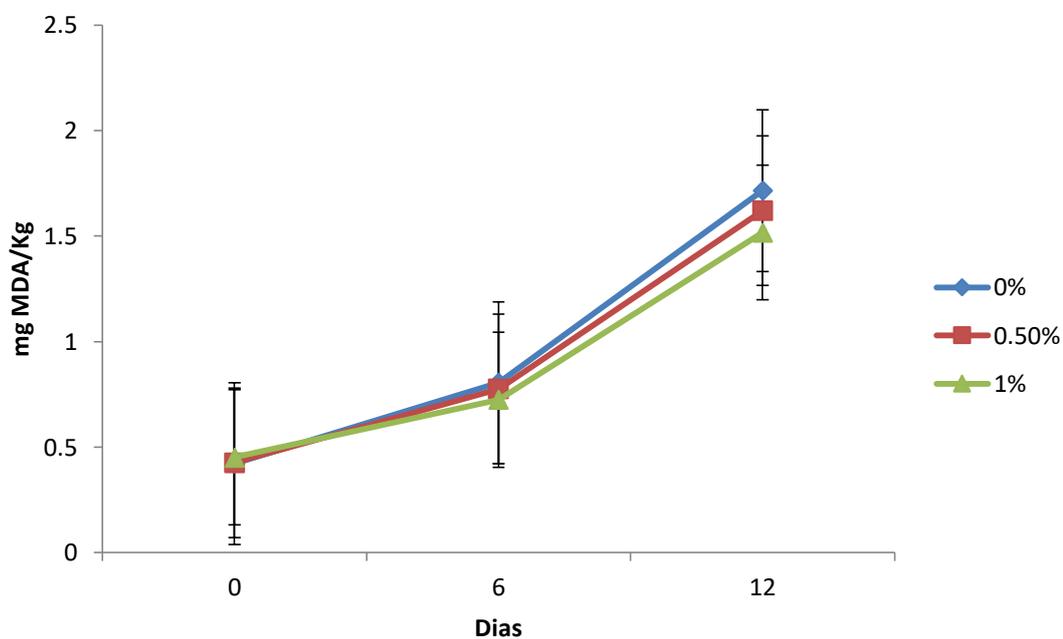
Mierlici (2009), afirma que el ácido carnósico es un excelente inactivador de radicales peróxilo, es decir es un antioxidante primario, y no solo inhibe la formación de

hidroperóxidos sino también previene su descomposición (Contreras *et al.*, 2006, Genena 2008).

a)



b)



**Figura 4:** Índice de TBARS en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de a) Romero, b) Hierba buena a diferentes concentraciones, n=3.

En la tabla 6 podemos ver la prueba de rango múltiple de Tukey para el índice de TBARS a diferentes concentraciones y tiempos, en donde se puede ver que todas las muestras son diferentes, siendo mejores estadísticamente ( $p > 0.05$ ) las muestras con 0.5% y 1% de A.E.R. a comparación de la muestra control y en las muestras con A.E.H. las concentraciones 0.5% y 1% son iguales estadísticamente ( $p > 0.05$ ) y al mismo tiempo mejores que la muestra control. Para el tiempo respecto al índice de TBARS en la tabla 9 se muestra que todos los valores son diferentes estadísticamente ( $p > 0.05$ ), siendo mejor el día 0, que día 3 y este a su vez mejor que el día 12. Sánchez (2001), destaca el empleo de aceite esencial de romero, debido a la presencia de carnosol, rosmanol, isorosmanol y rosmaridifenol, compuestos con elevado poder antioxidante. De todos los compuestos antioxidantes de algunas hierbas aromáticas el máximo interés se dirige hacia el ácido rosmarínico, como ya se ha mencionado anteriormente, componente natural del romero y de efectos antioxidantes comparables a los del BHA y BHT, a los que actualmente se le atribuyen efectos nocivos para la salud del consumidor (Kähkönen *et al.*, 1999).

También de la tabla 6 podemos decir que una mayor concentración de aceite esencial de hierba buena (*Mentha spicata*), en la formulación de la hamburguesa de carne de llama, evita en mayor medida la formación de MDA y por ende, favorece a la estabilidad oxidativa, estos resultados se pueden observar mejor en la figura 4. Kumar *et al.* (2015) menciona que los compuestos activos con capacidad antioxidante en extracto de *Mentha spicata* son los fenoles. Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de plantas y son muy importantes en virtud de su actividad antioxidante al quelar iones metálicos con actividad redox, la inactivación de cadenas lipídicas de radicales libres y la prevención de las conversiones de hidroperóxido en oxiradicales reactivos.

**Tabla 6:** Prueba de rango múltiple TUKEY del recuento de *Staphylococcus aureus*, Aerobios mesofilos, índice de TBARS, Índice de Peróxidos, color, olor, sabor y textura. Con respecto a las fuentes de variación estudiadas

Fuente de variación	Nivel	Valores medios							
		<i>Staphylococcus aureus</i>	Aerobios mesofilos	TBARS	Peróxidos	Color	Olor	Sabor	Textura
Concentraciones	Hamburguesas con 0% de A.E.R.	0.827 <sup>c</sup>	3.765 <sup>c</sup>	0.822 <sup>c</sup>	6.055 <sup>c</sup>	3.8 <sup>a</sup>	3.767 <sup>a</sup>	3.483 <sup>a</sup>	3.617 <sup>a</sup>
	Hamburguesas con 0.5% de A.E.R.	0.964 <sup>b</sup>	1.760 <sup>b</sup>	0.721 <sup>b</sup>	4.611 <sup>b</sup>				
	Hamburguesas con 1% de A.E.R.	1.879 <sup>a</sup>	0.947 <sup>a</sup>	0.652 <sup>a</sup>	4.333 <sup>a</sup>	3.867 <sup>a</sup>	1.67 <sup>b</sup>	1.583 <sup>b</sup>	2.983 <sup>a</sup>
	Hamburguesas con 0% de A.E.H.	0.938 <sup>c</sup>	1.497 <sup>c</sup>	0.9844 <sup>b</sup>	7.166 <sup>c</sup>				
	Hamburguesas con 0.5% de A.E.H.	0.748 <sup>b</sup>	0.954 <sup>b</sup>	0.8744 <sup>a</sup>	5.722 <sup>a</sup>				
	Hamburguesas con 1% de A.E.H.	0.478 <sup>a</sup>	0.548 <sup>a</sup>	0.85 <sup>a</sup>	6.389 <sup>b</sup>				
	Tiempo	0 días con A.E.R.	2.298 <sup>a</sup>	1.84 <sup>a</sup>	0.4389 <sup>a</sup>	2.722 <sup>a</sup>			
	3 días con A.E.R.	1.577 <sup>b</sup>	2.094 <sup>b</sup>						
	6 días con A.E.R.	1.349 <sup>c</sup>	2.356 <sup>c</sup>	0.65 <sup>b</sup>	4.167 <sup>b</sup>				
	9 días con A.E.R.	0.445 <sup>d</sup>	3.456 <sup>d</sup>						
	12 días con A.E.R.	0.375 <sup>e</sup>	3.564 <sup>e</sup>	1.10667 <sup>c</sup>	8.111 <sup>c</sup>				
	0 días con A.E.H.	0.229 <sup>a</sup>	0.748 <sup>a</sup>	0.3544 <sup>a</sup>	3.389 <sup>a</sup>				
	3 días con A.E.H.	0.759 <sup>b</sup>	0.803 <sup>b</sup>						
	6 días con A.E.H.	1.229 <sup>c</sup>	2.383 <sup>c</sup>	0.78 <sup>b</sup>	5.67 <sup>b</sup>				
	9 días con A.E.H.	1.659 <sup>d</sup>	5.732 <sup>d</sup>						
	12 días con A.E.H.	2.655 <sup>e</sup>	7.478 <sup>e</sup>	1.574 <sup>c</sup>	10.222 <sup>c</sup>				

Valores con diferentes letras (a, b, c) dentro de la misma columna son significativamente diferentes (p <0.05).

Biswas *et al.* (2012) evaluó el potencial de un extracto acuoso de hierba buena en carne de cerdo refrigerada, reportando valores de 0.548 mg MDA/ kg para el control y 0.487 mg MDA/ kg para la muestra con 1 por ciento de extracto acuoso de *Mentha spicata*, que representaba 30 ppm de CFT en el producto cárnico. Corroborando que las diferencias significativas en la formación de MDA se pueden observar desde el primer día de almacenamiento entre muestras con y sin presencia de compuestos fenólicos debidos al aceite esencial de *Mentha spicata*. Correspondiente a esto Dorman *et al.*, (2003) menciona que los principales ácidos fenólicos reportados en el extracto de *Mentha spicata* soluble en agua son eriocitrina, glucósido de luteolina, y ácido cafeico. Estos componentes, provenientes de diferentes fuentes vegetales, han sido estudiados por diversos investigadores comprobando sus efectos antioxidantes.

#### 4.2.2. RESULTADOS DEL ÍNDICE DE PERÓXIDOS

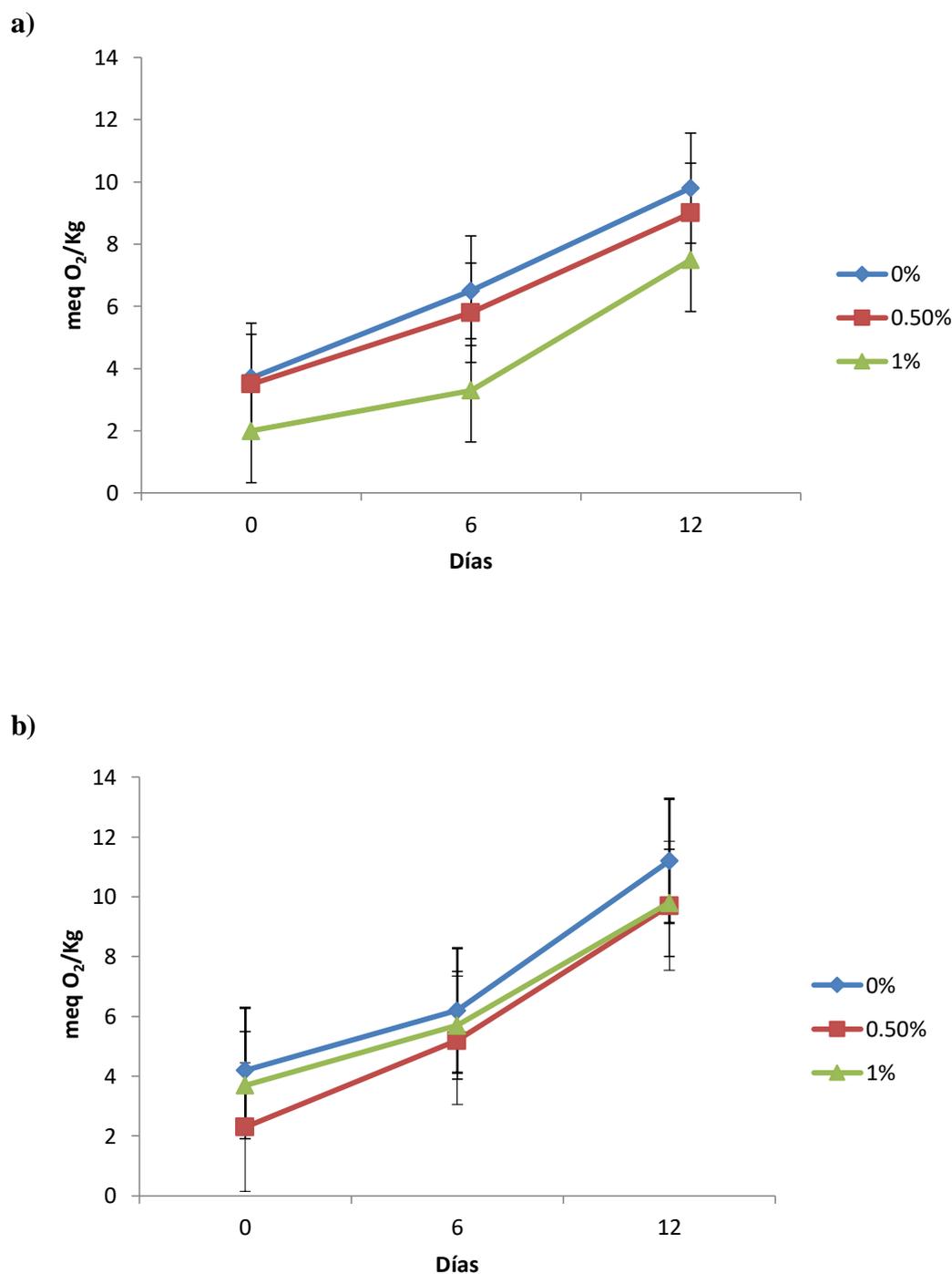
Los valores de índice de peróxidos obtenidos para las hamburguesas de carne de llama se muestran en la tabla 8. En la hamburguesa de carne de llama se utilizó 0.5% y 1% de A.E.R. y A.E.H. y una muestra almacenado durante 12 días a 4°C, en donde se observó que la muestra con 1 % de A.E.R en el día "0" tuvo un valor de 2,0 meq O<sub>2</sub>/Kg en comparación a la muestra control que tuvo 2,5 meq O<sub>2</sub>/Kg , y en el día 12 de almacenamiento , la muestra con 1 % tuvo un índice de peróxidos de 7,5 meq O<sub>2</sub>/Kg a comparación de la muestra control que obtuvo 8 meq O<sub>2</sub>/Kg. Para la hamburguesa con A.E.H. se observó que la muestra con 1% de A.E.H. en el día "0" tubo un valor de 3,67 meq O<sub>2</sub>/Kg en comparación a la muestra control que tuvo 4,17 meqO<sub>2</sub>/Kg , al igual en el día 12 de almacenamiento , la muestra con 1 % de A.E.H. tuvo un índice de peróxidos de 9.83 meqO<sub>2</sub>/Kg a comparación de la muestra control que obtuvo 11.17 meqO<sub>2</sub>/Kg , el cual estuvo por encima del valor máximo; tal como lo menciona la FAO/OMS (1998), a través del Codex Alimentario que el nivel aceptable en índice de peróxido para consumo humano es de hasta 10 meq/Kg de muestra. En ambos casos se demostró que ambos aceites esenciales disminuyen la oxidación de lípidos. El mismo efecto de disminución de la per oxidación se observó en un estudio realizado por Herrero *et al.*, (2008) donde el índice de peróxido en piernas de cerdo con aceite esencial de romero obtuvo un índice de peróxido inicial de 0.2 meq/kg y un índice de peróxido final de 8.8 mEq/kg a los 23 días de almacenamiento.

En el (ANEXO 3, Cuadro 2 y 6), se presenta el análisis de varianza para (ANVA) para la determinación de índice de peróxidos de la hamburguesa de carne de llama con A.E.R y A.E.H. el cual nos indica que estadísticamente existe una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) para el efecto tiempo y concentraciones de aceite esencial así como para la interacción de ambos, esto implica que el efecto tiempo y concentraciones son dependientes.

La oxidación de lípidos avanza a mayor velocidad en los alimentos con alto contenido de grasa, especialmente aquellos con niveles más altos de ácidos grasos insaturados. Los ácidos grasos insaturados presentes en los productos reaccionan con el oxígeno para formar hidroperóxidos. Éstos son inestables y producen compuestos que producen sabores desagradables, lo que lleva a la formación de un sabor rancio en productos alimenticios (Teye *et al.*, 2012).

En la tabla 6, se muestra la prueba de rango múltiple de Tukey para el índice de peróxidos a diferentes concentraciones y tiempos, en donde se puede ver que para las muestras con A.E.R. la concentración de 1% es diferente que la concentración 0.5% y al mismo tiempo mejor, del mismo modo en las muestras con A.E.H. podemos ver que todas las muestras son diferentes, siendo mejores estadísticamente ( $p > 0.05$ ) las muestras con 0.5% y 1% de A.E.H. a comparación de la muestra control.

Con respecto al tiempo el Índice de peróxidos en la tabla 6 se muestra que todos los valores son diferentes estadísticamente ( $p > 0.05$ ), siendo mejor el día 0, que el día 3 y este a su vez mejor que el día 12, el índice de peróxidos de la hamburguesa de carne de llama aumenta respecto al tiempo y su comportamiento es lineal. La tendencia muestra como a través del tiempo a temperatura de 4°C el índice de peróxido se fue incrementando, lo cual implica que hay un aumento de la rancidez del producto debido a las reacciones químicas que ocurren en los productos cárnicos, principalmente la oxidación, un proceso que transcurrirá aun cuando existan aditivos que lo retrasen (Yang *et al.*, 2013), estos resultados se pueden apreciar mejor en la figura 5.



**Figura 5:** Índice de Peróxidos en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de a) Romero, b) Hierba buena a diferentes concentraciones, n=3.

Según Rondón *et al.* (2004), el desarrollo de los peróxidos comienza en forma lenta y luego se incrementa con mayor velocidad. Los lípidos expuestos al aire reaccionan lentamente en un inicio, pero una vez que la rancidez se ha iniciado la velocidad se incrementa con bastante rapidez. Esto resulta de la formación de aldehídos y cetonas que dan a la grasa el sabor rancio seboso. El proceso de oxidación de los

lípidos es de gran interés en la industria alimentaria, pues hace que los alimentos en que aparece sean inaceptables para el consumidor o disminuye la vida útil de éstos (Corbo *et al.*, 2005).

#### 4.4. RESULTADOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL

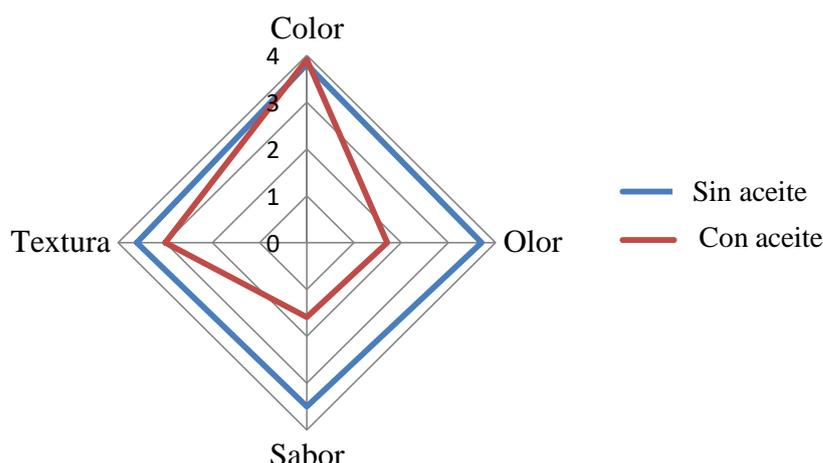
Para el análisis sensorial se tomó en cuenta la muestra control y una muestra con el aceite esencial que tuvo mayor actividad antimicrobiana, para este análisis se tomó la hamburguesa con aceite esencial de romero al 1%, ya que esta muestra obtuvo mejores resultados antimicrobianos como se puede ver en las tablas 6 y 7. A continuación se detallan los resultados:

**Tabla 7:** Análisis sensorial de la hamburguesa de carne de llama

	Color	Olor	Sabor	Textura
Sin A.E.	3.8±0.51	3.7±0.406	3.5±0.51	3.6±0.36
Con A.E.	3.9±0.51	1.7±0.324	1.6±0.43	3.0±0.70

Todos los valores son descritos como el promedio  $\pm$  desviación estándar

En la figura 6 vemos la aceptación del color de la hamburguesa de carne de llama, en la cual podemos observar que no existió mucha diferencia entre las dos muestras con aceite esencial de romero y sin aceite esencial de romero evaluados por 20 jueces elegidos al azar. Al respecto Strydom & Hope-Jones (2014), publica que la mioglobina es la molécula responsable del color debido a su presencia en la carne y a los cambios que presenta al ser expuesta al oxígeno. Su estructura se modifica generando cambios en la refracción de luz y por lo tanto produce cambios en la coloración de la carne. Es importante conocer a fondo los procesos que se suscitan en la mioglobina para mejorar la estabilidad del color y mantener la apariencia de fresca en la carne, entre los factores que determinan el color de la carne están las reacciones redox de la mioglobina y la cantidad de mioglobina presente en el músculo.



**Figura 6:** Evaluación sensorial de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.

En cuanto al análisis de varianza para color, que se muestra en el (ANEXO 4, Cuadro 2), los tipos de muestra resultaron no significativos ( $P \leq 0.05$ ), lo que demuestra que las muestras evaluadas significativamente en cuanto a color no presentan diferencia alguna.

En la figura 6 se muestra la aceptación del olor en hamburguesa de carne de llama, donde podemos ver que la muestra sin aceite esencial de romero tuvo una mayor aceptación de 3.7 puntos promedio de una escala hedónica de 5 puntos, a comparación de la muestra con aceite esencial de romero al 1% que tuvo 1.7 puntos promedio, ya que los jueces expresaron que esta muestra tenía un fuerte olor a romero que no era tan agradable, esto se puede explicar debido a que el aceite esencial de romero está formado por un grupo de compuestos altamente volátiles a temperatura ambiente como verbenona,  $\alpha$ -pineno, canfeno y borneol. En un estudio en salchichas frescas de pollo con aceite esencial de romero almacenado en refrigeración se notó que los compuestos del romero mostraron muy buena actividad antimicrobiana, pero su uso y aplicación en este producto se vio limitado debido a su intenso aroma, sin embargo, la utilización de esta tecnología pudiera hacerse más eficiente si se usa en combinación con otras tecnologías a fin de mejorar la estabilidad microbiana y la calidad sensorial (Huq *et al.*, 2015).

De igual forma, la baja aceptación en cuanto al olor y sabor puede deberse a la concentración utilizada en las muestras, como también lo demuestran otros trabajos de

investigación como Nowak *et al.*,(2012) que determinaron la concentración mínima inhibitoria de una mezcla de aceite esencial de tomillo y romero sobre *Brochothrix thermosphacta* en carnes refrigeradas, los autores mencionan que aunque se logra una buena reducción en la población de microorganismos, las concentraciones a utilizar de aceites esenciales afectarían la calidad organoléptica de la carne. Es decir, la aplicación de aceites esenciales está parcialmente limitada debido a su intenso aroma, que puede causar en algunos casos efectos organolépticos negativos. A comparación de un trabajo de investigación donde se evaluó el efecto de la aplicación conjunta de luz UVC, aceite esencial de romero, ácido láctico y temperaturas de refrigeración sobre la flora microbiana alteradora de la superficie de carnes bovinas, en donde se empleó una dosis de 1ml de aceite esencial en muestras de 400g en donde los efectos sensoriales antes mencionados no fueron detectados para esta dosis (Olivera & Coll, 2013).

En el (ANEXO 4, Cuadro 5), se muestra los resultados del análisis de varianza para el olor que resultaron tener una diferencia estadísticamente significativa entre las dos muestras con aceite esencial de romero al 1% y sin aceite esencial ( $p>0.05$ ), por otro lado en la tabla 6 se presenta la prueba de rango múltiple Tukey, donde se afirma que la muestra sin aceite esencial de Romero es mejor que la muestra con aceite esencial de romero, y a la vez son diferentes estadísticamente ( $p>0.05$ ).

Asimismo, en la figura 6 también se muestra la aceptación del sabor de la hamburguesa de carne de llama, donde podemos ver que el aceite esencial de romero condujo a una pérdida de aceptabilidad organoléptica en cuanto a sabor, la muestra sin aceite esencial de romero tuvo mayor aceptabilidad a comparación de la muestra con aceite esencial de romero al 1%, de acuerdo a la tabla 9 se tuvo 3.5 y 1.6 puntos promedio respectivamente, ya que los jueces describían un sabor fuerte a romero en esta muestra, esto talvez se deba al sabor amargo del romero, dado su riqueza en compuestos fenólicos, estos resultados se comparan con Rossi *et al.* (2013), quien estudio el efecto del aceite esencial de romero en carne de cordero, concluyeron que éste tuvo un efecto negativo en cuanto al sabor y recomiendan que el aceite esencial se mezcle con otra sustancia para disminuir tal efecto. Por otro lado Ntzimani *et al.* (2010) informaron que la calidad organoléptica de las cualidades del sabor de la carne de pollo almacenada en vacío con 0,2% de aceite esencial de romero era aceptable. La concentración de este aceite utilizado en nuestro experimento fue 5 veces mayor debido a referencia de otra investigación (Moreno & Espinoza, 2016), en donde se evaluaba la actividad

antimicrobiana de este aceite frente a los microorganismos estudiados, que habitualmente constituyen gran parte de la microflora que contamina la hamburguesa almacenada en refrigeración.

En el (ANEXO 4, Cuadro 8), se muestra el análisis de varianza ANVA para sabor, en donde se tiene una diferencia estadísticamente significativa entre las dos muestras con aceite esencial de romero al 1% y sin aceite esencial ( $p > 0.05$ ), por otro lado en la tabla 7 se tiene la prueba de rango múltiple de Tukey para sabor, donde nos muestra que existe una diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre las dos muestras y a la vez la muestra sin aceite esencial es mejor a la muestra con aceite esencial.

De igual forma el análisis sensorial para textura se muestra en el gráfico 5, donde podemos ver que hubo una pequeña diferencia de la aceptabilidad de la textura, ya que la muestra sin aceite esencial de romero tuvo 3.6 puntos promedio de aceptabilidad, y la hamburguesa con 1% de aceite esencial de romero tuvo un 3.0 puntos promedio de aceptabilidad (tabla 7). En cuanto al análisis de varianza, que se muestra en el (ANEXO 4, Cuadro 11), los tipos de muestra resultaron no significativos ( $p > 0.05$ ).

O'Grady *et al.* (2006) encontraron que la adición exógena del aceite esencial de romero sí afectaron el olor y sabor de las rebanadas de carne cocida. Mientras que Nissen *et al.* (2004), trabajando con empanadas de cerdo precocidas durante el almacenamiento, concluyeron que el aceite esencial de romero tiene el potencial de mantener el calidad sensorial de la carne que es una de las características más importantes de calidad de para el juez consumidor. Estos resultados sugieren que el aceite esencial de romero, debido a sus propiedades antioxidantes (Hajlaoui *et al.*, 2010; Kadri *et al.*, 2011), puede tener efectos beneficiosos sobre la calidad sensorial de productos carnicos a través de su función protectora contra la oxidación de las grasas (Balentine *et al.*, 2006). Se ha demostrado que el aceite esencial de romero redujo el olor rancio de la carne después de 14 días en exhibición (Nieto *et al.*, 2010); los autores explicaron que este efecto se debió a los diterpenos de romero (ácido carnósico, carnosol, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol y ácido rosmarínico) que actúan como potentes conservantes contra procesos oxidativos. Por otra parte, Chaves *et al.* (2008), informaron que la dieta de los corderos suplementados con aceite esencial de romero, afectó la intensidad y la deseabilidad del sabor general de la carne.

## CONCLUSIONES

- Los aceites esenciales de Romero y Hierbabuena tuvieron un efecto antimicrobiano alto en hamburguesa de carne de llama almacenada a 4°C durante 12 días, inhibiendo en el crecimiento de *E. Coli*, *Salmonella sp.* *Staphylococcus aureus* y Aerobios mesófilos. A medida que se incrementa la concentración del aceite esencial el crecimiento microbiano disminuye.
- La hamburguesa con aceite esencial de romero al 1% tuvo menores valores de índice de TBARS, a comparación de la hamburguesa con aceite esencial de hierba buena, sin embargo, los dos aceites esenciales tuvieron un efecto retardante en la oxidación lipídica de la hamburguesa de carne de llama almacenada a 4°C durante 12 días a comparación de la muestra control. Por otro lado los valores del índice de peróxido de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero fueron menores a los valores de índice de peróxido de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de hierba buena.
- En la evaluación del análisis sensorial de la hamburguesa de carne de llama, la muestra con aceite esencial de romero al 1%, tuvo una baja aceptación en cuanto a olor y sabor por que tuvo 1,7 y 1,6 puntos respectivamente de una escala de 5 puntos, pero en la evaluación de color y textura se tuvo 3,9 y 3 puntos, los cuales no presentaron una diferencia significativa con la muestra sin aceite esencial.

## RECOMENDACIONES

- Realizar estudios en los que se utilice diferentes concentraciones de aceite esencial de romero en combinación con otros aceites esenciales o sustancias naturales que puedan tener un mejor efecto antimicrobiano y reduzca la oxidación lipídica en productos cárnicos, pero al mismo tiempo que mantenga una buena calidad sensorial del producto y no influya negativamente en éste.
- Estudiar la utilización de mayores concentraciones de hierba buena, en productos cárnicos que obtengan mejores resultados en el análisis microbiológico y oxidación lipídica.

**BIBLIOGRAFIA**

- Algino R., G. Badtram, B. Ingham, S. Ingham (2009). Factors associated with Salmonella prevalence on pork carcasses in very small abattoirs in Wisconsin. *Journal of Food Protection*, 72, 714-721.
- Álvarez Romero, J. y R. A. Medellín. (2005). *Lama glama*. Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto U020. México. D.F.
- Alvarez Astorga, M., Capita, R., Alonso Calleja, C., Moreno, B., Garcia-renadez M. del C., (2002). Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. *Meat Science*, 62 (1), 45- 50.
- Altieri, C., Speranza, B., Del Nobile, M.A., Sinigaglia, M., (2005). Suitability of bifidobacteria and thymol as biopreservatives in extending the shelf life of fresh packed plaice fillets. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 1294–1302.
- Andersen, H.J., Bertelsen, G., y Skibsted, L.H., (1998). Colour stability of minced beef. Ultraviolet barrier in packaging material reduces light-induced discoloration of frozen products during display. *Meat Science*, 25(2), 155-159.
- Andreo, A., Garro, O., & Judis, M. (2001). Modelo de oxidación lipídica en una emulsión cárnica en función del tiempo y temperatura de cocción. *Revista Científica y tecnología*, 3, 105-111.
- AOAC. Horwitz, W. (Ed). (2005). Official methods of Analysis of AOAC International, 18th edition, AOAC International, Maryland, USA.
- Ardila Martha. (2009). Evaluación del poder inhibitorio del tomillo, orégano y clavo de olor en el salami. Tesis Ingeniera de Alimentos. Manizales: Facultad de Ingeniería, Universidad de Caldas.
- Balentine, C.W., Crandalla, P.G., O'Bryana, C.A., Duonga, D.Q., Pohlmanb, F.W., (2006). The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73(3), 413-421.
- Bauer, K., Garbe D. y Surburg H. (2001). Common fragrance and Flavor materials. Germany: Alden Group Ltd.

- Bermudez, M.E., Rodriguez, M del M. (2001). Microbiología de productos cárnicos. En enciclopedia de la carne y productos cárnicos. España: Ediciones Martin and Macías S.A. 1549-1560.
- Brahmi, F.; Hauchard, D.; Guendouze, N.; Madani, K.; Kiendrebeogo, M.; Kamagaju, L.; St'évigny, C.; Chibane, M.; Duez, P. (2015). Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Meat Science*, 74, 722-730.
- Bhandare S.G., A. Sherikar, A. Paturkar, V. Waskar, R. Zende (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control*, 18(7), 821-833.
- Biswas, A.K.; Endo, M.; Takeuchi, T. (2012). Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed young tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science*, 50(3), 186-192.
- Boccard, R. (1992). Les caractères qualitatifs des viandes et les effets des facteurs biologiques. España. INRA.
- Campero, J. R. (2005). Lama (*Lama glama*) and Guanaco (*Lama guanicoe*): General perspective. Proceedings of the ICAR/FAO seminar ICAR Technical series n°. 11, 11-18.
- Cardozo KHM, Guaratini T, Barros MP, Falcão VR, Tonon AP, Lopes NP, Campos S, Torres MA, Souza AO, Colepicolo P, Pinto E (2007). Metabolites from algae with economical impact. *Comp Biochem Physiol*, 146, 60-78.
- Cardozo, A. (2007). Camelidos. Poligraf, Cochabamba, *Rev. Inv. Vet. Bolivia*, 25(2), 123-150.
- Chaves, A.V., He, M.L., Yang, W.Z., Hristov, A.N., Mcallister, T.A., Benchaar, C., 2008. Effects of essential oils on proteolytic, deaminative and methanogenic activities of mixed ruminal bacteria. *Canadian Journal of Animal Science*, 88, 117-122.
- Cicuta M, Deza N, Roibón W, Benitez M, Ramírez G, Arzú R.(2006) *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en reses bovinas y carne molida de Corrientes, Argentina. *Revista Veterinaria*, 20(1), 11-14.
- Coates, W. y Ayerza, R. (2004). Fatty Acids composition of llama muscle and internal fat in two Argentinian herds. *Small Ruminant Research*, 52, 231-238.

- Cobbaut K, Berkvens D, Houf K, de Deken R, de Zutter L. (2009). *Escherichia coli* O157 prevalence in different cattle farm types and identification of potential risk factors. 72, 1848-1853.
- Coma, V. (2008). Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Science*, 78, 90-103.
- Contreras, C., R. Martínez y G. Stashenko. (2006). Determinación de la actividad antioxidante in vitro de los aceites volátiles de cuatro plantas de uso tradicional mediante la medición de la peroxidación lipídica de aceite. *Journal Science and Technology*, 12(30), 365-370.
- Corbo, M.R., Altieri, C., Bevilacqua, A., Campaniello, D., D'Amato, D., Sinigaglia, M., (2005). Estimating packaging atmosphere–temperature effects on the shelf life of cod fillets. *European Food Research & Technology*, 220, 509-513.
- Cristofanelli, S., Antonini, M., Torres, D., Polidori, P., & Renieri, C. (2004). Meat and carcass quality from Peruvian llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama pacos*). *Meat Science*, 66(3), 589-593.
- Cristofanelli, S., Antonini, M., Torres, D., Polidori, P., & Renieri, C. (2005). Carcass characteristics of Peruvian llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama pacos*) reared in the Andean highlands. *Small Ruminant Research*, 58(3), 219–222.
- Cuvelier, M.E., Richard, H., & Berset, C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(5), 645-652.
- Da Porto, C., Decorti, D. y Kikic, I. (2009). Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing. *Food Chemistry*, 28, 1072-1078.
- Datta S., A. Akter, I shah, K. Fatema, T. Islam, A. Bandyopadhyay, Z. Khan, D. Biswas (2012). Microbiological quality Assessment of raw meat and meat products, and antibiotic susceptibility of isolated Staphylococcus aureus. *Agriculture, Food and Analytical Bacteriology*, 2, 187-184.
- Delcenserie V, D. Loncaric, C Bonaparte, M. Upmann, B. China, G. Daube, F. Gavini (2008). Bifidobacteria as indicators of faecal contamination along a sheep meat production chain. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 276-284.
- Dirección Regional Agraria Puno- Boletín informativo diciembre 2016.
- Dorman, H.; Kosar, M.; Kahlos, K.; Holm, Y.; Hiltunen, R. (2003). Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids,

- varieties, and cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (16), 4563-4569.
- Doyle, M.P., Buchanan, I.P., (2012). *Food microbiology: Fundamentals and Frontiers* 4<sup>a</sup> Edn. American society for microbiology, Washington.
- Drake, M.A. (2007). Sensory analysis of dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 4925-4937.
- Dykes G. (2004). *Escherichia coli* O157:H7. New Zealand, Elsevier, 781-785.
- Fernández-Ginés, J.M., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J.A., Sayas Barbera, E., & Sendra, E. (2001). Adición de vitamina E a dietas de animales de abasto: efecto sobre la carne y productos cárnicos. *Alimentaria*, 57, 31-37.
- Fisher, K. & Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer. *Trends in Food Science & Technology*, 19(3), 156–164.
- Gallegos M, Morales A, Álvarez G, Vásquez J, Morales L, Martínez I, Maldonado J. (2009). Caracterización de aislados de *Escherichia coli* O157:H7 en canales de bovinos y porcinos mediante PCR. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 19(2), 139-146.
- Gatellier, P., Anton, M., y Renerre, M., (1995). Lipid peroxidation induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> activated metmyoglobin and detection of a myoglobin derived radical. *Journal. Agric. Food Chemistry*, 43(3), 651-656.
- Genena, K.A., H. Hense, J.A. Smania & M.A.S. Souza. (2008). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Food Science and Technology*, 28(2), 463-469.
- Georgantelis, D., Blekas, G., Katikou, P., Ambrosiadis, I., & Fletouris, J. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation and color stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*, 75, 256-264.
- Geornaras, I., Sofos, J. (2010). Animal source food: quality and safety - milk and eggs. In *Encyclopedia of Animal Science*, Marcel Dekker, Inc., New York, 748- 750.
- Ghada, A.I.; Nour, I.A. (2010) Physical and chemical properties of camel meat burgers. *Journal Camelid Science*, 3, 39-43.
- Gomes, H. A., Silva, E. N., Nascimento, M. R. L., & Fukuma, H. T. (2003). Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry*, 4, 87-96.

- Guan, W., Li, S., Yan, R., Thang, S. y Quan, C. (2007). Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbón dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, 101, 1558-1564.
- Gyesley, S.W. (1991). Total Systems Approach to Predict Shelf Life of Packaged Foods. Food Packaging. ASTM Special Technical Publications. Philadelphia.
- Hagerman, A.E., Riedl, K.M., Jones, G.A., Sovik, K.N., Richard, N.T., Hartzfeld, P.W., & Riechel, T.L. (1998). High molecular weight plants polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887-1892.
- Hac-Szymanczuk, E., Lipinska, E., y Stasiuk, M. (2011). The Effect of Rosemary Preparations on the Microbial Quality and TBARS Value of Model Pork Batters. *Scientiarum Polonorum. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, 10(2), 175-174.
- Hajlaoui, H., Snoussi, M., Noumi, E., Zanetti, S., Ksouri, R., Bakhrouf, A., (2010). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of five Tunisian aromatic plants. *Ital Journal Food Science*, 3, 320-329.
- Helander, I.M., Latva-Kala, K., & Lounatmaa, K. (1998). Permeabilizing action of polyethyleneimine on *Salmonella typhimurium* involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide. *Microbiology*, 144(2), 385-390.
- Hernández-Hernández, E. Ponce Alquicira , M.E. Jaramillo Flores, I. Guerrero Legarreta, (2008). Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Science*, 81(2), 410-417.
- Herrero L, Ordóñez JA, Herranz B, Romero MD,(2008) Cambero MI. Tensile properties of cooked meat sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) parameters and physico-chemical characteristics, *Meat Science*, 80(3), 690–696.
- Hoffman, (2005). *Herbolaria y nutrición natural*. México. Ed. Pax. 121- 122.
- Holley, R. & Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4), 273–292.
- Huq T., K.D VU, B. Riedl, J. Bouchard, M. Lacroix (2015). Synergistic effect of gamma ( $\gamma$ )-irradiation and microencapsulated antimicrobials against *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat (RTE) meat. *Food Microbiology*, 46, 507-514.

- Hygreeva D., M.C. Pandey, K. Radhakrishna (2014). Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. *Meat Science*, 98, 47-5.
- Jay J.(2002). Indicadores de la calidad e inocuidad microbianas de los alimentos. En: Jay J (ed). *Microbiología moderna de los alimentos*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España, 363-379.
- Kadri, A., Zarai, Z., Chobba, I.B., Bekir, A., Gharsallah, N., Damak, M., Gdoura, R., 2011. Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil cultivated from South-Western Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(4), 531-537..
- Kähkönen, M.P., A. I. Hopia, J. V. Heikki, R. Jussi-Pekka, K. Pihlaja, T. S. Kujala, and M. Heinonene. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- Kammenou M, J Metaxopoulos, E Drosinos. (2003). Microbiological quality of minced beef from butcher shops and supermarkets. *Italian Journal Food Science*, 1, 95-104.
- Kerry, .P., O’Sullivan, M.G., Buckley, D.J., Lynch, P.B., & Morrissey, P.A. (2000). The effect of dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation and modified atmosphere packaging (MAP) on the quality of lamb patties. *Meat Science*, 56, 61-66.
- Kchaou, W., F. Abbès, R. B. Mansour, C. Blecker, H. Attia, S. Besbes.(2016). Phenolic profile, antibacterial and cytotoxic properties of second grade date extract from Tunisian cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Chemistry*, 194, 1048-1055.
- Koneman E. (2008) *Diagnóstico Microbiológico*. 6a ed. Argentina, Panamericana, 238-248.
- Kumar, Y.; Narayan, D.; Ahmad, T.; Narsaiah, K. (2015). Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. *Food Safety*, 14(6), 796-812.
- Lancon, A., Delma, D., Osman, H., Thenot, J.P., & Latruffe, B.J. (2004). Human hepatic cell uptake of resveratrol: involvement of both passive diffusion and carrier-mediated process. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 316(4), 1132-1137.
- Lawless, H.T. Y Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food : principles and practices*. 2nd ed. New York.

- Lee, H. S., D. van Hout, M. Hautus y M. O'Mahony. (2007). Can the same - different test use a  $\beta$  criterion as well as  $\tau$  criterion. *Food Quality and Preference*, 18, 605-613.
- López-Bote, C.J., Gray, J.I., Goma, E.A., & Flegal, C.J. (1998). Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *British poultry Science*, 39, 235-240.
- McDonald K., D.W. Sun (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 52, 1-27.
- Masuda, T., Inaba, Y., & Takeda, Y. (2001). Antioxidant mechanism of carnosic acid: structural identification of two oxidation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5560-5565.
- Mckay Diane L. & Jeffrey B. Blumberg. (2006). A Review of the Bioactivity and Potential Health Benefits of Peppermint Tea (*Mentha piperita* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(5), 410-421.
- Mierlici, I.D. (2009). Phytochemical study of some active principles with antioxidant action from the *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* species. Analele Stiintifice ale Universitatii Alexandru Ioan Cuza. Génova Italia.
- Minsa/Digesa, (2008). Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.
- Mitsumoto, M., O'Grady, M.N., Kerry, .P. Buckley, D. (2005). Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Science*, 69, 773-779.
- Molero G., Perez A. M., Mavarez M., Sánchez A., Ascanio E. y Oviedo M.(2006). Residuos de enrofloxacin en tejido hepático y muscular de pollos beneficiados en el municipio San Francisco, Zulia, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*, 16 (6), 629-633.
- Montville, T.J., Matthews, K.R., Kniel, K.E., (2012). Food Microbiology: An introduction. ASM Press, Washington.
- Moreno & Espinoza, (2016). Efecto de la concentración de aceite de orégano y tiempo de almacenamiento en las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de carne de cuy (*cavia porcellus*) empacada al vacío. Universidad Nacional de Trujillo. Tesis Doctoral.

- Mossel D. (2003) Valores de referencia o normas microbiológica. Microbiología moderna de los alimentos. 2ª ed. Zaragoza, España, Acribia, 512-513.
- Narvaez, C.; Parra, K.; Huerta, N.; Rodas, A. (2001). Evaluación del desempeño higiénico al procesar hamburguesas en una pequeña planta de Maracaibo. *Rev Científ FCV-LUZ*, 11(6), 524-532.
- Nassu, R.T., Gonçalves, L.A.G., Pereira da Silva, M.A.A., & Beserra, F.J. (2001). Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, 63(1), 43-49.
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., Garrido, M.D., (2010). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): influence on lamb meat quality. *Meat Science*, 84, 23-29.
- Nissen, L.R., Byrne, D.V., Bertelsen, G., Skibsted, L.H., (2004). The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. *Meat Science*, 68, 485-495.
- Nowak, A.; Kalemba, D.; Krala, L.; Piotrowska, M.; Czyzowska, A. (2012). The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrixthermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high oxygen modified atmosphere. *Food Microbiology*, 32, 212-216.
- Ntzimani, A.G., Giatrakou, V.I., Savvaidis, I.N. (2010). Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4°C: microbiological and sensory evaluation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 187-196.
- O'Grady, M.N., Maher, M., Troy, D.J., Moloney, A.P., Kerry, J.P., (2006). An assessment of dietary supplementation with tea catechins and rosemary extract on the quality of fresh beef. *Meat Science*. 73, 132-143.
- O'mahony, M. y B. Rousseau. (2002). Discrimination testing: a few ideas, old and new. *Food Quality and Preference* 14: 157–164
- Oliver, M.A., Gispert, M., Diestre, A. (1990). Influencia de la composición del jamón en la calidad de la carne. *Cárnica*, 78, 118-123.
- Olivera Daniella & Coll Cardenas Fernanda. (2013). Efecto de la aplicación conjunta de luz uvc, aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ácido láctico sobre la superficie de carnes bovinas. Facultad de Ciencias Veterinarias – UNLP. La Plata, Argentina.

- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., y Lacroix, M. (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Science*, 73(2), 236-244.
- Pérez, P., Maino, M., Guzman, R., Vaquero, C., Kobrich, C., & Pokniak, J. (2000). Carcass characteristics of llamas (*Lama glama*) reared in central Chile. *Small Ruminant Research*, 37, 93-97.
- Pérez Fons, L., Garzón, M.T., & Micol, V. (2009). Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) polyphenols on membrane phospholipid order. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 161-171.
- Polidori, P., Antonini, M., Torres, D., Beghelli, D., & Renieri, C. (2007). Tenderness evaluation and mineral levels of llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama pacos*) meat. *Meat Science*, 77, 599-601.
- Podpečan B., A. Pengov, S. Vadnjaj (2007). The source of contamination of ground meat for production of meat products with bacteria *Staphylococcus aureus*. *Slovenian Veterinary Research*. 44(2), 25-30.
- Ramos, D., Prieto, B., Salvá, B., Olaya, S., Fernández, D., Caro, I., Romero, M. y González, E. (2009). Manual de elaboración de preparados 76 cárnicos en el departamento de Tumbes, Perú. Editorial Celarayn. Tumbes, Perú.
- Reygaert, W. C. (2014). The antimicrobial possibilities of green tea. *Frontiers in Microbiology*, 5(434), 1-8.
- Rezzoug, S. A., Boutekedjiret, C., & Allaf, K. (2005). Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 71(1), 9-17.
- Rodríguez, J. L., Valdés, O., Alemán, A. (2006). Evaluación de la actividad antioxidante de cinco hierbas aromáticas, Instituto de investigaciones para la industria alimenticia, *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 16(1), 26-51.
- Rossi R, Pastorelli G, Cannata S, Tavaniello S, Maiorano G, Corino C (2013). Effect of long term dietary supplementation with plant extract on carcass characteristics meat quality and oxidative stability in pork. *Meat Science*, 95(3), 542-548.
- Rowe, L.J., Maddock, K.R., Lonergan, S.M., Huff-Lonergan, E., (2004). Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of  $\mu$ -calpain. *J. Anim. Sci.* 82, 3254-3266.

- Sánchez Escalante, A., Torrescano Urrutia, G.R., Camou Arriola, J.P., González Méndez, N.F., & Hernández Watanabe, G. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *Revista Científica y Tecnología de alimentos*, 2, 124-159.
- Sánchez, A., Djenane, D., Torrescano, G., Beltrán, J., y Roncales, P. (2001). Antioxidant Action of Borage, Rosemary, Oregano, and Ascorbic Acid in Beef Patties Packaged in Modified Atmosphere. *Journal of Food Science*, 68(1), 339-344.
- Sebrabnek, J., Sewalt, V., Robbins, K., y Houser, T. (2005). Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, 69(2), 289-296.
- Sefidkon, F., Abbasi, K. y Khaniki, G. B. (2006). Influence of drying and extraction methods on (*Zingiber officinale*), *Revista amazonica de investigacion alimentaria*, 4, 38-42.
- Serrano, R., & Bañón, S. (2012). Reducing SO<sub>2</sub> in fresh pork burgers by adding chitosan. *Meat Science*, 92(4), 651-658.
- Shan, Y.Z. Cai, J.D. Brooks, H. Corke, (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts, *Int. J. Food Microbiol.* 117, 112–119
- Shelef, L., Naglik, O., y Bogen, D. (2013). Sensitivity of some common foodborne bacteria to the spices sage, rosemary, and all spice. *Journal of Food Science*, 45(4), 1042-1044.
- Siriken B. (2004). The microbiological quality of ground beef in Aydin and Afyon Provinces, Turkey. Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Afyon Kocatepe, Afyon, Turkey, 632- 636.
- Sofos, J. N. (1994). Microbial growth and its control in meat, poultry and fish. "Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products". España, Great Britain : Blackie Academic & Professional.
- Strydom, P. E., & Hope-Jones, M. (2014). Evaluation of three vacuum packaging methods for retail beef loin cuts. *Meat Science*, 98(4), 689–694.
- Tang, S., Sheehan, D., Buckley, D. J., Morrissey, P. A., & Kerry, J. P. (2001). Antioxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 685–692.

- Teye, G., Teye, M. y Boamah, G. (2012). The effect of cowpea (*Vigna unguiculata*) flour as an extender on the physicalchemical properties of beef and ham burgers. *African Journal of food, agriculture, nutrition and development*, 12 (7), 143-151.
- Tor, E. (2002). Tabla de composición de alimentos de Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Química y Tecnología de Alimentos. Montevideo. Uruguay.
- Urquiaga, I., & Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological Research*, 33(2), 55-64.
- Vadillo S, Piriz S, Mateos E. (2002) Manual de microbiología veterinaria. Ed. McGraw Hill. Madrid; p. 327-338.
- Valenzuela, B.A., Sanhueza, J., & Nieto, S. (2003). Natural antioxidants in functional foods: from food safety to health benefits. *Grasas y Aceites*. 54(3), 295-303.
- Varnam, A. y Sutherland, J. (1998). Carne y productos cárnicos. Tecnología química y microbiológica. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Richardson, R.I., & Sheard, P.R. (1998). Meat quality: an integrated approach for the future. Proceedings of the 15th IPVS congress, Birmingham. 103-113.
- Wolffs P., P. Radstrom (2006). Real time PCR for the detection of pathogens in meat. Capítulo 6, En: *Advanced Technologies for Meat Processing*, España. Nollet y F. Toldrá, Ed.
- Wurzinger, M. T., Delgado, J., Nqrnberg, M., Valle Zárate, A., Stemmer, A., Ugarte, G., et al. (2005). Growth curves and genetic parameters for growth traits in Bolivian llamas. *Livestock Production Science*, 95, 73–81.
- Yang N, Horta J, Linforth R, Brown K, Walsh S, Fisk ID (2013) Impact of flavour solvent (propylene glycol or triacetin) on vanillin, 5-(hydroxymethyl)furfural, 2,4-decadienal, 2,4-heptadienal, structural parameters and sensory perception of shortcake biscuits over accelerated shelf life testing. *Food Chemistry*, 141, 1354-1360.
- Yousef, A.E. y Carlstroom, C. (2006). Microbiología de los alimentos. Manual de laboratorio. Editorial Acribia S.A. Zaragoza-España.
- Zhou, G.H., Xu, X.L., & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat-A review. *Meat Science*, 86(1), 119-128.

ANEXOS

ANEXO 1

EVALUACIÓN DEL EL EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ROMERO (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) Y HIERBA BUENA (*MENTHA SPICATA*) EN EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y OXIDACIÓN DE HAMBURGUESA DE CARNE DE LLAMA (*LAMA GLAMA*).

**CUADRO 1:** Resultados de la evaluación de *Echerichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* y Aerobios mesófilos de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero a diferentes concentraciones.

		C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
	TIEMPO	<i>Escherichia coli</i>			<i>Salmonella sp</i>		
R1	0	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A
R1	3	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A
R1	6	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A
R1	9	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A
R1	12	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A

A : Ausencia de microorganismos

Ufc/g : Unidades Formadoras de Colonia por gramo

C<sub>0</sub> : Muestra Patrón

C<sub>1</sub> : Concentración al 0.5% de aceite esencial de romero

C<sub>2</sub> : Concentración al 1% de aceite esencial de romero

**CUADRO 2:** Resultados de la evaluación de *Staphylococcus aureus* de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero a diferentes concentraciones.

Tiempo		R1	R2	DS	Promedio
0	C <sub>0</sub>	-	-	-	-
	C <sub>1</sub>	-	-	-	-
	C <sub>2</sub>	-	-	-	-
3	C <sub>0</sub>	2.4 x 10 <sup>2</sup> ±0.80	0.80 x 10 <sup>2</sup> ±0.80	113.137085	1.6 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>1</sub>	1.1 x 10 <sup>2</sup> ±0.36	0.38 x 10 <sup>2</sup> ±0.36	50.9116882	0.74 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>2</sub>	0.23 x 10 <sup>2</sup> ±0.18	0.17 x 10 <sup>2</sup> ±0.02	4.24264069	0.15 x 10 <sup>2</sup>
6	C <sub>0</sub>	4.29 x 10 <sup>2</sup> ±0.32	3.65 x 10 <sup>2</sup> ±0.32	45.254834	3.97x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>1</sub>	2.1 x 10 <sup>2</sup> ±0.57	0.96 x 10 <sup>2</sup> ±0.57	80.6101731	1.53 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>2</sub>	1.31x 10 <sup>2</sup> ±0.49	0.33x 10 <sup>2</sup> ±0.49	902.97536	0.82 x 10 <sup>2</sup>
9	C <sub>0</sub>	5.36 x 10 <sup>2</sup> ±0.98	3.40 x 10 <sup>2</sup> ±0.98	138.592929	4.38 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>1</sub>	3.72 x 10 <sup>2</sup> ±1.67	0.48x 10 <sup>2</sup> ±1.57	229.102597	2.05 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>2</sub>	2.19 x 10 <sup>2</sup> ±1.03	0.23 x 10 <sup>2</sup> ±0.66	138.592929	1.16 x 10 <sup>2</sup>
12	C <sub>0</sub>	8.2 x 10 <sup>2</sup> ±2.57	3.06 x 10 <sup>2</sup> ±0.93	363.452886	5.63 x 10 <sup>2</sup>

	C <sub>1</sub>	5.18 x 10 <sup>2</sup> ±0.43	4.32 x 10 <sup>2</sup> ±0.43	60.8111832	4.75 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>2</sub>	4.03 x 10 <sup>2</sup> ±0.76	1.51 x 10 <sup>2</sup> ±1.76	178.190909	3.27 x 10 <sup>2</sup>

- Ufc/g : Unidades Formadoras de Colonia por gramo
- C<sub>0</sub> : Muestra Patrón
- C<sub>1</sub> : Concentración al 0.5% de aceite esencial de romero
- C<sub>2</sub> : Concentración al 1% de aceite esencial de romero

**CUADRO 3.** Análisis de varianza (ANVA) para el recuento de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de aceite esencial de romero.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:TIEMPO	3.1265	2	1.56325	2538.42	0.0000	*
B:CONCENTRACION	0.164581	2	0.0822905	113.27	0.0000	*
INTERACCIONES						
AB	0.0426815	4	0.02134075	28.44	0.0000	*
RESIDUOS	0.0054	16	0.0027			
TOTAL (CORREGIDO)	3.3391625	24				

C.V. = 5.87%

**CUADRO 4.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para el tiempo respecto al recuento de *Staphylococcus aureus*, P≤0.05

TIEMPO	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	15	2.29834	0.01983	a
3	15	1.576627	0.01983	b
6	15	1.3497	0.01983	c
9	15	0.445	0.01983	d
12	15	0.3745	0.01983	e

**CUADRO 5.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para las concentraciones respecto al recuento de *Staphylococcus aureus*, P≤0.05

CONCENTRACION	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>2</sub> %	15	0.826671	0.01983	a
C <sub>1</sub> %	15	0.964572	0.01983	b

C <sub>0</sub> %	15	1.879234	0.01983	c
------------------	----	----------	---------	---

**CUADRO 6:** Resultados de la evaluación de Aerobios Mesófilos de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero a diferentes concentraciones.

Tiempo		R1	R2	DS	Promedio
0	C <sub>0</sub>	22 x 10 <sup>4</sup> ±4.00	14x10 <sup>4</sup> ±4.00	56568.5425	18 x 10 <sup>4</sup>
	C <sub>1</sub>	17 x 10 <sup>4</sup> ±5.00	8 x 10 <sup>4</sup> ±4.00	63639.6103	12 x 10 <sup>4</sup>
	C <sub>2</sub>	14 x 10 <sup>4</sup> ±3.00	8x10 <sup>4</sup> ±3.00	42426.4069	11 x 10 <sup>4</sup>
3	C <sub>0</sub>	29 x 10 <sup>5</sup> ±4.00	21x10 <sup>5</sup> ±4.00	565685.425	25 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	21x 10 <sup>5</sup> ±3.00	13x10 <sup>5</sup> ±3.00	565685.425	19 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>2</sub>	18 x 10 <sup>5</sup> ±3.00	12x10 <sup>5</sup> ±3.00	424264.069	15 x 10 <sup>5</sup>
6	C <sub>0</sub>	49 x 10 <sup>5</sup> ±4.00	41x10 <sup>5</sup> ±4.00	565685.425	45 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	37 x 10 <sup>5</sup> ±6.00	25x10 <sup>5</sup> ±6.00	848528.137	31 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>2</sub>	26 x 10 <sup>5</sup> ±6.00	14x10 <sup>5</sup> ±6.00	848528.137	20 x 10 <sup>5</sup>
9	C <sub>0</sub>	61 x 10 <sup>5</sup> ±5.00	51x10 <sup>5</sup> ±5.00	707106.781	56 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	44 x 10 <sup>5</sup> ±7.00	30x10 <sup>5</sup> ±7.00	989949.494	37 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>2</sub>	38 x 10 <sup>5</sup> ±5.00	28x10 <sup>5</sup> ±5.00	707106.781	33 x 10 <sup>5</sup>
12	C <sub>0</sub>	77 x 10 <sup>5</sup> ±2.00	73x10 <sup>5</sup> ±2.00	282842.712	75 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	72 x 10 <sup>5</sup> ±4.00	64x10 <sup>5</sup> ±4.00	565685.425	68 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>2</sub>	66 x 10 <sup>5</sup> ±11.0	44x10 <sup>5</sup> ±11.0	1555634.92	55 x 10 <sup>5</sup>

**CUADRO 7.** Análisis de varianza (ANVA) para el recuento de Aerobios mesofilos a diferentes concentraciones de aceite esencial de romero.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:TIEMPO	15.96548	3	7.98274	4825.11	0.0000	*
B:CONCENTRACION	6.8726	2	3.4363	534.98	0.0000	*
INTERACCIONES						
AB	2.9834	5	1.4917	42.55	0.0000	*
RESIDUOS	0.01339	13	0.006695			
TOTAL (CORREGIDO)	25.83487	23				

C.V. = 7.57%

**CUADRO 8.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para el tiempo respecto al recuento de Aerobios mesofilos, P≤0.05

TIEMPO	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	15	1.84	0.0323556	a
2	15	2.09432	0.0323556	b

3	15	2.35632	0.0323556	c
4	15	3.45629	0.0323556	d
5	15	3.5643	0.0323556	e

**CUADRO 9.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para las concentraciones respecto al recuento de Aerobios mesófilos,  $P \leq 0.05$

CONCENTRACION	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>2</sub> %	15	3.765097	0.0323556	a
C <sub>1</sub> %	15	1.760023	0.0323556	b
C <sub>0</sub> %	15	0.947716	0.0323556	c

**CUADRO 10:** Resultados de la evaluación de *Echerichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* y Aerobios mesófilos de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de hierba buena a diferentes concentraciones.

Rep.	TIEMPO	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
		<i>Escherichia coli</i>			<i>Salmonella sp</i>		
R1	0	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A
R1	3	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A
R1	6	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A
R1	9	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A
R1	12	A	A	A	A	A	A
R2		A	A	A	A	A	A

A : Ausencia de microorganismos

Ufc/g : Unidades Formadoras de Colonia por gramo

C<sub>0</sub> : Muestra Patrón

C<sub>1</sub> : Concentración al 0.5% de aceite esencial de romero

C<sub>2</sub> : Concentración al 1% de aceite esencial de romero.

**CUADRO 11:** Resultados de la evaluación de *Staphylococcus aureus* de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de Hierba buena a diferentes concentraciones.

Tiempo		R1	R2	DS	Promedio
0	C <sub>0</sub>	-	-	-	-
	C <sub>1</sub>	-	-	-	-
	C <sub>2</sub>	-	-	-	-
3	C <sub>0</sub>	$3.5 \times 10^2 \pm 1.80$	$1.9 \times 10^2 \pm 0.80$	113.137085	$2.7 \times 10^2$

	C <sub>1</sub>	3.2 x 10 <sup>2±0.40</sup>	2.4 x 10 <sup>2±0.40</sup>	56.5685425	2.8 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>2</sub>	2.04 x 10 <sup>2±0.18</sup>	1.68 x 10 <sup>2±0.18</sup>	25.4558441	1.86 x 10 <sup>2</sup>
6	C <sub>0</sub>	5.2 x 10 <sup>2±0.40</sup>	3.4 x 10 <sup>2±1.40</sup>	127.279221	4.8 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>1</sub>	3.1 x 10 <sup>2±0.80</sup>	1.5 x 10 <sup>2±0.80</sup>	113.137085	2.3 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>2</sub>	2.31 x 10 <sup>2±0.17</sup>	1.97 x 10 <sup>2±0.17</sup>	24.0416306	2.14 x 10 <sup>2</sup>
9	C <sub>0</sub>	5.13 x 10 <sup>2±0.46</sup>	4.21 x 10 <sup>2±0.46</sup>	65.0538239	4.67 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>1</sub>	3.52 x 10 <sup>2±0.82</sup>	1.88 x 10 <sup>2±0.82</sup>	115.965512	2.7 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>2</sub>	2.69 x 10 <sup>2±0.66</sup>	1.37 x 10 <sup>2±0.66</sup>	93.3380951	2.03 x 10 <sup>2</sup>
12	C <sub>0</sub>	10.2 x 10 <sup>2±1.88</sup>	6.44 x 10 <sup>2±1.88</sup>	265.87215	8.32 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>1</sub>	7.15 x 10 <sup>2±0.89</sup>	5.37 x 10 <sup>2±0.89</sup>	125.865007	6.26 x 10 <sup>2</sup>
	C <sub>2</sub>	5.33 x 10 <sup>2±0.51</sup>	6.35 x 10 <sup>2±0.51</sup>	72.1248917	5.84 x 10 <sup>2</sup>

**CUADRO 12.** Análisis de varianza (ANVA) para el recuento de *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones de aceite esencial de hierbabuena.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:TIEMPO	4.39475	2	2.197375	1287.46	0.0000	*
B:CONCENTRACION	0.18432	2	0.09216	18.47	0.0000	*
INTERACCIONES						
AB	0.05632	4	0.02816	1.65	0.0043	n.s.
RESIDUOS	0.0698884	12	0.034944			
TOTAL (CORREGIDO)	4.69176	20				

C.V.=5.37%

**CUADRO 13.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para el tiempo respecto al recuento de *Staphylococcus aureus* , P≤0.05

TIEMPO	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	15	0.228764	0.0276098	a
3	15	0.7597	0.0276098	b
6	15	1.2287	0.0276098	c

9	15	1.6583	0.0276098	d
12	15	2.65408	0.0276098	e

**CUADRO 14.** Pruebas de Múltiple Rango TUKEY para la concentración respecto al índice de TBARS,  $P \leq 0.05$

CONCENTRACION	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>2</sub> %	15	0.93833	0.0276098	a
C <sub>1</sub> %	15	0.7482	0.0276098	b
C <sub>0</sub> %	15	0.478	0.0276098	c

**CUADRO 15:** Resultados de la evaluación de Aerobios Mesófilos de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de Hierba buena a diferentes concentraciones.

Tiempo		R1	R2	DS	Promedio
0	C <sub>0</sub>	20 x 10 <sup>5</sup> ± 2.00	16x10 <sup>5</sup> ± 2.00	282842.71	18 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	67 x 10 <sup>4</sup> ± 1.00	70 x 10 <sup>4</sup> ± 2.00	21213.203	68 x 10 <sup>4</sup>
	C <sub>2</sub>	49 x 10 <sup>4</sup> ± 4.00	57x10 <sup>4</sup> ± 4.00	56568.542	53 x 10 <sup>4</sup>
3	C <sub>0</sub>	17 x 10 <sup>5</sup> ± 9.00	35x10 <sup>5</sup> ± 9.00	1272792.2	26 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	18x 10 <sup>5</sup> ± 6.00	30x10 <sup>5</sup> ± 6.00	848528.14	24 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>2</sub>	23 x 10 <sup>5</sup> ± 5.00	13x10 <sup>5</sup> ± 5.00	707106.78	18 x 10 <sup>5</sup>
6	C <sub>0</sub>	44 x 10 <sup>5</sup> ± 9.00	26x10 <sup>5</sup> ± 9.00	1272792.2	35 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	41 x 10 <sup>5</sup> ± 11.0	19x10 <sup>5</sup> ± 11.0	1555634.9	30 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>2</sub>	26 x 10 <sup>5</sup> ± 6.00	14x10 <sup>5</sup> ± 6.00	848528.14	20 x 10 <sup>5</sup>
9	C <sub>0</sub>	71 x 10 <sup>5</sup> ± 11.0	48x10 <sup>5</sup> ± 11.0	1626345.6	59 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	57 x 10 <sup>5</sup> ± 8.00	41x10 <sup>5</sup> ± 8.00	1131370.8	49 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>2</sub>	49 x 10 <sup>5</sup> ± 11.0	27x10 <sup>5</sup> ± 11.0	1555634.9	38 x 10 <sup>5</sup>
12	C <sub>0</sub>	71 x 10 <sup>5</sup> ± 10.0	50x10 <sup>5</sup> ± 11.0	1484924.2	61 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>1</sub>	64 x 10 <sup>5</sup> ± 8.00	40x10 <sup>5</sup> ± 12.0	1697056.3	52 x 10 <sup>5</sup>
	C <sub>2</sub>	41 x 10 <sup>5</sup> ± 6.00	29x10 <sup>5</sup> ± 6.00	848528.14	35 x 10 <sup>5</sup>

**CUADRO 16.** Análisis de varianza (ANVA) para el recuento de Aerobios Mesófilos a diferentes concentraciones de aceite esencial de hierbabuena.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:TIEMPO	10.43951	2	5.219755	1759.13	0.0000	*
B:CONCENTRACION	3.61954	2	1.80977	36.75	0.0000	*
INTERACCIONES						
AB	0.4819	4	0.24095	5.32	0.0821	n.s.
RESIDUOS	0.0942557	21	0.047127			

TOTAL (CORREGIDO)	14.635205	29				
-------------------	-----------	----	--	--	--	--

C.V.=7.61%

**CUADRO 17.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para el tiempo respecto al recuento de Aerobios Mesófilos,  $p \leq 0.05$

TIEMPO	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	15	0.74832	0.0792374	a
3	15	0.803276	0.0792374	b
6	15	2.38328	0.0792374	c
9	15	5.73294	0.0792374	d
12	15	7.478229	0.0792374	e

**CUADRO 18.** Pruebas de Múltiple Rango TUKEY para la concentración respecto al recuento de Aerobios Mesófilos , $p \leq 0.05$

CONCENTRACION	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>2</sub> %	15	1.4968	0.0792374	a
C <sub>1</sub> %	15	0.953767	0.0792374	b
C <sub>0</sub> %	15	0.5478	0.0792374	c

## ANEXO 2

### Resultados del índice de TBARS en hamburguesas de carne de llama

**CUADRO 1.** Resultados del índice de TBARS en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero.

TIEMPO	TRAT.	R1	R2	R3	DS	PROM
0	0%	0.494±0.024	0.442±0.028	0.473±0.003	0.0262	0.458
	0.50%	0.421±0.003	0.418±0.006	0.434±0.010	0.0085	0.424
	1%	0.435±0.001	0.452±0.018	0.416±0.018	0.0180	0.434
6	0%	0.746±0.009	0.776±0.021	0.742±0.013	0.0186	0.755
	0.50%	0.654±0.001	0.659±0.006	0.647±0.006	0.0060	0.653
	1%	0.553±0.003	0.544±0.006	0.552±0.002	0.0049	0.55
12	0%	1.256±0.007	1.252±0.003	1.238±0.011	0.0095	1.249

	<b>0.50%</b>	1.116±0.015	1.124±0.023	1.062±0.039	0.0337	1.101
	<b>1%</b>	0.973±0.013	0.987±0.001	0.998±0.012	0.0125	0.986

**CUADRO 2.** Análisis de varianza (ANVA) para el valor TBARS a diferentes concentraciones de aceite esencial de romero.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:TIEMPO	2.09712	2	1.04856	3495.20	0.0000	*
B:CONCENTRACION	0.131607	2	0.0658037	219.35	0.0000	*
INTERACCIONES						
AB	0.0426815	4	0.0106704	35.57	0.0000	*
RESIDUOS	0.0054	18	0.0003			
TOTAL (CORREGIDO)	2.27681	26				

**C.V. = 2.37%**

**CUADRO 3.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para el tiempo respecto al índice de TBARS,  $P \leq 0.05$

TIEMPO	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	0.438889	0.0057735	a
2	9	0.65	0.0057735	b
3	9	1.10667	0.0057735	c

**CUADRO 4.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para las concentraciones respecto al índice de TBARS,  $P \leq 0.05$

CONCENTRACION	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>2</sub> %	9	0.652222	0.0057735	a
C <sub>1</sub> %	9	0.721111	0.0057735	b
C <sub>0</sub> %	9	0.822222	0.0057735	c

**CUADRO 5.** Resultados del índice de TBARS en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de Hierba buena.

TIEMPO	TRAT.	R1	R2	R3	DS	PROMEDIO
0	0%	0.384±0.017	0.395±0.014	0.427±0.004	0.0223	0.423
	0.50%	0.334±0.023	0.358±0.001	0.379±0.022	0.0225	0.427
	1%	0.312±0.030	0.371±0.029	0.345±0.003	0.0296	0.452
6	0%	0.838±0.016	0.855±0.001	0.869±0.015	0.0155	0.806
	0.50%	0.792±0.016	0.771±0.005	0.769±0.010	0.0127	0.776
	1%	0.713±0.012	0.727±0.002	0.736±0.011	0.0116	0.725
12	0%	1.698±0.017	1.722±0.007	1.724±0.009	0.0145	1.715
	0.50%	1.585±0.035	1.578±0.042	1.352±0.268	0.1325	1.62
	1%	1.494±0.023	1.521±0.004	1.536±0.015	0.0213	1.517

**CUADRO 6.** Análisis de varianza (ANVA) para el valor TBARS a diferentes concentraciones de aceite esencial de hierbabuena.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:TIEMPO	6.90192	2	3.45096	1595.48	0.0000	*
B:CONCENTRACION	0.0923185	2	0.0461593	21.34	0.0000	*
INTERACCIONES						
AB	0.0245926	4	0.00614815	2.84	0.0547	n.s.
RESIDUOS	0.0389333	18	0.00216296			
TOTAL (CORREGIDO)	7.05776	26				

C.V.=4.88%

**CUADRO 7.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para el tiempo respecto al índice de TBARS,  $P \leq 0.05$

TIEMPO	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	9	0.354444	0.0155026	a
6	9	0.78	0.0155026	b
12	9	1.57444	0.0155026	c

**CUADRO 8.** Pruebas de Múltiple Rango TUKEY para la concentración respecto al índice de TBARS,  $P \leq 0.05$

CONCENTRACION	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>0</sub> %	9	0.984444	0.0155026	a
C <sub>1</sub> %	9	0.874444	0.0155026	b
C <sub>2</sub> %	9	0.85	0.0155026	b

**ANEXO 3**

**Resultados del índice de peróxido en hamburguesas de carne de llama.**

**CUADRO 1.** Resultados del Índice de peróxidos en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero.

TIEMPO	CONCENTRACION	R1	R2	R3	DS	PROMEDIO
0	0%	2.5±0.2	2.5±0.2	3±0.2	0.289	3.7
	0.50%	3.0±0.3	3.5±0.0	3.5±0.0	0.289	3.5
	1%	2.0±0.2	2.5±0.2	2.0±0.3	0.289	2
6	0%	3.0±0.3	3.5±0.0	6.5±0.0	0.289	6.5
	0.50%	5.5±0.3	6.0±0.2	6.0±0.2	0.289	5.8
	1%	3.5±0.8	3.5±0.8	3.0±0.3	0.289	3.3
12	0%	9.5±0.3	9.0±0.2	8.0±0.2	0.289	9.8
	0.50%	9.0±0.0	9.0±0.0	9.0±0.0	0.000	9
	1%	7.5±0.0	7.5±0.0	7.5±0.0	0.000	7.5

**CUADRO 2.** Análisis de varianza (ANVA) para el índice de peróxidos a diferentes concentraciones de aceite esencial de romero.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
A: tiempo	140.056	2	70.0278	1080.43	0.0000	*
B: concentración	15.3889	2	7.69444	118.71	0.0000	*
INTERACCIONES						
AB	2.88889	4	0.722222	11.14	0.0001	*
RESIDUOS	1.16667	18	0.0648148			
TOTAL (CORREGIDO)	159.5	26				

C.V.=4.89%

**CUADRO 3.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para el Tiempo con respecto al Índice de Peróxidos  $P \leq 0.05$ 

Tiempo	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>0</sub> %	9	2.72222	0.0848625	a
C <sub>1</sub> %	9	4.16667	0.0848625	b
C <sub>2</sub> %	9	8.11111	0.0848625	c

**CUADRO 4.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para la Concentración con respecto al Índice de Peróxidos  $P \leq 0.05$ 

Concentraciones	Observaciones	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>0</sub> %	9	4.33333	0.0848625	a
C <sub>1</sub> %	9	4.61111	0.0848625	b
C <sub>2</sub> %	9	6.05556	0.0848625	c

**CUADRO 5.** Resultados del índice de peróxido de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de hierba buena.

TIEMPO	TRAT.	R1	R2	R3	DS	PROMEDIO
<b>0</b>	<b>0%</b>	4.0±0.2	4.0±0.2	4.5±0.1	0.289	4.2
	<b>0.50%</b>	2.5±0.2	2.5±0.2	2.0±0.3	0.289	2.3
	<b>1%</b>	3.5±0.2	3.5±0.2	4.0±0.3	0.289	3.7
<b>6</b>	<b>0%</b>	6.0±0.2	6.0±0.2	6.5±0.3	0.289	6.2
	<b>0.50%</b>	5.0±0.2	5.0±0.2	5.5±0.3	0.289	5.2
	<b>1%</b>	5.5±0.2	5.5±0.2	6.0±0.3	0.289	5.7
<b>12</b>	<b>0%</b>	11.0±0.2	11.0±0.2	11.5±0.3	0.289	11.2
	<b>0.50%</b>	9.5±0.2	9.5±0.2	10.0±0.3	0.289	9.7
	<b>1%</b>	9.5±0.3	10.0±0.2	10.0±0.2	0.289	9.8

**CUADRO 6.** Análisis de varianza (ANVA) para el índice de peróxidos a diferentes concentraciones de aceite esencial de hierbabuena.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:tiempo	217.907	2	108.954	1307.44	0.0000	*
B:concentracion	9.40741	2	4.7037	56.44	0.0000	*
INTERACCIONES						
AB	1.53704	4	0.384259	4.61	0.0097	*
RESIDUOS	1.5	18	0.0833333			
TOTAL (CORREGIDO)	230.352	26				

C.V.=4.47

**CUADRO 7.** Prueba de Rango Múltiple TUKEY para el Tiempo con respecto al Índice de Peróxidos  $P \leq 0.05$

Tiempo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	9	3.38889	0.096225	a
6	9	5.66667	0.096225	b
12	9	10.2222	0.096225	c

**CUADRO 8.** Prueba de Rango Múltiple TUKEY para la Concentración con respecto al Índice de Peróxidos  $P \leq 0.05$

Concentración	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
C <sub>1</sub> %	9	5.72222	0.096225	a
C <sub>2</sub> %	9	6.38889	0.096225	b
C <sub>0</sub> %	9	7.16667	0.096225	c

**ANEXO 4**

**Resultados del análisis sensorial de la hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero**

**CUADRO 1 .** Resultados de color en hamburguesa de carne de llama con adición de aceite esencial de romero

Panelista	M1	M2	Panelista	Repetición	M1	M2
1	4	4	11	R1	3	3
	3	4		R2	3	4
	3	3		R3	3	4
2	4	4	12	R1	4	4
	4	3		R2	3	3
	4	4		R3	3	3
3	5	5	13	R1	4	3
	5	5		R2	4	3
	5	5		R3	4	4
4	3	4	14	R1	4	3
	3	4		R2	3	3
	3	4		R3	3	4
5	4	4	15	R1	4	4
	3	3		R2	4	4
	5	4		R3	4	4
6	3	3	16	R1	4	4
	3	3		R2	5	4
	4	4		R3	5	4
7	4	3	17	R1	4	5
	4	3		R2	5	5
	3	3		R3	4	4
8	3	4	18	R1	4	4
	3	3		R2	5	5
	4	4		R3	3	4
9	4	4	19	R1	4	4
	4	4		R2	4	4
	3	4		R3	4	5
10	4	5	20	R1	4	5
	3	4		R2	4	3
	4	4		R3	5	4

**CUADRO 2.** Análisis de varianza (ANVA) para el color en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.  $p \leq 0.05$

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
Jueces	24.3333	19	1.2807	4.50	0.0000	*
Muestras	0.133333	1	0.133333	0.47	0.4955	n.s.
RESIDUOS	28.2	99	0.284848			
TOTAL (CORREGIDO)	52.6667	119				

C.V.=13.81%

**CUADRO3.** Prueba de Rango Múltiple TUKEY, para el color en hamburguesas de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.  $p \leq 0.05$

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
CON A.E.	60	3.86667	0.0689019	a
SIN A.E.	60	3.8	0.0689019	b

**CUADRO 4.** Resultados de olor en hamburguesa de carne de llama con adición de aceite esencial de romero.

Panelista	Repetición	M1	M2	Panelista	Repetición	M1	M2
1	R1	4	2	11	R1	3	1
	R2	3	2		R2	4	1
	R3	3	1		R3	3	2
2	R1	3	2	12	R1	4	2
	R2	3	2		R2	4	1
	R3	3	2		R3	3	2
3	R1	4	2	13	R1	4	2
	R2	4	1		R2	5	1
	R3	2	2		R3	4	2
4	R1	4	1	14	R1	3	1
	R2	4	2		R2	4	2
	R3	4	2		R3	4	2
5	R1	3	1	15	R1	4	1
	R2	4	1		R2	4	2
	R3	4	1		R3	4	2
6	R1	4	2	16	R1	4	1
	R2	3	2		R2	4	2
	R3	3	2		R3	4	2
7	R1	4	2	17	R1	3	2
	R2	4	2		R2	4	2

	<b>R3</b>	3	2		<b>R3</b>	4	1
<b>8</b>	<b>R1</b>	4	2	<b>18</b>	<b>R1</b>	4	2
	<b>R2</b>	3	2		<b>R2</b>	4	1
	<b>R3</b>	4	2		<b>R3</b>	4	2
<b>9</b>	<b>R1</b>	4	2	<b>19</b>	<b>R1</b>	4	2
	<b>R2</b>	3	3		<b>R2</b>	3	2
	<b>R3</b>	4	2		<b>R3</b>	5	1
<b>10</b>	<b>R1</b>	5	1	<b>20</b>	<b>R1</b>	5	2
	<b>R2</b>	4	1		<b>R2</b>	4	1
	<b>R3</b>	5	1		<b>R3</b>	4	1

**CUADRO 5.** Análisis de varianza (ANVA) para el olor en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.  $p \leq 0.05$

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razó n-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
Jueces	4.36667	19	0.229825	0.68	0.8349	n.s.
Muestras	132.3	1	132.3	388.66	0.0000	*
RESIDUOS	33.7	99	0.340404			
TOTAL (CORREGIDO)	170.367	119				

**C.V.=21.46%**

**CUADRO 6.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para el olor en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
SIN A.E.	60	3.76667	0.075322	a
CON A.E.	60	1.66667	0.075322	b

**CUADRO 7.** Resultados de Sabor de hamburguesa de carne de llama

Panelista	Repetición	M1	M2	Panelista	Repetición	M1	M2
<b>1</b>	<b>R1</b>	4	1	<b>11</b>	<b>R1</b>	4	1
	<b>R2</b>	4	1		<b>R2</b>	3	1
	<b>R3</b>	2	3		<b>R3</b>	3	1
<b>2</b>	<b>R1</b>	3	2	<b>12</b>	<b>R1</b>	4	2
	<b>R2</b>	3	2		<b>R2</b>	2	2
	<b>R3</b>	4	2		<b>R3</b>	2	2
<b>3</b>	<b>R1</b>	2	2	<b>13</b>	<b>R1</b>	4	1
	<b>R2</b>	3	2		<b>R2</b>	4	1
	<b>R3</b>	3	2		<b>R3</b>	3	2

4	R1	4	2	14	R1	4	1
	R2	3	1		R2	4	1
	R3	5	2		R3	3	1
5	R1	2	1	15	R1	4	1
	R2	3	1		R2	3	2
	R3	3	1		R3	3	2
6	R1	3	2	16	R1	3	1
	R2	3	1		R2	3	1
	R3	3	2		R3	4	2
7	R1	4	2	17	R1	4	1
	R2	3	3		R2	4	2
	R3	4	2		R3	3	1
8	R1	3	3	18	R1	4	2
	R2	4	2		R2	3	1
	R3	3	2		R3	4	1
9	R1	3	2	19	R1	5	2
	R2	4	3		R2	4	1
	R3	3	1		R3	4	2
10	R1	4	1	20	R1	4	2
	R2	4	1		R2	4	1
	R3	5	1		R3	5	1

**CUADRO 8.** Análisis de Varianza del sabor de hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.  $p \leq 0.05$

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
Jueces	9.53333	19	0.501754	1.08	0.3837	n.s.
Muestras	108.3	1	108.3	232.91	0.0000	*
RESIDUOS	46.0333	99	0.464983			
TOTAL (CORREGIDO)	163.867	119				

**C.V.=26.77%**

**CUADRO 9.** Pruebas de Rango Múltiple TUKEY para Sabor de hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.  $p \leq 0.05$

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
SIN A.E.	60	3.48333	0.0880325	a
CON A.E.	60	1.58333	0.0880325	b

**CUADRO 10.** Resultados de textura en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.  $p \leq 0.05$

Panelista	Repetición	M1	M2	Panelista	Repetición	M1	M2
-----------	------------	----	----	-----------	------------	----	----

1	R1	3	3	11	R1	4	2
	R2	3	4		R2	3	2
	R3	3	3		R3	4	2
2	R1	3	2	12	R1	3	3
	R2	4	3		R2	3	3
	R3	4	3		R3	3	3
3	R1	3	3	13	R1	5	3
	R2	3	3		R2	4	2
	R3	4	4		R3	4	3
4	R1	4	3	14	R1	3	2
	R2	4	3		R2	3	2
	R3	4	2		R3	3	2
5	R1	4	2	15	R1	4	4
	R2	3	3		R2	3	3
	R3	3	1		R3	4	4
6	R1	4	2	16	R1	3	3
	R2	4	3		R2	4	4
	R3	3	2		R3	4	4
7	R1	3	3	17	R1	4	3
	R2	4	3		R2	5	4
	R3	4	3		R3	3	3
8	R1	4	3	18	R1	4	3
	R2	4	3		R2	3	4
	R3	3	3		R3	4	3
9	R1	4	2	19	R1	3	4
	R2	4	2		R2	3	4
	R3	3	2		R3	4	4
10	R1	4	4	20	R1	4	4
	R2	4	4		R2	4	3
	R3	4	4		R3	4	4

**CUADRO 11.** Análisis de Varianza (ANVA) para textura en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.  $p \leq 0.05$

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P	Sig.
EFFECTOS PRINCIPALES						
Jueces	18.5333	19	0.975439	2.79	0.0005	*
Muestras	12.0333	1	12.0333	34.40	0.3765	n.s.

RESIDUOS	34.6333	99	0.349832			
TOTAL (CORREGIDO)	65.2	119				

**C.V.= 17.93%**

**CUADRO 12.** Prueba de Rango Múltiple de TUKEY para textura en hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero al 1%.  $p \leq 0.05$

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
SIN A.E.	60	3.61667	0.0763579	a
CON A.E.	60	2.98333	0.0763579	b

## ANEXO 5

La norma técnica sanitaria N° 071 dispuesta por la DIGESA (Dirección General de Salud Ambiental), siendo una actualización de la Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, que a su vez dispone parámetros para los productos Carnes procesadas refrigeradas o congeladas (hamburguesas, milanesas, croquetas, empanizados o aderezados). Como se observa en el siguiente cuadro:

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g.	
					m	M
<b>Aerobios mesófilos (30°C)</b>	2	3	5	2	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	50	5x10
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Clostridium perfringens</i> (*)	7	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25g	.....

(\*) Solo para productos con película impermeable o atmosfera modificada o al vacío en lugar de aerobios mesófilos.

**ANEXO 6**

**FICHA DE EVALUACION SENSORIAL**

**NOMBRE DEL PANELISTA**

**PRODUCTO** **CODIGO**

**FECHA**

**INSTRUCCIONES:**

Se le presenta 2 muestras M1, M2 en la que se le pide evaluar el color y olor, sabor y textura asignando un puntaje a las muestras en el orden de preferencia o aceptación. Sigue la siguiente escala:

Excelente	5 puntos
Muy bueno	4 puntos
Bueno	3 puntos
Regular	2 puntos
Malo	1 punto

ATRIBUTO	COLOR	OLOR	SABOR	TEXTURA
M1				
M2				

OBSERVACIONES:.....  
.....

**Figura 7:** Ficha de evaluacion sensorial.

## ANEXO 7

## FICHA TECNICA DEL ACEITE ESENCIAL DE ROMERO

## 1. IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O EL PREPARADO.

- Nombre: Aceite esencial de romero
- Nombre botánico: *Rosmarinus officinalis L.*

## 2. DESCRIPCIÓN

- Aspecto: Líquido transparente – Líquido turbio
- Color: Pardo verdoso – Pardo turbio
- Rendimiento: Materia prima: 10 kilos  
Aceite esencial obtenido 25ml  
Rendimiento 2.5

## 3. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.

- Densidad a 20°C: 1,050 - 1,065 g/ml
- pH: 6,5 - 7,2
- Residuo seco (6h): 2,3 - 3,5 %
- Solubilidad: Soluble en disoluciones acuosas.
- Índice de refracción: 1,4820 - 1,4930.

4. PROPIEDADES Y USOS: La Esencia de romero es destinada fundamentalmente como aromatizante en la fabricación de perfumes. Los principios activos son pineno, canfeno, borneol, cineol, alcánfor, y limoneno. Farmacológicamente el aceite esencial es un tónico general, estimulante del sistema nervioso, aperitivo, carminativo, espasmolítico, antiséptico, fungistático, emenagogo, expectorante. Está indicado en astenia, inapetencia, espasmos gastrointestinales, heridas, dermatitis seborreica, mialgias, neuralgias, inflamaciones osteoarticulares, etc.

5. CONSERVACIÓN: - En envases herméticamente cerrados.  
- Bajo protección de luz natural y/o artificial.

(Fuente: Laboratorios BILPER GROUP, Laboratorio GREEN ANDINA COLOMBIA LTDA.)

(Octubre, 2016)

## ANEXO 8

## FICHA TECNICA DEL ACEITE ESENCIAL DE HIERBA BUENA

## 1. IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O EL PREPARADO.

Nombre: Aceite esencial de hierba buena

Nombre botánico: *Mentha Spicata*.

## 2. DESCRIPCIÓN

Analítica a 20°C:

- Aspecto: - Líquido aceitoso
- Color: amarillo pálido.
  - Olor: Mentolado, herbáceo.
  - Rendimiento: Materia prima: 8 kilos  
Aceite esencial obtenido 15ml  
Rendimiento 1.9

## 3. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICOS.

- Densidad (g/ml): 0,938 - 0,958
- Índice de refracción: 1,480-1,500
- Solubilidad: buena en alcohol

4. PROPIEDADES Y USOS: Entre las ventajas que encontramos en el uso de aceite esencial de hierbabuena para nuestra salud, sus propiedades para mejorar nuestra digestión son las más llamativas. Las personas con problemas digestivos tales como dolores de estómago, estreñimiento e incluso malas digestiones pueden beneficiarse de este tipo de aceite mediante un suave masaje en el abdomen, siendo capaces de ver resultados rápidamente mediante su uso.

El aceite esencial de hierbabuena también está recomendado para la lucha contra el dolor de cabeza y las migrañas. Una pequeña aplicación, mediante un masaje, de un poco de este aceite diluido sobre nuestra frente puede mejorar rápidamente cualquier tipo de dolor de cabeza e incluso mareos, si va acompañado de este tipo de síntomas.

5. CONSERVACIÓN: - En envases herméticamente cerrados.  
- Bajo protección de luz natural y/o artificial.

(Fuente: Laboratorios BILPER GROUP

(Octubre, 2016)

**ANEXO 9**

**Panel Fotográfico de la elaboración de hamburguesa de carne de llama con aceite esencial de romero y hierbabuena.**



Extracción de aceite esencial de Hierba buena



Elaboración de hamburguesas de carne de llama

**Panel fotográfico del recuento de microorganismos en hamburguesa de carne de llama.**



Pesado de la muestra a analizar



Preparación de las muestras



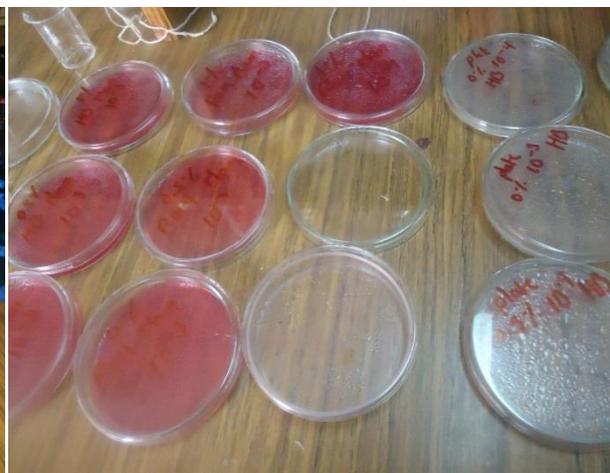
Medición de pH



Incubación de microorganismos



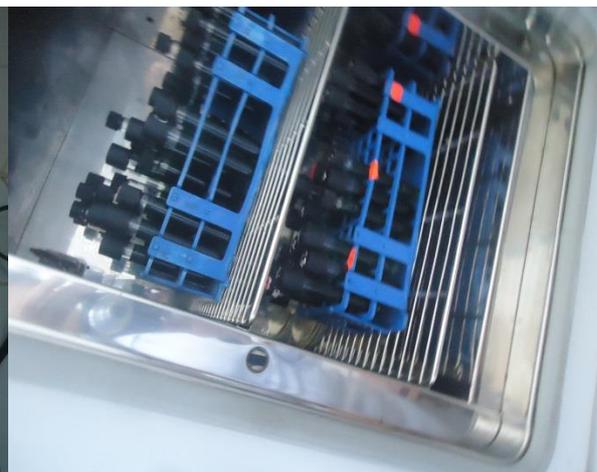
Recuento de E. Coli



Recuento de Microorganismos



Conteo de microorganismos en el  
cuentacolonias.



Incubación de *E.coli*

**Panel Fotográfico de la medición del índice de TBARS.**



Pesado de la muestra a analizar



Destilación de la muestra



Lectura en el espectrofotómetro

**Panel fotográfico del análisis sensorial**



Preparación de las 2 muestras por cada juez.



Fritado de la hamburguesa