

**EFFECTO ANTIOXIDANTE DEL ACEITE
ESENCIAL DE TOMILLO
(*Acantholippia seriphoides*)
EN MEDALLONES DE CARNE VACUNA
SOMETIDOS A DIFERENTES
TRATAMIENTOS TÉRMICOS**

María Angela Gassull

**Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad Nacional de Cuyo
2012**

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphoides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”



**EFFECTO ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO
(*Acantholippia seriphoides*)
EN MEDALLONES DE CARNE VACUNA SOMETIDOS
A DIFERENTES TRATAMIENTOS TÉRMICOS**

María Angela Gassull

Directora: Lic. en Cs. Qcas. Rosa Medina

Comité Evaluador

Presidente: Ing. Agr. Alejandro Gascón

Vocales : Lic. Claudia Amadio

Dra. Silvia Van Den Boch

Vocal Suplente: Lic. Susana Miralles

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo

2012

AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo por eso agradezco:

A Dios y la Mater plantilla

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor. Por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante el periodo de estudio y de mi vida.

A mis padres

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me han permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mis hermanos

María Carolina, Gonzalo y María Pilar por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho.

Gracias a mis abuelas, por su cariño y consejos continuos.

A mi Directora de tesis

Lic. en Cs. Qcas. Rosa Medina por haber confiado en mi persona, por la paciencia y por la dirección de esta tesis. Pues le he quitado tiempo a su familia y a su trabajo para que me acompañe en la realización de esta tarea. Nunca le podré agradecer lo suficiente el enorme esfuerzo de acompañarme durante tanto tiempo. Sin ella esta tesis nunca hubiese sido posible.

A las profesoras

Claudia Amadio, Susana Miralles y Gabriela Oberti por los consejos, el apoyo y el ánimo que me brindaron.

A mis amigos

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

Jimena y Gabriela. Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y aun hoy, seguimos siendo amigas; y me ayudaron a realizar este trabajo.

A mis amigas Micaela, Eimi, Silvana, amigos de la facultad y del Movimiento Apostólico de Schoenstatt por su incondicional cariño y apoyo.

Finalmente y sin ser menos importante gracias a mis queridas compañeras, que me permitieron entrar en su vida durante estos años de estudio.

Gracias a la Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias por brindarme las herramientas necesarias para ejercer mi profesión.

Gracias a todos.

RESUMEN

Los alimentos con base lipídica se deterioran al sufrir diversas reacciones de oxidación, tanto por calentamiento como durante su almacenamiento prolongado. Para retardar este deterioro se recurre a distintos métodos entre los que se destaca el uso de aditivos específicos, denominados antioxidantes. Últimamente ha crecido la demanda de “productos de origen natural”, libres de compuestos químicos sintéticos, y se ha incrementado el estudio y el uso de sustancias que posean antioxidantes naturales. El timol y el carvacrol son compuestos fenólicos naturales, considerados como antioxidantes, agentes antifúngicos y antibacteriales presentes en cantidades significativas en los aceites esenciales del género *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* y *Lippia*, especies ampliamente utilizadas como especias y tés herbáceos.

Para evaluar la capacidad antioxidante del aceite esencial de tomillo (AET) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos, se trabajó con el músculo semitendinoso (peceto) de carne vacuna adquirido en el comercio. A la carne molida se le incorporó 10% de grasa vacuna y 1% de cloruro de sodio. La masa así obtenida se dividió en tres porciones de igual peso. A una de ellas se le adicionó 200 mg/kg de AET, dosis máxima aceptada por los consumidores y a otra, 200 mg/kg de BHT y la restante, no recibió aditivos. Las tres fracciones se homogenizaron, individualmente y, posteriormente, se armaron medallones de 50g de peso. La tercera parte de los medallones de cada fracción se cocinó hasta alcanzar en su interior los 72°C, en horno microondas a máxima potencia, en horno eléctrico a 220°C durante diez minutos y por fritura en aceite de girasol, (obtenido en el comercio sin antioxidantes añadidos) mantenido a 170°C. Posteriormente, se cubrieron individualmente, con film de PVC y se almacenaron a 15°C. A los 0; 3; 7; 9 y 15 días se retiraron, aleatoriamente, tres medallones correspondientes a cada tratamiento que se analizaron por triplicado.

En los medallones se determinaron, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) por el método de Beon Jun Lee y la media de ocho mediciones realizadas sobre la superficie de los parámetros de color L*, a* y b* empleando un colorímetro Minolta CR 400. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA y pruebas de comparaciones múltiples para un $\alpha = 0,05$.

El método de cocción que favoreció la oxidación fue el llevado a cabo en horno eléctrico. Los medallones fritos, presentaron valores medios y los cocidos por microondas mostraron los menores valores.

El almacenamiento a 15°C de medallones cocidos (control) por los tres métodos de cocción favorece la formación de TBARS y son significativamente superior al de los que fueron adicionados con 200 mg/kg de AET o 200 mg/kg de BHT.

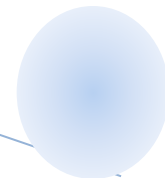
La adición de AET fue tan efectiva como la del BHT en los medallones cuya cocción se efectuó tanto en horno microondas como en los fritos y, cuando la cocción se llevó a cabo en horno eléctrico, resultó un 67% menos efectiva que la correspondiente a la de los adicionados con BHT.

Los valores de la TBARS y los de las coordenadas L*, a* y b* medidos sobre la superficie de medallones fritos, no guardaron relación entre sí. Los valores de las coordenadas de color a* indican que resulta más efectiva la protección del color de los medallones adicionados con cualquiera de los dos antioxidantes empleados, cuando la cocción se lleva a cabo en horno de microondas o en horno eléctrico.

Bajo las condiciones de ensayo, la adición de aceite esencial de *Acantholippia seriphioides* en dosis de 200 mg/kg tiene un efecto antioxidante en medallones de carne vacuna sometidos a distintos métodos de cocción.

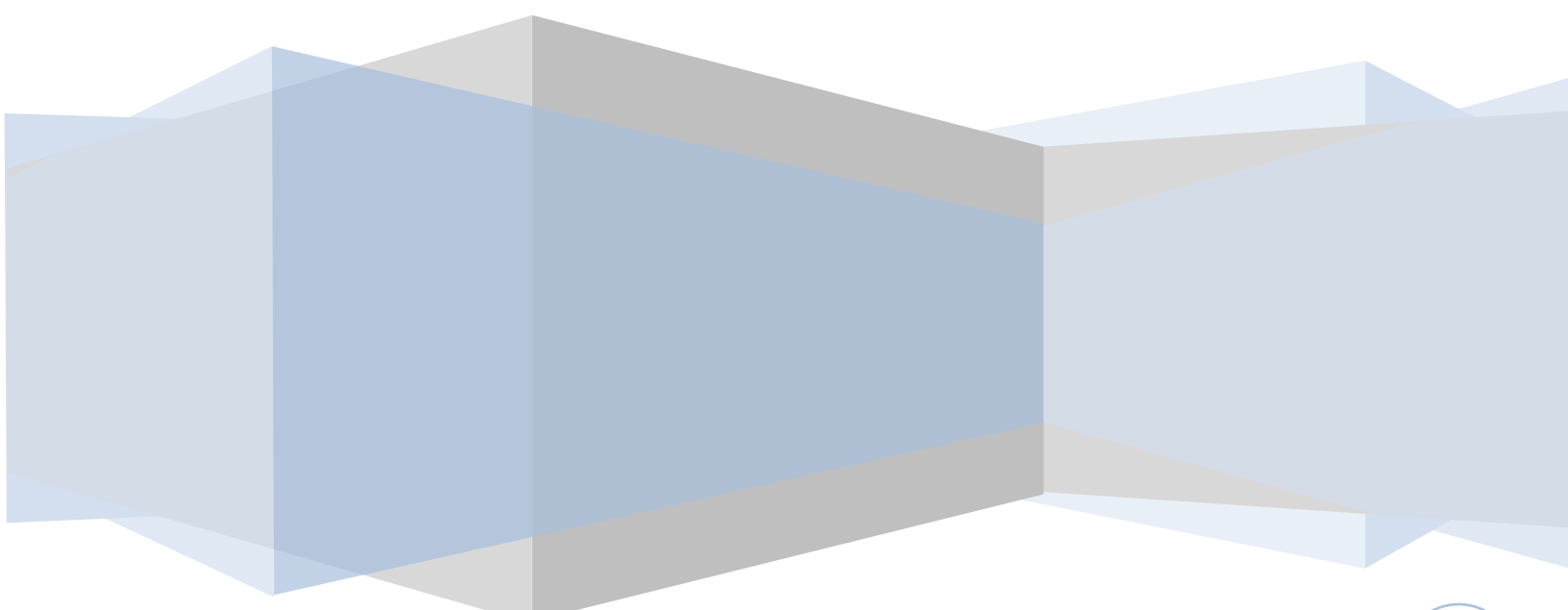
INDICE

AGRADECIMIENTOS	2
RESUMEN	4
CAPÍTULO 1	6
INTRODUCCIÓN	7
<i>RANCIDEZ</i>	7
<i>ANTIOXIDANTES</i>	12
<i>MÉTODOS DE COCCIÓN EN LOS ALIMENTOS</i>	16
<i>COLOR DE LA CARNE</i>	19
<i>MEDICIÓN DEL COLOR</i>	20
<i>EL “TOMILLO DEL CERRO O MENDOCINO”</i>	22
CAPÍTULO 2	24
OBJETIVOS GENERALES	25
OBJETIVOS PARTICULARES	25
CAPÍTULO 3	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
<i>OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO MENDOCINO</i>	27
<i>EVOLUCIÓN DE LA RANCIDEZ OXIDATIVA EN MEDALLONES DE CARNE VACUNA COCIDOS POR DISTINTOS MÉTODOS Y ALMACENADOS A 15°C</i>	27
CAPÍTULO 4	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
<i>OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO MENDOCINO</i>	31
<i>EVOLUCIÓN DE LA RANCIDEZ OXIDATIVA EN MEDALLONES DE CARNE VACUNA COCIDOS POR DISTINTOS MÉTODOS Y ALMACENADOS A 15°C</i>	32
CAPÍTULO 5	63
CONCLUSIONES	64
CAPÍTULO 6	65
BIBLIOGRAFÍA	66



Capítulo 1:

Introducción



INTRODUCCION

Las grasas, los aceites y los alimentos con base lipídica se deterioran al sufrir diversas reacciones de degradación, tanto por calentamiento como durante su almacenamiento prolongado. Los principales procesos de deterioro son las reacciones de oxidación y de descomposición de los productos de oxidación que, afectan no sólo a los fosfolípidos de membrana sino también a las proteínas, provocando la pérdida de solubilidad de las mismas, pérdida de color, disminuyendo su valor nutritivo (Estévez, y col., 2006; Fasseas, y col., 2007), debido a que los peróxidos resultantes destruyen las vitaminas liposolubles A, D, E, caroteno y parte de los ácidos grasos esenciales y paralizan la biosíntesis de vitamina K.

RANCIDEZ

Procesos mecánicos en los alimentos tales como picado, amasado y molido dañan la integridad de la membrana y exponen a los fosfolípidos a la acción del oxígeno molecular, las enzimas oxidativas, los pigmentos hémicos y los iones metálicos.

Para retardar el enranciamiento de los lípidos presentes en los alimentos, es de vital importancia su correcta conservación. La gran variedad de términos descriptivos para los caracteres de la rancidez, pone en evidencia la complejidad del proceso.

Desde el punto de vista de los causantes de esta alteración, se pueden distinguir tres clases de enranciamiento (Rojano y col., 2008)

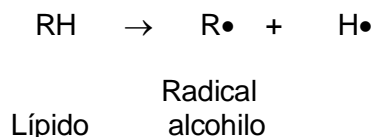
1. Rancidez biológica. El punto de partida es una lipólisis o hidrólisis de los glicéridos. Se observa hidrólisis en las grasas hidratadas tales como la margarina. Es debida a la acción de microorganismos vivos, tales como bacterias (*Bacillus prodigiosus*, *Bacillus fluorescens*, *Bacillus liquefaciens*), hongos (*Oidium*, *Penicillium*, *Mucor*), levaduras (*Torulas*) y a los poderosos sistemas enzimáticos que éstos producen. Se inicia por la acción de las lipasas que liberan ácidos grasos y acilglicéridos. Estos productos, luego se oxidan por lipo-oxidasas a compuestos con función aldehídica y cetónica.

2. Rancidez cetónica. Se debe a la oxidación de ácidos grasos saturados de bajo peso molecular por acción de hongos y bacterias, con formación de un β ceto-ácido que se transforma, por desprendimiento de CO_2 , en una metilcetona de olor y sabor aromático, a frutas. En cambio, el olor y sabor a sebo ("tallowiness") se produce por la combinación de un peróxido con un doble enlace en forma de un anillo de dioxano.

3. Rancidez oxidativa. Se trata, principalmente, de un enranciamiento oxidativo o peroxidación de ácidos grasos no saturados, tales como el oleico, el linoleico y el linolénico. Por eso, se enrancian tanto más rápidamente cuanto mayor es el contenido en ácidos grasos no saturados, aunque es aún más importante la presencia de sustancias y factores pro oxidantes (calor, humedad, luz, metales) o antioxidantes.

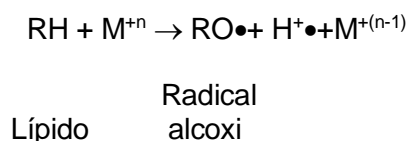
La autoxidación de los lípidos ocurre fundamentalmente debido a los ácidos grasos insaturados a través de una serie de reacciones en cadena de radicales libres, que se lleva a cabo en tres etapas iniciación, propagación y terminación (Rojano y col., 2008).

➤ **Iniciación:** produce la formación de radicales alcoholo



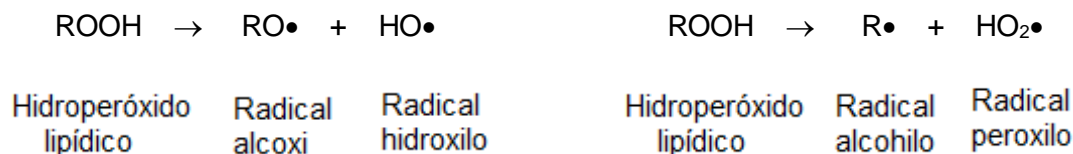
Es favorecida por la luz, la temperatura, la humedad y la presencia de iones metálicos o de compuestos oxidados o es inhibida por la presencia de antioxidantes.

Los metales de transición, tales como el cobre o el hierro, inician esta transformación en concentraciones menores a 1 mg / kg

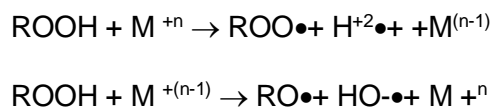


Ellos catalizan la oxidación que se favorece, cuando existen en el medio ácidos grasos libres que los solubilizan, aumentando su contacto con los lípidos (Badui; 1999).

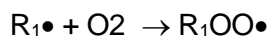
Por otra parte, la iniciación se puede producir en lípidos que ya contenían peróxidos, entonces se denomina *iniciación secundaria*. Las reacciones que se producen pueden ser:

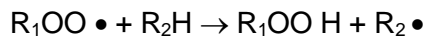


La presencia de metales en el medio, disminuye la energía de activación de la iniciación secundaria porque se pueden producir las siguientes reacciones:



➤ **Propagación:** consiste en una cadena de reacciones rápidas, porque los radicales libres son muy reactivos, en las que se forman los hidroperóxidos y, paralelamente, producen un consumo de oxígeno gaseoso.





Posteriormente, los compuestos formados pueden sufrir varias transformaciones originando nuevos radicales que continúan la reacción en cadena y además, cetonas, aldehídos, alcoholes, ácidos grasos, hidrocarburos. Entre ellos, el malonaldehído es uno de los más importantes. Por otra parte, los radicales libres generados en la descomposición de los peróxidos producen compuestos muy activos que pueden dar lugar a otras reacciones, que determinan destrucción de aminoácidos, insolubilización y polimerización de proteínas.

Los **radicales libres** son moléculas o átomos que presentan, al menos, un electrón no apareado. La mayoría de los radicales libres son en extremo reactivos y tienden a asociarse a un electrón libre, son altamente tóxicos y capaces de reaccionar con diversas moléculas orgánicas, mecanismos a través de los cuales provocan daños a nivel celular y tisular, causando alteraciones funcionales. Dentro de los radicales libres cabe mencionar al átomo de hidrógeno ($H\bullet$), triclorometil ($\bullet CCl_3$), superóxido de oxígeno ($O_2\bullet^-$), hidroxilo ($\bullet OH$), tiol ($RS\bullet$), peroxil ($RO_2\bullet$), alquil ($RO\bullet$) y óxido de nitrógeno ($NO\bullet$).

Es importante señalar que el término especies reactivas al oxígeno (ROS) se refiere tanto a los radicales que se derivan del oxígeno ($O_2\bullet$ y $OH\bullet$, $RO_2\bullet$, $RO\bullet$, $HO_2\bullet$) como a los que no derivan de éste (H_2O_2 , $HOCl$, O_3 , $1O_2$, $ONOO^-$), y que son elementos y compuestos que se generan durante el metabolismo, en los tejidos (Huerta Jiménez y col., 2005). Estos radicales, además, juegan un papel importante en el envejecimiento y en numerosas enfermedades degenerativas o crónicas como el cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y arterioesclerosis (Inoue Hachiro y col., 2002). Por otra parte, favorecen el inicio de reacciones secundarias que llevan a la rancidez oxidativa de los alimentos elaborados.

La descomposición de los hidroperóxidos está catalizada por metales pesados y en consecuencia los quelantes de metales también inhiben la oxidación. Algunas sustancias, llamadas sinérgicas, no poseen actividad antioxidante por sí misma, pero aumentan la actividad de los antioxidantes. Otro grupo de sustancias tales como el azufre, el selenio, los tioles, los sulfitos y disulfuros descomponen los hidroperóxidos lipídicos en rutas diferentes a la de los radicales, formando alcoholes estables y productos inactivos, y por tanto reducen el contenido en radicales libres (Pokorny y col., 2001). Finalmente, el oxígeno desempeña una función importante como aceptor terminal de electrones durante la respiración celular, y constituye lo que se conoce como el "soporte de la vida"; pero también constituye el punto de partida para un tipo de daño celular conocido como "estrés oxidativo". El desbalance en la producción de especies reactivas del oxígeno y la defensa antioxidante provoca el "estrés oxidativo" que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos, los cuales provocan el deterioro y muerte celular (Pérez Gastell y Pérez de Alejo, 2000).

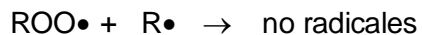
➤ **Terminación:** se produce paralelamente a las reacciones anteriormente descritas y causa la desaparición de los radicales libres, por la formación de muy diversos compuestos no radicales estables, cuya naturaleza depende de los sustratos iniciales y de la presión parcial de oxígeno.

Como sucede con otras transformaciones químicas, las altas temperaturas aceleran estas reacciones, mientras que la refrigeración, si bien disminuye la velocidad, no las inhiben cuando el sistema contiene catalizadores y compuestos oxidables. La producción de malonaldehído es inhibida por los antioxidantes, más la ruptura de los lípidos se produce aún a 0°C.

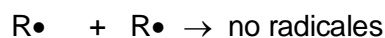
Si la presión de oxígeno es elevada, predomina la siguiente reacción:



Si no, se producen:



o bien,



Las tres etapas del proceso se pueden visualizar en la Figura 1.

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphoides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

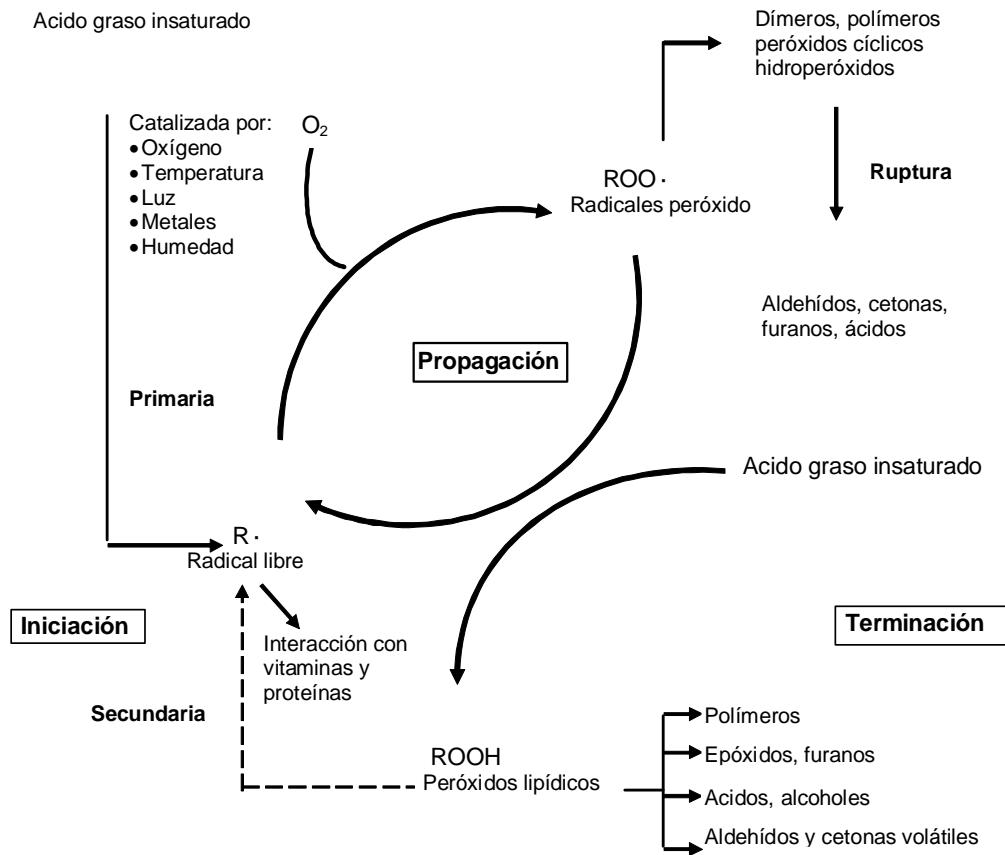


Figura 1: Reacciones de la oxidación de lípidos.
FUENTE: Larrañaga, 1999.

La evolución de la oxidación lipídica se puede evaluar por diversos métodos analíticos en laboratorio. La mayoría, se basa en reacciones que cuantifican alguna de las sustancias formadas durante el proceso. Los más empleados son el índice de peróxidos y el índice del ácido tiobarbitúrico (TBA).

La última prueba mide el malonaldehído (MA), uno de los principales productos de degradación de los hidroperóxidos de ácidos grasos poliinsaturados formados durante el proceso oxidativo, químicamente es un dialdehído de tres átomos de carbono, con grupos carbonilos en los carbonos C-1 y C-3. La reacción del MA con el ácido 2-tiobarbitúrico (Figura 2) produce un compuesto cromógeno (Badui D. 2006) de color rojo (TBARS -MA) que se mide espectrofotométricamente a longitud de onda de 532 nm (de acuerdo con el método, la longitud de onda puede variar, alrededor de 500-550 nm). Es un ensayo altamente empírico (Patton, Keeney y Kurtz, 1951).

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

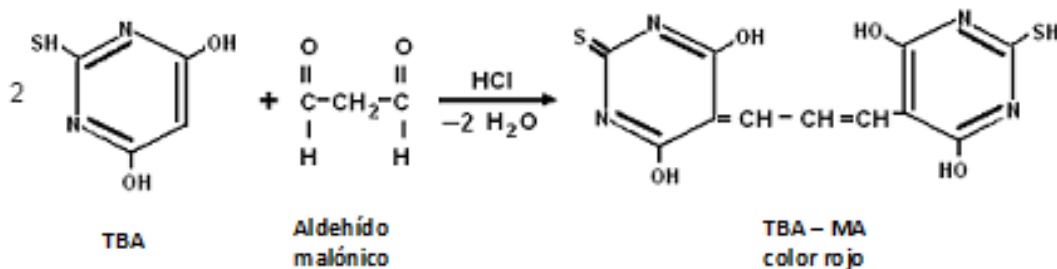


Figura 2: Reacción entre el ácido 2 tiobarbitúrico y el malonaldehído, formando el compuesto coloreado TBA -MA.

La formación del compuesto TBA-MA es iniciada por un ataque nucleofílico, posiblemente entre el carbono 5 del TBA y el carbono 1 del MDA, en una proporción 2:1, seguido por una deshidratación y una reacción entre el compuesto intermedio y una segunda molécula de TBA, en una proporción 1:1. (De Felício y col., 2005).

ANTIOXIDANTES

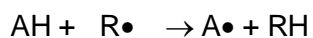
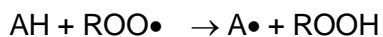
La oxidación puede inhibirse por varios métodos que incluyen impedir el acceso al oxígeno, el uso de temperaturas bajas, la inactivación de enzimas que catalizan la oxidación, la reducción de la presión de oxígeno y un envasado adecuado.

Otro método de protección contra la oxidación es el uso de aditivos específicos que inhiben la reacción. La denominación correcta de estas sustancias es inhibidores de la oxidación, pero en la actualidad se les denomina principalmente antioxidantes.

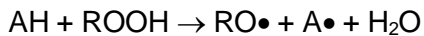
Los antioxidantes son definidos por la FDA (Food and Drug Administration) como sustancias que pueden ser aplicadas a los alimentos con el objeto de preservarlos, ya que retrasan el deterioro, rancidez y cambios de coloración debidos a la oxidación, algunos antioxidantes sintéticos están permitidos para su empleo en alimentos y son de uso frecuente como el BHA, BHT, TBHQ y el propilengalato.

Por su mecanismo de acción se clasifican, según Cheftel (1992) en:

➤ **Tipo I:** son los que detienen las reacciones en cadena de radicales libres y por lo tanto disminuyen la velocidad de oxidación, prolongando el período de inducción.



El radical A• que se forma es relativamente estable y no reacciona con los lípidos, dentro de ciertos valores. Si están en exceso, pueden actuar como prooxidantes, de la siguiente manera:



Para una acción eficaz es necesario que se encuentren en el producto durante la etapa de inducción, de lo contrario su efecto protector es nulo. Su efectividad se incrementa, con bajas presiones de oxígeno, debido al efecto sinérgico entre ambos y se disminuye, cuando el alimento contiene cantidades apreciables de metales.

Los más utilizados dentro de este grupo son los compuestos fenólicos, entre los aprobados por el Código Alimentario Argentino (SAGPyA; 2010) se destacan, en su artículo 1398:

Galato de propilo (GP) es semejante en sus propiedades al galato de octilo y al galato de dodecilo. Todos ellos son ligeramente solubles en agua y poco en lípidos; son sensibles al calor, por lo tanto son poco útiles en alimentos que sufren tratamientos térmicos para su elaboración y consumo. Además producen sales de color oscuro en presencia de hierro.

Butilhidroxianisol (BHA) y *butilhidroxitolueno (BHT)* ambos son solubles en lípidos, tienen acción sinérgica y son estables al calor; su principal desventaja es el olor desagradable y la fácil evaporación. Se emplean en alimentos cárneos y lácteos.

Terbutilhidroxiquinona (TBHQ) es más soluble en agua que los anteriormente mencionados. Es recomendado para grasas y aceites.

➤ **Tipo II:** son sustancias que impiden o disminuyen la formación de radicales libres. Los más utilizados son los que acomplejan metales, su acción depende del pH y la temperatura. Algunas de las sustancias empleadas tienen efectos conservantes o acidificantes como la sal disódica de etilendiaminotetracético (EDTA); los ácidos cítricos, láctico, tartárico y sus sales. Además se utilizan como antioxidantes eficaces en carnes los polifosfatos y el ácido ascórbico.

➤ **Tipo III:** son procedimientos de protección contra la oxidación que consisten en establecer las condiciones físicas adecuadas (contenido de oxígeno, humedad, temperatura y luz).

La actividad antioxidante de una sustancia depende de factores tales como la composición lipídica, su concentración, la temperatura, la presión de oxígeno y la presencia de componentes habituales de los alimentos con función antioxidante (proteínas, vitaminas A y E, fosfolípidos), como la de otros, con efecto prooxidante (agua, cloruro de sodio).

Los compuestos con propiedades antioxidantes que se utilizan, en su amplia mayoría son sintéticos, tales como butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), TBC, galato de n-propilo, por mencionar los aprobados en el Código Alimentario Argentino.

Últimamente ha crecido la demanda de “productos de origen natural”, libres de aditivos químicos sintéticos, y se ha incrementado el estudio y el uso de sustancias que posean antioxidantes naturales. Además, está en auge el mercado de complementos dietéticos y nutraceuticos que contengan compuestos capaces de inhibir o inactivar radicales libres, ya que estos compuestos han sido relacionados con enfermedades crónicas y degenerativas, como cáncer, enfermedades neuronales y cardiovasculares (Guala y col., 2009).

Por ello, en la industria alimentaria recientemente se ha generado un interés por los extractos y aceites esenciales derivados de las plantas, (Wang y Zheng, 2001; Estévez y col., 2006; Blanco, y col., 2007) debido a no solo por su capacidad antioxidante, sino también por sus propiedad de controlar el crecimiento de microorganismos patógenos reportados como agentes causantes de enfermedades producidas por alimentos en descomposición tales como *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, y *Rhizopus spp.* (Ruberto y col., 2000; Salinas, 2008). Se han realizado diversos estudios acerca de las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales, los más estudiados corresponden a los extractos de orégano, tomillo, romero, cilantro, cebolla y ajo, cuya efectividad se ha observado en la inhibición del crecimiento de diversos hongos y bacterias (Salinas, 2008, Kumar Ashok y col., 2008).

Debido a todas estas posibles aplicaciones, los compuestos naturales, han atraído la atención de químicos y sectores de la industria farmacéutica, de perfumes y cosmética, entre otras (Lahlou 2004; Blanco, y col., 2007; Selani y col., 2011).

Los aceites esenciales presentan gran variabilidad en su composición química según la ubicación geográfica de la especie vegetal de la cual se los extrae, ya que inciden las características del clima, y del suelo en su desarrollo (Salinas, 2008, Guala y col., 2009).

El timol y el carvacrol (figura 3) son compuestos fenólicos naturales, considerados como antioxidantes, agentes antifúngicos y antibacteriales presentes en cantidades significativas en los aceites esenciales del genero *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* y *Lippia*, especies ampliamente utilizadas como especias y tés herbáceos (Bagamboula y col., 2004; Blanco, y col., 2007).

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

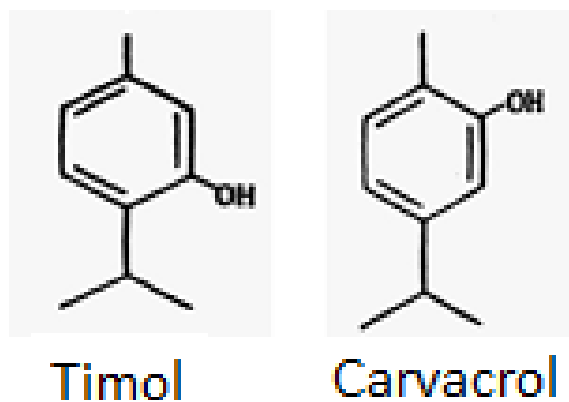


Figura 3: Timol y carvacrol

Otro aspecto a considerar es que, aunque la FDA clasifica a la mayoría de los aceites esenciales en la categoría GRAS o sea generally recognized as safe (Williams ,2002; Silva, 2005; Carvalho, 2011) es decir, “ Generalmente reconocido como seguro”, su uso como aditivos es limitado debido a los cambios sensoriales en aroma y sabor que pueden causar en los productos tratados, los cuales no siempre resultan del agrado del consumidor final (Salinas, 2008).

MÉTODOS DE COCCIÓN EN LOS ALIMENTOS

La cocción es la operación culinaria que se sirve del calor para que un alimento sea más sabroso y apetecible, favoreciendo también su conservación. Se puede realizar exponiéndolos directamente al calor, introduciendo el alimento en un líquido (agua o aceite) o exponiéndolo a la acción de ondas electromagnéticas. El calor debe llegar a los alimentos desde la fuente donde se produce y comunicarse, en el interior de los mismos, desde unas partes a otras. Estos procesos tienen lugar por alguna de las tres formas en que se transmite la energía calórica: conducción, convección y radiación.

Los productos cárnicos cocidos son sistemas complejos cuyos componentes se hallan distribuidos en soluciones verdaderas, en soluciones coloidales (gel), en suspensión, en emulsión y en forma de espuma.

Cuando la carne es calentada y expuesta a las condiciones atmosféricas se oxida rápidamente, la cocción no solo daña la estructura celular, sino que también provoca la liberación del hierro a partir de las proteínas que lo contienen o del hierro almacenado en la proteína. (Andreo y col., 2004). A medida que las proteínas de las fibras musculares se espesan, la carne se vuelve gradualmente más firme. El colágeno, principal componente de otro tipo de tejido conectivo, se transforma en gelatina y se produce la tiernización (Bonato y col., 2006; Segrado, 2007). La adición de sal (NaCl) a la carne durante el procesamiento puede incrementar significativamente la liberación del hierro iónico libre a partir de los pigmentos hémicos (Andreo y col., 2004, J. Han y col., 2005).

En la tabla se muestran los diferentes métodos de cocción y la forma de transmisión de calor de los mismos.

Tabla1: Métodos de cocción: la transmisión de calor.

Método	Ejemplo	Descripción	Modo de transferencia de calor
Calor húmedo	Hervido	Cocción en agua hirviendo.. El alimento alcanza la misma temp. de ebullición del agua	Convección en el agua, conducción en el contacto con el alimento
	Escaldado o blanqueado	Cocción en agua hirviendo por corto tiempo	Convección en el agua, conducción en el contacto con el alimento
	Escalfado	Consiste en introducir un alimento en agua hirviendo para poder retirar la piel del mismo sin que haya una cocción interna	Convección en el agua, conducción en el contacto con el alimento
	Al vapor	Cocción en el vapor de agua	Conducción y convección de líquidos
	Olla a presión	Cocción con agua y vapor sobrecalentados	Conducción y convección de líquidos
	Guisado	Cocción en agua y otro líquido no graso. la temperatura se mantiene un poco más baja que la temperatura de ebullición	Conducción y convección de líquidos
Calor seco	Horneado	Cocción en horno	Conducción desde el aire caliente, radiación desde las paredes del horno
	Plancha o parrilla	El alimento se coloca en contacto directo con la fuente de calor	Radiación, conducción si se utiliza plancha
Aceite y Grasas	Frito	Cocción sumergiendo el alimento (todo o en parte) en aceite o grasa caliente	Conducción y convección de líquidos
	Sofrito	Fritura a temperatura baja, durante un tiempo largo y con una cantidad escasa de aceite	Conducción y convección de líquidos
	Rehogado	Se fríe superficialmente para luego guisar	Conducción
Microondas		Cocción sometiendo al alimento a las microondas en un horno especial	El calor se genera en el alimento, conducción de unas a otras zonas del mismo

Fuente: Colina, 2010.

La cocción de los alimentos, en general, aumenta su digestibilidad y su valor nutritivo, pero también, permite la destrucción y la pérdida de alguno de sus nutrientes. Ello es debido: a que a determinadas temperaturas, se destruyen las enzimas digestivas que existen en las células de los alimentos y producen una autodigestión de los tejidos; a la disolución de los nutrientes en el agua de cocción; a la oxidación y a otras reacciones químicas que hacen inutilizables los nutrientes.

A continuación se analizan los distintos métodos de cocción atendiendo el efecto que tienen sobre los nutrientes y las características sensoriales.

- **Cocción con grasas y aceites**

El alimento se introduce en aceites o grasas que se encuentran a temperaturas altas (175-200°C), cercanas a su punto de ebullición. Por ello se produce una evaporación muy rápida del agua superficial y la coagulación de las proteínas exteriores impide la salida de los nutrientes del interior de los alimentos. La incorporación del aceite o la grasa en el alimento, aumenta su valor calórico y puede hacerse más difícil de digerir. Si la temperatura o el tiempo de fritura es excesivo se favorecen las reacciones oxidativas y el alimento toma mal olor y se torna indigesto.

- **Cocción en horno microondas**

Cuando se cocina con microondas el calor se genera en el interior del alimento. Las ondas que produce el horno inducen una agitación de las moléculas del alimento que al friccionar entre ellas generan calor. Las ondas penetran a una profundidad de 1 a 5 cm en el alimento, el resto del mismo se calienta por conducción (Colina 2010).

Este sistema es el más rápido para la cocción de alimentos. Las pérdidas de nutrientes no presentan diferencia significativas con las de los métodos tradicionales aunque los sabores, olores y apariencia de los alimentos se modifican y resultan poco agradables, para algunos consumidores.

- **Cocción en horno eléctrico**

Según Medin y col. (2002), en el horno, la fuente calórica ubicada en el piso del equipo. El calor llega por radiación infrarroja desde la fuente y se transmite al contenido por convección natural (diferencias de densidades). Dentro del horno, el aire se confina así no se escapa el calor ni el vapor producido por los alimentos

El calor que transmite un horno es de aproximadamente 260°C al máximo, de 200°C en mediano y de 150°C en bajo. Dentro del alimento el calor se transmite lentamente por conducción en sólidos y por convección en líquidos. Se crea un gradiente de presión que induce el paso de agua desde el interior al exterior y la velocidad de la evaporación depende de la composición del alimento y de la velocidad de calentamiento. Cuando la evaporación del agua de la superficie es mayor que la migración desde el interior se forma la corteza por secado y se sobrecalienta. De esta forma, la temperatura tenderá a igualarse con el medio de cocción y producirá la costra y la reacción de Maillard. En el interior la temperatura no superará los 100°C.

La preparación de alimentos en un horno puede contribuir a la conservación de sus vitaminas y minerales ya que los alimentos se cocinan rápidamente y sin la necesidad de agua.

Los alimentos dentro del horno eléctrico se ven sometidos a una exposición hacia rayos no ionizantes, y esta es la razón por la cual no se altera la estructura de su materia, además, esta radiación desaparece inmediatamente que el horno eléctrico es apagado y no permanece en los alimentos una vez que estos ya están cocinados.

El tiempo necesario para cocer las carnes depende las temperaturas del del horno y de la carne cruda, del peso y la forma del corte, de la cantidad de carne que se cocina a un mismo tiempo, del grado deseado de cocción, de la cantidad de grasa de la carne y de tejido conectivo (Segrado, 2007).

COLOR DE LA CARNE

El color rojo de la carne depende fundamentalmente del estado de oxidación de la mioglobina (MB), la cual representa el 80 a 90 % de los pigmentos de la carne. La mioglobina es una proteína globular que posee un centro activo hemo (hierro protoporfirina IX), que es responsable del enlace O_2 -MB, y su función es almacenar y facilitar la difusión del oxígeno desde los capilares a la mitocondria; por ello es capaz de asociarse y disociarse rápidamente con la molécula de O_2 , en función de la presión parcial a la que esté expuesta la carne. Esta molécula también posee gran afinidad por otras moléculas biatómicas, tales como el CO, NO, debido a su forma y polaridad.

En la figura 3 se esquematizan los distintos estados de oxidación de esta molécula en función del ligando al que se encuentra unida (Aspé y col., 2008).

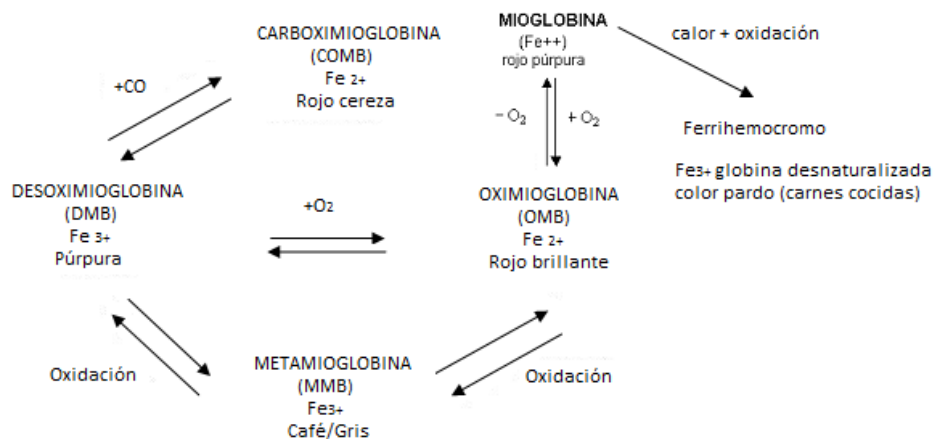


Figura 4: Esquema que representa el color de la carne en función de los estados de oxidación de la mioglobina.

FUENTE: Aspé y col, 2008.

Una pieza de carne en la cual la forma mioglobina (MB) es el pigmento predominante tendrá un color rojo púrpura. En ella, el hierro hemo ferroso se une por coordinación a una molécula de agua. Cuando el oxígeno reemplaza al agua, se forma la oximioglobina (OMB), que es la responsable del color rojo brillante deseable en la carne fresca. Estas dos formas reducidas de la mioglobina rápidamente se oxidan a la “indeseable” metamioglobina (MMB), de color pardo, en la que el hierro hemo es convertido al estado férrico y una molécula de agua se une a él por coordinación. La metamioglobina es incapaz transportar oxígeno y es fisiológicamente inactiva (Camou Arriola y col, 2008). El color castaño de la carne y los productos cárnicos cocidos se debe al ferrihemocromo donde el grupo prostético (globina) está desnaturalizado y el hierro, como férrico (Ranken, 2003).

Varios investigadores mostraron que, en carne de vacuno, la formación de la metamioglobina y la acumulación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (Han y col., 2005; Mitsumoto y col., 2005; Baohua y col., 2010) están positivamente correlacionadas. Se ha comprobado que el retraso en las reacciones de oxidación, implica un retraso en la decoloración, aunque no es posible afirmar si la oxidación del pigmento es la causa de la oxidación de los lípidos o viceversa (Camou Arriola y col., 2008).

Otros estudios, informaron que la susceptibilidad, de la carne picada sin tratar, a la oxidación de lípidos fue en orden decreciente: vacuno > pato > avestruz > cerdo > pollo. Consideraron que estas diferencias en la estabilidad de los lípidos dependía de diferentes factores tales como: contenidos de grasa total, hierro y composición de ácidos grasos entre las especies (Tang 2001; Mitsumoto 2005).

La interpretación de los mecanismos que determinan la coloración de carnes cocidas no está clara y aunque, algunos autores adaptaron la teoría clásica de decoloración de la carne cruda a las carnes cocidas al afirmar que el deterioro del color en la carne de cerdo cocida durante el almacenamiento refrigerado fue causado por los productos de oxidación de lípidos, desafortunadamente, estos autores no ofrecen argumentos válidos o detalles adicionales sobre el mecanismo (Ganhão y col., 2010). En chacinados cocidos, Fernández-Ginés y col (2003) concluyeron que la degradación oxidativa de la globina desnaturalizada y la escisión oxidativa del pigmento hemo daría lugar a la liberación de hierro de la molécula de hemo, causando la decoloración eventual de la carne cocida.

MEDICIÓN DEL COLOR

Su evaluación por métodos visuales es subjetiva, porque la percepción del color para cada persona es diferente y depende de factores tales como el tipo de luz, las características físicas del objeto y las condiciones del observador.

Como solución a estos problemas se crearon sistemas de medición para poder cuantificarlo y expresarlo numéricamente, cuyo principio está basado en la cantidad de luz reflejada por el objeto. Uno de los primeros sistemas de medición de color es el sistema Munsell que emplea un gran número de tarjetas de colores clasificadas de acuerdo a su

tono, luminosidad y saturación. Existen también otros sistemas basados en comparaciones visuales de muestras de color por catálogos, tales como el de Ostwald, y el OSA-UCS.

La Commission Internationale de L'Eclairage (CIE) desarrolló dos importantes sistemas para la evaluación de color en términos de números basados en la medición de reflectancia espectral de la muestra (figura 7).

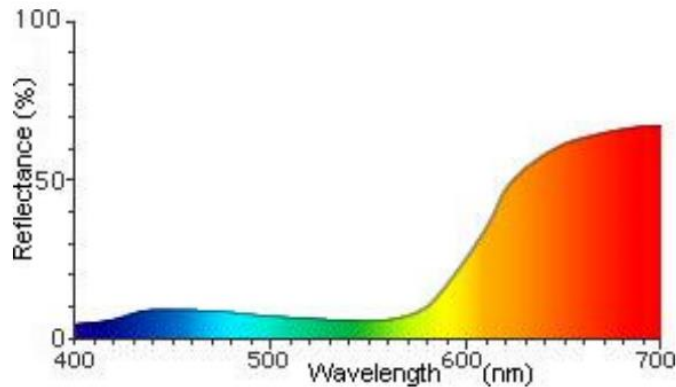


Figura 5: Reflectancia espectral de una muestra de color

El primer sistema fue creado en 1931 y se refiere a los valores triestímulo (X Y Z) y el segundo, creado en 1976 se refiere a los espacios de color L^* (luminosidad), a^* (color que va de rojo a verde), y el valor b^* (color que va de amarillo a azul). Estos últimos son los instrumentos más utilizados en la actualidad.

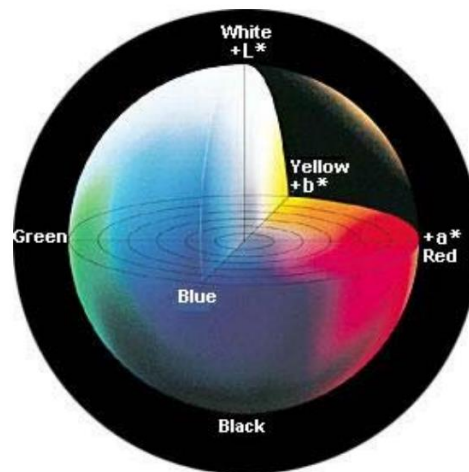


Figura 6: Diagrama para los espacios de color L^* , a^* y b^*

Los estudios sobre la medición objetiva del color por métodos instrumentales, en carne y productos cárneos, se han centrado, generalmente en la medición de los valores de a^* ,

debido a que el enrojecimiento de carne es un componente importante del atractivo visual para los consumidores. La adición de sal disminuye el enrojecimiento porque el NaCl puede acelerar la formación de metamioglobina y la decoloración (Han y col., 2005).

EL “TOMILLO DEL CERRO O MENDOCINO”

La sustitución del tomillo europeo, *Thymus vulgaris* por una verbenacea, *Acantholippia seriphioides* fue dada a conocer por Amorín J.L.; Cristiani L.Q. y Michans de Sabatini, S en el año 1971. Esta sustitución también ha sido detectada por Bonzani y Ariza Espinar en el año 1992 en comercios de las provincias de Córdoba y San Juan, habiendo comprobado, además, que otra Lamiaceae (*Hedeoma multijlorum*) es usada como adulterante bajo el nombre de "tomillo serrano" o simplemente "tomillo". La identificación botánica es necesaria para evitar dichas reemplazos (tabla 2).

La planta nativa de *Acantholippia seriphiodes* (“Tomillo del cerro” o “Tomillo mendocino”) es un arbusto de 0.30-0.60 m. de alto, aromático, postrado, con ramas rígidas, espinescente, hispidas y punteado-glandulosas, glabrescentes; corteza rugosa que se desprende en porciones longitudinales. Presenta flores blancas, subsesiles.

En la Argentina se presenta en las provincias de San Juan, Mendoza, San Luis, Neuquén, Buenos Aires, La Pampa, Río Negro, Chubut, Santa Cruz. Habita en suelos rocosos de las zonas áridas

Se usa por sus propiedades medicinales suministrándolo como infusión teiforme o agregándole al mate como remedio para las afecciones gastrointestinales. También como condimento por sus características aromáticas similares a las del tomillo europeo que es una planta perenne nativa de la región mediterránea, utilizada como una especia tanto en la cocina casera, como en las industrias alimentarias y aromáticas. El género *Thymus*, es uno de los más complejos taxonómicamente de la familia Lamiaceae. Su aceite esencial tiene una bioactividad de amplio espectro siendo utilizado como un conservante para alimentos debido a las propiedades antimicrobianas de sus componentes volátiles, antioxidante y como aditivo para mejorar las características organolépticas y las propiedades físicas (Napoli y col., 2010).

Las principales diferencias de las especies se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 2: Diferencias botánicas de *Hedeoma multiflorum*, *Acantholippia seriphioides*, *Thymus vulgaris*.

	<i>Hedeoma multiflorum</i>	<i>Acantholippia seriphioides</i>	<i>Thymus vulgaris</i>
CALIZ	Tubo largo, cilíndrico, 13-nervado, 2-labiado y con 5 dientes subulados (tubo y dientes pilosos). Carpostegio presente	Ovoide, hispido, (pelos largos); 2-partido a la madurez. Sin carpostegio	Tubo corto, casi acampanado, 2-labiado: labio inferior con segmentos agudos y cerdas largas, el superior con lóbulos redondeados y glabros. Carpostegio presente
COROLA	Bilabiada; azul o lilácea	4-lobada (uno de los lóbulos, a su vez, es 2-lobado); blanca	Bilabiada; rosada o lilácea
HOJA	Linear-oblonga, márgenes planos Cutícula muy gruesa	Obovado-espatulada, ápice 3-lobado, márgenes revolutos Cutícula poco engrosada	Linear a angostamente obovada, bordes revolutos Cutícula delgada
ESTOMAS	Diacíticos, con un célula mayor que la otra	Anomocíticos	Diacíticos, las 2 células iguales entre sí
PELOS	Simples unicelulares verrucosos Secretores de mucílago presentes Glandulares peltados	Simples verrucosos y no verrucosos Sin pelos secretores de mucílago Glandulares con cabeza 1-celular	Simples unicelulares verrucosos y bicelulares Con pelos secretores de mucílago Glandulares peltados
CLORENQUIMA	Isobilateral	Dorsiventral	Dorsiventral
CRISTALES	Eferocristales presentes en células epidérmicas y en la base de pelos simples	Ausentes	Cistolitos en la base de pelos simples

Fuente: Bonzani N y Ariza Espinar L., 1992

Dados los antecedentes del empleo de aceites esenciales de *Thymus* en alimentos surge la conveniencia de evaluar si, a partir de especies vegetales de la región se pueden obtener productos naturales con características antioxidantes para su empleo en alimentos.

El aceite esencial que se analiza en el presente trabajo es el de *Acantholippia seriphioides*, especie vegetal de la familia Verbenaceae. Ya se han realizado estudios que verifican la presencia de timol y carvacrol en *Acantholippia seriphioides* (Berezosky y col., 2009; Strasser y col. 2002) y de su capacidad antioxidante en medallones funcionales de carne vacuna (Medina, y col 2003; Miralles 2006).

Capítulo 2:

Objetivos



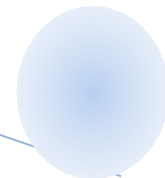
“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphoides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antioxidante de la incorporación de aceite esencial de tomillo mendocino en la vida útil de medallones de carne vacuna, sometidos a distintos tratamientos térmicos: horno eléctrico, horno microondas, fritura.

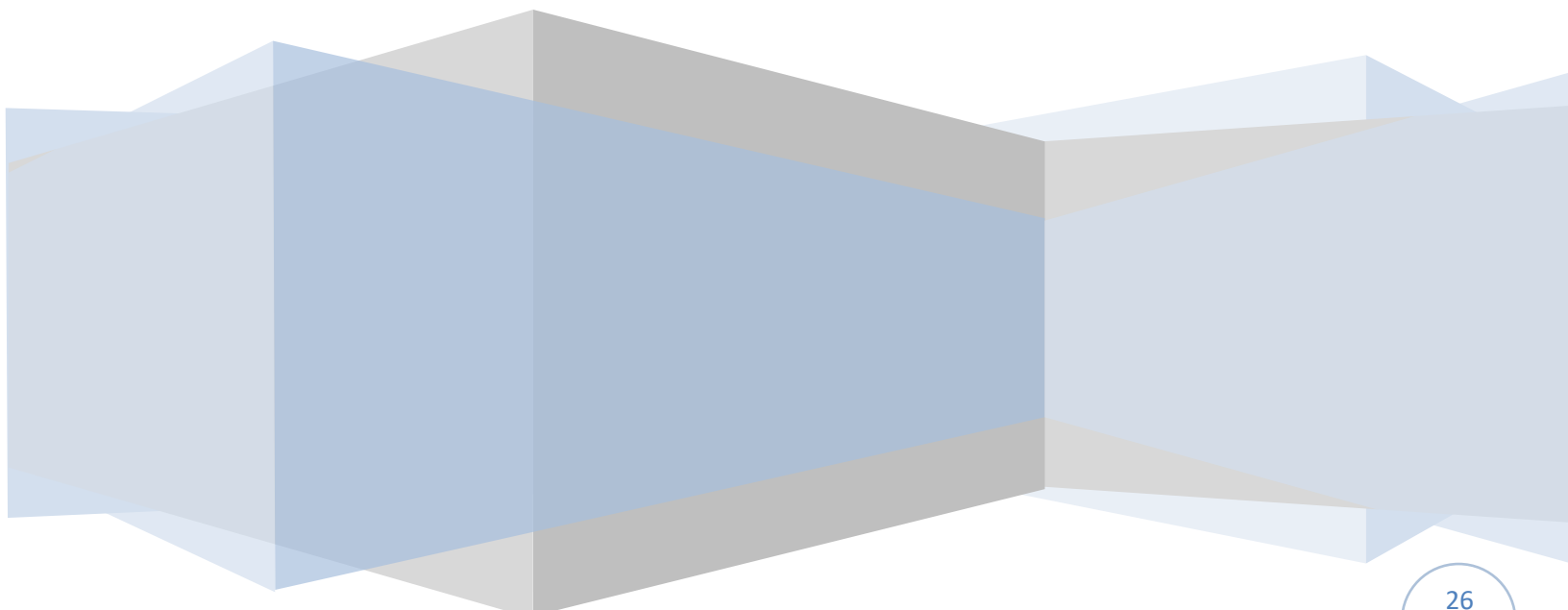
OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la concentración de polifenoles en el aceite esencial empleado.
- Analizar la evolución de la rancidez oxidativa mediante la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en medallones de carne vacuna cocidos en horno eléctrico, horno microondas, en fritura y almacenados a 15°C.
- Relacionar la evolución del color de los medallones con el contenido de las TBARS.



Capítulo 3:

Materiales y Métodos



MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se dividió en dos etapas. En la primera, se estudió la obtención y caracterización del AET y en la segunda, se evaluó su poder antioxidante.

1- OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO MENDOCINO

Las muestras de *Acantholippia seriphoides* fueron recolectadas durante los meses de octubre a diciembre, en Blanco Encalada, provincia de Mendoza, Argentina, ubicado a los 33° 02' 22" latitud Sur y 69° 01' 55" longitud Oeste, en época de floración.

Los aceites esenciales de tomillo (AET) fueron extraídos por arrastre con vapor de agua, durante 40 minutos y se determinó el rendimiento en base al material extraído. Posteriormente se colocaron en frascos de vidrio color caramelo, con atmósfera modificada (gas nitrógeno) y mantenidos a 4-6 °C hasta su análisis.

En el laboratorio se determinó por triplicado:

- ✓ **Índice de refracción:** índice de refracción utilizando un refractómetro ABBE con precisión hasta el cuarto decimal.
- ✓ **Polifenoles totales:** según la técnica de Folin-Ciocalteu adaptada por Zoecklein (2001).
- ✓ **Cuantificación de timol y carvacrol:** por cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC), usando una placa de silicagel HPTLC Nanodurasil. Las muestras se aplicaron con sembrador automático Linomat IV de Camag en bandas de 4 mm con 4 mm de separación. La detección se realizó con luz UV en espectrodensímetro Scanner II de Camag, con lecturas a 270 nm contra una curva de calibración en base a soluciones patrón de timol y carvacrol por el método de regresión polinomial.

Los resultados se compararon con los de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris* citados en la bibliografía consultada.

2- EVOLUCIÓN DE LA RANCIDEZ OXIDATIVA EN MEDALLONES DE CARNE VACUNA COCIDOS POR DISTINTOS MÉTODOS Y ALMACENADOS A 15°C

➤ Preparación de las muestras

Se trabajó con el músculo semitendinoso (5,1 kg de peceto) de carne vacuna adquirido en el comercio. A la carne molida se le incorporó 10% de grasa vacuna y 1% de cloruro de sodio. El contenido de sal añadido fue el mismo que adicionó Mitsumoto, en 2005, y menor que el empleado por otros autores (Han, 2005; Bastida, 2009; Sampaio, 2012). Se eligió para obtener un producto bajo en sodio, indicado para problemas de hipertensión arterial. La masa así obtenida se dividió en tres porciones de igual peso.

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

A una de ellas se le adicionó 200 mg/kg de aceite esencial de tomillo, dosis máxima aceptada por los consumidores (Miralles, 2006) y a otra, 200 mg/kg de BHT y a la restante, no recibió tratamiento. Las tres fracciones se homogenizaron, individualmente y, posteriormente, se armaron medallones de 50g de peso empleando un molde cilíndrico de polietileno de 6,5cm de diámetro y 1,50 cm de altura.

La tercera parte de los medallones de cada fracción se cocinaron en horno microondas en su máxima potencia, durante 12 minutos, otro tercio se cocinó en horno eléctrico a 220°C durante 10 minutos y las restantes fueron fritas en aceite de girasol, mantenido a 170°C. En todos los casos, se suspendió el calentamiento al alcanzar una temperatura interna de 72°C (Saiar, 1999; Mitsumoto, 2005; Basida, 2009; Baohua, 2010). Posteriormente, se cubrieron individualmente, en film de PVC y se almacenaron a 15°C, para acelerar los procesos que se llevan a cabo durante un almacenamiento a bajas temperaturas y considerando que es un valor al que se llega en una heladera tipo familiar cuando tiene mucho hielo o se abren frecuentemente las puertas, hasta el momento de su análisis.

A los 0; 3; 7; 9 y 15, días se retiraron, aleatoriamente, tres medallones correspondientes a cada tratamiento que se analizaron por triplicado.

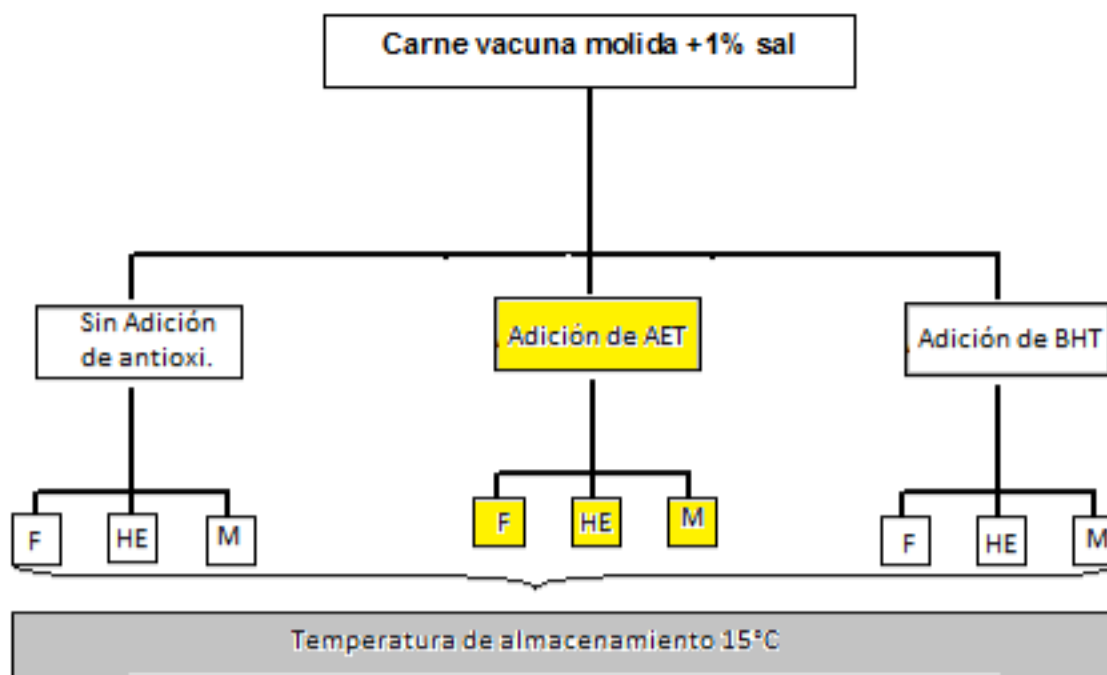


Figura 7: Esquema de preparación de medallones.

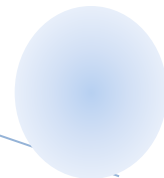
➤ **El estudio de la rancidez**

Se llevó a cabo mediante:

- La determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) por el método de Beon Jun Lee (Lee y col, 1998), midiendo la absorbancia a 530 nm y calculándose el valor de malonaldehído (mg/kg) con la curva estándar.
- El color de los medallones se evaluó empleando un colorímetro Minolta CR 400 (Minolta Co., Osaka, Japan). Los resultados fueron expresados como L*, a*, b*. Valores altos de L* denotan la luminosidad-claridad del color de las muestras. El valor a* es una medición del color que va de rojo a verde, y el valor b* es el color que va de amarillo a azul. Para cada muestra se tomó la media de ocho mediciones realizadas sobre la superficie.

➤ **Análisis estadístico**

Los resultados fueron analizados mediante ANOVA y pruebas de comparaciones múltiples para un $\alpha = 0,05$.



Capítulo 4:

Resultados y Discusión



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1- OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO MENDOCINO

Los valores promedio y desviación estándar que se obtuvieron son:

- ✓ **Rendimiento de producción de AET:** $1,5 \pm 0,5$ mL / 100g material fresco.
- ✓ **Índice de refracción:** $1,3741 \pm 0,0795$.
- ✓ **Contenido de polifenoles totales** expresado en mg de ácido gálico / g de aceite esencial fue: 211 ± 5 mg / g.

Los resultados de los **análisis de HPTLC** muestran que, en el tomillo mendocino, el contenido tanto de timol como de carvacrol es similar y presenta valores superiores a los 170 mg/g aproximadamente (tabla 3).

Tabla 3: Contenido de timol y carvacrol de los aceites esenciales.

Especie	RENDIMIENTO	Timol	Carvacrol
	%	%	%
<i>Acantholippia seriphoides</i>	0,65	17,9	17,5

Comparando los resultados con los citados en la bibliografía para el *Thymus* (tabla 4) y para *Acantholippia seriphoides* se puede observar que la composición de los aceites esenciales es muy variable, *Thymus vulgaris*, tiene 7 quimiotipos distintos según cuál sea el componente mayoritario de su esencia timol, carvacrol, linalol, geraniol, tujanol – 4 o terpineol o 1,8 cineol (Cañigueral Folcarà, S. y col., 2000). Por otra parte, también se han encontrado distintos quimiotipos de *Acantholippia seriphoides* tales como el carvacrol, detectado con anterioridad en una población de Sierra Chata, provincia de Chubut, cuya composición fue carvacrol: 43,8-44,4 %; α y γ -terpineno: 16,6-18,6 % y timol: 6,0-6,3 % (Strasser, 2002).



Thymus vulgaris



Acantholippia seriphoides

Tabla 4: Rendimiento y contenido de timol y carvacrol en aceites esenciales de *Thymus vulgaris* y *Acantholippia seriphioides*

ESPECIE	FUENTE	RENDIMIENTO EN AE (%)	TIMOL (%)	CARVACROL (%)
<i>Thymus vulgaris</i>	Barrientos Rojas y col., 2001	1,0 – 2,5	40	-
	Fuentes Fuentes 2005	1,0-2,5	20-55	1-10
	Castillo García y col. 2007	1,0-2,5	30-70	3-15
	Muñoz-Acevedo y col.,2009	-	34	6,4
	Adib y col., 2010	-	40.3 - 41.6	4,1 - 4.3
	Díaz G.J. y col., 2010	-	30,61	1,49
	Estrada Orozco 2010	2,5 – 14,6	40	-
	Aziza S.y col. 2011	0,65	2,47	4,5
	Abdullah y col., 2012	-	36,5	9,5
<i>Acantholippia seriphioides</i>	Strasser, 2002	1,35 - 1,62	6,0-6,3	43,8-44,4
	Fuselli,y col, 2007	-	29.2	23.3
	Gillij, 2008	-	46.8	tr
	Agüero y col., 2011	-	27.61	13.24
	Mazzuca y col., 2011	-	33.7–38.5	-

2- EVOLUCIÓN DE LA RANCIDEZ OXIDATIVA EN MEDALLONES DE CARNE VACUNA COCIDOS POR DISTINTOS MÉTODOS Y ALMACENADOS A 15°C

- **Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Al aplicar el análisis de la varianza a los resultados obtenidos se comprobó que existen diferencias significativas para el tiempo y el tratamiento, pero no para las repeticiones (tabla 5) y que no hay interacción entre ambos factores.

Tabla 5: Análisis de varianza para los resultados obtenidos.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor p
Repetición	0,000962189	2	0,000481095	00,01	0,9913
Tiempo	17,9633	4	4,49081	81,14	0,0000
Tratamiento	11,0302	8	1,37878	24,91	0,0000
Residuos	5,14726	93	0,0553468		
Total	32,4577	107			

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para los tratamientos, se observó que la concentración de TBARS fue mayor en los medallones sin aditivos que en los que los contenían.

Los valores fueron significativamente mayores en los cocidos en horno eléctrico y no difirieron de los correspondientes a fritura.

Los valores de los medallones cocidos en horno eléctrico difieren de los cocidos en microondas.

La incorporación de antioxidantes permitió una disminución en la oxidación que no presentó diferencias significativas entre los tratamientos con antioxidante salvo el correspondiente a las adicionadas con AET y cocidas en horno eléctrico (figura 8 y tabla 6).

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphoides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

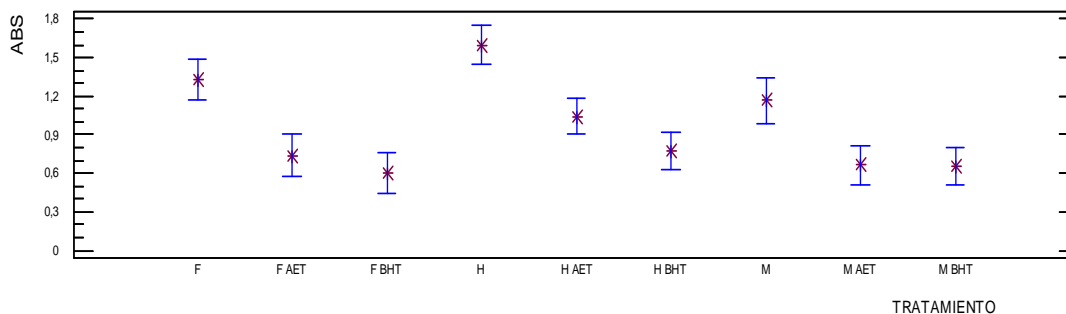


Figura 8: Medias y desviación estándar de las absorbancias de las TBARS en medallones cocidos y almacenados a 15°C, para los nueve tratamientos.

Tabla 6: Prueba de rangos múltiples de ABS por el Tratamiento

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
FBHT	12	0,602508	X
MBHT	13	0,659896	X
MAET	12	0,663230	X
FAET	10	0,740392	XX
HBHT	13	0,77353	XX
HAET	15	1,04294	XX
M	9	1,16773	X
F	12	1,3315	XX
H	12	1,59836	X

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para el tiempo de almacenamiento se observó que se incrementa significativamente el valor del TBARS a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento (figura 9 y tabla 7). Este mismo comportamiento se observó en un estudio realizado con aceite esencial de orégano y salvia por Fasseas (2007) en hamburguesas porcinas y vacunas cocidas a 85°C durante 30 minutos y almacenadas a 4°C durante 12 días, por Naveena (2008) con jugo de granada, extracto de polvo de la

cáscara de granada en hamburguesas de pollo cocidas almacenadas a 4°C durante 15 días.

La velocidad de oxidación, medida en término de Absorbancia de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, mantiene una relación lineal hasta el séptimo día, momento en el cual se observa que se desacelera. Bastida (2009), estudió el poder antioxidante de taninos de frutos del algarrobo en medallones de carne de cerdo y describió un comportamiento similar.

En otras investigaciones se suspendió el ensayo en la primera semana de almacenamiento, trabajando a menores temperaturas (Han, 2005; Mitsumoto, 2005; Baohua, 2010; Brettonnet, 2010).

Esto confirma lo observado en este estudio y se explica por las reacciones de degradación de las proteínas que dan lugar a la formación de compuestos básicos nitrogenados que reaccionan con las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.

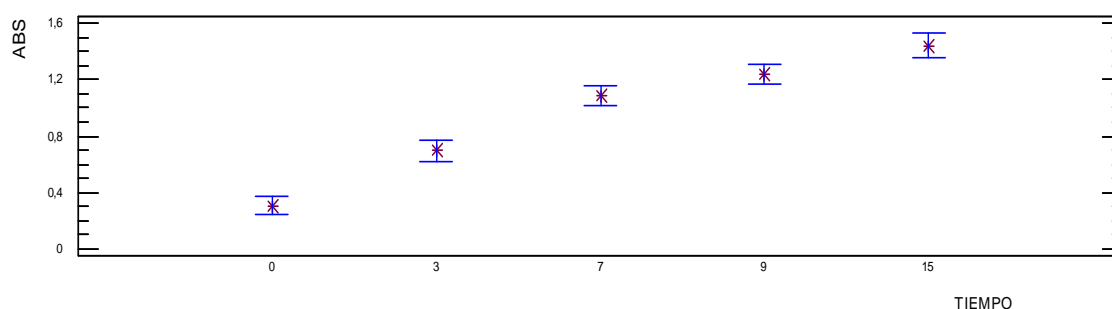


Figura 9: Evolución de las absorbancias de las TBARS en medallones cocidos sometidos a diferentes tratamientos térmicos y almacenados a 15°C.

Tabla 7: Prueba de rangos múltiples de ABS según el tiempo

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
0	27	0,304733	X
3	21	0,695834	X
7	22	1,08363	X
9	13	1,23663	XX
15	15	1,44587	X

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para la repetición se observó que no hay diferencias significativas entre los valores de TBARS respecto de todas las muestras analizadas (figura 10).

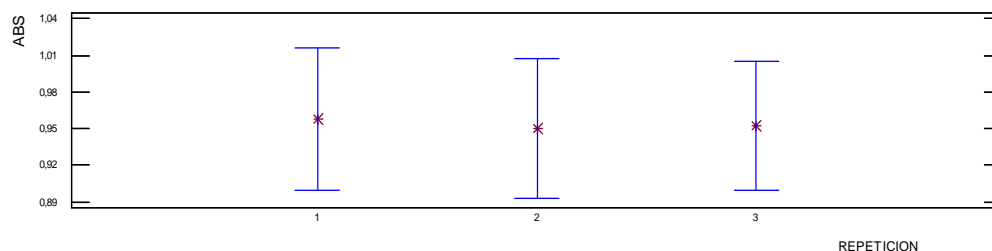
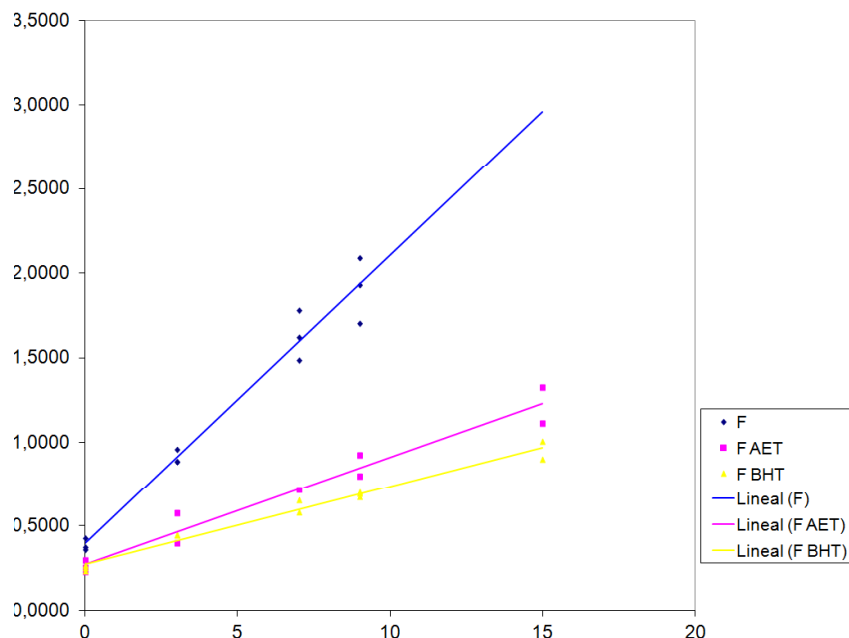


Figura 10: Medias y desviación estándar de las absorbancias de las TBARS en medallones cocidos y almacenados a 15°C, correspondientes a las tres repeticiones.

Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en medallones fritos



F: medallones control cocido por fritura
FAET: medallones cocido por fritura adicionados con 200mg/kg de AET
FBHT: medallones cocido por fritura adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 11: Evolución de las absorbancias de las TBARS en medallones fritos y almacenados a 15°C.

El TBA fue afectado por el almacenamiento. La figura 11 muestra que la concentración de TBARS aumenta progresivamente, a través del tiempo, de manera más pronunciada en los medallones control cocidos por fritura. (figura 12).

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

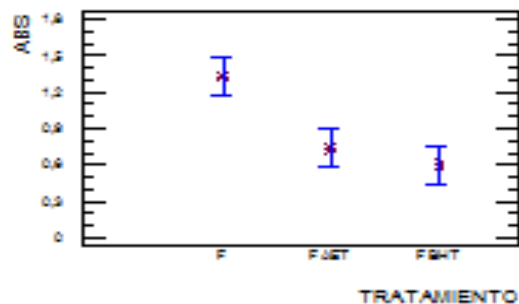
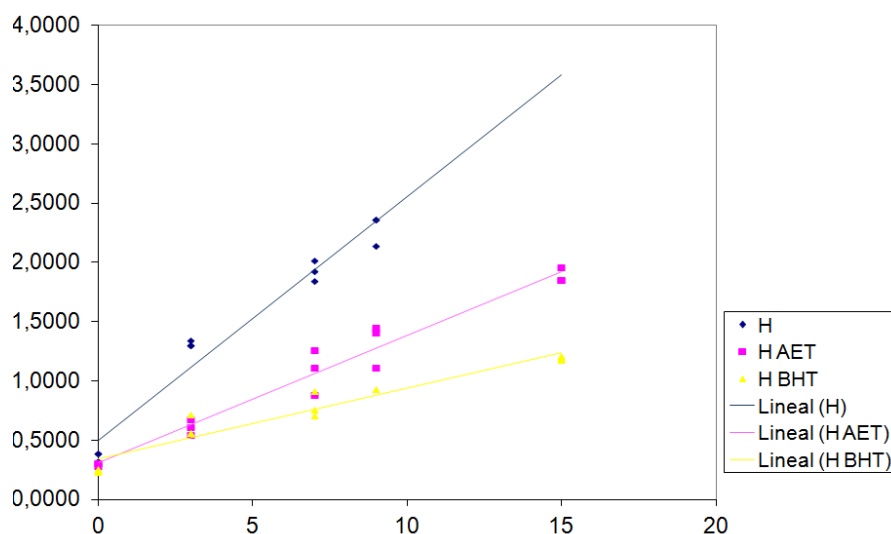


Figura 12: Medias y desviación estándar de las absorbancias de las TBARS en medallones fritos, almacenados a 15°C.

Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en medallones cocidos en horno eléctrico



H: medallones control cocido por horno eléctrico
HAET: medallones cocido por horno eléctrico adicionados con 200mg/kg de AET
HBHT: medallones cocido por horno eléctrico adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 13: Evolución de las absorbancias de las TBARS en medallones cocinados en horno eléctrico, almacenadas a 15°C

El TBA fue afectado por el almacenamiento. La figura 13 muestra que la concentración de malonaldehído aumenta progresivamente en todos los tratamientos, de manera más pronunciada en las cocinadas en horno eléctrico sin tratamiento.

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

Los medallones con AET o con BHT no presentan diferencias significativas entre sí. (figura 14).

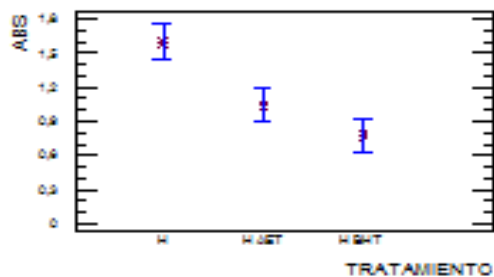
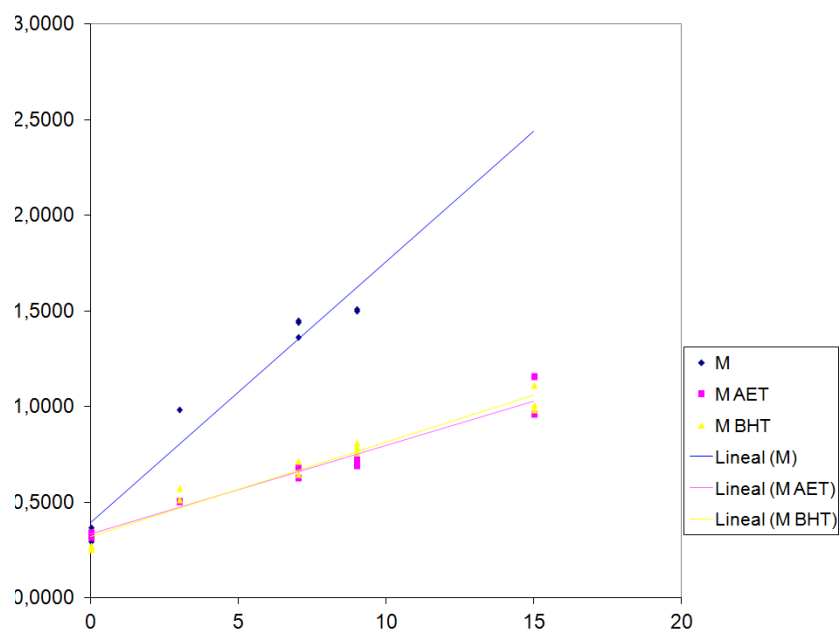


Figura 14: Medias y desviación estándar de las absorbancias de las TBARS en medallones cocidos y almacenados a 15°C, correspondientes a los cocidos en horno eléctrico

Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en medallones cocidos en microondas



M: medallones control cocido por microondas
MAET: medallones cocido por microondas adicionados con 200mg/kg de AET
MBHT: medallones cocido por microondas adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 15: Evolución de las absorbancias de las TBARS en medallones cocinados en horno microondas, almacenadas a 15°C

El TBA fue afectado por el almacenamiento al igual que los otros dos tipos de cocción. La figura 15 muestra que la concentración de TBARS aumenta progresivamente, pero no presentan diferencias significativas los medallones con AET o con BHT; siendo mucho más parecidos que en los otros dos tipos de cocción (figura 16).

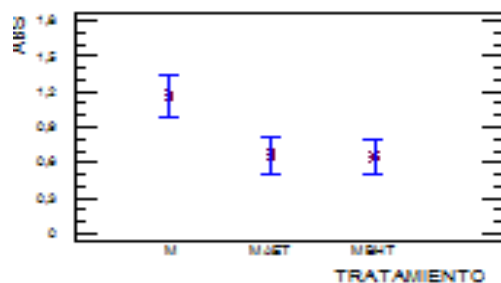


Figura 16: Medias y desviación estándar de las absorbancias de las TBARS en medallones cocidos y almacenados a 15°C, correspondientes a los cocidos en horno microondas.

Para estudiar el efecto de los tratamientos todos los resultados se evaluaron por el ANOVA para un $\alpha = 0,05$ y las velocidades iniciales de formación (pendientes de las rectas) de TBARS se estimaron, por análisis de regresión parcial para $\alpha = 0,05$ (Gujarati, 1988). Dichos valores se compararon con la de mayor valor que fue la correspondiente a los medallones cocidos en horno eléctrico, dando la reducción de la velocidad inicial (tabla 8).

$$\text{Reducción velocidad inicial} = (\text{velocidad máxima} - \text{velocidad inicial}) * 100 / \text{velocidad máxima}$$

Tabla 8: Velocidades iniciales de reacción para cada tipo de cocción y de tratamiento.

COCCIÓN	TRATAMIENTO	VELOCIDAD INICIAL	ORDENADA	R ²	REDUCCIÓN DE VEL INICIAL %
FRITURA en aceite de girasol	BHT	0,0462	0,2747	0,9791	78
	AET	0,0639	0,2727	0,9608	69
	s/antioxidante	0,1709	0,3967	0,97	17
HORNO ELÉCTRICO	BHT	0,0596	0,345	0,9279	71
	AET	0,1074	0,3126	0,9647	48
	s/antioxidante	0,2056	0,4986	0,9632	0
HORNO MICROONDAS	BHT	0,0496	0,3192	0,9577	76
	AET	0,0464	0,3348	0,9561	77
	s/antioxidante	0,1364	0,3931	0,9612	34

Las velocidades iniciales de oxidación en los medallones cocidos en horno eléctrico, para los tres tratamientos ensayados, son mayores que las correspondientes a los otros dos tipos de cocción. Para cada uno de ellos, se observó que la incorporación de BHT permitía disminuir la oxidación entre el 71 y el 78%. La adición de AET disminuyó las velocidades iniciales entre un 69 y 77% para las cocciones por fritura y en horno microondas, respectivamente, valores cercanos a los correspondientes a los de la adición del BHT y sin diferencias significativas entre sí (figuras 12 y 16).

El AET incorporado a los medallones cocidos en horno eléctrico, si bien redujo la velocidad inicial en un 48%, fue significativamente superior al de los tratados con BHT y menor que los que no tenían aditivos adicionados (figura 14).

Al terminar la cocción, el contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico fue mayor en los medallones fritos que en los cocidos en horno de microondas. Los sometidos a horno eléctrico alcanzaron valores intermedios que no se diferenciaron significativamente de los ya mencionados. Broncano (2009) también encontró este comportamiento en trozos fritos de carne de cerdo que superaron los valores correspondientes a los de la cocción en los cocidos en cualquiera de los dos tipos de hornos.

Por otra parte, se encontró que los resultados obtenidos después del almacenamiento a 15°C, durante siete días coinciden con los de Cofrades y col. en 2007 y con los de Danowska-Oziewicz, (2009) al cocinar, por diferentes tratamientos térmicos -horno microondas, fritura, horno convencional, ebullición, grill eléctrico- bifes reestructurados y medallones de cerdo, respectivamente; donde la cocción en microondas fue la que menos influyó en la oxidación de los medallones.

Por lo expuesto y bajo las condiciones del ensayo, midiendo la oxidación de los lípidos, en términos de absorbancia de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico:

- ✓ El método de cocción que favoreció esta oxidación fue el llevado a cabo en horno eléctrico. Los medallones fritos, presentaron valores medios y los cocidos por microondas mostraron los menores valores.
- ✓ La incorporación de un antioxidante sintéticos (BHT) como de uno natural (AET) permitió disminuir la velocidad de enranciamiento oxidativo.
- ✓ La adición de AET fue tan efectiva como la del BHT en los medallones cuya cocción se efectuó tanto en horno microondas como en los fritos.
- ✓ La adición de AET en los medallones cocidos en horno eléctrico fue menos efectiva que la correspondiente a la de los adicionados con BHT. Se calculó en un 67%, haciendo la relación entre los porcentajes de reducción de las velocidades iniciales de oxidación.

- **Evolución del color**

Valores de luminosidad-claridad (L*)

Al aplicar el análisis de la varianza a los resultados obtenidos se comprobó que existen diferencias significativas para el tiempo y el tratamiento, pero no para las repeticiones (tabla 9):

Tabla 9: Análisis de varianza para el parámetro L*.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medios	F	Valor p
Repetición	28,3501	7	4,05001	1,11	0,3545
Tiempo	273,213	4	68,3032	18,77	0,0000
Tratamiento	1446,4	8	180,8	49,67	0,0000
Residual	1204,74	331	3,6397		
Total	2978,54	350			

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para los tratamientos se observó que la luminosidad de los medallones cocidos en horno eléctrico con y sin antioxidantes y la de los fritos sin antioxidantes no se diferenciaron entre sí y fueron significativamente superiores a la de los restantes tratamientos. Todas las muestras cocidas en horno microondas presentaron los menores valores de L*. Los valores correspondientes a los medallones fritos con alguno de los dos antioxidante fueron intermedios y no difirieron entre sí (tabla 10 y figura 17). Estos resultados no guardaron relación con los correspondientes a las absorbancias de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. Podría deberse a que las lecturas de color se llevaron a cabo sobre la superficie de los medallones que se vio muy afectada por el método de cocción, especialmente en los medallones fritos. Otros autores trabajaron haciendo las lecturas tanto en el exterior como en el interior de los medallones ayudando a determinar con menor error los parámetros (Han y col., 2005; Mitsumoto y col., 2005; Baohua y col., 2010).

Tabla 10: Prueba de rangos múltiples de L* por el Tratamiento

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
M	40	49,2387	X
MBHT	40	49,683	XX
MAET	39	50,2901	X
FBHT	40	52,4087	X
FAET	40	52,7632	X
HBHT	40	53,9472	X
H	40	54,1687	X
HAET	32	54,4117	X
F	40	54,777	X

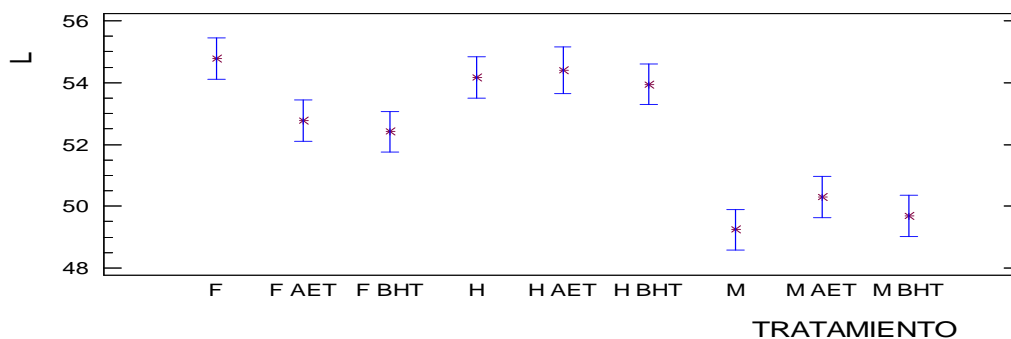


Figura 17: Medias y desviación estándar de los valores de L* en medallones cocidos y almacenados a 15°C, para los nueve tratamientos

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para el tiempo de almacenamiento se observó que se incrementa significativamente el valor de L* al séptimo día, presentando un comportamiento similar al sufrido por la absorbancia de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (figura 9 y 18; tabla 11).

Tabla 11: Prueba de rangos múltiples de L* según el tiempo

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
0	72	51,1553	X
3	64	51,8116	X
9	72	52,5482	X
15	71	52,8055	X
7	72	53,7286	X

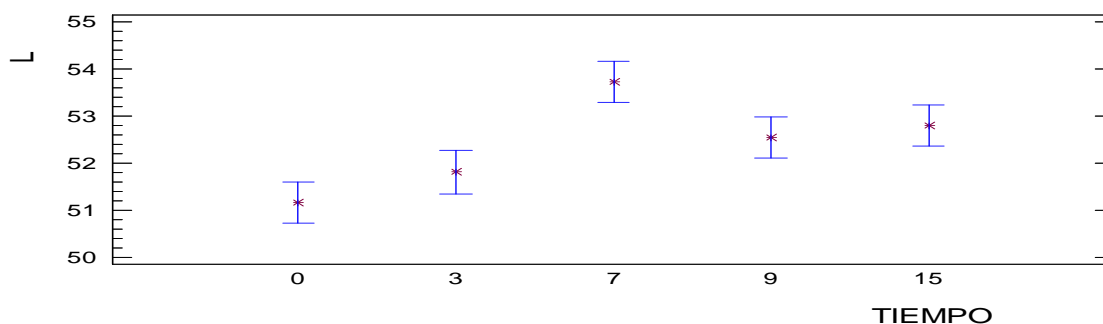


Figura 18: Evolución del valor de L* en medallones cocidos sometidos a diferentes tratamientos térmicos y almacenados a 15°C.

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para la repetición se observó que no hay diferencias significativas entre los valores de L* respecto de todas las muestras analizadas (figura 19 y tabla 12).

Tabla 12: Prueba de rangos múltiples de L* según su repetición

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
2	44	51,9749	X
1	44	52,0353	X
5	44	52,3499	XX
3	44	52,3687	XX
4	44	52,4637	XX
8	43	52,5184	XX
6	44	52,6967	XX
7	44	52,8712	X

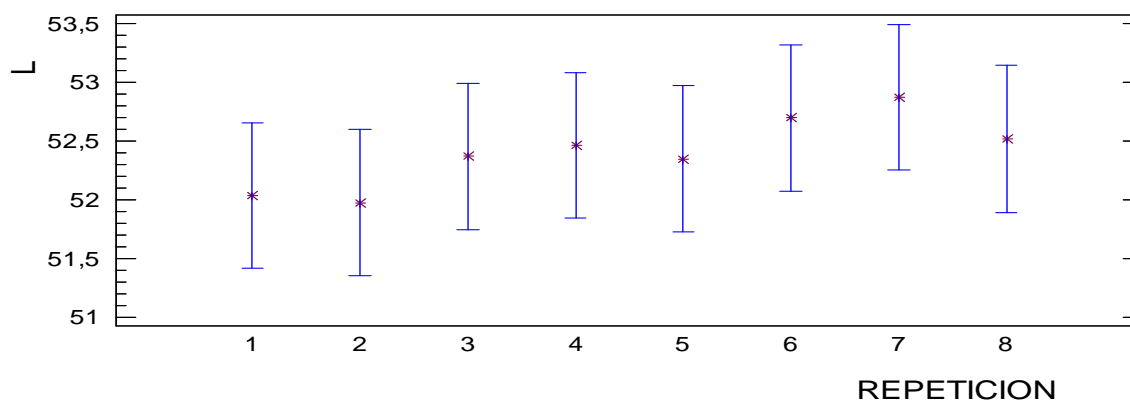
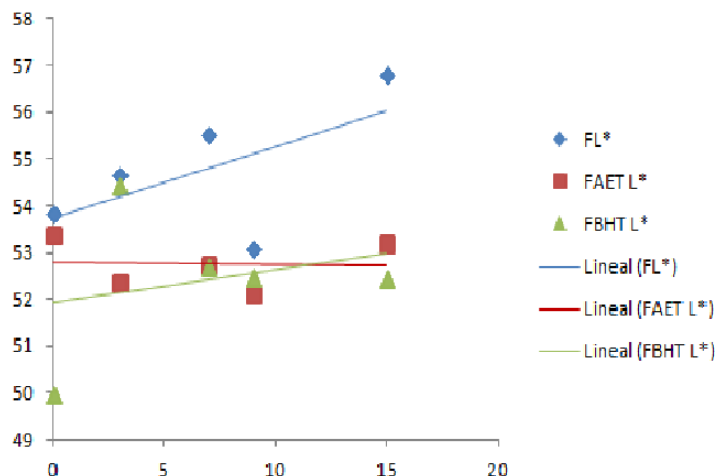


Figura 19: Medias y desviación estándar de los valores de L* en medallones cocidos y almacenados a 15°C, para las ocho repeticiones.

Valores de luminosidad (L^*) en medallones fritos



F: medallones control cocido por fritura
FAET: medallones cocido por fritura adicionados con 200mg/kg de AET
FBHT: medallones cocido por fritura adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 20: Evolución de los valores de L^* en medallones cocidos sometidos a fritura y almacenados a 15°C.

En la figura 20 se observa que los valores de la luminosidad, en medallones adicionados con aceite esencial de tomillo, presentan una tendencia constante, durante el almacenamiento. Las coordenadas de color L^* no presentan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los medallones adicionados con AET o con BHT (figura 21) como con las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (figura 12).

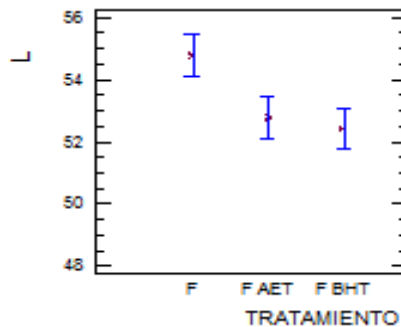
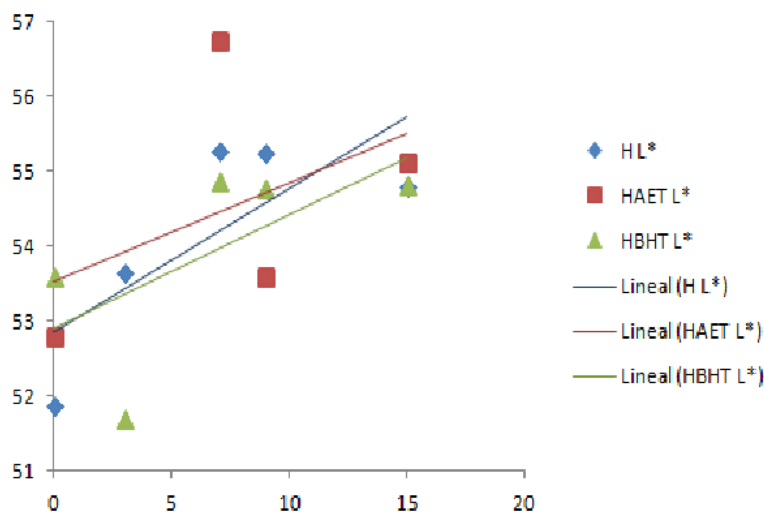


Figura 21: Medias y desviación estándar de los valores de L^* en medallones cocidos en fritura y almacenados a 15°C.

Valores de luminosidad-claridad (L^*) en medallones cocidos en horno eléctrico



H: medallones control cocido por horno eléctrico
 HAET: medallones cocido por horno eléctrico adicionados con 200mg/kg de AET
 HBHT: medallones cocido por horno eléctrico adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 22: Evolución de los valores de L^* en medallones cocidos en horno eléctrico y almacenados a 15°C.

En la figura 22 los valores de la luminosidad, en medallones adicionadas con aceite esencial de tomillo, presentan una tendencia creciente, durante el almacenamiento, pero con una pendiente menor que las cocinadas sin la adición de antioxidante. Las coordenadas de color L^* no presentan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los medallones adicionados con AET, BHT y sin la adición de antioxidante (figura 23). Este comportamiento fue diferente al de las TBARS en el que se diferencian significativamente los valores de las muestras con antioxidantes de las que no lo contienen (figura 14).

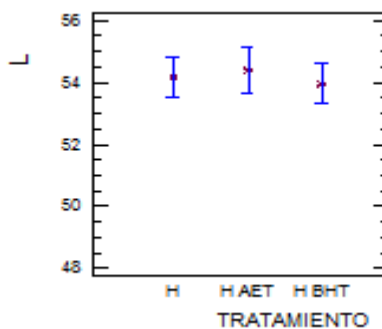
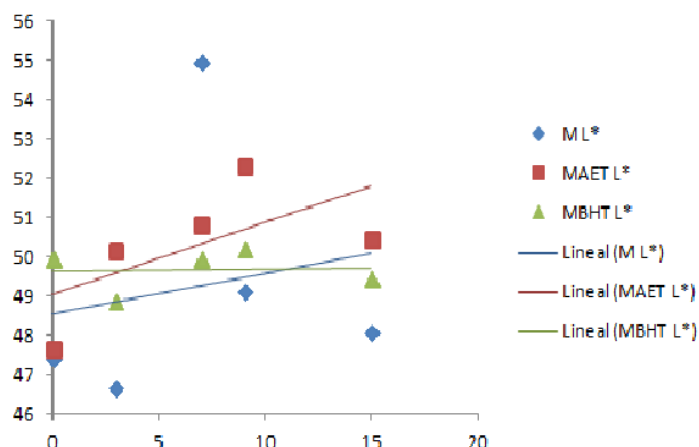


Figura 23: Medias y desviación estándar de los valores de L^* en medallones cocidos en horno eléctrico y almacenados a 15°C.

Valores de luminosidad-claridad (L^*) en medallones cocidos en horno microondas



M: medallones control cocido por horno microondas
MAET: medallones cocido por horno microondas adicionados con 200mg/kg de AET
MBHT: medallones cocido por horno microondas adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 24: Evolución de los valores de L^* en medallones cocidos en horno microondas y almacenados a 15°C.

En la figura 24 los valores de la luminosidad, en medallones adicionados con aceite esencial de tomillo, presentan una tendencia creciente, durante el almacenamiento. Las coordenadas de color L^* no presentan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los medallones adicionados con AET, BHT y sin la adición de antioxidante. En este caso, tampoco se pudieron diferenciar, significativamente los efectos de los tres tratamientos estudiados (figura 25). En el caso de la medición de las absorbancias de las TBARS, se diferenciaron significativamente, los medallones con AET y con BHT de los sin aditivo incorporado (figura 16).

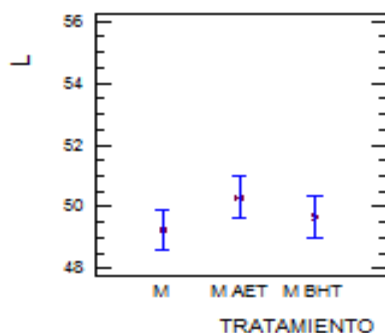


Figura 25: Medias y desviación estándar de los valores de L^* en medallones cocidos en horno microondas y almacenados a 15°C.

Valores del color que va de rojo a verde (a*)

Al aplicar el análisis de la varianza a los resultados obtenidos se comprobó que existen diferencias significativas para el tiempo y el tratamiento, pero no para las repeticiones (tabla 13):

Tabla 13: Análisis de varianza para el parámetro a*.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medios	F	Valor p
Repetición	2,02008	7	0,288583	0,35	0,9291
Tiempo	87,8999	4	21,975	26,80	0,0000
Tratamiento	114,547	8	14,3184	17,46	0,0000
Residual	271,438	331	0,820053		
Total	476,584	350			

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para los tratamientos se observó que la cocción en horno microondas de medallones que contienen BHT y AET muestran valores significativamente mayores, para la coordenada a*, que los de los otros tratamientos. (figura 26 y tabla 14).

Tabla 14: Prueba de rangos múltiples de a* por tratamiento

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
H	40	5,0995	X
HBHT	40	5,614	X
FAET	40	5,6555	X
M	40	5,6955	X
F	40	5,82075	XX
HAET	32	6,00449	XX
FBHT	40	6,174	X
MBHT	40	6,7885	X
MAET	39	7,01871	X

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

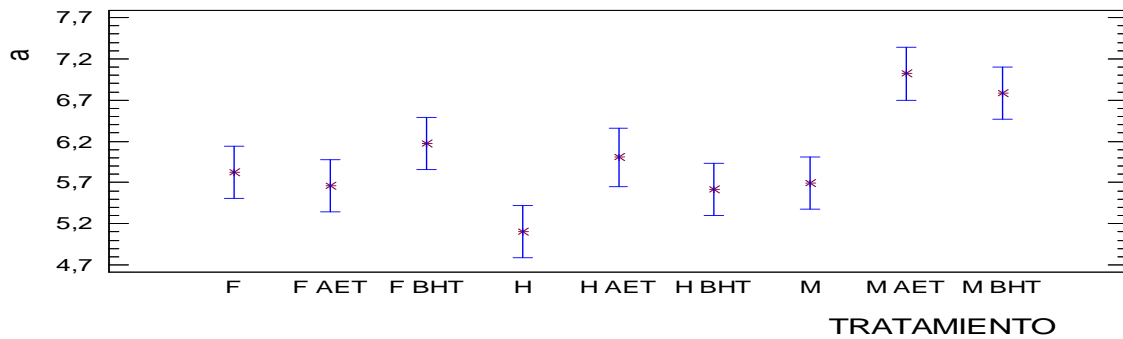


Figura 26: Medias y desviación estándar de los valores de a* en medallones cocidos y almacenados a 15°C, para los nueve tratamientos.

Al aplicar la prueba de rangos múltiples, a los valores de a*, para el tiempo de almacenamiento, se observó que no hay variación entre los días 0 y 3; a los siete días disminuye significativamente y evoluciona, sin presentar diferencias significativas, entre los 7 y 15 días de almacenamiento (figura 27 y tabla 15). Este comportamiento es opuesto al mostrado por la evolución de las absorbancias de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (figura 9).

Tabla 15: Prueba de rangos múltiples de a* según el tiempo

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
9	72	5,28306	X
7	72	5,64486	X
15	71	5,89192	X
3	64	6,54985	X
0	72	6,55861	X

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

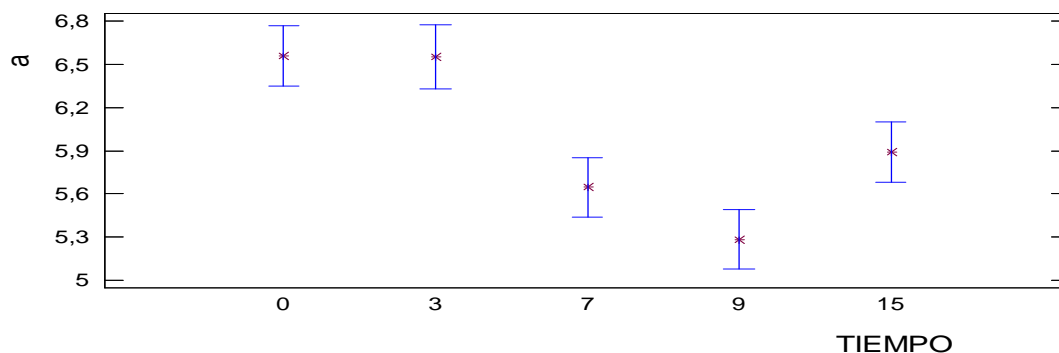


Figura 27: Evolución del valor de a* en medallones cocidos sometidos a diferentes tratamientos térmicos y almacenados a 15°C.

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para la repetición se observó que no hay diferencias significativas entre los valores de a* respecto de todas las muestras analizadas (figura 28 y tabla 16).

Tabla 16: Prueba de rangos múltiples de a* según su repetición

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
7	44	5,88802	X
6	44	5,88802	X
3	44	5,9312	X
8	43	5,94912	X
2	44	6,03166	X
4	44	6,04075	X
5	44	6,06643	X
1	44	6,09007	X

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphoides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

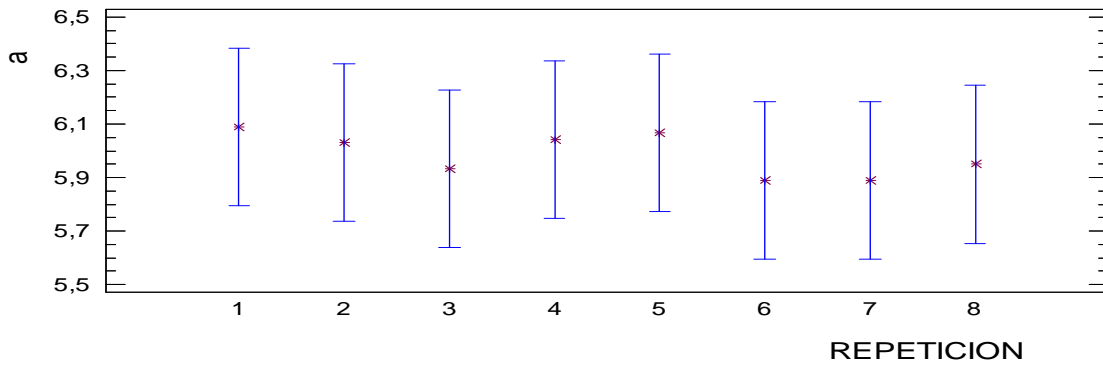
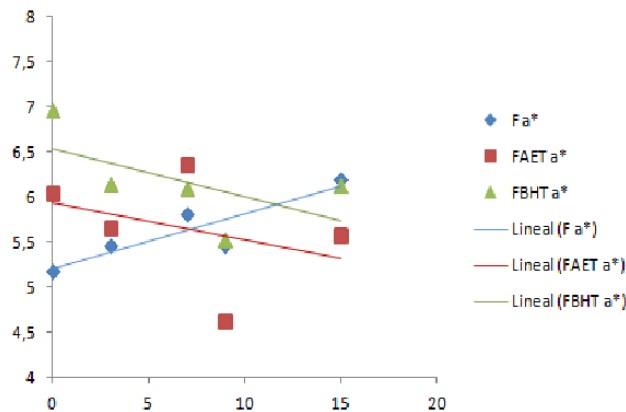


Figura 28: Medias y desviación estándar de los valores de a^* en medallones cocidos y almacenados a 15°C, para las 8 repeticiones

Valores del color que va de rojo a verde (a^*) en medallones fritos



F: medallones control cocido por fritura
 FAET: medallones cocido por fritura adicionados con 200mg/kg de AET
 FBHT: medallones cocido por fritura adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 29: Evolución de los valores de a^* en medallones cocidos sometidos a fritura y almacenados a 15°C.

En la figura 29 los valores de la a^* , en medallones adicionados con aceite esencial de tomillo o con BHT, presentan una tendencia decreciente, durante el almacenamiento, a diferencia de los medallones sin la adición de antioxidante. Las coordenadas de color a^* no presentan diferencias significativas entre los tratamientos (figura 30). Este comportamiento no se asemeja al presentado por las absorbancias de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico donde las fritas sin antioxidantes presentaban valores superiores (figura 12).

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphioides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

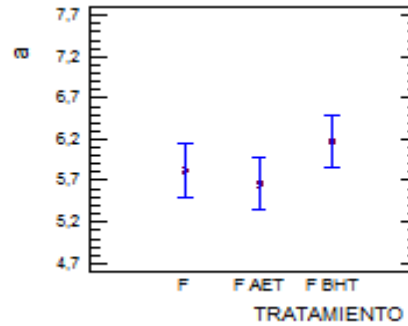
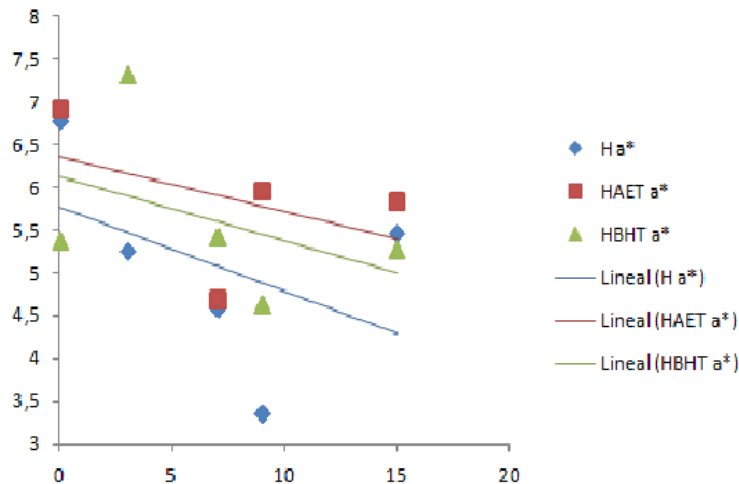


Figura 30: Medias y desviación estándar de los valores de a^* en medallones cocidos en fritura y almacenados a 15°C .

Valores del color que va de rojo a verde (a^*) en medallones cocidos en horno eléctrico



H: medallones control cocido por horno eléctrico
 HAET: medallones cocido por horno eléctrico adicionados con 200mg/kg de AET
 HBHT: medallones cocido por horno eléctrico adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 31: Evolución de los valores de a^* en medallones cocidos en horno eléctrico y almacenados a 15°C .

En la figura 31 los valores de la a^* , en los medallones presentan una tendencia decreciente, durante el almacenamiento, para todos los tratamientos. Las coordenadas de color a^* no presentan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los medallones adicionados con BHT y con los medallones sin el agregado de antioxidantes. Siendo los valores de los medallones adicionados con AET los más altos (figura 32). Este comportamiento no se asemeja al presentado por las absorbancias de las sustancias

reactivas al ácido tiobarbitúrico donde hay diferencias significativas entre los medallones adicionados con alguno de los dos antioxidantes y con los ausentes de los mismos (figura 14).

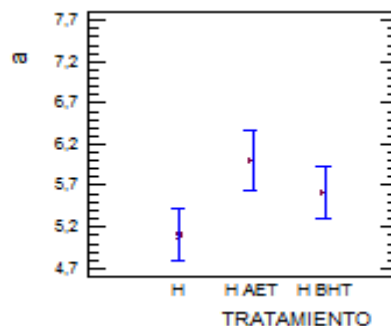
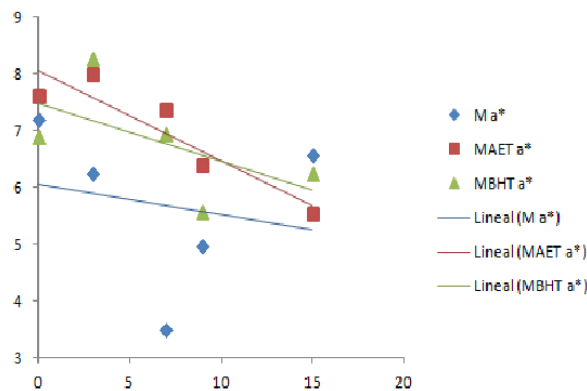


Figura 32: Medias y desviación estándar de los valores de a^* en medallones cocidos en horno eléctrico y almacenados a 15°C.

Valores del color que va de rojo a verde (a^*) en medallones cocidos en horno microondas



M: medallones control cocido por microondas
MAET: medallones cocido por microondas adicionados con 200mg/kg de AET
MBHT: medallones cocido por microondas a adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 33: Evolución de los valores de a^* en medallones cocidos en horno microondas y almacenados a 15°C.

En la figura 33 los valores de a^* , en medallones adicionadas con aceite esencial de tomillo, presentan una tendencia decreciente más pronunciada, durante el almacenamiento, respecto a los otros dos tratamientos. Las coordenadas de color a^* no presentan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los medallones

adicionados con AET, y BHT, pero si entre ellos y los medallones cocinados sin la adición de antioxidante (figura 34). Este comportamiento es opuesto al mostrado por la evolución de las absorbancias de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico donde los valores más altos corresponden a los medallones sin el agregado de antioxidantes (figura 16).

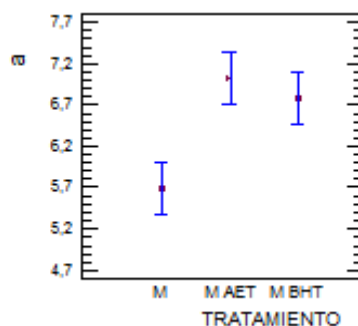


Figura 34: Medias y desviación estándar de los valores de a^* en medallones cocidos en horno microondas y almacenados a 15°C .

Resultó más efectiva la protección del color de los medallones adicionados con cualquiera de los dos antioxidantes empleados, cuando la cocción se llevó a cabo en horno de microondas que cuando se hizo en horno eléctrico.

Valores del color que va de amarillo a azul (b^*)

Al aplicar el análisis de la varianza a los resultados obtenidos se comprobó que existen diferencias significativas para el tiempo y el tratamiento, pero no para las repeticiones (tabla 17):

Tabla 17: Análisis de varianza para el parámetro b^* .

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medios	F	Valor p
Repetición	9,35117	7	1,33588	1,23	0,2849
Tiempo	52,7314	4	13,1829	12,15	0,0000
Tratamiento	81,0831	8	10,1354	9,34	0,0000
Residual	359,171	331	1,08511		
Total	501,49	350			

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para los tratamientos se observó que la cocción en horno microondas incrementa significativamente el valor de b^* , respecto de todas las muestras analizadas. Respecto a las demás muestras analizadas, se comprobó una disminución en el valor de b^* que no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, a excepción de las cocinadas en fritura y las cocinadas en aceite con el agregado de AET, presentando los valores más bajos de b^* (figura 35 y tabla 18).

Tabla 18: Prueba de rangos múltiples de b^* por tratamiento

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
F	40	10,4393	X
FAET	40	10,637	XX
HAET	32	11,0823	XX
HBHT	40	11,18	X
MAET	39	11,2909	XX
FBHT	40	11,3473	XX
MBHT	40	11,5395	XX
H	40	11,6643	XX
M	40	12,0872	X

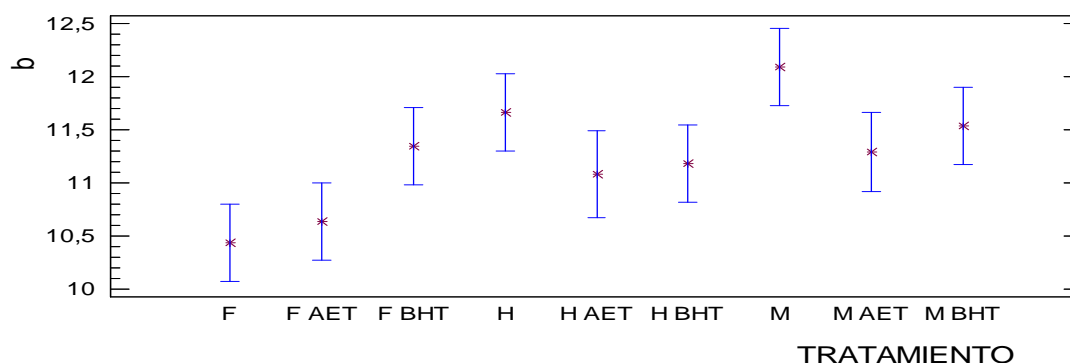


Figura 35: Medias y desviación estándar de los valores de b^* , en medallones cocidos y almacenados a 15°C, para los nueve tratamientos.

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para el tiempo de almacenamiento se observó que hay una disminución significativa al tercer día del valor de b^* , luego sufre un ascenso alcanzando el máximo al noveno y décimo quinto día (figura 36 y tabla 19).

Tabla 19: Prueba de rangos múltiples de b^* según el tiempo

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
3	64	10,6588	X
0	72	11,049	X
7	72	11,1803	X
15	71	11,6206	X
9	72	11,7511	X

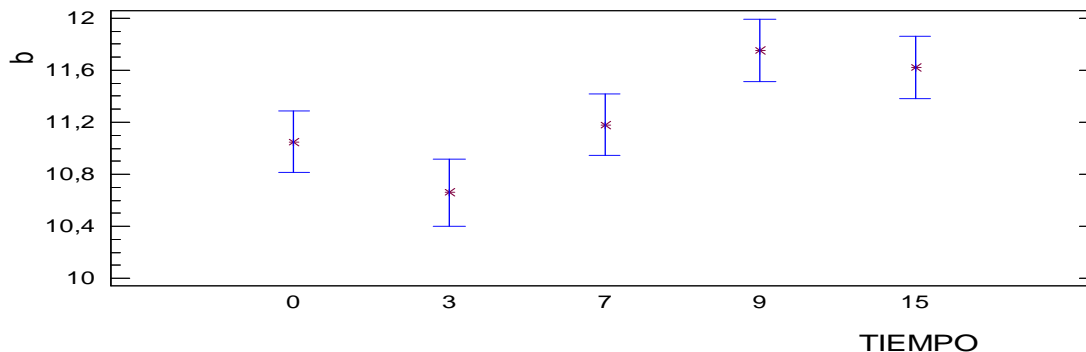


Figura 36: Evolución del valor de b^* en medallones cocidos sometidos a diferentes tratamientos térmicos y almacenados a 15°C.

Al aplicar la prueba de rangos múltiples para la repetición se observó que no hay diferencias significativas entre los valores de b^* respecto de todas las muestras analizadas (figura 37 y tabla 20).

Tabla 20: Prueba de rangos múltiples de b* según su repetición

Tratamiento	Contar	Media	Grupos homogéneos
2	44	10,9552	X
8	43	11,0671	XX
5	44	11,2095	XX
4	44	11,2502	XX
6	44	11,2656	XX
7	44	11,3947	X
3	44	11,4227	X
1	44	11,4508	X

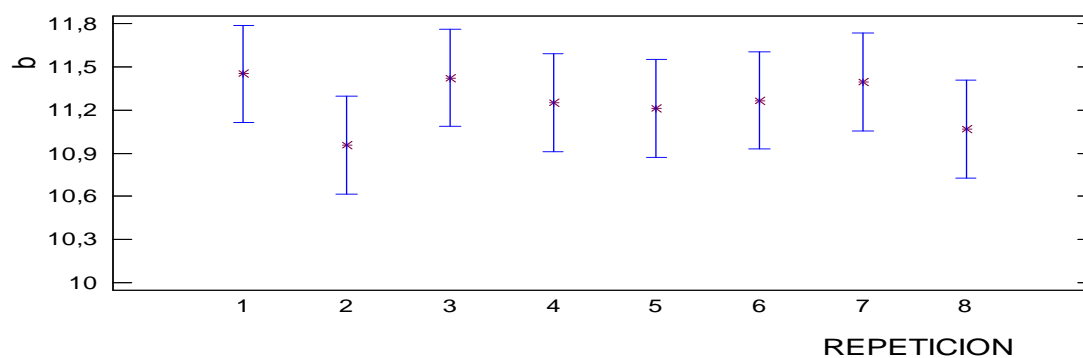
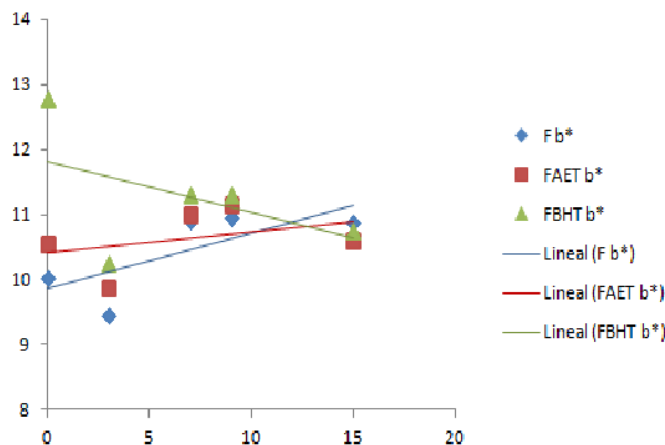


Figura 37: Medias y desviación estándar de los valores de b* en medallones cocidos y almacenados a 15°C, para las 8 repeticiones.

Valores del color que va de amarillo a azul (b^*) en medallones fritos



F: medallones control cocido por fritura
 FAET: medallones cocido por fritura adicionados con 200mg/kg de AET
 FBHT: medallones cocido por fritura adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 38: Evolución de los valores de b^* , en medallones cocidos sometidos a fritura y almacenados a 15°C.

En la figura 38 los valores de la b^* , en medallones adicionados con aceite esencial de tomillo, presentan una tendencia levemente creciente, durante el almacenamiento. Las coordenadas de color b^* no presentan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los medallones adicionados con AET, y sin el agregado de antioxidante. Siendo los valores de los medallones adicionados con BHT los más altos (figura 39).

Presentando un comportamiento diferente al de las absorbancias de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, donde no hay diferencias significativas entre los medallones adicionados con antioxidantes (figura 12).

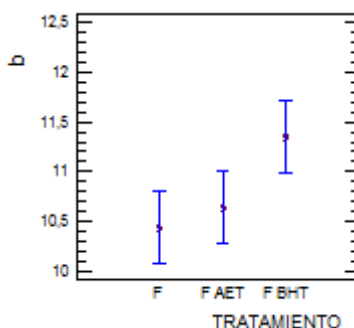
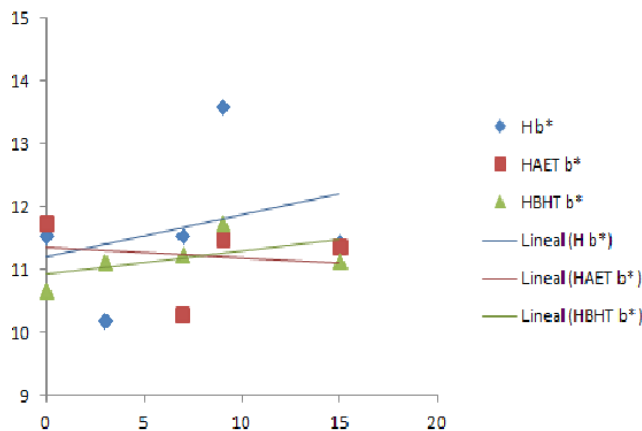


Figura 39: Medias y desviación estándar de los valores de b^* en medallones cocidos en fritura y almacenados a 15°C.

Valores del color que va de amarillo a azul (b^*) en medallones cocidos en horno eléctrico



H: medallones control cocido por horno eléctrico
HAET: medallones cocido por horno eléctrico adicionados con 200mg/kg de AET
HBHT: medallones cocido por horno eléctrico adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 40: Evolución de los valores de b^* , en medallones cocidos en horno eléctrico y almacenados a 15°C.

En la figura 40 los valores de la b^* , en medallones adicionadas con aceite esencial de tomillo, presentan una tendencia levemente decreciente, durante el almacenamiento. Las coordenadas de color b^* no presentan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los medallones adicionados con AET, y BHT (figura 41). Este comportamiento es similar al presentado por las absorbancias de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (figura 14).

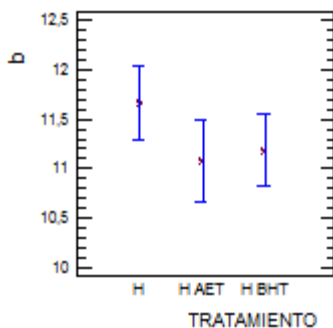
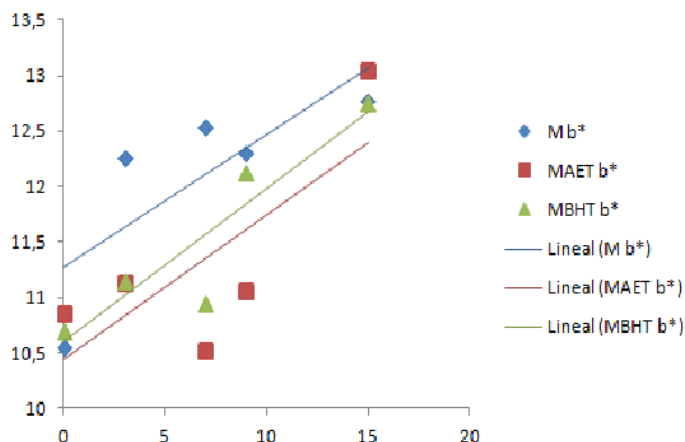


Figura 41: Medias y desviación estándar de los valores de b^* en medallones cocidos en horno eléctrico y almacenados a 15°C.

Valores del color que va de amarillo a azul (b^*) en medallones cocidos en horno microondas



M: medallones control cocido por microondas
MAET: medallones cocido por microondas adicionados con 200mg/kg de AET
MBHT: medallones cocido por microondas adicionados con 200mg/kg de BHT

Figura 42: Evolución de los valores de b^* , en medallones cocidos en horno microondas y almacenados a 15°C.

En la figura 42 los valores de la b^* , en medallones adicionadas con aceite esencial de tomillo, presentan una tendencia creciente, durante el almacenamiento, similar a las muestras adicionadas con BHT. Las coordenadas de color b^* no presentan diferencias significativas entre los valores correspondientes a los medallones adicionados con AET, y BHT (figura 43). Este comportamiento es similar al presentado por las absorbancias de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (figura 16).

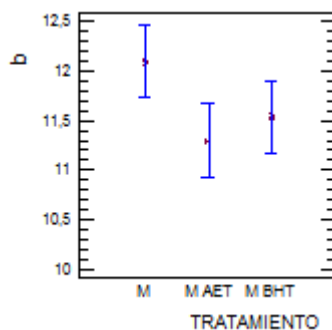
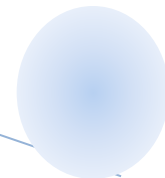


Figura 43: Medias y desviación estándar de los valores de b^* en medallones cocidos en horno microondas y almacenados a 15°C.

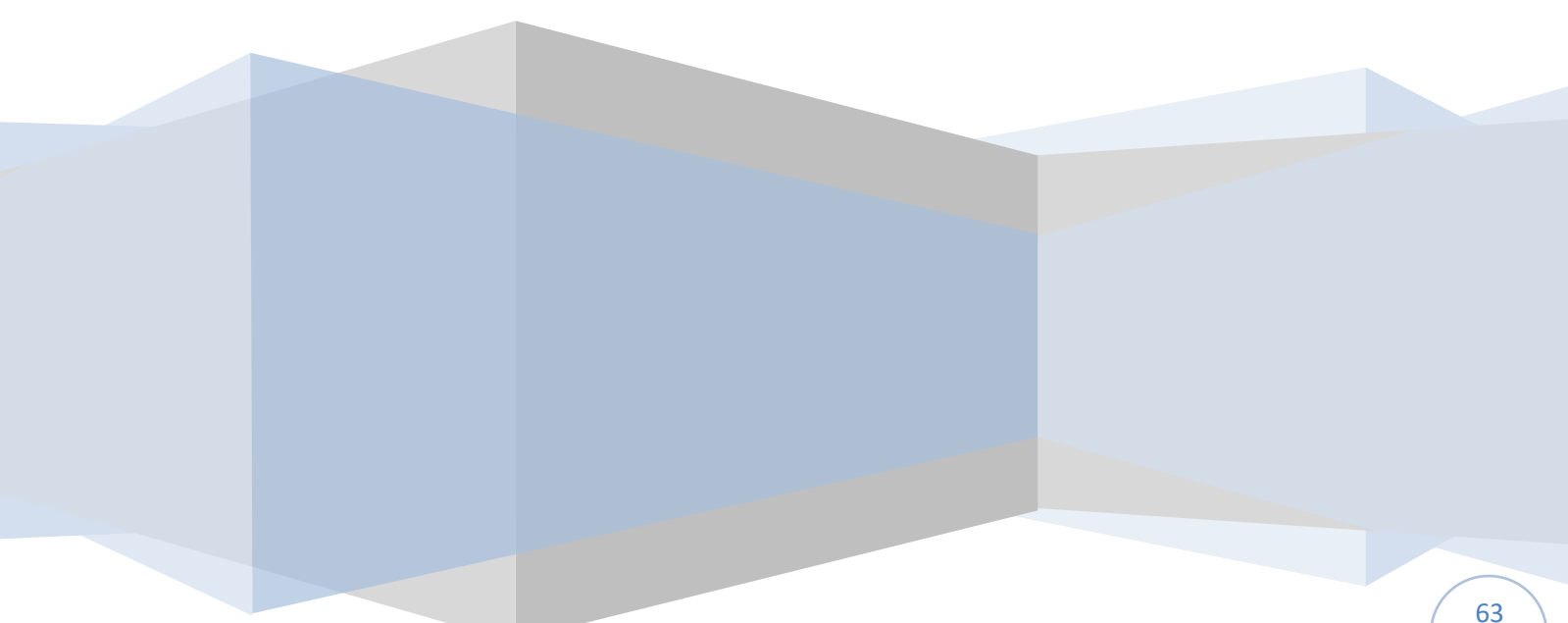
“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphoides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

No se pudo establecer una adecuada correlación de las TBARS con los valores de L^* , a^* y b^* por la técnica empleada, al medir color solo en la superficie. Habría que realizar otro estudio en donde se mida color en el interior de los medallones de carne.



Capítulo 5:

Conclusiones



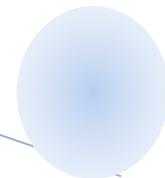
CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos, bajo las condiciones del ensayo, indican que:

- ✓ El aceite esencial de tomillo mendocino (*Acantholippia seriphioides*) posee un elevado contenido de polifenoles (211 ± 5 mg / g). Entre ellos se destacan el timol que representa el 17,9% y el carvacrol, el 17,5%, ambos de reconocido efecto antioxidante.
- ✓ El almacenamiento a 15°C de medallones cocidos en, aceite, horno eléctrico y en horno de microondas favorece la formación de sustancias reactivas al ácido barbitúrico que es significativamente superior al de los que fueron adicionados con 200 mg/kg de aceite esencial de tomillo o 200 mg/kg de un antioxidante sintético BHT.
- ✓ Los valores de las coordenadas de color L*, a* y b* medidos sobre la superficie de medallones cocidos, no permitieron establecer diferencias en la evolución de la rancidez oxidativa, por lo que deberá aumentarse el número de lecturas o bien, efectuar las mediciones en el interior de los mismos.
- ✓ Los valores de la TBARS y los de las coordenadas L*, a* y b* medidos sobre la superficie de medallones fritos, no guardaron relación entre sí.
- ✓ Comparando los tres tipos de cocción, la efectuada en horno microondas es la que menos afecta en la rancidez de los medallones de carne.

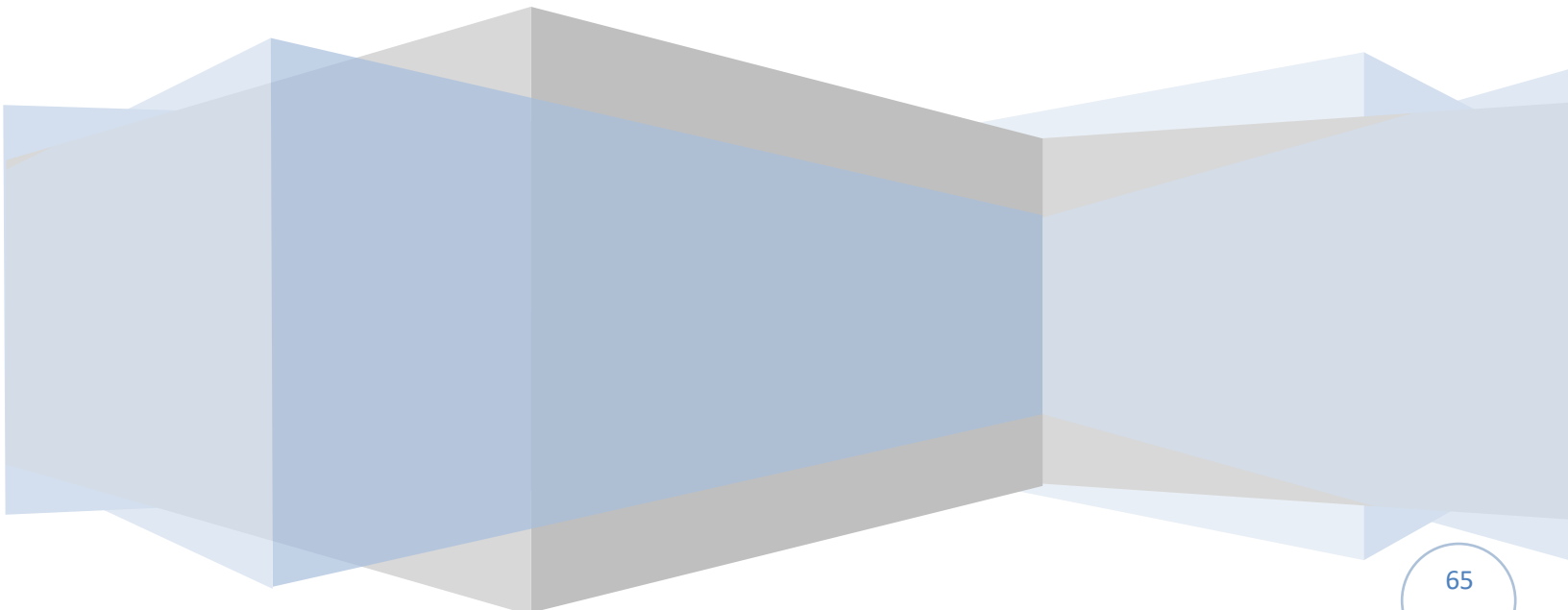
Lo expuesto permitió comprobar el objetivo general planteado:

La adición de aceite esencial de *Acantholippia seriphioides*,
en dosis de 200 mg/kg,
tiene efecto antioxidante que no se diferencia significativamente del BHT.



Capítulo 6:

Bibliografía



BIBLIOGRAFIA

- ABDULLAH, I.; FAROOQ, A.; SHAHZAD, A.S.; SAJID, L.; SYED, T.H.; ASHFAQ, A.; WORTHINGTONB, J.; SARKERG, S. D. S. 2012 . Chemical composition and bioactivity studies of the essential oils from two *Thymus* species from the Pakistani flora. LWT - Food Science And Technology.
- ADIB, N.; AMRI, M.; HAJIMEHDIPOOR, H.; KHANAVI, M.; SHEKARCHI, M. 2010. A validated high performance liquid chromatography method for the analysis of thymol and carvacrol in *Thymus vulgaris* L. volatile oil. Pharmacogn Mag Vol.6 N°23 pág. 154–158.
- AGÜERO, M.; ARAGÓN, L.; FERESIN, G.; LIMA, B.; LÓPEZ, S.; LUNA, L.; TAPIA, A. 2011. Essential oils of medicinal plants from the central andes of Argentina: chemical composition, and antifungal, antibacterial, and insect-repellent activities. Chemistry & Biodiversity, Vol.8 N°5 pág. 924-936.
- ASPÉ, E. R.; ROECKEL, M. D.; MARTI, C.; JIMÉNEZ, R. 2008. Envasado de carne vacuno con hueso y grasa en atmósfera modificada con CO₂ y CO. Información Tecnológica. Vol. 19 pág. 57-69.
- AZIZA, A.; SHERIF, R.; AMAL, S.; NABILA, S.; SOHER, E.; MOSAAD, A. 2011. Antioxidant properties of *Thymus vulgaris* oil against aflatoxin-induced oxidative stress in male rats. Toxicon.
- BADUI DERGAL, S. 1999. Química de los alimentos. Ed. Alambra -México.p 247.
- BADUI DERGAL.2006. Química de los Alimentos. Cuarta edición por Pearson Educación de México S.A.
- BAGAMBOULA, C.F.; UYTTENDAELE, M.; DEBEVERE, J. 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology Vol. 21. pág. 33-42.
- BARRIENTOS ROJAS, C.E.; CANO MORALES, T.M. ; CHÁVEZ QUIÑÓNEZ DE PÉREZ, B.L ; GODÍNEZ LEMUS, J.E. 2001. Obtención y caracterización del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) cultivado en Guatemala, utilizado en diversidad de productos fitofarmacéuticos. Universidad de San Carlos de Guatemala Dirección General de Investigación Facultad de Ingeniería.

- BEREZOSKY, J.; MAZZUCA, M.; ARCE, M. E.; DI LEO LIRA P., VAN BAREN, C.; BANDONI. 2009. Composición del aceite esencial y bioactividades de esencias de tomillo patagónico (*Acantholippia seriphoides* (a.gray) mold. de la región del golfo San Jorge (Chubut). XVII SINAQO / 15 al 18 de noviembre de 2009 / Mendoza, Argentina. Poster pág 17.
- BONZANI N.Y ARIZA ESPINAR L. 1992. Estudios Anatómicos de algunos Tomillos usados en Argentina. Acta Farnt. Bonaerense Vol.11 N°3 pág. 129-38.
- BRONCANO, J.M.; PARRA, V.; PETRÓN, M.J; TIMÓN, M.L. 2009. Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in *Latissimus dorsi* muscle of Iberian pigs. Meat Science Vol.83 pág. 431–437.
- CAMOU ARRIOLA, J. P.; GONZÁLEZ MÉNDEZ, N. F. ; HERNÁNDEZ WATANABE, G.; SÁNCHEZ ESCALANTE, A. y TORRESCANO URRUTIA, G. R. Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. 2008. NACAMEH Vol. 2 N°. 2 pág. 124-159.
- CAÑIGUERAL FOLCARÀ, S.; VANACLOCHA VANACLOCHA, B. 2000. Usos terapéuticos del tomillo. Revista de Fitoterapia; Vol. 1pág. 5-13
- CARVALHO, C. P.; *et al.* 2011. Evaluación in vitro de 22 compuestos de aceites esenciales de cítricos sobre el crecimiento de *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*: Efecto dosis y comparativo. En: Memorias XI Congreso Colombiano de Fitoquímica. Medellín, Colombia. (In press).
- CASTILLO GARCIA, E.; MARTINEZ SOLIS, I. 2007. Manual de fitoterapia.Elsevier Doyma, S.L. Barcelona, España.
- CHEFTEL JEAN-CLAUDE y CHEFTEL HENRI. 1992. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Editorial Acibia. Vol. 1. pág. 265-289
- COFRADES, S.; LIBRELOTTO, J.; JIMENEZ-COLMENERO, F.; SANCHEZ-MUNIZ, F.J; SERRANO, A. 2007. Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method. Meat Science Vol.77 pág. 304–313.
- COLINA JHOANA. 2010. Efecto de los métodos de cocción sobre los nutrientes y las características sensoriales de los alimentos <http://es.scribd.com/doc/39547893/EFECTO-DE-LOS-METODOS-DE-COCCION-SOBRE-LOS-NUTRIENTES-Y-LAS-CARACTERISTICAS-SENSORIALES-DE-LOS-ALIMENTOS>. Fecha de Consulta 12/06/2012

- DANOWSKA-OZIEWICZ M. 2009. The influence of cooking method on the quality of pork patties. *Journal of Food Processing and Preservation*. Vol.33 pág.473–485.
- ESTÉVEZ, M.; CAVA, R. 2006. Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: Contradictory effects in different types of frankfurters. *Meat Science* Vol. 72 pág. 348–355.
- ESTÉVEZ, M.; RAMÍREZ, R.; VENTANAS, S.; CAVA R. 2007. Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver paté. *LWT* Vol. 40 pág. 58–65.
- ESTRADA OROZCO, S.P. 2010 . Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de Romero (*Rosmarinus officinalis*) y Tomillo (*Thymus vulgaris*). Escuela Superior Politécnica de Ehimborazo Facultad de Ciencias escuela de bioquímica y farmacia tesis de grado Rlobamba – Ecuador.
- FASSEAS, M.K.; MOUNTZOURIS, K.C.; TARANTILIS, P.A.; POLISSIOUS, M.; ZERVAS, G.2007. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chemistry* Vol.106. pág. 1188-1194.
- FUENTES FUENTES, A.P. 2005. Evaluación del rendimiento y calidad de aceite esencial crudo de tomillo (*Thymus vulgaris L.*); cultivado en Chaquijá, Sololá extraído a nivel laboratorio y planta piloto. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería.
- FUSELLI, S.; GARCÍA DE LA ROSA, S.; EGUARAS, M. J.; FRITZ, R.; NDAGIJIMANA, M.; VANNINI, L.R.; GUERZONI, M. S. R. 2007. Efficacy of Indigenous Plant Essential Oil Andean Thyme (*Acantholippia seriphoides* A. Gray) to Control American Foulbrood (AFB) in Honey Bee (*Apis mellifera L.*) Hives. *Journal Of Essential Oil Research*. Vol. 19. N°6. pág. 514-519.
- GANHÃO, R.; MORCUENDE , D. ;ESTÉVEZ, M. 2010. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Science* Vol.85 pág. 402-409 .
- GILLIJ, Y.G.; GLEISER, R.M.; ZYGADLO, J.A. 2008. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology*. Vol. 99. N° 7. pág.2507–2515.
- GUALA, M.S.; ELDER, H. V.; PEREZ, G.; CHIESA, A. 2009. Evaluación del Poder Antioxidante de Fracciones de Aceite Esencial Crudo de *Schinus molle* L.

obtenidas por Destilación al Vacío. Información Tecnológica-Vol. 20 N°2, pág. 83-88.

GUJARATI, D. 1988 Econometría Básica. Mc Graw Hill. México. pág. 92.

HERNANDEZ, P.; NAVARRO, J.L.; TOLDRÁ, F.1999. Modificaciones de los lípidos de carne de cerdo en función de su guiso. Food Science and Technology International Vol. 5. N° 6. pág. 501-508.

<http://aromaterapiafamiliar.wordpress.com/tag/quimiotipo/>. Fecha de Consulta 14/09/12

http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidh/aenergeticos2/grasos/03.html Consulta 08/06/12

http://www.ecured.cu/index.php/Horno_el%C3%A9ctrico. Consulta 28/06/12

HUERTA JIMÉNEZ, M.; ORTEGA CERRILLA, M. E.; COBOS PERALTA, M.; HERRERA HARO, J.; G, DÍAZ-CRUZ A., GUINZBERG PERRUSQUÍA R. 2005. Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. INCI Vol.30 N°.12. pág.728-734.

KUMAR, ASHOK; SHUKLA RAVINDRA; SINGH, PRIYANKA; PRASAD, CHANDRA SHEKHAR; DUBEY,NAWAL KISHORE,. 2008. Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. Innovative Food Science and Emerging Technologies Vol. 9 pág. 575–580.

LARRAÑAGA COLL, I. 1999. Control de higiene de los alimentos. Ed. McGraw-Hill-Madrid pág. 35.

LEE, B. J.; HENDRICKS, D. G. y CONFORTH, D. P. 1998. Antioxidant effects of carnosine and phytic acid in model beef system. Journal of Food Science. Vol.63 N°3.

MAZZUCA, M.; BEREZOSKY, J.; CERDÁ, R. C.; ARCE, M.; VAN BAREN, C.; LIRA, P.; BANDONI, A. 2011. Chemical Composition and Bioactivity of *Acantholippia seriphoides* Essential Oils from Patagonia. Journal Of Essential Oil Research, Vol.23 N°3 pág. 26.

MEDIN R. y MEDIN S. 2002. Alimentos Introducción técnica y Seguridad. Ediciones turísticas de Mario Banchik paginas 416.

MEDINA DE DIAS, R.; DUPERTUIS, L.; AMADIO, C.; DIP, G.; ZIMMERMANN, M.; ESPEJO, C.; RAIMONDO, E. 2003. Aceite esencial de tomillo como

antioxidante y conservador en hamburguesas funcionales. Rev. FCA UNCuyo. Tomo 35. N° 2. pág. 13-23.

MIRALLES, S. 2006. Efecto antioxidante. y/o conservante de aceite esencial de *Acantholippia seriphioides* (tomillo del cerro o mendocino). Tesis. -Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.

MUÑOZ ACEVEDO, A.; CASTAÑEDA, M.; BLANCO, K.; CARDENAS, C.; REYES, J.; KOUZNETSOV, V. 2007. Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacol. Scientia Et Technica Vol 13 pág. 125-128.

MUÑOZ-ACEVEDO, A; KOUZNETSOV, V.; STASHENKO, E. 2009. Composición y capacidad antioxidante in-vitro de aceites esenciales ricos en Timol, Carvacrol, trans-Anetol o Estragol. Rev. Univ. Ind. Santander. Salud. Vol.41 N°3 Bucaramanga.

NAPOLI, E. M.; CURCURUTO, G.; RUBERTO, G. 2010. Screening of the essential oil composition of wild Sicilian thyme. Biochemical Systematics and Ecology Vol. 38 pág. 816–822.

NAVEENA, B.M.; SEN, A.R.; VAITHIYANATHAN, S.; BABJI, Y.; KONDAIAH, N. 2008. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. Meat Science Vol.80 pág. 1304–1308.

OSAWA, C.C.; DE FELÍCIO, P. E.; LIRENY AP GUARALDO GONÇALVES. 2005. Teste de TBARS aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. Quim. Nova, Vol. 28 N° 4 pág. 655-663.

POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. 2001. Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Editorial Acirbia S.A. pág. 23-56.

RANKEN M.D. 2003. Manual de industrias de la carne. A Madrid Vicente, ediciones. Ediciones Mundi Prensa. pág. 75-76.

ROJANO, B. A.; GAVIRIA, C. A.; SÁEZ, J. A. 2008. Determinación de la actividad antioxidante en un modelo de peroxidación lipídica de mantequilla inhibida por el isoespintanol. Vitae, revista de la facultad de química farmacéutica. Universidad de Antioquia Medellín Colombia Vol. 15 N° 2 pág. 212-218.

ROLDÁN, L.P.; DÍAZ, G.J.; DURINGER J.F. 2010. Composición y actividad antibacteriana de aceites esenciales obtenidos de plantas de la familia

Lamiaceae contra bacterias patógenas y benéficas. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, Vol 23, Nº 4 pág.451-461.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model. Food Chemistry Vol. 69 pág. 167-174.

SAIR, A., et al. 1999. Residual Triose Phosphate Isomerase Activity and Color Measurements to Determine Adequate Cooking of Ground Beef Pattie. J. Food Protection. Vol. 62 Nº 2 pág. 156-161.

SALINAS B., M.; TAPIA F., M.L.; ALBORNOZ G., F.J. ; CARTES M., F. 2008. Resultados y Lecciones en Producción de Romero y Tomillo Proyectos de Innovación en la V Región de Valparaíso. Ograma Ltda. pág. 28.

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. 2010. Código Alimentario Argentino y de Mercosur, Buenos Aires - Argentina.

SELANI, M.M.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; SHIRAHIGUE, L.D.; GALLO C.R., PLATA-OVIEDO, M.; MONTES-VILLANUEVA, N.D. 2011. Wine industry residues extracts as natural antioxidants in raw and cooked chicken meat during frozen storage Meat Science Vol. 88 pág. 397–403.

Silva R, Vazquez N, Dunford T. 2005. Bioactive Components of Mexican Oregano Oil as Affected by Moisture and Plant maturity. J Essent Oil Res. Vol 17(6) Pág. 668-671.

STRASSER, B.; FERNÁNDEZ, E.; BANDONI, A; JUÁREZ, M.; ELECHOSA, M. 2002. Estudios para la conservación de una población de *Acantholippia seriphioides* (a. gray) mold. en San Luis y de las variaciones en la composición de su aceite esencial. www.idecefyn.com.ar/clf12002/archivos/030_StrasserB_R.doc .Consulta 01/07/12

TRINDADE, R.A.; MANCINI-FILHO, J.; VILLAVICENCIO, A.L.C.H. 2010. Natural antioxidants protecting irradiated beef burgers from lipid oxidation. LWT - Food Science and Technology Vol. 43 pág. 98–104.

VIUDA-MARTOS, M. ; RUIZ-NAVAJAS, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A. 2009. Effect of adding citrus waste water, thyme and oregano essential oil on the chemical, physical and sensory characteristics of a bologna sausage. Innovative Food Science and Emerging Technologies Vol. 10 pág.655–660.

“Efecto antioxidante del aceite esencial de tomillo (*Acantholippia seriphoides*) en medallones de carne vacuna sometidos a distintos tratamientos térmicos”

WEBER, J.; BOCHI, V. C.; RIBEIRO, C. P.; VICTORIO, A.M.;EMANUELLI, T. 2008. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. Food Chemistry Vol.106 pág.140–146.

Williams P. y Losa R. 2002. Blending essential oils for poultry. Feed Mix Vol.10(3) Pág. 8-9.

ZHENG, W., Y WANG, S. 2001. Antioxidant activity and phenolic composition in selected herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 49 pág. 5165–5170.