

**Desarrollo y evaluación de extractos
etanólicos de tres especias como
antimicrobianos en chorizo italiano
Zamorano**

Lyanne Medrano Laura

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2013**

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Desarrollo y evaluación de extractos
etanólicos de tres especias como
antimicrobianos en chorizo italiano
Zamorano**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Lyanne Medrano Laura

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2013

Desarrollo y evaluación de extractos etanólicos de tres especias como antimicrobianos en chorizo italiano Zamorano

Presentado por:

Lyanne Medrano Laura

Aprobado:

Adela Acosta, Dra. C.T.A
Asesora principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Departamento de Agroindustria
Alimentaria

Mayra Márquez, Ph.D.
Asesora

Raúl H. Zelaya, Ph.D.
Decano Académico

Desarrollo y evaluación de extractos etanólicos de tres especias como agentes antimicrobianos en chorizo italiano Zamorano

Lyanne Medrano Laura

Resumen: El uso de extractos etanólicos en la industria cárnica es una medida más para prolongar la vida útil de sus productos, con ingredientes naturales y etiqueta limpia. El objetivo de este estudio fue elaborar y evaluar el efecto del uso de extractos etanólicos de clavo de olor, semillas de mostaza y semillas de cilantro en las características físico-químicas, sensoriales y microbiológicas del chorizo italiano Zamorano. Se evaluó la adición de 1000 ppm de cada extracto en la masa cárnica. Se realizó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA) con cuatro tratamientos, tres repeticiones y tres medidas repetidas en el tiempo (día uno, cinco y diez) obteniendo 12 unidades experimentales. Se cuantificó la cantidad total de polifenoles solubles en los tres extractos por el método Folin-Ciocalteu resaltando que el extracto de clavo de olor tiene mayor contenido total de polifenoles solubles, a diferencia de los demás extractos ($P < 0.05$). Los tratamientos no presentaron diferencia significativa en conteos de mesófilos aerobios y coliformes totales en el día uno, cinco y diez. La purga y rendimiento por cocción para los cuatro tratamientos no demostraron diferencia significativa ($P > 0.05$). El cambio de coloración de los tratamientos se vio reflejado a lo largo del estudio, más no entre los tratamientos ($P > 0.05$). El pH de las muestras no mostraron estadísticamente diferencias ($P > 0.05$). Los extractos elaborados no presentaron efectos antimicrobianos ni cambios físico-químicos en el chorizo italiano Zamorano.

Palabras clave: embutido fresco, etiqueta limpia, preservación, semillas.

Abstract: The use of ethanol extracts in the meat industry is used to extend the shelf life of their products, with natural ingredients and clean label. The objective of this study was to develop and evaluate the effect of the use of ethanol extracts of cloves, mustard seeds and coriander seeds in the physico-chemical, sensory and microbiological characteristics of italian sausage of Zamorano. We evaluated the addition of 1000 ppm of each extract in the meat. Randomized Complete Block Design (RCBD) was used with four treatments, three repetitions, and three repeated measures in time (day one, five and ten) for a total of 12 experimental units. It was quantified the amount of total soluble in the three extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method, resulting in the clove extract has a higher content of total soluble polyphenols, in comparison to the other extracts ($P < 0.05$). The treatments showed no significant difference in aerobic plate count and total coliforms on day one, five and ten. The purge and yield cooking for the four treatments showed no significant difference ($P > 0.05$). The discoloration of the treatments was reflected throughout the study, but not between the treatments ($P > 0.05$). The pH of the samples showed no statistical differences ($P > 0.05$). The extracts did not present antimicrobial effects nor physical or no chemical changes in the italian sausage of Zamorano.

Key Words: fresh sausage, clean label, preservation, seed.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES.....	19
5. RECOMENDACIONES	20
6. LITERATURA CITADA	21
7. ANEXOS.....	26

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Descripción de tratamientos para chorizo italiano.	3
2. Formulación de chorizo italiano realizado para cada tratamiento.	4
3. Criterios microbiológicos en carne fresca para Honduras.	9
4. Separación de medias y desviación estándar (DE) de los conteos de coliformes totales Log_{10} UFC/g.	9
5. Separación de medias y desviación estándar (DE) de las diferencias en conteos de coliformes totales Log_{10} UFC/g.	10
6. Separación de medias y desviación estándar (DE) de los conteo mesófilos aerobios Log_{10} UFC/g.	10
7. Separación de medias y desviación estándar (DE) de los conteo aerobios totales Log_{10} UFC/g.	11
8. Separación de medias y desviación estándar (DE) para la variable L en color.	12
9. Separación de medias y desviación estándar (DE) para la variable a en color.	13
10. Separación de medias y desviación estándar (DE) para la variable b en color.	13
11. Separación de medias y desviación estándar (DE) para variable porcentual de rendimiento por cocción.	14
12. Separación de medias y desviación estándar (DE para variable porcentual de de purga.	15
13. Separación de medias y desviación estándar (DE) valor pH.	15
14. Separación de medias y desviación estándar (DE) de la aceptación sensorial de atributo de olor.	16
15. Separación de medias y desviación estándar (DE) de la aceptación sensorial de atributo de sabor.	17
16. Separación de medias y desviación estándar (DE) de la aceptación sensorial del atributo de sabor residual.	17
17. Separación de medias y desviación estándar (DE) de la aceptación sensorial de atributo de aceptación general.	18
Figuras	Página
1. Análisis de cantidad total de polifenoles libres en extractos etanólicos mediante espectrofotometría.	8

1. Boleta de respuestas para panel sensorial.....	26
2. Diagrama de flujo de procesos para chorizo italiano con extractos.	27

1. INTRODUCCIÓN

El tiempo en que un embutido fresco mantiene los parámetros de calidad adecuados es corto, esto debido a la alta área de superficie expuesta y pocas barreras contra microorganismos, provocando deterioro fisicoquímico y microbiológico. Cuando uno de estos parámetros es considerado inaceptable, la vida útil del producto llega a su fin (Pelayo 2010). Los embutidos frescos no duran más de diez días en refrigeración ya que las bacterias causan deterioro, por tal motivo se usan cámaras de refrigeración criogénicas para retardar el crecimiento de estos microorganismos y prolongar la vida anaquel, alterando negativamente su aspecto físico y sensorial (USDA 1995). La contaminación de la canal de cerdo después del sacrificio y cadena de frío, varía entre 10^1 - 10^5 UFC de mesófilos aerobios por centímetro cuadrado (Restrepo *et al.* 2001).

El uso de antioxidantes y antimicrobianos en la industria alimentaria tiene el objetivo de mantener la calidad de los productos desde puntos de vista organolépticos, nutricionales y sanitarios, aplicados en pequeñas dosis y a veces son combinadas (Mundo alimentario 2010). Los aditivos químicos comúnmente utilizados en productos cárnicos para su preservación son el ácido ascórbico, lecitina, ácido láctico, nitratos, nitritos, entre otros. Sin embargo, de manera creciente son evitados por los consumidores quienes demandan productos con etiqueta limpia que destacan la pureza de los alimentos o ingredientes (Maya 2010).

Está ampliamente demostrado que el uso de especias son usualmente agregadas molidas, como aceites esenciales u oleorresinas. Los extractos y/o aceites naturales son los que presentan mayor poder antimicrobiano y antioxidante (Mercado *et al.* 2013). Estudios demuestran que las propiedades antibacterianas actúan sobre los microorganismos desestabilizando la estructura de su pared celular que aumenta su permeabilidad, generando la salida de iones metabolitos y demás moléculas que lo conllevan a la muerte (Daud *et al* 2008).

Estudios anteriores han evidenciado la efectividad de los extractos naturales mediante recubrimientos comestibles en pechugas de pollos, otorgando larga duración y aceptación del producto (Pelayo 2010). Miranda y Pineta (2012) concluyeron que el extracto de romero retarda el crecimiento de mesófilos aerobios en dos cortes de res y presentó una mayor aceptación a comparación del control por parte de los panelistas. Mientras que una

salchicha fresca de pollo adicionada con aceite esencial de semilla de cilantro mostró efectividad en su prolongación de vida útil, siendo aceptados los cambios en las características organolépticas por consumidores. (Bali *et al.*2011).

Con este estudio se pretendió desarrollar y comparar tres extractos etanólicos de clavo de olor, semillas de cilantro y semillas mostaza en el chorizo italiano Zamorano. Para ello se fijaron los siguientes objetivos:

- Cuantificar la cantidad total de polifenoles libres de los extractos etanólicos elaborados de especias: clavo de olor, semillas de mostaza y semillas de cilantro.
- Cuantificar carga microbiana de mesófilos aerobios y coliformes totales de los chorizos a través del estudio.
- Evaluar el rendimiento de cocción, purga y color en los chorizos con extractos etanólicos a través del estudio.
- Establecer los cambios de aceptación sensorial por consumidores a través del estudio.
- Evaluar el cambio en pH de los chorizos al agregar los tres extractos etanólicos a través del estudio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio. El chorizo italiano y sus tratamientos fueron elaborados en la Planta de Cárnicos de Zamorano, los conteos de mesófilos aerobios y coliformes totales de los tratamientos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ). La elaboración y análisis de los extractos etanólicos se efectuó en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ), también los análisis de color, pH y purga. En el Laboratorio de Evaluación Sensorial se realizaron los análisis afectivos del chorizo italiano y sus tratamientos. Todas estas dependencias antes mencionadas pertenecen a la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano ubicada a 30 km al Este de Tegucigalpa, en el departamento de Francisco Morazán, Honduras.

Diseño experimental. El diseño experimental utilizado fue de Bloques Completos al Azar (BCA) con tres medidas en el tiempo del día 1, 5 y 10 y cuatro tratamientos incluido el control con un total de 12 unidades experimentales (UE).

Cuadro 1. Descripción de tratamientos para chorizo italiano.

TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
1	Chorizo italiano control
2	Chorizo italiano con extracto etanólico de semilla de mostaza
3	Chorizo italiano con extracto etanólico de clavo de olor
4	Chorizo italiano con extracto etanólico de semilla de cilantro

Los tratamientos consistían en la adición de los extractos etanólicos de: clavo de olor, semilla de cilantro y semilla de mostaza, con una concentración de 1000 ppm que fueron adicionados a la base cárnica del chorizo italiano en conjunto de los ingredientes no cárnicos.

Metodología. Para la elaboración de los extractos etanólicos se siguió la metodología planteada por estudios anteriores realizados por Oudah y Ali (2010), en el cual se trituró el material seco, luego se pesó 10 g de cada especia en la balanza de precisión. Posteriormente se agregaron 100 ml de etanol al 99% dejando en maceración fría por 48 horas a 4 °C, luego se filtraron los extractos con papel filtro Whatman de 125 mm Ø. Para eliminar el etanol de los extractos se utilizó el rotavapor R-210/215 a 85 °C durante cuatro minutos, para posterior dilución y almacenamiento.

Contenido total de polifenoles solubles. Se utilizó el ensayo Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi 1965). Se introdujeron 100 µl de muestra de cada extracto en un tubo de ensayo, se añadió 1.0 ml del reactivo Folin-Ciocalteu (0.25 N) dejándolo en reposo durante tres minutos y posteriormente se agregó 1.0 ml de carbonato de sodio (CaCO₃) (1 N), el contenido fue mezclado y guardó reposo durante siete minutos. Se agregaron 5 ml de agua

destilada para luego dejarla en reposo durante dos horas. La absorción fue medida a 726 nm en el espectrofotómetro R-210/215. Se aplicó el mismo procedimiento para realizar una curva estándar de ácido gálico, registrándose los datos de absorbancia de cada muestra y se realizó un ajuste con la pendiente de la curva estándar de ácido gálico para obtener un valor final de concentración de polifenoles. A los valores de la curva estándar se les sacó la pendiente. Con estos valores se utilizó una fórmula [1] que permitió calcular la concentración de polifenoles. Los fenoles libres fueron expresados en equivalentes de ácido gálico (EAG) en miligramos por kilogramo de muestra.

$$\text{Concentración de ppm} = \frac{Abs_{726}}{Pendiente} \times \text{Factor de dilución [1]}$$

Formulación para chorizo italiano. Para la elaboración del chorizo italiano se utilizaron los ingredientes en sus respectivas proporciones como aparece en el Cuadro 2. La fórmula es para un total de 2.84 kilogramos que se utilizaron por cada uno de los tratamientos.

Cuadro 2. Formulación de chorizo italiano realizado para cada tratamiento.

Ingredientes	Cantidad	Unidad
Recortes de cerdo 20% grasa	1.241	kg
Recortes de cerdo 50% grasa	1.377	kg
Espicias	0.073	kg
Tripolifosfato de sodio	0.014	kg
Sal yodada	0.059	kg
Vino blanco	91.041	ml

Fuente: Planta de cárnicos Zamorano.

Regulaciones estadounidenses (USDA 1999), indican que las salchichas tipo italiano deben ser elaboradas con 85% mínimo de carne de cerdo, o combinarse con grasa menos de 35% en el producto, para otorgar la apariencia de calidad "gourmet" se usa el vino y semillas enteras de hinojo y anís (Rocha 2010).

Procedimiento de preparación chorizo italiano. Limpieza e inspección pre-operativa del equipo: se realizó una limpieza de los equipos a utilizar y del área de trabajo así como una desinfección con cloro a 100 ppm disuelto en agua.

Pesado de ingredientes cárnico: Se pesaron los ingredientes cárnicos utilizando la Balanza OHAUS Defender 3000 Xtreme W.

Pesado de ingredientes no cárnicos: se realizó el pesado por separado de cada uno de los condimentos y aditivos utilizando la Balanza OHAUS Bw Series.

Molienda de las distintas carnes: se realizó la molienda utilizando un disco con agujeros de 0.32 cm de diámetro en el molino Koch Ultrasource 900.

Mezclado de ingredientes no cárnicos con la masa cárnica: Se mezclaron todos los ingredientes no cárnicos y el extracto etanólico con la masa cárnica en el molino.

Embutido: Se colocó la pasta cárnica de chorizo italiano obtenida de la mezcla en la embutidora utilizando tripa natural de cerdo en la embutidora Frey Konti C120 Koch Equipment.

Empacado: Se empacaron los chorizos italianos en bandejas de poliestireno envueltas en película de policloruro de vinilo (PVC) autoadherente, en presentaciones de 0.98 kg.

Almacenamiento de producto terminado: el producto se almacenó en el cuarto frío a una temperatura a 4 °C.

Análisis microbiológicos. Se inició preparando solución buffer usando 0.63 ml de solución madre para la dilución en agua destilada (510 ml). Se vertió 90 ml de buffer de fosfato en cuatro frascos de vidrio y 9 ml en 16 tubos de ensayo, posteriormente se preparó 20 pipetas de vidrio y cuatro cucharas de plástico para introducirlas al esterilizador (Steril Matic Marlet Forge Modelo STM-E) durante 15 minutos a 121 °C y a 827.37 kPa.

Coliformes totales. Se utilizó un medio selectivo Agar Rojo Bilis Violeta (ARBV) pesando 12.03 g en la balanza (Fisher Science Education SLF152-US), se midió pH para verificar si el medio se encontraba a pH de 7.40 ± 0.2 a 25 °C. Se pesó 10 g de muestra de chorizo en la balanza (Fisher Scientific Education Modelo SLF152-US) para cada tratamiento, luego diluirla en 90 ml de buffer de fosfato y posteriormente homogenizar la muestra en el Stomacher IUL Instrument. Homogenizada la muestra se procedió a realizar las diluciones de 10^{-1} hasta 10^{-4} vertiendo un ml en cada plato petri para luego verter el ARBV, se dejó enfriar por diez minutos y se colocó una segunda capa de medio para determinar crecimiento de coliformes. Se incubó en la incubadora Precision Thermo Scientific a 35 °C por 24 horas.

Aerobios totales. Se evaluó la presencia de aerobios totales con el Agar Cuenta Estándar (ACE) pesando 6.75 g en la balanza (Fisher Science Education Modelo SLF152-US) y diluyendo 6.75 g del medio de cultivo en 200 ml de agua destilada. Se midió pH para verificar si el medio se encontraba a pH de 7.00 ± 0.2 a 25 °C. Se pesó 10 g de muestra de chorizo para cada tratamiento, luego se diluyó en 90 ml de buffer de fosfato y posteriormente homogenizar la muestra en el Stomacher IUL Instrument. Homogenizada la muestra se procedió realizar las diluciones desde 10^{-2} hasta 10^{-5} se fue vertiendo 1.0 ml a cada plato petri después se procedió a verter el medio de cultivo (ACE). Se dejó enfriar el medio de cultivo por diez minutos. Se incubó en la incubadora Precision Thermo Scientific a 35 °C por 48 horas.

Análisis físicos de color. Se obtuvo datos de color de las muestras de chorizo italiano, con el uso de Colorflex Hunter L a b Modelo 45 serie CX0687. Para el análisis de color se tomó como referencia extremos y medios del chorizo, realizándose mediciones de color para el día 1, 5 y 10.

Rendimiento. Realizado mediante el pesado de los tratamientos previos a la cocción y posterior de la misma. Por diferencia de pesos se obtuvo el resultado, utilizando la fórmula [2]:

$$\frac{P_f}{P} \times 100\% \quad [2]$$

Dónde:

P = Peso del producto crudo
P^f = Peso del producto cocido

Purga. Medido al día 5 y al día 10, se determinó mediante el pesado de 220 ± 10 g de chorizo sin tomar en cuenta el peso del empaque, se anotó el peso el día uno, para luego el día cinco retirar el papel absorbente y con papel toalla secar la bandeja volviéndolo a pesar, de tal manera que por diferencia de pesos se obtuvo la purga expresada en porcentaje. Al día diez se midió la purga realizando el mismo proceso que en el día cinco. Se expresó porcentualmente la purga en todos los tratamientos utilizando la fórmula [3]:

$$\frac{W - W_f}{W} \times 100\% \quad [3]$$

Dónde:

W = Peso inicial de la muestra
W_f = Peso final de la muestra

Análisis químicos de potencial de hidrógeno. Para obtener datos de pH se utilizó el potenciómetro Orion 3 Star Thermo Scientific, se analizaron las muestras efectuando tres repeticiones en los tratamientos. Utilizando un acople de aluminio en el potenciómetro e insertando en tres partes diferentes de las muestras para tomar las lecturas tanto para el día uno, 5 y 10.

Análisis sensorial. Para el análisis sensorial previamente se calentaron las muestras a 72 °C durante 5 minutos establecido por USDA (2011), para que se mantenga a temperatura ambiente se colocó a las muestras en baño María, posteriormente se prepararon las muestras en bandejas con identificación de código para cada tratamiento y fueron brindadas a los panelistas con palillos de madera, con el fin de evitar el contacto directo del chorizo con las manos del panelista, cuidando de la inocuidad.

Se utilizaron 40 panelistas no entrenados para cada una de las repeticiones, con un total de 360 panelistas. La hoja de respuesta utilizada mostraba un cuadro con los atributos

evaluados: olor, sabor, sabor residual y aceptación general, utilizando una escala hedónica de nueve puntos siendo: 1 = me disgusta extremadamente y 9 = me agrada extremadamente (Anexo 1).

Análisis estadístico. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Statistical Analysis Systems (SAS ®) versión 9.1, evaluándose los datos obtenidos de cada una de las variables del chorizo italiano. Se utilizó un Análisis de Varianza (ANDEVA) con modelo lineal general (GML, por sus siglas en inglés) y una separación de medias Tukey. Se realizó una prueba de normalidad a los datos (PROC UNIVARIATE) y análisis de residuales. Para determinar el efecto del tiempo en el estudio se realizó una prueba Lambda de Wilks y LSMEANS para determinar efecto del tiempo en los tratamientos. Todos los análisis fueron realizados con un nivel de confiabilidad del 95%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de polifenoles. La cantidad de polifenoles solubles encontrados en cada uno de los extractos elaborados son diferentes ($P < 0.05$) (Figura 1). De acuerdo con los datos obtenidos, los valores de polifenoles totales para la semilla de cilantro fueron de 504.23 eq-mg ácido gálico/kg, lo cual es comparable con los datos obtenidos en otros estudios realizados por Licanleo (2009). La cantidad de polifenoles en el extracto de clavo de olor es mayor en comparación a otros estudios que reportan 750 eq-mg ácido gálico/kg (Hernandez *et al.* 2011), en cambio para el valor obtenido de semilla de mostaza es menor a comparación de análisis realizados por Shagufta *et al.* (2013) quienes reportaron 2,844 eq-mg ácido gálico/kg. La diferencia de los datos obtenidos en comparación con los autores, se debe a factores como: genotipo de la planta, localización geográfica, condiciones ambientales y agronómicas (Smid y Gorris 1999).

La actividad antimicrobiana no está relacionada directamente con los compuestos fenólicos totales en los extractos porque existen también en los compuestos la interacción de agliconas libres, sinergismo de flavonoides con tocoferoles, palmitato ascorbil y ácido (Rizner *et al.* 2000).

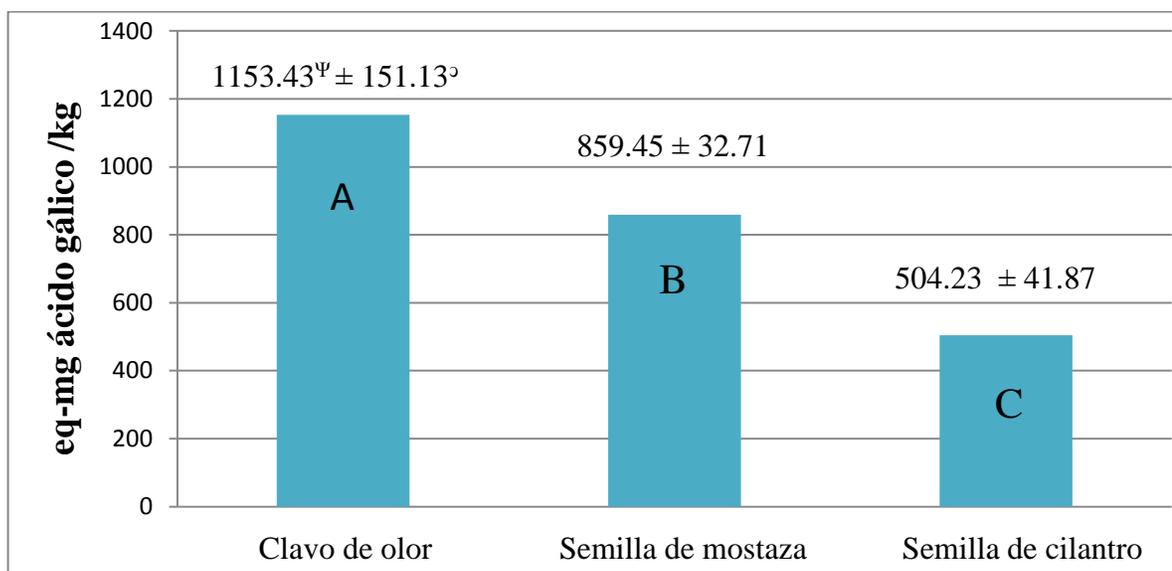


Figura 1. Análisis de cantidad total de polifenoles libres en extractos etanólicos mediante espectrofotometría.

A-C: Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas entre extractos ($P < 0.05$).

ψ : Media.

ρ : Desviación estándar.

Análisis microbiológicos. Coliformes totales. Bacterias que pueden estar presentes tanto en alimentos como en el agua potable, nos ayudan a determinar si los productos alimenticios o el agua son aptos para su consumo (Castro *et al.* 2009). Basándose en los parámetros establecidos por SENASA (1994), (Cuadro 3). El conteo microbiológico para coliformes totales en el día uno y día cinco se encontraron por debajo de los límites establecidos 10^6 UFC/g, los cuales fueron favorables para la evaluación sensorial de los tratamientos, el día diez se encontraba fuera del parámetro óptimo de consumo (Cuadro 4). No existe diferencia significativa entre cada tratamiento, en cambio entre los días evaluados sí existió una diferencia significativa ($P < 0.05$).

Cuadro 3. Criterios microbiológicos en carne fresca para Honduras.

Microorganismo	UFC/g
Mesófilos Aerobios	10^7
Coliformes totales	10^6

Fuente: SENASA (1994)

El aumento de contaminación de bacterias incrementa después de la cosecha del animal, por el contacto directo de cuchillas y manipulación por parte de los operarios. Como los embutidos frescos no pasan por un tratamiento térmico posterior a la elaboración, la vida útil es corta, más aun cuando estos productos requieren la calificación “etiqueta limpia” sin conservantes (Peter 2004), el chorizo italiano tiene esta denominación además de ser también un producto "gourmet".

Cuadro 4. Separación de medias y desviación estándar (DE) de los conteos de coliformes totales Log_{10} UFC/g.

Tratamientos	COLIFORMES TOTALES (Log_{10} UFC/g)		
	Día 1	Día 5	Día 10
	Media±DE ^(NS)	Media±DE ^(NS)	Media±DE ^(NS)
Control	$3.99 \pm 1.47^{(x)}$	$4.96 \pm 0.77^{(y)}$	$6.63 \pm 0.43^{(z)}$
Extracto de semilla de mostaza	$4.13 \pm 0.98^{(x)}$	$4.84 \pm 0.76^{(y)}$	$6.10 \pm 0.46^{(z)}$
Extracto de clavo de olor	$4.01 \pm 1.35^{(x)}$	$4.87 \pm 0.62^{(y)}$	$5.80 \pm 0.50^{(z)}$
Extracto de semilla de cilantro	$3.78 \pm 1.17^{(x)}$	$4.79 \pm 0.60^{(y)}$	$5.52 \pm 0.57^{(z)}$
Coefficiente de variación (%)	31.18	14.13	8.15

^{x, y, z}: Diferente letra en la misma fila indica diferencia significativa entre días ($P > 0.05$).

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.05$).

El coeficiente de variación para el día uno de 31.18% (Cuadro 4), se considera un dato elevado el cual puede atribuirse a que el crecimiento de los microorganismos es muy variable y dependiendo del proceso de elaboración este puede variar (Restrepo *et al.* 2001).

En el (Cuadro 5), se observa que la cantidad reportada de coliformes totales incrementa a lo largo del estudio sin evidenciar efectos en su crecimiento por la adición de extractos

etanólicos a la masa cárnica, en comparación con el control. Se puede observar también un coeficiente de variación elevado en los días de diferencia, entre los factores

Cuadro 5. Separación de medias y desviación estándar (DE) de las diferencias en conteos de coliformes totales Log₁₀ UFC/g.

Tratamientos	COLIFORMES TOTALES (Log ₁₀ UFC/g) [£]	
	Día 5 -1 Media±DE ^(NS)	Día 10-5 Media±DE ^(NS)
Control	1.36± 1.04	1.66±0.40
Extracto de semilla de mostaza	1.15± 1.10	0.93±1.00
Extracto de clavo de olor	0.99± 0.86	1.31± 0.54
Extracto de semilla de cilantro	1.12± 0.60	1.04± 0.87
Coeficiente de Variación (%)	77.85	57.11

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05)

£: No significativo entre días (P>0.05)

Mesófilos aerobios. Los recuentos de mesófilos aerobios reflejan la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima (Bravo 2004). Los tratamientos presentaron diferencia significativa los días cinco y diez (P<0.05). Al día cinco el uso de extracto de semilla de cilantro mostró un conteo de aerobios totales significativamente menor que el control (P<0.05) (Cuadro 6). Cuando los logaritmos en la carne fresca alcanzan los valores de 7, la calidad de la carne va disminuyendo en cuanto a sus parámetros organolépticos y microbiológicos, evitando el seguro consumo de los productos (Price 1971).

Cuadro 6. Separación de medias y desviación estándar (DE) de los conteo mesófilos aerobios Log₁₀ UFC/g.

Tratamientos	MESÓFILOS AEROBIOS (Log ₁₀ UFC/g)		
	Día 1 Media±DE ^(NS)	Día 5 Media±DE	Día 10 Media±DE ^(NS)
Control	6.34±0.07 ^(x)	6.49±0.51 ^{(x)B}	8.07±1.13 ^(y)
Extracto de semilla de mostaza	6.20±0.08 ^(x)	6.32±0.48 ^{(x)AB}	7.88±1.08 ^(y)
Extracto de clavo de olor	6.23±0.13 ^(x)	6.20±0.53 ^{(x)AB}	7.88±1.29 ^(y)
Extracto de semilla de cilantro	6.03±0.29 ^(x)	5.94±0.25 ^{(x)A}	7.76±1.53 ^(y)
Coeficiente de variación (%)	2.25	7.12	15.91

^{A-B}: Diferente letra en la misma columna indica diferencia significativa entre tratamiento (P≤0.05).

^{x, y}: Diferente letra en la misma fila indica diferencia significativa entre días (P>0.05).

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05).

Sin embargo, el crecimiento de mesófilos aerobios no fue afectado por el uso de extractos (Cuadro 7). La proliferación de estas bacterias es proporcionalmente relacionada con la disposición de nutrientes y temperaturas adecuadas, muchas veces los efectos inhibitorios no son los esperados ya sea por: la concentración del antimicrobiano o simplemente no es

el antimicrobiano adecuado para el alimento por el tipo de bacterias que se desea inhibir (De Pablo y Morongas 2013). A pesar de que el almacenamiento es entre 0 a 4 °C, el deterioro de productos frescos, se debe a bacterias como las *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acitonetobacter*, *Moraxella* y *Aeromonas*. Siendo pocas especies psicrótrofas (Audisio 1988).

Cuadro 7. Separación de medias y desviación estándar (DE) de los conteo aerobios totales Log₁₀ UFC/g.

Tratamientos	MESÓFILOS AEROBIOS (Log ₁₀ UFC/g)	
	Día 5 -1 Media ± DE ^(NS)	Día 10-5 Media ± DE ^(NS)
Control	0.33 ± 0.13 ^(x)	1.58 ± 0.64 ^(y)
Extracto de semilla de mostaza	0.38 ± 0.12 ^(x)	1.56 ± 0.60 ^(y)
Extracto de clavo de olor	0.49 ± 0.17 ^(x)	1.68 ± 0.76 ^(y)
Extracto de semilla de cilantro	0.33 ± 0.19 ^(x)	1.82 ± 1.33 ^(y)
Coefficiente de Variación (%)	40.81	49.32

^{x,y} Diferente letra en la misma fila indica diferencia significativa entre días (P≤0.05)

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05).

Análisis de color. El chorizo italiano cuenta con ingredientes frescos de pigmentación verde los cuales además otorgan a la masa cárnica un aspecto heterogéneo de color después de la mezcla. Una de las características limitantes para el consumo de embutidos frescos es el color, que está determinado por el contenido de mioglobina y su oxidación, ocasionando un color rojo brillante cuando se forma la oximioglobina, siendo un color atrayente para los consumidores (Pérez y Andújar 2000).

Valor L. El ritmo de variación cromática es específico para cada producto cárnico, decolorándose unos antes que otros (Mora *et al.* 2008). El valor L representa la luminosidad del color, siendo cero negro y 100 blanco. En el (Cuadro 8) se puede observar que L para cada tratamiento y cada día evaluado los extractos agregados no influyeron en el cambio de luminosidad (P>0.05). Mielnik y Slinde (1983), afirman que el valor L es el parámetro más importante para determinar cambios de color en carne y productos cárnicos.

La luminosidad depende de la humedad del producto, tomando en cuenta que los datos obtenidos fueron analizados en un producto fresco a lo largo del estudio, es por eso que no varía significativamente entre días (Gonzales *et al.* 2013). Por otra parte la relación entre el cambio de color de la carne, la calidad y cantidad de luz ha sido objeto de numeroso estudios, el color de los productos cambia de manera lineal a la cantidad de luz expuesta (Pérez *et al.* 2001).

Cuadro 8. Separación de medias y desviación estándar (DE) para la variable L en color.

Tratamientos	L ^α		
	Día 1 Media±DE ^(NS)	Día 5 Media±DE ^(NS)	Día10 Media±DE ^(NS)
Control	39.97 ± 1.132	42.82 ± 1.134	41.22 ± 1.439
Extracto de semilla de mostaza	43.55 ± 0.925	42.06 ± 1.408	44.60 ± 1.308
Extracto de clavo de olor	42.15 ± 0.948	41.53 ± 1.503	43.14 ± 1.023
Extracto de semilla de cilantro	42.32 ± 0.995	40.78 ± 1.772	43.80 ± 0.690
Coefficiente de variación (%)	3.21	4.15	5.72

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05)

α: No significativo entre días (P>0.05)

Valor a. El valor a representa los colores rojo-verde, siendo los valores positivos color rojo y los valores negativos color verde. El día uno muestra diferencias significativas para el tratamiento control, el cual a lo largo del estudio no presenta cambios significativos. Los demás tratamientos no presentaron cambios entre los días evaluados (P>0.05) (Cuadro 9).

Siendo una pasta cárnica heterogénea cuyo proceso implicó el molido en dos ocasiones (Anexo 2), esto debido a sus ingredientes frescos, los cambios de coloración no son diferenciadas a simple vista. Los problemas que presentan los embutidos frescos pueden ser: decoloración interna grisácea o verde grisácea ocasionada por los condimentos contaminados, o el exceso de la adición de azúcares o nitritos provoca una decoloración externa, también ocasionando un aspecto marmóreo (Austria 2007). En la formulación el chorizo italiano Zamorano no lleva conservantes artificiales como son los nitritos. El uso de aditivos naturales como ser los extractos o aceites esenciales no alteran la coloración en productos cárnicos, porque la cantidad agregada es mínima la cual varía entre 0.5 - 2.0% de la masa cárnica (Pérez y Mateo 2004).

Cuadro 9. Separación de medias y desviación estándar (DE) para la variable a en color.

Tratamientos	a		
	Día 1 Media±DE	Día 5 Media±DE ^(NS)	Día 10 Media±DE ^(NS)
Control	11.02 ± 1.13 ^{(x)A}	11.42 ± 1.13 ^(x)	11.80 ± 1.439 ^(x)
Extracto de semilla de mostaza	9.80 ± 0.92 ^{(x)AB}	12.31 ± 1.40 ^(y)	11.31 ± 1.308 ^(y)
Extracto de clavo de olor	9.38 ± 0.94 ^{(x)B}	12.15 ± 1.50 ^(y)	11.69 ± 1.023 ^(y)
Extracto de semilla de cilantro	9.96 ± 0.99 ^{(x)AB}	11.32 ± 1.77 ^(y)	11.27 ± 0.690 ^(y)
Coefficiente de variación (%)	9.90	12.31	9.65

^{A-B}Diferente letra en la misma columna indica diferencia significativa entre tratamiento ($P \leq 0.05$).

^{x,y}Diferente letra en la misma fila indica diferencia significativa entre días ($P \leq 0.05$).

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.05$)

Valor b. El valor b representa la escala de colores entre amarillo y azul, siendo amarillo valores positivos y azul valores negativos. El color de la masa cárnica no presentó diferencias entre tratamientos al igual que a lo largo del estudio ($P > 0.05$) (Cuadro 10). Otros estudios realizados con antimicrobianos en productos cárnicos, dan a conocer que el valor b tampoco se vieron afectados los tratamientos ($P > 0.05$), pero sí hubo una disminución a lo largo del almacenamiento de las muestras (Gómez *et al.* 2013). El empaque en bandejas de poliestireno envueltas con láminas adherentes de PVC evitan que el chorizo mantenga esa coloración, porque esta evita que el producto adquiriera una coloración rojo púrpura, haciéndolo indeseable para el consumidor (Jiménez *et al.* 2003).

Cuadro 10. Separación de medias y desviación estándar (DE) para la variable b en color.

Tratamientos	b ^x		
	Día 1 Media±DE ^(NS)	Día 5 Media±DE ^(NS)	Día 10 Media±DE ^(NS)
Control	12.02 ± 1.132	12.53 ± 1.134	12.59 ± 1.439
Extracto de semilla de mostaza	12.85 ± 0.925	12.77 ± 1.408	12.31 ± 1.308
Extracto de clavo de olor	11.82 ± 0.948	12.45 ± 1.503	12.34 ± 1.023
Extracto de semilla de cilantro	12.35 ± 0.995	12.50 ± 1.772	12.31 ± 0.690
Coefficiente de variación (%)	8.16	11.57	8.98

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.05$)

^x: No significativo entre días ($P > 0.05$)

Rendimiento por cocción. Se realizó análisis de rendimiento de cocción en el día uno y cinco (Cuadro 11). Se puede observar que no presentan diferencias significativas entre tratamientos ($P>0.05$), al igual que los intervalos de días no afecta considerablemente en el aumento o disminución de purga en todos los tratamientos ($P>0.05$).

Muchos son los factores que alteran resultados del análisis de rendimiento de cocción de un producto cárnico, donde se toma en cuenta: tipo de producto y su materia prima, lugar almacenado, tiempo de cocción y tamaño de muestra (Ramírez *et al.* 2010). Se esperó un aumento en el rendimiento de cocción, esto debido a que las cargas negativas de las proteínas se incrementan porque la sal hincha la matriz cárnica aumentando la retención de agua (Tarté 2009).

Cuadro 11. Separación de medias y desviación estándar (DE) para variable porcentual de rendimiento por cocción

Tratamientos	RENDIMIENTO POR COCCIÓN ^α	
	Día 1 Media±DE ^(NS)	Día 5 Media±DE ^(NS)
Control	92.61 ± 2.28	92.15 ± 2.35
Extracto de semilla de mostaza	93.94 ± 2.82	94.02 ± 3.97
Extracto de clavo de olor	93.15 ± 3.09	92.94 ± 4.21
Extracto de semilla de cilantro	93.22 ± 2.20	94.73 ± 0.90
Coefficiente de variación (%)	2.79	3.06

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos ($P>0.05$)

α: No significativo entre días ($P>0.05$)

Purga. La purga es la exudación de la carne que representa una valiosa pérdida de importantes propiedades de la carne. En embutidos frescos es de importancia económica debido a que afecta su pérdida de peso (Algarañaz 2007). No se reportó diferencias significativas entre tratamientos ($P>0.05$), tampoco se reportó diferencias entre los días evaluados (Cuadro 12). Entre los ingredientes del chorizo italiano tenemos el tripolifosfato de sodio, cuya función es aumentar la capacidad de ligar el agua del músculo al incrementar su pH.

Comparando con estudios realizados en la adición de antimicrobianos naturales por Miranda y Pineta (2012), se esperaba que el porcentaje de purga aumentara a través del tiempo. El tipo de empaque influye en la cantidad de purga que se reporta, siendo más eficiente el empaque al vacío según Gobantes y Gómez (2001), pero el chorizo italiano se empaca en bandejas para mejor cuidado de sus características fisicoquímicas.

Cuadro 12. Separación de medias y desviación estándar (DE para variable porcentual de de purga.

Tratamientos	PURGA ^x	
	Día 5	Día 10
	Media* ±DE ^(NS)	Media*± DE ^(NS)
Control	1.30 ± 0.06	1.29 ± 0.09
Extracto de semilla de mostaza	1.29 ± 0.10	1.30 ± 0.07
Extracto de clavo de olor	1.30 ± 0.03	1.24 ± 0.04
Extracto de semilla de cilantro	1.22 ± 0.04	1.28 ± 0.08
Coefficiente de Variación (%)	4.94	5.47

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05)

^x: No significativo entre días (P>0.05).

pH. La adición de extractos etanólicos no alteraron significativamente el pH entre tratamientos para los días uno y cinco, en cambio el pH en el día diez muestra diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05) (Cuadro 17). El extracto de semilla de cilantro mantiene un pH mayor a 6 debido a que sus compuestos fenólicos disminuyen el proceso de fermentación, la producción de (Gonzales *et al.* 2002). La adición de biopreservantes altera el pH para evitar la proliferación de microorganismos (Gutiérrez 2012).

Cuadro 13. Separación de medias y desviación estándar (DE) valor pH.

Tratamientos	pH ²		
	Día 1	Día 5	Día10
	Media±DE ^(NS)	Media±DE ^(NS)	Media±DE
Control	6.23 ± 0.024	6.13 ± 0.030	5.98 ± 0.036 ^C
Extracto de semilla de mostaza	6.25 ± 0.045	6.13 ± 0.064	6.00 ± 0.026 ^{BC}
Extracto de clavo de olor	6.25 ± 0.016	6.14 ± 0.022	6.06 ± 0.030 ^{AB}
Extracto de semilla de cilantro	6.23 ± 0.028	6.14 ± 0.025	6.09 ± 0.025 ^A
Coefficiente de variación (%)	0.39	0.58	0.49

^{x, y}. Medias en la misma columna con distinta letra son estadísticamente diferentes (P≤0.05)

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05)

^z: No significativo entre días (P>0.05).

Análisis sensorial. Se realizaron análisis sensorial de aceptación al día uno y cinco de los tratamientos, no se realizó análisis sensorial al día diez debido a que los conteos logarítmicos reportados fueron elevados a comparación de los parámetros óptimos de consumo establecidos.

Olor. Los panelistas calificaron todos los tratamientos cercanos a “me gusta moderadamente”, tanto en el día uno y cinco de la evaluación reportando que no existe diferencia significativa entre tratamientos a lo largo del estudio ($P>0.05$).

Las especias y condimentos del chorizo italiano son sustancias aromáticas de origen vegetal que otorgan el peculiar olor al producto (Amo 1980). Los fenoles existentes en los extractos, son aquellos que otorgan aroma a los productos, estos compuestos varían según su origen y método de extracción (Filipiak 2001). En el desarrollo del análisis de aceptación, comentarios de los panelistas afirmaron que notaron una leve diferencia entre tratamientos, aunque no fue marcada debido a los demás ingredientes no cárnicos que tiene la formulación del chorizo italiano.

Cuadro 14. Separación de medias y desviación estándar (DE) de la aceptación sensorial de atributo de olor.

Tratamientos	OLOR ^z	
	Día 1	Día 5
	Media* \pm DE ^(NS)	Media* \pm DE ^(NS)
Control	6.56 \pm 1.12	6.71 \pm 1.20
Extracto de semilla de mostaza	6.59 \pm 1.29	6.39 \pm 1.36
Extracto de clavo de olor	6.59 \pm 1.62	6.60 \pm 1.44
Extracto de semilla de cilantro	6.71 \pm 1.31	6.80 \pm 1.28
Coeficiente de Variación (%)	20.27	20.01

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos ($P>0.05$)

^z: No significativo entre días ($P>0.05$)

*Escala hedónica: 1: me disgusta extremadamente, 9: me gusta extremadamente.

Sabor. Se entiende por sabor al conjunto de percepciones de estímulos olfato-gustativos, que permiten establecer un criterio para cada alimento (Sancho *et al.* 2002). El sabor es un parámetro de mayor enfoque en el uso de especias en diferentes productos alimenticios, en este estudio no existió diferencia significativa por parte de la aceptación de los consumidores a lo largo del estudio. Sin embargo, en el día cinco, sí existió diferencias entre el extracto de semilla de cilantro siendo calificada como “me agrada moderadamente” y extracto de semilla de mostaza siendo calificada como "me agrada ligeramente" (Cuadro 12). Estudios indican que la aceptación de semillas de cilantro en análisis sensoriales se debe a que los panelistas muestran agrado por el "tono dulce" que otorga (Charley 2002), esta especia al alimento. Cada alimento se identifica por su peculiar aroma y sabor, ambas tienen un efecto determinante sobre su consumo y éxito comercial (Morales 1994).

Cuadro 15. Separación de medias y desviación estándar (DE) de la aceptación sensorial de atributo de sabor.

Tratamientos	SABOR	
	Día 1 Media*±DE ^(NS)	Día 5 Media*± DE
Control	6.82 ± 1.28	6.58 ± 1.30 ^{AB}
Extracto de semilla de mostaza	6.51 ± 1.53	6.43 ± 1.58 ^B
Extracto de clavo de olor	6.67 ± 1.57	6.78 ± 1.41 ^{AB}
Extracto de semilla de cilantro	6.81 ± 1.29	7.14 ± 1.31 ^A
Coeficiente de Variación (%)	21.15	20.85

^{A-B}Diferente letra en la misma columna indica diferencia significativa entre tratamiento ($P \leq 0.05$).

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.05$).

*Escala hedónica: 1: me disgusta extremadamente, 9: me gusta extremadamente.

Sabor residual. El uso de extractos etanólicos sobre todo de especias, causa agrado en panelistas por el toque "gourmet" que dejan en los productos (Martínez 2000). El sabor residual en los tratamientos no fue significativamente aceptado de manera diferente ($P > 0.05$). A lo largo del estudio se ve reflejada que los panelistas califican a los tratamientos como "me gusta moderadamente".

Cabe destacar que cada extracto elaborado contenía olores característicos de la especia, esto se debe a los flavonoides que tienen entre sus compuestos fenólicos, una de las propiedades de estos compuestos es contribuir con el sabor o dulzura de los alimentos (Nava s.f.).

Cuadro 16. Separación de medias y desviación estándar (DE) de la aceptación sensorial del atributo de sabor residual.

Tratamientos	SABOR RESIDUAL ^α	
	Día 1 Media*± DE ^(NS)	Día 5 Media*± DE ^(NS)
Control	6.92 ± 1.34	6.97 ± 1.28
Extracto de semilla de mostaza	6.77 ± 1.69	6.53 ± 1.62
Extracto de clavo de olor	6.81 ± 1.64	6.72 ± 1.47
Extracto de semilla de cilantro	6.77 ± 1.29	7.08 ± 1.35
Coeficiente de Variación (%)	21.94	21.03

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.05$).

^α: No significativo entre días ($P > 0.05$).

*Escala hedónica: 1: me disgusta extremadamente, 9: me gusta extremadamente.

Aceptación general. Por falta de conocimiento del producto por parte de los panelistas, a quienes no les agradó la existencia de semillas enteras de hinojo y anís en el producto, todos los tratamientos obtuvieron una calificación cercana a "me gusta moderadamente".

En otros estudios el uso de aceites esenciales en carne molida, muestra aceptación por parte de los panelistas (Cáceres 2008). En un desarrollo de productos con etiquetas limpias, se reflejó la aceptación de los consumidores a la propuesta de pechugas de pollos con recubrimiento de especias como antimicrobiano (Pelayo 2010).

Cuadro 17. Separación de medias y desviación estándar (DE) de la aceptación sensorial de atributo de aceptación general.

Tratamientos	ACEPTACIÓN GENERAL [⌘]	
	Día 1 Media* ± DE ^(NS)	Día 5 Media* ± DE ^(NS)
Control	6.75 ± 1.39	6.62 ± 1.16
Extracto de semilla de mostaza	6.85 ± 1.23	6.72 ± 1.34
Extracto de clavo de olor	6.83 ± 1.17	6.71 ± 1.35
Extracto de semilla de cilantro	6.98 ± 1.28	6.98 ± 1.34
Coefficiente de Variación (%)	18.04	19.25

⌘: No significativo entre días (P>0.05)

NS: No existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05)

*Escala hedónica: 1: me disgusta extremadamente, 9: me gusta extremadamente.

4. CONCLUSIONES

- La concentración de polifenoles libres en el extracto etanólico de clavo de olor fue la más alta en comparación de semillas de mostaza, semillas de cilantro.
- Los extractos etanólicos no muestran poder antimicrobiano en chorizo italiano Zamorano.
- Los extractos etanólicos de clavo de olor, semillas de mostaza y semillas de cilantro no afectan el rendimiento de cocción, purga, ni coloración en el chorizo italiano Zamorano.
- Los análisis sensoriales de aceptación de los extractos etanólicos no mostraron diferencias entre tratamientos.
- El pH entre tratamientos y días no fue diferenciado.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar análisis por medio de cromatografía líquida, (HPLC) de los extractos elaborados.
- Evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* de los diferentes extractos y determinar la concentración mínima inhibitoria.
- Evaluar diferentes concentraciones de extractos en productos cárnicos.

6. LITERATURA CITADA

Algarañaz, L. 2007. Predicción de la purga (exudado) de carne de cerdo (*Sus Scrofa domestica*), en bandeja, basada en las características de la canal. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria. El Zamorano. 33 p.

Amo, A. 1980. La industria de la carne. Salazones y Salchichonería. Ed Aedos. Barcelona, España. 45-49 p.

Audisio, M.E. 1988. Counts six types of bacteria on lamb carcasses dipped or sprayed with acetic acid at 25 °C or 55 °C and stored vacuum packaged at 0 °C. Journal of Food protection. No 4. 312-315 p.

Austria, V. 2007. Tipificación de chorizos producidos en la región Huasteca del estado de Hidalgo. Tesis Ingeniero Agroindustrial. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Tulancingo, México. 87 p.

Bali, A., S, Kuma., A. Khan., D. Patra., S. Biswas. y J. Bhattacharyya. 2011. A comparative study on the antioxidant and antimicrobial properties of garlic and coriander on chicken sausage. International Journal of Meat Science. India. 9 p.

Bravo, M. 2004. El manejo higiénico de los alimentos. Enfermedades transmitidas por alimentos. Ed Limusa S.A. México. 17 p.

Cáceres Franco, J.L. 2008. Efecto de congelación y adición de oleorresinas y lactato de sodio sobre el crecimiento microbiológico, color y propiedades sensoriales de la carne molida de res. Tesis Ingeniería Agroindustrial. El Zamorano, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 32 p.

Castro, I., U, Muñoz. y C. Ayala. 2009. Ingeniería en auditoría y control de gestión medio ambiente. Coliformes totales. Calidad del agua. 134 p.

Charley, H. 2002. Tecnología de Alimentos. Procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos. Ed. Limusa - Noriega. 13 -25 p.

Daud, A., N. Habib., y A. Sánchez. 2008. Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Pollepis australis* bitter (queñoa), Revista cubana de plantas medicinales. Versión on-line ISSN 1028-4796. Habana, Cuba.

De Pablo, B. y M. Moragas. 2013. Normas Microbiológicas de los Alimentos. Área de Salud y Consumo. Departamento de Sanidad. Gobierno Vasco. 50 p

Filipiak, M. 2001. Electrochemical Analysis of Polyphenolic Compounds. Analytical Sciences. The Japan Society for analytical Chemistry, 17 p.

Gobantes, I. y R. Gomez. 2001. Envasado de alimentos: Aspectos técnicos del envasado al vacío y bajo atmosfera protectora. Alimentación, equipos y tecnología. 20(1):75-80 p.

Gonzales, S., M. Pabom, y J. Carulla. 2002. Effects of tannins *in vitro* ammonia release and dry matter degradation of soybean meal. Arch Latin-American Prod Anim (2): p 97-11

Gonzales, R., A. Totosaus., I. Caro. y J. Mateo. 2013. Caracterización de propiedades químicas y fisicoquímicas de chorizos comercializados en la zona centro de México. Alimentos y Biotecnología. vol. 24. No 2. 231 p.

Gómez, L., E. Ponce. y R. Freitas. 2013. Efecto de antimicrobianos naturales sobre la estabilidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de hamburguesas de res mantenidas en refrigeración. Revista Mexicana Ciencia Pecuaria. vol 4. Journal Citation Report Science (ISI).México. 255 – 270 p.

Gutierrez, I. 2012. Polyphenols and antioxidant properties of almond skins: influence of industrial processing. Journal of Food Science. Vol. 2.16-25 p.

Hernández, L., N. Gonzales., M. Gutiérrez., L. Muñoz. Y R. Quintero. 2011. Estudio de la actividad antibacteriana de películas elaboradas con quitosano a diferentes pesos moleculares incorporado aceites esenciales y extractos de especias como agentes antimicrobianos. México. Vol 10.

Jiménez, J., Z. Jhonson, A. Brown. 2003. The effects of multiple antimicrobial interventions on processing, lipid, textural, instrumental color sensory characteristics when used in a ground beef patty production system. Meat Science (65): p 1021-1029.

Licanleo, G. 2009. Efecto de la temperatura sobre el contenido de polifenoles totales en semillas de cilantro (*Coriandrum sativum*). Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Católica de Temuco. Facultad de Recursos Naturales. Temuco, Chile.17p.

Manach, C., A. Scalbert., C. Morand, C. Rémésy, y L. Jimenez. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. The American Journal of Clinical Nutrition.(79): p 727-47

Martínez, I., M. Periago, y G. Ros. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 50(1): p 5-18

Maya, J. 2010. Manejo y procesamiento de carnes. Universidad Nacional Abierta y A Distancia (UNAD). Escuela de Ciencias Agrícolas Pecuarias y del Medio Ambiente.

Contenido didáctico del Curso Manejo y Procesamiento de Carne. Pasto, Colombia. 120 p.

Mercado, G., L. Carrillo., A. Medrano, A. López., y E. Álvarez. 2013. Nutrición Hospitalaria. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. Departamento en Ciencias Químico Biológicas. Departamento en Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. 318p.

Mielnik, J. y E. Slinde. 1983. Sausage colour measured by integrating sphere reflectance spectrophotometry when whole blood or blood cured by nitrite is added to sausage. *Journal of Food Science* (48). 17-25 p.

Miranda, M. y M. Pinetta. 2012. Evaluación del uso de propóleo (Propolis) y romero (*Rosmarinus officinalis*) como antimicrobiano en dos cortes de carne res mejorada. Proyecto especial de graduación del programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Honduras. 23 p.

Molina, Diego. A. Universidad Nacional de Colombia

Mora, L., M. A. Sentandreu. y F. Toldra. 2008. Contents of creatine, creatinine and carnosine in porcine muscles of diferente metabolic types. *Meat Science*. 709-715 p.

Morales, A. 1994. Evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Ed. Acribia. 36-45 p.

Morales, A. 2007. Evaluación de cambios microbiológicos, pH, actividad de agua y color de tallarines instantáneos con vegetales y sabor a pollo bajo temperatura de deterioro acelerado. Proyecto especial del programa de ingeniero en Agroindustria Alimentaria, Zamorano, Honduras. 26 p.

Mundo Alimentario. 2010. Aditivos antioxidantes. España. 10 p.

Nava, G. s.f. Universidad Autónoma de Querétano. Cuantificación de Fenoles y Flavonoides totales en Extractos Naturales. XII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas. 4 p.

Oudah, I. y Y, Ali. 2010. Evaluation of aqueous and ethanolic extraction for coriander seeds, leaves and stems and studying their antibacterial activity. *Nursing*. Vol 23 (2). Iraqui.

Painter, T. 1998. Carbohydrate polymers in food preservation: an integrated view of the Maillard reaction with special reference to discoveries of preserved foods in Sphagnum-dominated peat bogs. *Carbohydrate Polymers* (36): p 335-347.

- Pelayo, M. 2010. Vida útil de un alimento (en línea). Consultado el 10 de noviembre de 2013. Disponible en www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2010/08/26/195339.php
- Perez, D. y G. Andujar. 2000. Cambios de coloración de los productos cárnicos. Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. Ciudad de la Habana Cuba. 10p.
- Perez, J.I., A. Alvarruiz., J. Pardo., D. Valeria., I. Picazo. y R. Gomez. 2001. Revista de tecnología e higiene de los alimentos. No 323. 67-73p.
- Perez, M. y Mateo, J. 2004. Meat Quality and Meat Shelf-life, chapter: Handbook of frozen Food. Ed. Marcel Dekker. USA. 201- 205p.
- Peter, K. 2004. Handbook of herbs and spices: herbs and spices as antimicrobials. Washington, Estados Unidos. CRC Press. V.2.362 p.
- Price, J. F. 1971. Ciencia de la Carne y de los productos Cárnicos. Zaragoza, España. Ed Acribia. 301-324 p.
- Ramirez, N., J. Checa., J. Gallegos. y L. Villalobos. 2010. Elaboración de chorizo mexicano combinado con dos tipos de queso Oaxaqueño. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Guanajuato. Facultad de ciencias Biológicas. Guanajuato, México. 6p.
- Restrepo, D., D. Arango., R. Restrepo. y A. Amezquita. 2001. Industria de carnes. Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia. 275p.
- Rizner Hras, A., M. Hadolin., Z. Knez. y D. Baumann. 2000. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extraction with α -tocopherol, ascorbylpalmitate and citric acid in sunflower oil. Food Chemistry. 229-333p.
- Rocha, A. 2010. Carnetec. Elaborando salchichas al estilo italiano. Consultado el 07 de noviembre de 2013 en línea. Disponible en www.carnetec.com/Industry/TechnicalArticles/Details/14582
- Sancho, J., E. Bota. y J. De Castro. 2002. Introducción al Análisis Sensorial. Ed Alfaomega. Madrid, España 56-65p.
- SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria de Honduras). 1994. Productos de la carne, Carne Molida y Carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones sanitarias. Decreto del Congreso de la República No. 157-94 del 4 de noviembre de 1994.
- Shagufta, I., K. Nasir., S. Muhammad., L. Rahmanullah. y N. Shahina. 2013. Los antioxidantes. El potencial antioxidante de los extractos, fracciones y aceites derivados de semillas oleaginosas. vol. 2. 230 - 245 p.

Singleton, V. y J. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* (16). 144–158 p.

Smid E.J. y L. Gorris. 1999. Natural antimicrobials for food preservation. *Handbook of Food Preservation*. Marcel Dekker, New York. 285-308 p.

Tarté, R. 2009. Ingredients in meat products: antimicrobial ingredients. Wisconsin, USA. Ed. Springer. p 301-329

Torrice, D. 2006. Análisis de compuestos fenólicos y estabilidad del color en el jugo de cáscaras de uvas Muscadinas (*Vitis rotundifolia*). Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria, Escuela Agrícola Panamericana, Honduras. 21p.

United States Department of Agriculture (USDA). 1995. Métodos para el cuidado de alimentos perecederos. Durante el transporte por camiones. Manual de agricultura No. 669. 82 p.

United States Department of Agriculture (USDA). 1999. Food Safety and Inspection Service. Italian sausage products. 315-316 p.

United States Department of Agriculture (USDA). 2011. Información sobre Inocuidad de Alimentos. Los *Embutidos* y la Inocuidad de los Alimentos. 5p.

7. ANEXOS

Anexo 1. Boleta de respuestas para panel sensorial.

Evaluación Sensorial de Alimentos

Boleta de Respuestas. Prueba hedónica de Aceptación de Chorizo Italiano

Nombre: _____ Fecha: _____

Instrucciones: Pruebe las muestras de izquierda a derecha, en el orden que se le presenten. Después de cada muestra limpiar su paladar con galleta y agua. Marque con una "x" el cuadrado indicando su grado aceptabilidad.

Muestra _____

	Me disgusta			ng/nd			Me gusta		
	Extremadamente						Extremadamente		
Olor	<input type="checkbox"/>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Sabor	<input type="checkbox"/>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Sabor Residual	<input type="checkbox"/>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Aceptación General	<input type="checkbox"/>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Comentarios: _____

Muestra _____

	Me disgusta			ng/nd			Me gusta		
	Extremadamente						extremadamente		
Olor	<input type="checkbox"/>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Sabor	<input type="checkbox"/>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Sabor Residual	<input type="checkbox"/>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Aceptación General	<input type="checkbox"/>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Comentarios: _____

Anexo 2. Diagrama de flujo de procesos para chorizo italiano con extractos.

