
EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIOXIDANTE DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS DE *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare* Y *Thymus vulgaris*

Luis Eduardo Cardona Henao¹
Luis Fernando Mejía G.²

RESUMEN

A partir de aceites esenciales y extractos de *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*, y después de analizar su potencial antioxidante, se seleccionaron los que mayor inhibición a la oxidación presentaron, para ser analizados en diferentes concentraciones y en comparación con un antioxidante referencia (nitrito sódico) sobre la oxidación de lípidos y su efecto sobre las características organolépticas en productos cárnicos cocidos como el salami.

La actividad antioxidante de los diferentes aceites esenciales se evaluó por varios métodos (grado de inhibición de la peroxidación del ácido linoleico, evaluación del poder de reducción, test del β -caroteno), con el fin de demostrar que los tratamientos con aceites esenciales de orégano, tomillo y clavo de olor reducen significativamente la oxidación en productos cárnicos cocidos como el salami; estos fueron evaluados de acuerdo a los resultados de actividad antioxidante, antibacteriana y concentración mínima inhibitoria (MIC).

Obteniéndose resultados positivos para el clavo de olor, el cual fue seleccionado para adicionar a la formulación del salami, como antioxidante y como conservante.

La concentración de aplicación en el salami se realizó con el extracto de clavo de olor. La elaboración del salami, se efectuó con base en los procedimientos establecidos en el manual de prácticas y formulaciones de la Unidad Tecnológica de Alimentos de la Universidad de Caldas. Al producto se le realizó una serie de análisis sensoriales, para determinar el efecto del extracto adicionado como antioxidante sobre las propiedades organolépticas del salami; los cuales arrojaron resultados positivos. El producto no mostró grandes diferencias, con respecto al patrón, siendo aceptado en las pruebas sensoriales, por los jueces.

Palabras clave: orégano, tomillo, clavo, antioxidante, aceites esenciales, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*.

¹ Ingeniero de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Caldas. Manizales, Caldas, (Colombia). E-mail: luiseduardofoneia@gmail.com

² Profesor Departamento de Ingeniería, Facultad de Ingeniería, Universidad de Caldas. Manizales, Caldas (Colombia). E-mail: lufermegu@yahoo.com

EVALUATION OF ANTIOXIDANT EFFECT OF ESSENTIAL OILS AND EXTRACTS OF *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare* AND *Thymus vulgaris*

ABSTRACT

After analyzing their antioxidant potential, the essential oils and extracts of *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* with the greatest inhibition to oxidation were selected in order to be analyzed at different concentrations and compared with a reference antioxidant (sodium nitrite) on lipid oxidation and their effect on the organoleptics characteristics in cooked meat products like salami. The antioxidant activity of different essential oils was evaluated by means of several methods (peroxidation inhibition degree of linoleic acid, reduction power assessment, β -carotene test), in order to demonstrate that treatments with oregano, thyme and clove essential

oils significantly reduce oxidation in cooked meat products like salami. These oils were evaluated according to the results of antioxidant and antibacterial activity and the minimum inhibitory concentration (MIC). Positive results were also obtained for clove, which was selected to be added to the formulation of salami, as an antioxidant and preservative. The concentration of the application in salami was carried out with the clove extract. The salami was elaborated based on the procedures established in the practices and formulations manual of the Food Technology Unit of the Universidad de Caldas. The product underwent a series of sensory analysis to determine the effect of the extract added as an antioxidant on the organoleptic properties of salami, which showed positive results. The product showed no significant differences with regards to the pattern, accepted by the judges in the sensory assessment.

Key words: oregano, thyme, clove, antioxidant, essential oils, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*.

1. INTRODUCCIÓN

Los actuales estudios revelan los problemas de salud asociados con la acumulación de radicales libres en el organismo, así como la utilización de antioxidantes sintéticos en productos alimentarios como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y nitrito sódico (1); pueden conducir al deterioro y muerte celular, envejecimiento, enfermedades cardiovasculares, cataratas y algunos tipos de cáncer (2). La reducción de la disponibilidad de vitaminas A, D, E y C debida a la disminución de la solubilidad de las proteínas y la oxidación de las vitaminas A, β -caroteno y ácido ascórbico, es consecuencia de los complejos mecanismos de oxidación lipídica (3). Gran cantidad de antioxidantes naturales han sido extraídos de diferentes especies de plantas (4-56). Entre

estos antioxidantes naturales los fenólicos ocupan un sitio de importancia, toda vez que se hallan ampliamente distribuidos en el reino vegetal como fenoles simples, ácidos fenólicos, derivados de ácido hidroxicinámico, y flavonoides. Todas las clases de compuestos fenólicos tienen el requerimiento estructural de recolectar radicales libres y tienen potencial como antioxidantes en alimentos (7).

Compuestos fenólicos como el ácido carnósico, ácido rosmarínico y los flavonoides, han demostrado en innumerables ensayos ser más potentes antioxidantes que el butil hidroxianisol BHA, butil hidroxitolueno BHT y otros antioxidantes sintéticos (8, 9). Muchas preparaciones y extractos antioxidantes obtenidos de especias de la familia Labiatae (romero, orégano, salvia, timo, entre otros)

han sido desarrollados, evaluados y aplicados en diversos alimentos, bebidas, cosméticos y preparaciones farmacéuticas (10). Muchas preparaciones comerciales, ahora disponibles, gozan del estatus GRAS (generally recognized as safe o generalmente reconocido como seguro), sin tener alguna limitante mayor en su utilización.

Para evaluar los extractos y aceites esenciales como probables conservantes en productos cárnicos, se evaluó su actividad antioxidante y su efecto sobre las características organolépticas en el salami. La actividad antioxidante de diferentes aceites esenciales se evaluó por varios métodos con el fin de demostrar que los tratamientos con aceites esenciales de orégano, tomillo y clavo de olor reducen significativamente la oxidación lipídica en productos cárnicos cocidos como el salami, sin afectar de manera importante las características organolépticas y de calidad del producto.

En trabajos que antecedieron a éste, se evaluaron los métodos de extracción de los aceites esenciales, así como la actividad antibacterial de los mismos (11); estudios que no sólo complementan el paquete de investigación acerca de conservantes naturales en carnes procesadas, sino que sus resultados fueron el punto de partida para la selección de los aceites esenciales a evaluar como antioxidantes y formular en la preparación de salami.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención de los aceites esenciales y extractos

A partir del material vegetal fresco de orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*), y clavo de olor (*Eugenia caryophyllata*) (11).

2.2. Extracción del aceite esencial

La extracción de los aceites esenciales se llevó a cabo mediante separación con la mezcla

de solventes orgánicos: Acetona-hexano, cloroformo-hexano, diclorometano-hexano y alcohol (11).

2.3. Extracción del antioxidante

Se acidificó el extracto a un pH entre 1,7 y 3,5; se realizó una re-extracción con éter etílico; se separaron las fases insolubles. La fase etérea se lleva a destilación al vacío mediante rotaevaporación en un rota vapor BUCHI R 110, para purificar y concentrar los extractos obtenidos (11).

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS

2.4. Preparación de los extractos

Los extractos fueron diluidos en agua destilada y centrifugados por 30 minutos, los sobrenadantes filtrados y diluidos a unas concentraciones finales de 25 y 50 µl/ml en agua destilada. Todos los extractos fueron evaluados por separado. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y se reportó el promedio de los datos (12); además se realizó un procedimiento alterno con una mezcla de solventes en reemplazo del agua destilada, donde 0,5 g de extracto fueron diluidos en 20 ml de metanol-agua (50-50%) acidificado con HCl 2N hasta pH 2,0 y centrifugados por 30 minutos a 1000 g; los supernadantes fueron filtrados y los residuos fueron tratados de igual forma con acetona-agua (70-30), al final los supernadantes fueron mezclados (13).

2.5. Inhibición de la peroxidación del ácido linoleico

La actividad antioxidante de los extractos se determinó como el grado de inhibición de la peroxidación del ácido linoleico catalizado por la hemoglobina, con base al método de Kuo Dufour (14, 15); 0,1 ml de muestra fue adicionado a 3,7 ml de 0,05 M de buffer fosfato (pH 7,0) conteniendo 0,14% de Tween 20 y 4 mM de ácido

linoleico y llevado a 37°C durante 3 minutos. La peroxidación del ácido linoleico fue iniciada por la adición de 0,1 ml de 0,035% de hemoglobina en agua, seguido por la incubación a la misma temperatura por 10 minutos y detenida la reacción por la adición de 5 ml de 0,5% de HCl en etanol. El hidroperóxido formado fue evaluado de acuerdo al método del tiocianato férrico, así: tiocianato de amonio al 30% (0,1 ml) y cloruro ferroso 0,02 M (0,1 ml). La absorbancia de la muestra (A_m) fue medida a 480 nm después de 5 minutos. La absorbancia del blanco (A_0) obtenida sin la adición de hemoglobina. La absorbancia del control (A_c) fue obtenida reemplazando la muestra por solución buffer. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y se reportó el promedio de los datos.

$$AA(\%) = (1 - (A_m - A_0) / (A_c - A_0)) * 100$$

El porcentaje de inhibición de la peroxidación lipídica se reportó como equivalentes de BHA (mg BHA/g extracto) (12).

2.6. Evaluación del poder de reducción

Una alícuota de 1 ml de cada extracto en agua, fue mezclada con 2,5 ml de buffer fosfato (0,2 mM, pH 6,6) y 2,5 ml de solución acuosa de ferrocianuro de potasio. Después de 30 minutos de incubación a 50°C, 1,5 ml de ácido tricloroacético fueron adicionados y la mezcla centrifugada por 10 minutos. Una alícuota de 2,5 ml de la solución sobrenadante fue mezclada con 2,5 ml de una solución acuosa al 1% de cloruro férrico y la absorbancia medida a 700 nm (16). El poder de reducción fue determinado como equivalentes de ácido ascórbico (mg ácido ascórbico/g extracto) (12).

2.7. Actividad antioxidante de los aceites esenciales y combinaciones

Los aceites esenciales fueron evaluados de acuerdo a los resultados de actividad antibacterial (11), inhibición de la peroxidación, actividad antioxidante y poder de reducción.

2.8. Test del β -caroteno - ácido linoleico

Aproximadamente 10 mg de β -caroteno fueron disueltos en 10 ml de cloroformo. La solución cloroformo-caroteno fue pipeteada en un beaker conteniendo 20 mg de ácido linoleico y 200 ml de Tween 20. El cloroformo se removió usando un rotaevaporador a 40°C por 5 minutos, y al residuo le fueron adicionados 50 ml de agua destilada con agitación vigorosa para formar una emulsión; 5 ml de la emulsión fueron adicionados a un tubo conteniendo 0,2 ml de aceite esencial y la absorbancia fue inmediatamente medida a 470 nm contra un blanco conteniendo la emulsión sin β -caroteno. Los tubos fueron colocados en un baño de agua a 50°C y la oxidación de la emulsión monitoreada espectrofotométricamente por medida de la absorbancia a 470 nm por un periodo de 60 minutos. Las muestras control se prepararon con agua a cambio de aceite esencial. BHA se usó como referencia. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición con referencia al control después de 60 minutos de incubación usando la siguiente ecuación:

$$AA = 100 (VDc - V Dm) / VDc$$

donde VDc es igual a la velocidad de degradación de la muestra control:

$$[VDc = \ln(a / b) / 60]$$

VDm es la degradación en presencia de la muestra:

$$[VDm = \ln(a / b) / 60]$$

a, es absorbancia al tiempo cero y
b, es absorbancia a los 60 minutos.
(17).

Selección del extracto antioxidante

Fueron seleccionados, los extractos o su combinación que mejor inhibición presentaron, con base en la medida de la actividad antibacterial y antioxidante.

2.9. Elaboración del producto cárnico y aplicación de los aceites y extractos

La concentración de aplicación en el salami se realizó con el extracto que presentó mayor actividad antioxidante, antibacteriana y concentración mínima inhibitoria (MIC) positiva; se realizó una adición (1000 ppm, 500 ppm, 125 ppm) preliminar para determinar un límite sensorial. Para las pruebas sensoriales se utilizó una muestra con 125 ppm; se hicieron réplicas para llevar a cabo un análisis microbiológico durante 30 días, evaluándose desde el momento de su elaboración y posteriormente a los 7, 14 y 21 días de almacenamiento a 4°C.

2.10. Evaluación de la estabilidad oxidativa

Se realizó midiendo las sustancias reactivas al fenobarbital de acuerdo al método de destilación de Tarladgis con algunas modificaciones (18), con la adición de butilhidroxitolueno BHT para prevenir la oxidación de la muestra; 100 mg de la muestra fueron homogeneizados con 20 ml de BHT (1 g/l). Se adicionó una gota de silicona antiespumante más 2,5 ml de HCl (4N) y 97,5 ml de agua destilada. Después 5 ml de destilado fueron adicionados, 5 ml de fenobarbital (0,02 M) y 2 ml de sulfanilamida al 0,5% (sólo para la muestra referencia con nitrito), y calentada la muestra en un baño de agua hirviendo por 35 minutos (19) y la absorbancia determinada a 532 nm en celdas de cuarzo de 1 cm; los resultados fueron reportados como mg de malonaldehído/kg de muestra. El análisis se realizó por triplicado. Las curvas estándar fueron preparadas empleando 1,1,3,3-tetraetoxipropano.

2.11. Análisis fisicoquímico

Después de culminado el tiempo de enfriado, muestras del producto cárnico fueron llevadas al Laboratorio de Bromatología de la Universidad de Caldas para la determinación del contenido de proteína, grasa, humedad y toma del pH. Este

análisis bromatológico fue repetido al final del periodo de almacenamiento.

2.12. Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se efectuó en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Unidad Tecnológica de Alimentos con los siguientes análisis: número más probable de coliformes totales, recuento de *Staphylococcus* coagulasa positivos, recuento de esporas de *Clostridium* sulfito reductor, detección de *Salmonella* y detección de *Listeria monocytogenes* (NTC 1325).

2.13. Análisis sensorial

Un grupo de 13 personas fue seleccionado para realizar la evaluación de las características organolépticas del producto cárnico elaborado con la adición de los aceites esenciales (20).

2.14. Análisis Descriptivo Comparativo

Los atributos evaluados dentro de la escala fueron: sabor, olor y textura (21). El color de las muestras se enmascaró mediante el uso de bombillas de color (22).

2.15. Prueba de intervalo no estructurada para análisis del color

Esta propiedad en el salami se evaluó de manera independiente mediante una escala de intervalo estructurada de 9 puntos (21).

2.16. Prueba de aceptación global o prueba de satisfacción

La prueba de aceptación global fue desarrollada durante el mismo tiempo de los demás análisis por un panel no entrenado de 20-30 miembros. Para ello se utilizó una escala hedónica de 5 puntos variando de "me disgusta extremadamente" (puntuación 1) a "me gusta extremadamente" (puntuación 5).

3. RESULTADOS

3.1. Evaluación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos de orégano, tomillo y clavo de olor, se evaluó de acuerdo a los rendimientos de extracción y a los resultados de inhibición microbiológica.

3.1.1. Inhibición de la peroxidación del ácido linoleico

En las Tablas 1 y 2 se muestran los resultados de inhibición de la peroxidación lipídica.

Tabla 1. Porcentajes de inhibición de la peroxidación lipídica para los supernadantes en agua.

Extracto	Concentración	
	AA% 25 µl/ml	AA% 50 µl/ml
Orégano	-50	100
Tomillo	100	600
Clavo de olor	350	500

Fuente: el autor (2008).

Tabla 2. Porcentajes de inhibición de la peroxidación lipídica para los supernadantes en solventes.

Extracto	Concentración	
	AA% 25 µl/ml	AA% 50 µl/ml
Orégano	400	-50
Tomillo	-50	850
Clavo de olor	420	500

Fuente: el autor (2008).

El extracto de clavo de olor presentó una inhibición de la peroxidación lipídica mayor

para los supernadantes en solventes, a una concentración de 50 µl/ml, sin embargo fue estable también para los supernadantes en agua ya que a ambas concentraciones, mostró inhibición positiva para ambas diluciones.

Los porcentajes negativos fueron interpretados como un incremento de la peroxidación del ácido linoleico por parte del extracto a las concentraciones mostradas; el porcentaje de inhibición de la peroxidación lipídica fue reportado como equivalentes de BHA (mg BHA/g extracto)

3.1.2. Evaluación del poder de reducción

En la Tabla 3 se muestra el poder de reducción de *Eugenia caryophyllata* en comparación con el BHT, el cual es menor para el extracto que para el control, de igual forma que la actividad antioxidante, el poder de reducción de *Eugenia caryophyllata* aumentó con la concentración de la muestra.

El valor del poder de reducción está ligado a la cantidad de radicales libres que un agente antioxidante está en capacidad de captar para anular su alta reactividad y esta capacidad a su vez tiene relación directa con la concentración del agente antioxidante, al aumentar la concentración aumenta el poder de reducción.

Tabla 3. Poder de reducción de *Eugenia caryophyllata* frente al BHT. Reportado como equivalentes de ácido ascórbico por gramo de extracto.

<i>E. caryophyllata</i>	BHT	Concentración en µg/ml
0,146	0,20	50
0,234	0,37	100
0,331	0,50	150

Fuente: el autor (2008).

3.1.3. Test de β -caroteno - ácido linoleico

Los porcentajes de degradación del ácido linoleico en presencia del extracto, frente a un control en el que se reemplazó el extracto por agua destilada, se presentan en la Tabla 4; se tuvieron como referencia dos antioxidantes artificiales como son el butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT).

Tabla 4. Porcentaje de inhibición con referencia al control.

Extracto	VDm	%AA
Tomillo	0,001189	44,84
Orégano	0,000269	87,51
Clavo de olor	0,000108	94,98
BHA	0,00247	14,71
BHT	0,00255	18,17

Fuente: el autor (2008). Velocidad de degradación del control (VDc) = 0,00215.

En los resultados se obtuvo que el extracto de clavo de olor presentó mayor porcentaje de degradación del ácido linoleico, superando incluso a los productos antioxidantes usados como referencia; los extractos de orégano y tomillo presentaron menor actividad antioxidante, sin embargo también estos valores fueron mayores que los obtenidos para las sustancias antioxidantes usadas como referencia.

3.2. Selección del extracto antioxidante

De acuerdo a los parámetros de selección, el extracto de clavo de olor fue el que presentó mayor actividad antibacteriana y mayor actividad antioxidante, y por tanto fue el indicado para la formulación del salami.

3.3. Elaboración del producto cárnico y aplicación de los aceites y extractos

La concentración de aplicación en el salami se realizó para las pruebas sensoriales utilizando una muestra con 125 ppm. La elaboración del salami se efectuó según el manual de procesos de la Unidad Tecnológica de Alimentos de la Universidad de Caldas.

3.4. Evaluación de la estabilidad oxidativa

Los resultados presentados en la Figura 1 son expresados como absorbancia, de cada sustancia. Los valores altos indican una acumulación de sustancias reactivas al fenobarbital, como resultado de un incremento de la oxidación. En los ensayos realizados el clavo de olor presentó mayor estabilidad oxidativa, que el nitrito sódico. (El número de ensayo indica la replicación de la evaluación de la estabilidad oxidativa).

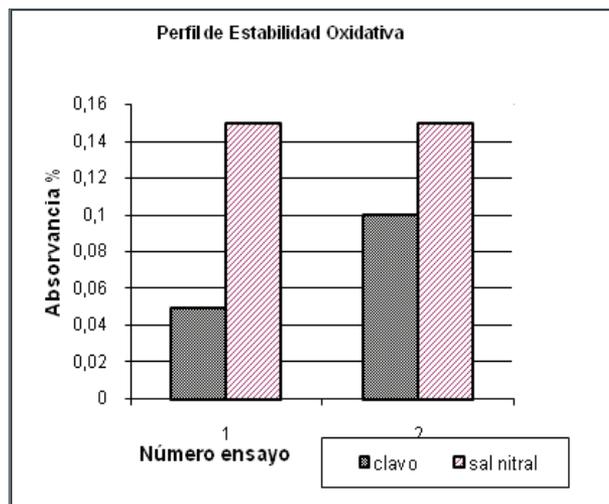


Figura 1. Perfil de estabilidad oxidativa del salami agregado con extracto de clavo de olor en comparación con nitrito sódico.

3.5. Análisis fisicoquímico

En la Tabla 5 se presentan los resultados de los análisis bromatológicos de porcentaje de grasa y proteína realizados al producto con adición de extractos clavo de olor. El salami adicionado con clavo de olor presentó reducción de proteína en un 4% y reducción de grasa en un 14%, después del almacenamiento.

Tabla 5. Resultado de pruebas bromatológicas para salami adicionado con clavo de olor.

Muestra	% Grasa	% Proteína
<i>Semana 1</i>		
Clavo de olor	46,70	38,30
<i>Semana 3</i>		
Clavo de olor	43,19	37,71
<i>Semana 4</i>		
Clavo de olor	32,62	34,55

Fuente: Laboratorio de Control de Calidad de la Unidad Tecnológica de Alimentos de la Universidad de Caldas.

3.6. Análisis Microbiológico

Los resultados, después del seguimiento durante los días 7, 14 y 21 de almacenamiento con un análisis microbiológico completo, se muestran en las Tablas 6, 7 y 8.

Tabla 6. Resultado de pruebas microbiológicas para el día séptimo de almacenamiento.

Análisis	Temperatura y Tiempo de Incubación	Parámetros de Referencia	Resultados
Recuento de Microorganismos mesófilos	37°C/48 h	200000 - 300000	10 * 10 ⁴ ufc/g
NMP Coliformes Totales	37°C/24 h	120 - 1100	44 NMP/g
NMP Coliformes Fecales	37°C/24 h	< 3	< 3 NMP/g
<i>E. coli</i>	37°C/24 h	Ausencia	Ausencia
Estafilococo coagulasa positiva	37°C/48 h	< 100	<100 ufc/g
Esporas <i>Clostridium</i> Sulfito reductor	37°C/48 h	100 - 1000	Ausencia
<i>Salmonella</i>	37°C/24 h	Ausencia/25 g	Ausencia/25 g

Fuente: Laboratorio de Microbiología de la Unidad Tecnológica de Alimentos de la Universidad de Caldas.

Tabla 7. Resultado de pruebas microbiológicas para el día catorce de almacenamiento.

Análisis	Temperatura y Tiempo de Incubación	Parámetros de Referencia	Resultados
Recuento de Microorganismos mesófilos	37°C/48 h	200000 - 300000	30 * 10 ³ ufc/g
NMP Coliformes Totales	37°C/24 h	120 - 1100	64 NMP/g
NMP Coliformes Fecales	37°C/24 h	< 3	< 3 NMP/g
<i>E. coli</i>	37°C/24 h	Ausencia	Ausencia
Estafilococo coagulasa positiva	37°C/48 h	< 100	<100 ufc/g
Esporas <i>Clostridium</i> Sulfito reductor	37°C/48 h	100 - 1000	Ausencia
<i>Salmonella</i>	37°C/24 h	Ausencia/25 g	Ausencia/25 g

Fuente: Laboratorio de Microbiología de la Unidad Tecnológica de Alimentos de la Universidad de Caldas.

Tabla 8. Resultado de pruebas microbiológicas para el día vigésimo primero de almacenamiento.

Análisis	Temperatura y Tiempo de Incubación	Parámetros de Referencia	Resultados
Recuento de Microorganismos mesófilos	37°C/48 h	200000 - 300000	39 * 10 ³ ufc/g
NMP Coliformes Totales	37°C/24 h	120 - 1100	1100 NMP / g
NMP Coliformes Fecales	37°C/24 h	< 3	< 3 NMP / g
<i>E. coli</i>	37°C/24 h	Ausencia	Ausencia
Estafilococo coagulasa positiva	37°C/48 h	< 100	28 * 10 ² ufc/g
Esporas <i>Clostridium</i> Sulfito reductor	37°C/48 h	100 - 1000	Ausencia
<i>Salmonella</i>	37°C/24 h	Ausencia/25 g	Ausencia/25 g

Fuente: Laboratorio de Microbiología de la Unidad Tecnológica de Alimentos de la Universidad de Caldas.

Los resultados de pruebas microbiológicas, realizadas durante el periodo de almacenamiento, presentaron valores dentro de los parámetros de referencia, según los requerimientos del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA).

El salami, cuya formulación se realizó con adición de extracto de clavo de olor, mantuvo condiciones antibacteriales en el producto analizado durante el periodo de almacenamiento, presentando propiedades como conservante en el tiempo establecido, y manteniendo niveles permisibles de acuerdo a la norma INVIMA para el grupo de alimentos de productos cárnicos o sus derivados. Para el perfil de textura no se hallaron diferencias importantes, siendo la dureza para la muestra patrón superior en 0,2 y para la masticabilidad y granulosis superior en 0,1 para el salami adicionado con clavo de olor.

Observación: los parámetros de referencia son tomados de la Norma INVIMA para productos cárnicos cocidos.

3.7. Análisis sensorial (22)

3.7.1. Análisis descriptivo comparativo

En el análisis por comparación, se halló que existen diferencias marcadas en la intensidad de olor y sabor de la muestra patrón, siendo éste superior en 0,6 y 0,3, respectivamente, con referencia a la muestra adicionada con aceite esencial de clavo de olor, esta es la característica que muestra una diferencia entre las muestras evaluadas.

La diferencia más marcada se presentó en los perfiles de olor y sabor característico a clavo de olor, en valores de 0,8 y 1,4, respectivamente, siendo superior en el salami adicionado con clavo de olor.

3.7.2. Prueba de intervalo estructurada para análisis del color

Mediante el análisis de varianza no se halló una diferencia significativa entre los colores del producto adicionado con extracto de clavo de olor y la muestra patrón.

3.7.3. Prueba hedónica

Con los promedios de los grupos se determinó que la muestra de salami con agregado de aceite esencial de clavo de olor con un valor de 3,5 ni gusta ni disgusta a los consumidores del panel sensorial de la Universidad de Caldas, y el salami patrón con un valor promedio de 4 gusta a los consumidores de dicho panel sensorial.

4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio así como otros realizados con aceites esenciales y extractos (11, 23), demuestran que el tratamiento, de carnes procesadas cocidas, con aceites esenciales de orégano, tomillo, clavo de olor, ajo cilantro y romero presentan generalmente mayor actividad antioxidante que las sustancias usadas como control. Los tratamientos con orégano en carnes de porcino y bovino, en otros estudios (24) mostraron baja oxidación, siendo más potente el orégano; en concordancia con los resultados obtenidos en el presente estudio y como complemento en el análisis de los productos cárnicos procesados, tratados con antioxidantes naturales, no sólo se obtienen resultados similares para el orégano, sino que se obtiene mayor actividad antioxidante para el tratamiento con extracto de clavo de olor.

Extractos de orégano y salvia han sido estudiados en el pasado investigando su efecto protector contra la oxidación (25, 26), así como su efecto antimicrobiano (24). La gran actividad mostrada fue relacionada con los compuestos fenólicos contenidos en los extractos, los cuales son abundantes en el clavo de olor. Los extractos

de orégano y tomillo, aunque por sí solos no muestran actividad antimicrobiana, tienen importante actividad como antioxidantes y pueden actuar de forma sinérgica en combinación con otros extractos que tengan propiedades antimicrobianas. Si bien en este estudio no se obtuvieron resultados positivos para el efecto antimicrobiano de tomillo y orégano, debe considerarse los métodos de extracción de los aceites esenciales ya que la composición de los mismos se ve afectada por estos métodos.

Son pocos los trabajos publicados que tratan el tema de los efectos sobre las propiedades organolépticas de los productos cárnicos adicionados con antioxidantes naturales, sin embargo es de gran importancia, después de la obtención de resultados positivos para el clavo de olor, no sólo como antioxidante sino también como agente antimicrobiano, analizar el efecto que causa sobre las características sensoriales y organolépticas del salami, así como el impacto que tiene sobre el consumidor la adición de una especia de olor y sabor fuerte como el clavo de olor. Culturalmente en nuestro medio no se concibe la adición del clavo de olor en un producto cárnico ya que tradicionalmente se ha usado en infusiones y dulces; sin embargo, el producto adicionado con éste, ha dejado una grata impresión en los paneles sensoriales que calificaron el salami bajo parámetros normales de aceptación.

Las especias y hierbas que son usadas como ingrediente integral en la preparación de alimentos o adicionadas como agentes saborizantes, están presentes en cantidades insuficientes para actuar como conservantes; por otro lado, los aceites esenciales pueden ser adicionados en pequeñas cantidades, sin llegar a afectar las propiedades organolépticas, retardando la actividad bacteriana así como la degradación lipídica.

Las cantidades de extractos naturales adicionados pueden darse en valores mayores a las determinadas en el presente trabajo,

sin embargo podrían no ser recomendables ya que causan cambios en las características organolépticas del producto, sin lograr de cualquier manera un incremento importante en la actividad antimicrobiana.

La reducción de valores en las pruebas bromatológicas se da por la oxidación normal en el caso de las grasas, y a la degradación por desnaturalización de las proteínas con el tiempo; esta reducción en los porcentajes de grasas y proteína tiene el mismo comportamiento en los productos tratados con nitritos u otros antioxidantes.

Los productos cárnicos fueron sometidos a procesos normales de cocción y ahumado; el comportamiento de los productos tratados tanto con aceites esenciales y extractos como con nitrito sódico, es similar dado que ninguno de los productos adicionados modifica la termolabilidad o los coeficientes de transferencia de calor. En cuanto a los resultados de las propiedades organolépticas determinados en diferentes tiempos de almacenamiento, estos se realizaron en productos sin procesos de cocción posteriores a los normales aplicados para el proceso de fabricación de los productos cárnicos y sometidos a almacenamiento a 4°C.

En este estudio se llegó a determinar la menor concentración con efecto positivo antioxidante y que presentó eficiencia antimicrobiana (11), sin interesar las características sensoriales del salami.

5. CONCLUSIÓN

El estudio ha mostrado que los aceites esenciales de orégano tomillo y clavo de olor poseen una importante actividad antioxidante, en mayor grado para el clavo de olor, el cual gratamente mostró además actividad antimicrobiana, más efectiva que las sustancias control BHT y BHA, en productos cárnicos procesados, como el salami.

La estimación de la actividad antioxidante del extracto de *Eugenia caryophyllata*, mostró que éste tiene potencial antioxidante; así mismo los extractos de tomillo y orégano, aunque presentaron actividad antioxidante de importante valor, no pudieron ser usados en la elaboración del salami por no presentar actividad antimicrobiana.

Respecto a las características sensoriales del salami adicionado con aceite esencial de clavo de olor, las propiedades de olor y sabor presentaron una diferencia de poca significancia, siendo aceptado dentro de parámetros normales; en lo que a color se refiere, la diferencia no interesa el gusto o la elección de este producto con relación a la muestra referencia. También se muestra que el tratamiento de carnes procesadas como el salami, con aceites esenciales de clavo de olor como antioxidantes, tiene aceptación por parte de los jueces del panel sensorial sin arrojar diferencias significativas en color, dureza, masticabilidad, olor y sabor característicos.

El aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* obtenido por arrastre de vapor, presentó una estabilidad oxidativa más alta comparada con el control; el tratamiento con clavo de olor en el caso estudiado, muestra menor oxidación lipídica en el salami, almacenado a 4°C; se puede utilizar como conservante en salami obteniendo una actividad antioxidante que muestra el potencial de protección de la oxidación lipídica en el salami.

Dado que las evaluaciones desarrolladas, microbiológicas y antioxidantes, para el extracto de clavo de olor, muestran resultados positivos así como diferencias poco significativas para los análisis de características sensoriales en comparación con la sustancia conservante tradicional, se demuestra que es posible el uso de sustancias naturales, en este caso concreto el clavo de olor, como antioxidante en productos cárnicos como el salami.

BIBLIOGRAFÍA

1. Reische, D.W.; Reische, D.A. Lillard. Antioxidants in food lipids. En: C.C. Ahoh and D.B. Min, eds. Chemistry, nutrition and biotechnology. Marcel Dekker, Inc: New York:.; 1998. pp: 423-448.
2. Mirvish, Sidney. Role of N-nitroso compounds and the nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and condition to cancer of known exposures to No nitrosocompounds. Cancer Letters 1995;93:17-47.
3. Madhavi, Deshpande, SinghaL R.S, Kulkarni P.R. Technological aspects of food antioxidants. In: Madhavi, D.L., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D.K., eds. Food Antioxidants. Technological, toxicological and health perspectives. Vol. 4.. Marcel Dekker, Inc: New York; 1996; pp: 159-265.
4. Ramarathnam, Narasimhan, et al. Studies on Meat Flavor. 1. Qualitative and Quantitative Differences in Uncured and Cured Pork. Journal of Agricultural and Food Chemistry 1991;39:344-350.
5. Shon, M. Y., Kim T.H. & Sung N.J. Antioxidants and free radical scavenging activity of *phellinus baumii* extracts. Food Chemistry 2003;82:593-597.
6. Wettasinghe H. & M Shahidi, F. Antioxidant and free radical scavenging proprieties of ethanolic extracts of defatted borage seeds. Food Chemistry 1999;67:399-414.
7. Bandóniene, D.; Murkovic, M.; Pfannhauser, W.; Venskutonis, P.R.; Gruzdiene, D. Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and online HPLC-DPPH methods. Food Research Technology 2002;214;143-147.
8. Takaesova, M. et al. Study of the antioxidant effect of thyme, sage, juniper and oregano. Nahrung 1995;3:245-243.
9. Pietta Pier-giorgo. Electrospray characterization of selected medicinal plant extracts. In: Journal of farmaceutical and biomedical analysis 2000;23(Issue 1):61-68.
10. Berdhal, Donald, et al. *Labiatae* herb extracts and hops extracts for extending the color life and inhibiting the growth of microorganisms in fresh meat, fish and poultry. UNITED STATES. P.A. No. 20040028758. July 2004. [Internet]. Disponible en: <http://wwwappft.uspto.gov/netacgi/nphParser?Sect1=PTO§2=HITOF&d=PG01&p=1&u=%2Fnetahtml%2FPTO%2Fsrchnum.html&r=1&f=g&1=50&s1=%2220040131709%22.PGNR&OS=DN720040131709&RS=DN/20040131709>. Consultado Diciembre de 2008.
11. Ardila Martha I. Evaluación del poder inhibitorio del tomillo, orégano y clavo de olor en el salami [Tesis Ingeniera de Alimentos]. Manizales: Facultad de Ingeniería, Universidad de Caldas; 2008. 124p.
12. Xiao-Juan Duan, et al. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Plsiphonia urceolata*. Food Chemistry 2006;95(Issue 1):37-43.
13. Kumar, R. S. Antioxidant and antimicrobial activites of *Bauhinia racemosa* L., stem bark. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 2005;38(7):1015-1024.
14. Dufour Claire, Loonis Michèle and Dangles Olivier. Inhibition of the peroxidation of linoleic acid by the flavonoid quercetin within their complex with human serum albumin. Free Radical Biology and Medicine 2007;43(Issue 2):241-252.
15. Mistuda. H., Yuasumoto, K. & Iwami, K. Antioxidation action of indole compounds during the autoxidation of linoleic acid. Nihon Eiyo Shokuryo Gakkai-Shi 1996;19:210-214.
16. Dorman, H.J.D., et al. Antioxidant proprieties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. Journal of Agriculture and Food Chemistry 2003;51:4563-4569.

17. Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P. & Sakariah, K.K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry* 2001;73:285-290.
18. Tarladgis, Basil G., et al. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society* 1960;37(1):44-48.
19. Shahidi, Feridoon, et al. Interactions of sulfanilamide and 2-thiobarbituric acid with malonaldehyde: structure of adducts and implications in determination of oxidative state of nitrecured meats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1992;40:1826-1832.
20. Byrne D.V. Sensory panel consistency during developments a vocabulary for warmed-over flavour. *Food Quality and preference* 2001;12(3):171-178.
21. Byrne D.V. Evaluation of pork colour: sensory colour assessment using trained and untrained sensory panellists. *Meat Science* 2003;63:119-129.
22. Anzaldúa Antonio. La evaluación sensorial de los alimentos en teoría y práctica. España: Editorial Acribia; 1994. p. 63.
23. Vargas, A. F. Evaluación de aceites esenciales de ajo, cilantro y romero como antioxidantes y conservantes en el salami [Tesis Ingeniero de Alimentos]. Manizales: Facultad de Ingeniería, Universidad de Caldas; 2008. 124p.
24. M.K. Fasseas, K.C. Mountzouris, P.A. Tarantilis, M. Polissiou, G. Zervas. α -tocopheryl acetate supplementation. *Food research international* 2003;36:207-213.
25. Botsoglou, N. A. Fletouris, D. J., Florou-Paneri, P., Christaki, E. & Spais, A. B. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. *Food research international* 2003;36:207-213.
26. Botsoglou, N. A. Grigoloulou S. H., Botsoglou, E., Govaris, A. & Papageorgiou, G. The effects of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science* 2003;65:1193-1200.
27. Instituto Colombiano de Normas Técnicas. NTC 1325. (Quinta actualización). Industrias Alimentarias. Productos cárnicos procesados no enlatados. Biblioteca Universidad de Caldas.
28. Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Colombia. Industrias Alimentarias. Productos cárnicos procesados no enlatados. Norma Técnica Colombiana NTC 1325.
29. Isabel M. S. and Fernandes-Ferreira Manuel. Essential oils and hydrocarbons from leaves and calli of *Origanum vulgare* ssp. *Virens*. *Phytochemistry* 1998;48(Issue 5):795-799.
30. Shahidi F, Janitha Pk, Wanasundara PD. Phenolic Antioxidants. *Critical, Reviews in Food Science and Nutrition* 1992;32:67-103.