



Nacameh

Vocablo náhuatl para "carnes"

Volumen 3, Número 1, Junio 2009

Difusión vía Red de Computo semestral sobre Avances
en Ciencia y Tecnología de la Carne

Derechos Reservados[©] MMIX

ISSN: 2007-0373

<http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>



Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de romero y chile ancho y su aplicación en un batido cárnico

Agustín Monroy Vázquez, Ignacio García Martínez y Alfonso Totosa[✉]

Laboratorio de Alimentos, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec. Av. Tecnológico esq. Av. Central, Ecatepec 55210, Estado de México, México [✉]Autor para correspondencia: atotosa@tese.edu.mx

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos etanólicos de romero y chile ancho in vitro e in situ, utilizándolos en un batido cárnico. Se determinó la actividad antioxidante por la técnica del ABTS, comparando contra antioxidantes sintéticos, BHA y BHT. La actividad antimicrobiana de los extractos se determinó mediante la concentración mínima inhibitoria contra *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocitogenes* y *Salmonella typhi*. En los batidos cárnicos se determinó la rancidez oxidativa (valores TBA) y la disminución del número de mesófilos y coniformes totales. El extracto de romero presentó una actividad antioxidante muy cercana a los antioxidantes sintéticos. Ambos extractos inhibieron el crecimiento de los microorganismos patógenos en rangos de 0.8-1.2 mg/mL de extracto. En los batidos cárnicos, utilizando dos concentraciones (0.5 y 1.0%) de extractos, el que mejor desempeño como antioxidante (menores valores TBA y disminución del número de microorganismos) fue el extracto de chile ancho, donde además el utilizar 1.0% de extracto no mejoró las propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Los extractos de romero y chile ancho tienen la posibilidad de usarse como fuente de antioxidantes para disminuir la oxidación de lípidos, así como para disminuir el conteo de microorganismos, mejorando la calidad nutricional de estos productos al incorporar ingredientes funcionales.

Palabras clave: batidos cárnicos, antioxidante, antimicrobiano, extractos etanólicos

Introducción

El romero y chile ancho se han utilizado desde hace mucho tiempo como especias y condimentos. Los extractos de estos han generado interés en la industria alimentaria a raíz de sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Los responsables de estas actividades son los compuestos polifenólicos que contienen (Lee y col., 1995; Riznar y col., 2006). Los antioxidantes pueden actuar por diferentes mecanismos, ya sea 1) buscando a radicales libres que inician las reacciones de oxidación, 2) inactivando iones metálicos, y 3) eliminando peróxidos para prevenir la formación de radicales libres (Eskin y Robinson, 2001). Dentro de la actividad antimicrobiana los polifenoles juegan un papel importante en la protección contra agentes patógenos, donde pueden retrasar el crecimiento debido a que cambian las condiciones del medio y penetran la membrana celular de los microorganismos provocando lisis (Brul y Coote, 1999; Ejechi y Akpomedaye, 2005).

En sistemas cárnicos, a pesar de que la cantidad de grasa es relativamente baja, el uso de antioxidantes podría mejorar la calidad de estos productos. La modificación de los productos cárnicos agregando ingredientes considerados como beneficios para la salud ofrece a los productores la oportunidad de mejorar la calidad nutricional (Fernández-Ginéz y col., 2005). En el presente trabajo se determinó *in vitro* e *in situ* la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos polifenólicos de chile ancho (*Capsicum annum* L. *grossum* sendt.) y romero (*Rosmarinus officinalis*).

Materiales y Métodos

Preparación de los extractos y determinación del contenido de polifenoles

Los extractos se obtuvieron macerando con agitación magnética a temperatura ambiente las muestras finamente molidas de romero y chile ancho con una solución etanol:agua 50:50 (v/v), de acuerdo a experimentaciones previas (Monroy Vázquez, 2007). Los extractos fueron filtrados con papel Whatman #42 y concentrados en un rotovapor. Los concentrados fueron resuspendidos en etanol (dilución 1:100 p/v) para determinar su concentración de polifenoles por la metodología reportada por Madhujith y Shahidi (2005). A un mL de las muestras se adicionó un mL de reactivo de Folin-Ciocalteu (Hycel de México SA de CV), mas 8 mL de una solución 0.7 M de Na₂CO₃, dejando reposar en la oscuridad por 2 h a

temperatura ambiente. Se leyó la absorbancia a 765 nm y se determinó la concentración de polifenoles contra una curva estándar de catecol, a fin de estandarizar la concentración de polifenoles en los extractos.

Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro*

La evaluación de la actividad antioxidante de los extractos se determinó por la metodología reportada por Re y col. (1999). El reactivo 2,2'-azinobis-(3-etilbezotiazoline-6-ácido sulfónico) (ABTS) se disolvió en agua a una concentración de 7 mM para reaccionar con el persulfato de potasio (2.45 mM), a una relación estequiométrica de 1:0.5, respectivamente, dejando reposar en oscuridad total a temperatura ambiente por 18 horas para la oxidación completa del ABTS. Se evaluaron diferentes concentraciones (2, 4, 6 y 8 mg/mL), tanto para los extractos como para los antioxidantes químicos BHA y BHT. Se midió la absorbancia (734 nm) a una alícuota de 980 μ L de la solución de ABTS⁺, denominada A_{734}^1 . Se agregaron 20 μ L de muestra a esta solución, se agitó y después de haber transcurrido un minuto se volvió a leer la absorbancia, denominada A_{734}^2 . El porcentaje de inhibición del radical ABTS⁺ fue calculado de acuerdo a la siguiente ecuación, reportando el porcentaje de la actividad antioxidante.

$$\% \text{Actividad Antioxidante} = \left(\frac{A_{734}^1 - A_{734}^2}{A_{734}^1} \right) * 100$$

Determinación de la capacidad antimicrobiana *in vitro*

La actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos se determinó calculando la concentración mínima inhibitoria (CMI), específica para cada microorganismo, utilizando tres microorganismos patógenos: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhi*. Los microorganismos fueron inoculados en medios específicos para cada uno de ellos hasta obtener aproximadamente 1×10^6 UFC/mL (determinado por conteo en placa). Se agregaron diferentes concentraciones progresivas de los extractos (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2 y 1.4 mg/mL) a 9 mL de los medios de cultivo, inoculando un mL del medio en tubos con los microorganismos propagados. Los tubos se incubaron por 24 h a 37 °C y se determinó la inhibición del crecimiento, reportando la CMI cuando se inhibió el 90% de las UFC en comparación con el conteo del testigo (sin extractos).

Elaboración del batido cárnico

Para determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana de los extractos *in situ*, se elaboró un batido cárnico con diferentes concentraciones de los extractos de romero y chile ancho. Carne de res y cerdo (50%, 35:25 p/p) fue molida en un procesador de alimentos Moulinex modelo DPA2, agregando sal (2%), sal cura (0.4%) y una mezcla de fosfatos comerciales Hamine[®] (0.4%) (McCormic-PESA, México), con la mitad del hielo. Se integró el lardo de cerdo (20%) y el resto de hielo hasta obtener una pasta uniforme. Se agregaron 1.0 o 0.5 % de los extractos estandarizados de romero y chile ancho, utilizando un batido sin extractos como control. Los batidos fueron cocidos durante 15 minutos a 72 °C, enfriados y almacenados sin desfundar en refrigeración en bolsas de plástico a 4 °C, muestreando a los 1, 3, 7, 10 y 14 días de almacenamiento.

Rancidez oxidativa

La capacidad antioxidante de los extractos se determinó evaluando la rancidez oxidativa, determinando la concentración de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico de acuerdo a la metodología reportada por Zipser y Watts (1962). Se pesaron y molieron 10 g de muestra y se agregaron 49 mL de agua destilada a 50 °C más 1 mL de solución de sulfanilamida al 0.5% preparada en HCl al 20% (v/v). Se dejó reposar por 2 minutos y se transfirió cuantitativamente a un matraz, destilando hasta obtener 50 mL. Se tomó una alícuota de 5 mL y se mezclaron con 5 mL de solución de ácido tiobarbitúrico 0.02 M, utilizando agua destilada como blanco. Se calentaron a baño María durante 15 minutos, se enfriaron y se midió la absorbancia a 538 nm. La absorbancia se multiplicó por un factor de conversión 7.8 para reportar los mg de malonaldehído por kg de muestra (Tarladgis y col., 1960).

Cuantificación de mesófilos y coliformes totales

La capacidad antimicrobiana de los extractos se determinó en las muestras con y sin extractos, mediante la metodología reportada en la NOM-113-SSA1-1994 para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa (SSA, 1994a) y en la NOM-092-SSA1-1994 para la cuenta de bacterias mesofílicas aerobias en placa (SSA, 1994b). Se pesaron 10 g de muestra y se homogenizaron con 90 mL de agua destilada estéril, haciendo las diluciones necesarias (10^3 hasta 10^{13}) para determinar la presencia de estos microorganismos en las muestras.

Diseño y análisis experimental

Se utilizó un diseño factorial completo de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon$$

Donde α_i es el efecto del tipo de antioxidante al i -ésimo nivel, β_j es el efecto que tiene la concentración usado al j -ésimo nivel, más la media general (μ) y el error experimental (ϵ). Los resultados se analizaron con PROC ANOVA del paquete estadístico S.A.S. (S.A.S. Institute, Cary, North Carolina). Las diferencias entre medias se determinaron por un análisis de medias de Tukey en el mismo paquete.

Resultados y Discusión

Capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana *in vitro*

La Tabla 1 muestra los resultados de la actividad antioxidante. Este parámetro aumentó al incrementar la concentración de los extractos, concordando con lo reportado previamente por varios autores (Velioglu y col., 1998; Robards y col., 1999; Madhujith y Shahidi, 2005; Pereira y col., 2006). El extracto de romero presentó una actividad antioxidante muy cercana al BHA e incluso superior al BHT bajo las actuales condiciones experimentales, por lo que su actividad antioxidante puede ser considerada igual a estos compuestos sintéticos (Almeida-Doria y Regitano-D'arce, 2000). La presencia de compuestos polifenólicos en el romero le atribuye sus propiedades antioxidantes (Proestos y col., 2005; Andersen y col., 2005). Del mismo modo, el extracto etanólico de chile ancho contiene carotenoides y flavonoides, así como ácido ascórbico, capsaicinoides, quercitina, luteolina (Lee y col., 1995; Sun col., 2007), compuestos con también propiedades antioxidantes.

Tabla 1. Porcentaje de actividad antioxidante de extractos etanólicos de romero y chile ancho comparados contra antioxidantes químicos.

Tratamiento	Concentración (mg/mL)			
	2	4	6	8
Romero	87 ^{dB}	89 ^{cB}	92 ^{bB}	92 ^{aB}
Chile Ancho	29 ^{dD}	52 ^{cD}	69 ^{bD}	82 ^{aD}
BHA	91 ^{dA}	91 ^{cA}	94 ^{bA}	93 ^{aA}
BHT	75 ^{dC}	82 ^{cC}	90 ^{bC}	94 ^{aC}

^{a, b} Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para la misma concentración.

^{A, B} Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para cada tratamiento.

En la actividad antimicrobiana, los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para los microorganismos utilizados son presentados en la Tabla 2. El microorganismo que mostró mas sensibilidad ante los compuestos de ambos extractos fue *Salmonella*, el cual tuvo una disminución en su crecimiento al utilizar 0.8 mg/mL. *Listeria* presentó una mayor resistencia a la inhibición de su crecimiento, ya que cantidades relativamente mayores de extracto (1.2 mg/mL) fueron necesarias para lograr su inhibición. La CMI para *Staphylococos* fue la mayor encontrada de entre estos tres microorganismos. Davidson (1993) reportó que las bacterias Gram-positivas son generalmente más susceptibles a los componentes polifenolicos no polares que los microorganismos Gram-negativos. Del mismo modo, los componentes polifenolicos que presentan más de tres grupos hidroxilo tienen una alta actividad antimicrobiana (Mori y col., 1987; Ani y col., 2006), esto debido a que impiden la captación de iones hierro e hidrogeno que son vitales para la síntesis de proteínas en la célula (Scalbert 1991; Karou y col., 2005). También se ha reportado que algunos ácidos orgánicos (ácido ascórbico, ácido rosmerico, ácido cafeico, por ejemplo) son compuestos que inhiben el crecimiento de algunas bacterias (Brul y Coote, 1999). De igual forma, algunos flavonoides tienen su participación en la inhibición debido a que estos generalmente se relacionan con la inhibición de síntesis del ADN y ARN y otras macromoléculas (Ferrel y col., 1979; Melts y MacGregor. 1981).

Tabla 2. Concentración Mínima Inhibitoria (mg/mL) de los extractos de romero y chile ancho para inhibir el crecimiento visible (>90% UFC) de microorganismos patógenos.

Microorganismo	Romero	Chile ancho
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.2	1.0
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.2	1.2
<i>Salmonella typhi</i>	0.8	0.8

Capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana *in situ*

La Tabla 3 muestra los resultados de capacidad antioxidante de los extractos *in situ*, esto es, aplicados en los batidos cárnicos, sobre la rancidez oxidativa. Al transcurrir el tiempo de almacenamiento se incremento la concentración de malonaldehído, relativo al desarrollo de la oxidación de lípidos. Sin embargo, la muestra control presentó los valores más altos de este parámetro, por lo que la incorporación de los extractos etanólicos de romero y chile ancho disminuyeron la rancidez de las grasas en los batidos, debido a sus propiedades antioxidantes. A pesar de que el extracto de romero presentó valores más altos de actividad antioxidante *in vitro*, la menor rancidez fue determinada al utilizar 0.5% de ambos extractos. El efecto de la estabilidad oxidativa de los extractos etenólicos está relacionada con la composición del extracto, es decir, con el contenido de polifenoles, flavonoides y antocianinas (Juntachote y col., 2007), lo cual posiblemente explique las diferencias encontradas en la aplicación como antioxidantes naturales en batidos cárnicos. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Ahn y col. (2002) y Fernández-López y col. (2003). Del mismo modo, Lai y col. (1991) reportaron que la estabilidad oxidativa fue influenciada por el tipo de antioxidantes y su concentración, observando una fuerte relación entre el extracto de romero y los valores de rancidez.

Tabla 3. Efecto de los diferentes tratamientos sobre la rancidez oxidativa (mg de malonaldehído/kg muestra) en los batidos cárnicos formulados con diferentes concentraciones de los extractos de romero y chile ancho durante el tiempo de almacenamiento.

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (Días)				
	1	3	7	10	14
Control	2.395 ^{e A}	2.765 ^{d A}	3.090 ^{c A}	3.285 ^{b A}	3.790 ^{a A}
Romero 1.0%	1.095 ^{e C}	2.050 ^{d C}	2.090 ^{c C}	2.425 ^{b C}	2.960 ^{a C}
Romero 0.5%	1.175 ^{e D}	1.350 ^{d D}	1.605 ^{c D}	2.400 ^{b D}	2.695 ^{a D}
Chile 1.0%	2.055 ^{e B}	2.350 ^{d B}	2.520 ^{c B}	2.630 ^{b B}	3.290 ^{a B}
Chile 0.5%	1.050 ^{e D}	1.325 ^{d D}	1.535 ^{c D}	1.930 ^{b D}	2.740 ^{a D}

^{a, b} Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para el mismo tiempo de almacenamiento

^{A, B} Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para cada Tratamiento

Las Tablas 4 y 5 muestran los resultados de la capacidad antimicrobiana *in situ* en cuanto a la inhibición de mesófilos y de coliformes totales en los batidos cárnicos. La incorporación de los extractos de romero y chile ancho retardo el crecimiento de mesófilos y coliformes durante los primeros 7 días de almacenamiento. Sin embargo, respecto al efecto del tipo de extracto y la concentración, los tratamientos con extracto presentaron una menor población de mesófilos y coliformes. La mayor inhibición se obtuvo utilizando chile ancho, donde a mayor cantidad de extracto, mayor la inhibición de mesófilos. Para los coliformes también se encontró un efecto inhibitorio mayor al utilizar los extractos etanólicos en las formulaciones. De igual manera, chile ancho al 1.0% mostró la mayor inhibición mientras que romero al 0.5% fue menos eficaz en inhibir el crecimiento de estos microorganismos. Como se mencionó, se ha reportado que las bacterias Gram-positivas son más susceptibles a los componentes polifenólicos no polares que los microorganismos Gram-negativos (Arias y col., 2003), por lo que su efectividad en la inhibición de tal vez por esta acción se deba la diferencia de las actividades para mesófilos y coliformes es diferente.

Tabla 4. Efecto de los diferentes tratamientos sobre el conteo de mesófilos totales (log UFC) en los batidos cárnicos durante el tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (Días)				
	1	3	7	10	14
Control	3.65 ^{d A}	6.00 ^{d A}	6.95 ^{c A}	6.28 ^{b A}	6.68 ^{a A}
Romero 1.0%	3.30 ^{d B}	4.26 ^{d B}	4.18 ^{c B}	4.68 ^{b B}	4.58 ^{a B}
Romero 0.5%	2.88 ^{d C}	4.70 ^{d C}	4.10 ^{c C}	4.40 ^{b C}	4.42 ^{a C}
Chile 1.0%	1.93 ^{d E}	3.18 ^{d E}	3.57 ^{c E}	3.79 ^{b E}	3.08 ^{a E}
Chile 0.5%	2.60 ^{d D}	2.85 ^{d D}	2.30 ^{c D}	2.70 ^{b D}	2.72 ^{a D}

^{a, b} Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para el mismo tiempo de almacenamiento

^{A, B} Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para cada Tratamiento

Tabla 5. Efecto de los diferentes tratamientos sobre el conteo de coliformes totales (log UFC) en los batidos cárnicos durante el tiempo de almacenamiento

Tratamiento	Tiempo de almacenamiento (Días)				
	1	3	7	10	14
Control	3.30 ^{d A}	4.30 ^{d A}	4.33 ^{c A}	4.92 ^{b A}	4.40 ^{a A}
Romero 1.0%	2.80 ^{d B}	4.79 ^{d B}	3.85 ^{c B}	4.18 ^{b B}	4.43 ^{a B}
Romero 0.5%	2.70 ^{d D}	3.00 ^{d D}	3.26 ^{c D}	3.73 ^{b D}	3.57 ^{a D}
Chile 1.0%	1.54 ^{d E}	4.18 ^{d E}	4.54 ^{c E}	4.85 ^{b E}	4.60 ^{a E}
Chile 0.5%	2.54 ^{d C}	3.44 ^{d C}	3.95 ^{c C}	3.72 ^{b C}	3.11 ^{a C}

^{a, b} Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para el mismo tiempo de almacenamiento.

^{A, B} Medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para cada Tratamiento.

Conclusiones

El utilizar extractos etanólicos de romero y chile ancho en la formulación de productos cárnicos emulsionados puede ser una buena alternativa para mejorar la calidad nutricional de este tipo de alimentos, ya que retardan la rancidez de grasas y ayudan en el control microbiológico, dándole un extra al enriquecer su composición con estos ingredientes funcionales.

Bibliografía

- AHN J., I.U. GRÜN, L.N. FERNANDO (2002). Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *Journal of Food Science* 67: 1364-1369.
- ALMEIDA-DORIA R.F., M.A.B. REGITANO-D'ARCE (2000). Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. *Ciência e Tecnología de Alimentos, Campiñas* 20(2): 197-203.
- ANDERSEN M.L., R.K. LAURIDSEN, L. SKIBSTED (2005). Power of phenolic compounds. *Functional Ingredients*. Fecha de creación: 18/02/ 2005, Fecha de acceso: 23/03/2006. URL: <http://www.functionalingredientsmag.com/fimag/articleDisplay.asp?strArticleId=669ystrSite=FFNSite>
- ANI V., M.C. VARADARAJ, K.A. NAIDU (2006). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bitter cumio (*Cominum nigrum L.*). *European Food Research and Technology* 224: 109-115.
- ARIAS M.E., J.D. GONZALES, N.M. CUDMANI, M.A. VATTUONE, M.I. ISLA (2003). Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill ex Hook et. *Life Sciences* 75(2): 191-202
- BRUL S., P. COOTE (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology* 50: 1-17.
- DAVIDSON P.M. (1993). Parabens and phenolic compounds. In *Antimicrobial in Foods*, P.M. Davidson and A.. L. Branen (Eds.). New York: Marcel Dekker. Pp. 263-306.
- EJECHI B.O., D.E. AKPOMEDAYE (2005). Activity of essential oil and phenolic acid extracts of pepperfruit against some food-borne microorganisms. *African Journal of Biotechnology* 4(3): 258-261.
- ESKIN N.A.M., ROBINSON D.S. (2001). *Food shelf life stability: Chemical, Biochemical, and Microbiological Changes*. London: CRC Press. Pp. 198-205
- FERNÁNDEZ-GINÉS J.M, J. FERNÁNDEZ-LÓPEZ, E. SAYAS-BARBERÁ, J.A. PÉREZ-ALVAREZ (2005). Meat products as functional foods: a review. *Journal of Food Science* 70: R37-R43.
- FERNÁNDEZ-LÓPEZ J., L. SEVILLA. M.E. SAYAS-BARBERÁ, C. NAVARRO, F. MARÍN, J.A. PÉREZ-ALVAREZ (2003). Evaluation of the antioxidant potential

- of hyssop (*Hyssopus officinalis*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract in cooked pork meat. *Journal of Food Science* 68: 660-664.
- FERRELL J.E., P.D. CHANG-SING, G. LOEW, R. KING, J.M. MANSOUR, T.E. MANSOUR (1979). Structure/activity studies of flavonoids as inhibitors of cyclic AMP phosphodiesterase and relationship to quantum chemical indices. *Molecular Pharmacology* 16: 556-562.
- JUNTACHOTE T., E. BERGHOFER, S. SIEBENHANDL, F. BAUER. 2007. Antioxidative effect of added dried Holy basil and its ethanolic extracts on susceptibility of cooked ground pork to lipid oxidation. *Food Chemistry* 100: 129-135.
- KAROU D., M.H. DICKO, J. SIMPORE, A.S. TRAORE (2005). Antioxidant and antimicrobial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology* 4(8): 823-825.
- LAI SM, JL GRAY, DM SMITH, AM BOOREN, RL CRACKEL, DJ BUCKLEY. 1991. Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets. *Journal of Food Science*. 56: 616-620.
- LEE Y., L.R. HOWARD, B. VILLALÓN (1995). Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annum*) cultivars. *Journal of Food Science* 60(3): 473-476.
- MADHUIJITH T., F. SHAHIDI (2005). Antioxidant potential of pea beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Science* 70(1): S85-S90.
- MELTS M.L., J.T. MaC GREGOR. 1981. Activity of the plant flavonol quercetin in the mouse lymphoma L5178Y TK^{+/-} mutation, DNA single-strand break, and balb/c 3T3 chemical transformation assays. *Mutation Research* 88: 317-324.
- MONROY VAZQUEZ A., 2007. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos polifenólicos de romero y chile ancho y su aplicación en un producto cárnico. Tesis Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, México.
- Mori A, C Nishino, N Enoki, S Tawata. 1987. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. 26: 2231-2234.
- PEREIRA J.Á., A.P.G. PEREIRA, I.C.F.R. FERREIRA, P. VALENTÃO, P.B. ANDRADE, R. REABRA, L. ESTEVINHO, A. BENTO (2006). Tables olives from Portugal: Phenolic compounds, antioxidant potential, and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8425-8431.
- PROESTOS C., N. CHORIANOPOULOS, G.J. NYCHAS, M. KOMAITIS (2005). RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1190-1195.

- RE R., N. PELLEGRINE, A. PROTEGGENTE, A. PANNALA, M. YANG, C. RICE-EVANS (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decoloration assay. *Free Radical Biological Medicine* 26 (9-10): 1231-1237.
- RIZNAR K., S. CELAN, Z. KNEZ, M. SKERGET, D. BARMAN, R. GLASER (2006). Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary extract in chicken frankfurters. *Journal of Food Science*. 71(7): C425-C429.
- ROBARDS K.G., P.D. PRENZLER, G. TUCKER, P. SWATSITANG, W. GLOVER (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66: 401-436.
- SCALBERT A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30: 3875-3883.
- SSA (1994a). Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- SSA (1994b). NORMA Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- SUN T., Z. XU, C.T. WU, M. JAMES, W. PRINYAWIWATKUI, H.K. NO (2007). Antioxidant activities of different colored sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science* 72(2): S98-S102.
- TARLADGIS B., W. BETTY, Y. MARGARET (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid food. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 37(1): 44-48.
- VELIOGLU Y.S., G. MAZZA, B.D. OOMAH. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal Agricultural of Food Chemistry* 46: 4113-4117.
- ZIPSER M., B. WATTS (1962). A modified 2-tiobarbituric acid (TBA) method for the determination of malonaldehyde in cured meats. *Food Technology* 17(7): 102-104.