

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



**“CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL ACEITE
ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*), FRENTE
A LA E. COLI (*Escherichia coli*) EN LA CARNE DE CUY
RAZA PERÚ”**

**TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO QUÍMICO**

PRESENTADO POR

MORALES GRADOS MIGUEL ANGEL

ASESOR

Dra. LIDA SANEZ FALCON

Callao, 2019

PERÚ

PRÓLOGO DEL JURADO

La presente Tesis fue Sustentada por el señor Bachiller **MORALES GRADOS MIGUEL ANGEL** ante el **JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS** conformado por los siguientes Profesores Ordinarios:

ING° CARLOS ALEJANDRO ANCIETA DEXTRE PRESIDENTE

ING° JULIO CÉSAR CALDERÓN CRUZ SECRETARIO

ING° RICARDO RODRIGUEZ VILCHEZ VOCAL

ING° LIDA CARMEN SANEZ FALCÓN ASESORA

Tal como está asentado en el Libro de Actas N° 1 de Tesis con Ciclo de Tesis Folio N° 49 y Acta N° 48 de fecha TREINTA Y UNO DE AGOSTO DE 2019, para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico en la Modalidad de Titulación de Tesis con Ciclo de Tesis, de conformidad establecido por el Reglamento de Grados y Títulos aprobado con Resolución N° 309–2017–CU de fecha 24 de octubre de 2017 y en su Cuarta Disposición Transitoria, norman los requisitos de los expedientes para la obtención del Grado Académico de Bachiller

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de tesis a Dios, por todo su amor desde que me dio el milagro de la vida.

A mis padres y hermanos por todo el esfuerzo que hicieron por mi persona.

A mis hijos que son el motivo de mi superación, y a su madre, una mujer increíble que siempre me apoyó en todo momento.

AGRADECIMIENTO

A mi familia y amigos por todo su apoyo constante e incondicional.

A la Dra. Lida Sanez Falcón y al Mg Edgar Zarate Sarapura por todos sus consejos y guía cognitiva, que hicieron posible este presente trabajo de tesis.

A todos mis docentes y trabajadores de la Universidad Nacional del Callao (UNAC) por su cariño y apoyo, en especial a la Mg Estela Toledo Palomino por su apoyo desde el inicio de la tesis.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	4
ÍNDICE DE FIGURAS	5
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	8
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	10
1.2. Formulación del problema.....	11
1.2.1 Problema general	11
1.2.2 Problemas específicos.....	11
1.3. Objetivos.....	11
1.3.1 Objetivo general.....	11
1.3.2 Objetivos específicos.....	12
1.4 Limitantes de la investigación.....	12
II. MARCO TEÓRICO.....	13
2.1. Antecedentes.....	13
2.1.1. Antecedentes internacionales	13
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	15
2.2. Bases teóricas.....	17
2.2.1 Cuy (<i>Cavia porcellus</i>)	17
2.2.2 <i>Escherichia coli</i>	21
2.2.3 Microbiología alimentaria.....	25
2.2.4 Muña (<i>Minthostachys mollis</i>)	26
2.3. Conceptual.....	33
2.4. Definición de términos básicos.....	33
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES	35
3.1 Hipótesis general y específicas.....	35
3.1.1 Hipótesis general.....	35
3.1.2 Hipótesis específica.....	35

3.2 Definición conceptual de las variables	35
3.2.1 Variable dependiente:	35
3.2.2 Variables independientes:	36
3.2.3 Operacionalización de la variable	38
IV. DISEÑO METODOLÓGICO	39
4.1. Tipo y diseño de la investigación	39
4.1.1 Tipo de investigación	39
4.1.2 Nivel de la investigación	39
4.1.3 Diseño de la investigación	39
4.2 Método de investigación	40
4.3 Población y muestra	40
4.3.1 Población	40
4.3.2 Muestra	40
4.4. Lugar del estudio y periodo de desarrollo	41
4.5. Técnicas e instrumentos para la recolección de la información	41
4.5.1 Materiales y equipos	41
4.5.2 Técnicas para la recolección de la información	42
4.6. Análisis y procesamiento de datos	45
V. RESULTADOS	48
5.1 Resultados descriptivos	48
5.2 Resultados inferenciales	50
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	54
6.1 Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados	54
6.2 Contrastación de resultados con otros estudios similares	54
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXOS	64
A. 1 Matriz de consistencia	65
A. 2 Modelamiento de la ecuación de Gompertz a la concentración de 0,6%	66

A.3	Modelamiento de la ecuación de Gompertz a la concentración de 1,2%.	67
A. 4	Modelamiento de la ecuación de Gompertz a la concentración de 2,4%.	68
A.5	Prueba de post hoc.....	69
A. 6	Clonas de E.coli patógenos	70
A. 7	Tabla de número más probable (NMP).....	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Caracterización fisicoquímica de la carne de tres líneas de cuyes.....	20
Tabla 2 Presencia de microorganismos en carne de tres líneas de cuyes.....	20
Tabla 3 Rangos de aceptación de la población de bacterias NTE INEN:1346...	20
Tabla 4 Características de los grupos de Escherichia coli causantes de diarrea.....	24
Tabla 5 Ensayos físicos aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	29
Tabla 6 Espectro infrarrojo aceite esencial de muña.....	30
Tabla 7 Espectro ultravioleta aceite esencial de muña (Concentración: 0,1 %. Rango: 190 - 820 nm.).....	30
Tabla 8 Composición química por cromatografía de gases y espectrometría de masa del aceite esencial de muña.....	31
Tabla 9 Composición química por cromatografía de gases y espectrometría de masa del aceite esencial de muña.....	32
Tabla 10 Operacionalización de las variables.....	38
Tabla 11 Calidad microbiológica de la carne de cuy fresca.....	46
Tabla 12 Carne cruda, refrigerada y congelada de algunos tipos de carnes...	46
Tabla 13 Crecimiento de E.coli en carne de cuy a 4 °C y 18 °C.....	46
Tabla 14 Crecimiento de Escherichia coli en carne de cuy fresca (Log UFC/g) conservado con extracto de muña y 4 °C.....	48
Tabla 15 Prueba de Tukey: Medias del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones.....	49
Tabla 16 Parámetros de crecimiento de Escherichia coli en carne de cuy fresca conservado con aceite esencial de muña (AEM) y 4 °C.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura.1. Cuy raza Perú.....	19
Figura 2. E.coli verotoxigenica.....	23
Figura 3. Especie: <i>MinthostachysSetosa</i>	32
Figura 4. Carne de cuy del mercado de Caquetá.....	42
Figura 5. Carne de cuy empacada en bolsa de polietileno.....	42
Figura 6. Análisis de coliformes totales: método número más probable....	43
Figura 7. Análisis de coliformes fecales: método número más probable....	44
Figura8. Siembra en placa de mesófilos y coliformes fecales.....	45
Figura9. Crecimiento de E.coli a dos temperaturas diferentes.....	47
Figura10. Media del crecimiento de E.coli a diferentes concentraciones.....	50
Figura11. Crecimiento poblacional de <i>Escherichia coli</i> a diferentes concentraciones usando la ecuación de Baranyi.....	51
Figura12. Crecimiento poblacional de <i>Escherichia coli</i> a diferentes concentraciones usando la ecuación de Gompertz.....	53

RESUMEN

Una de las mayores dificultades que se presenta en la sociedad actual es la de conservar todo tipo de carnes, las cuales muchas veces vienen con cierto grado de contaminación. En el Perú, y en muchas zonas alto andinas de América del Sur, la carne de cuy es muy consumida por su alto valor proteico. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal determinar la concentración mínima del aceite esencial de muña (*Mithostachys mollis*) para inhibir el desarrollo de *Escherichia coli* en la carne de cuy raza Perú y evitar de esta manera, posibles enfermedades en sus consumidores.

Se realizaron análisis microbiológicos usando el método de número más probable para determinar si la carne de cuy venía con cierto grado de carga microbiana, entre ellos la *Escherichia coli*. Comprobada la presencia de la bacteria en estudio, se aislaron colonias para observar el crecimiento de microorganismos mediante el conteo de placas de las soluciones de carne de cuy curada con aceite esencial de muña a diferentes concentraciones.

Se determinó que una concentración de 2,4mL de aceite esencial de muña por cada 100g de carne (2,4% de concentración en volumen) logra inhibir el crecimiento de la *Escherichia coli*, lo cual podría ser utilizado no sólo por los consumidores a manera de conservación de ésta carne, sino también por empresarios que deseen exportar esta sabrosa carne.

Palabras clave: *Escherichia coli*, muña (*Mithostachys mollis*), concentración, cuy.

ABSTRACT

One of the greatest difficulties that exists in today's society is to conserve all kinds of meats, which often come with a certain degree of contamination. In Peru, and in many high Andean areas of South America, guinea pig meat is widely consumed for its high protein value. The main objective of this research work was to determine the minimum concentration of the essential oil of muña (*Mithostachys mollis*) to inhibit the development of *Escherichia coli* in the guinea pig meat of Peru and thus avoid possible diseases in its consumers.

Microbiological analyzes were performed using the most likely number method to determine if guinea pig meat came with a certain degree of microbial load, including *Escherichia coli*. The presence of the bacteria under study was verified, colonies were isolated to observe the growth of microorganisms by counting plates of the solutions of guinea pig meat cured with essential oil of muña at different concentrations.

It was determined that a concentration of 2.4mL of essential oil of muña per 100g of meat (2.4% concentration in volume) manages to inhibit the growth of *Escherichia coli*, which could be used not only by consumers as of conservation of this meat, but also by entrepreneurs who wish to export this tasty meat.

Keywords: *Escherichia coli*, muña (*Mithostachys mollis*), concentration, guinea pig.

INTRODUCCIÓN

Conservar las carnes para evitar su descomposición debido básicamente a microorganismos patógenos usando productos de origen natural, como es el caso de los aceites esenciales, es una actividad de gran importancia y que cada vez despierta mayor interés en varios países del mundo moderno. Esto se ve favorecido debido a que existe en muchos consumidores, la educación de mantener una buena salud y por ende cambiar su estilo de vida en cuanto a su alimentación, pasando a consumir cada vez más alimentos que sean conservados con sustancias naturales.

La carne de cuy es una de las de mayor consumo en el Perú por su excelente sabor y calidad proteica, pero que debido a su mala manipulación ya viene con cierta carga microbiana y que causa lamentablemente en muchos de sus consumidores enfermedades diarreicas agudas(EDA).

El objetivo general del presente trabajo es determinar la concentración mínima del aceite esencial de muña para inhibir el desarrollo de *Escherichia coli* en la carne de cuy raza Perú, el cual se puede resolver determinando las propiedades físico químicas del aceite esencial de muña, para de esta manera conocer cuál o cuáles de las sustancias presentes en el aceite esencial, logran tener una acción inhibitoria en el microorganismo; posteriormente se procederá a realizar el análisis microbiológico a la carne de cuy, para determinar en qué condiciones llega la carne antes de ser tratada y por último, se realizará nuevamente un análisis microbiológico a la carne de cuy, pero esta vez tratada con el aceite esencial de muña para determinar con ello la inhibición que se genera en el desarrollo de la *Escherichia coli*. Cabe indicar a su vez que el presente trabajo no intenta determinar el tiempo de vida que tendrá la carne de cuy, pues ello sería tema de un análisis microbiológico más profundo.

Esperemos pues que el presente estudio sirva no sólo para realzar dos productos naturales autóctonos del Perú como lo es la muña y la carne de cuy, sino también de algunos otros productos que aún no han sido estudiados pero que se sabe de manera empírica poseen diversas propiedades beneficiosas para el ser humano. Poder generar una mejor forma de vida usando conservantes naturales sobre todo en diversos tipos de carnes debe servir para comercializar la misma en forma masiva no sólo en el Perú sino también en diversos lugares del Mundo evitando riesgo de contraer cáncer a largo plazo.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

La carne de cuy tiene un proceso de sacrificio informal y no técnico, en los diversos lugares de venta donde se puede adquirir. Debido a ello esta carne sufre una consecuencia bromatológica, que si bien es cierto es pequeña, no sucede lo mismo con la calidad microbiológica, producto de la contaminación que existe en ella, sea proveniente del mismo animal o por contaminación cruzada. Ésta calidad microbiológica influye en cuestiones de riesgo para la salud, debido a que puede ser portador de microorganismos patógenos para el hombre y desencadenar en enfermedades: generalmente gastrointestinales.

Hay que tener muy en cuenta que una temperatura de refrigeración no garantiza el incremento, disminución o inhibición de microorganismos alterantes y patógenos en la carne de cuy. Es por ello que conservar esta carne para darle un mayor tiempo de vida, es uno de los grandes inconvenientes que tienen muchos de los comerciantes y consumidores en general para el consumo de ésta sabrosa carne.

Puesto que en muchos casos la carne de cuy ya viene con cierto grado de contaminación, el presente trabajo pretende inhibir el crecimiento de los microorganismos patógenos, entre ellos el de la *Escherichia coli*, usando para ello el aceite esencial de muña, por sus propiedades antibacterianas que presenta. Actualmente existen diversas formas de conservación que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos y que le dan a la carne no sólo la calidad microbiológica y bromatológica apta para el consumo humano sino también un tiempo de vida prolongado. Una de las formas más habituales en la conservación de las carnes, es usando diversas sales que contienen los radicales nitritos, nitratos y sulfitos, que cumplen muy bien la función de conservar la carne y darle un tiempo de vida prolongado a la misma, pero a su vez se ha llegado a demostrar que con el tiempo provocan diversos daños al ser humano, entre ellos el cáncer, que tanto daño a hecho y sigue haciendo a la sociedad.

De esta forma, obtener una concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de muña para evitar de esta manera el crecimiento de microorganismos como la E.coli y de paso conservar de manera natural un alimento altamente consumido como es la carne de cuy, será de mucho beneficio para la población peruana y porque no decirlo también para personas de otros lugares que sepan degustar esta sabrosa carne en sus múltiples presentaciones, asegurando con ello no sólo el sabor, la textura, color, etc.; sino también evitando el riesgo de contraer cáncer a futuro.

1.2. Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál será la concentración mínima del aceite esencial de muña para inhibir el desarrollo de *Escherichia coli* en la carne de cuy raza Perú?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Cómo se determinarán las propiedades físicas químicas del aceite esencial de muña?
2. ¿Cómo se realizará el análisis microbiológico de la carne de cuy fresca?
3. ¿Cómo se realizará el análisis microbiológico de la carne de cuy tratada con el aceite esencial de muña?

1.3. Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar la concentración mínima del aceite esencial de Muña para inhibir el desarrollo de *Escherichia coli* en la carne de cuy raza Perú.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar las propiedades físico químicas del aceite esencial de muña.
2. Definir el análisis microbiológico que se aplicará a la carne de cuy fresca.
3. Determinar el análisis microbiológico que se aplicará a la carne de cuy tratada con el aceite esencial de muña.

1.4 Limitantes de la investigación

1. Límites teóricos
 - Las diversas formas de manipular al cuy por parte de los vendedores al momento del sacrificio en los diversos establecimientos, generan muchas veces contaminación cruzada que interfieren en el verdadero resultado del análisis microbiológico.
 - La volatilidad que poseen los aceites esenciales lo cual no permite un adecuado almacenamiento y tratamiento en la carne al momento de utilizarlo.
 - Separación de la carne del cuy respecto de su piel y huesos, pues está muy adherida a ambos.
2. Límites temporales
 - El tiempo que se ha tardado en tomar las pruebas de las muestras a diferentes concentraciones.
 - El costo para realizar la parte experimental de manera continua y repetitiva, es uno de los principales inconvenientes que se presentan en la investigación.
3. Límites espaciales
 - El traslado de la carne de cuy desde un lugar alejado, podría ser causante de crecimiento microbiano, alterando los análisis de estudio.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Stashenko (2009) en su libro titulado: *Aceites esenciales*, Bucaramanga, Colombia nos afirma: “Las plantas aromáticas – aquellas que generan esencias en cantidades apreciables; pertenecen también al grupo de las llamadas plantas medicinales. Sus componentes solos o en combinación, exhiben una o varias actividades biológicas, e.g., antibacteriana, antiviral, anti fúngica, entre otras” (p.18).

Concluyendo que los aceites esenciales presentan en su gran mayoría, moléculas de gran actividad antibacteriana y que puede sustituir a muchos productos químicos.

Flores(2010) en su tesis de pregrado titulado: *Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso*, Universidad de Chile, Santiago, Chile nos dice: “Son muchas las propiedades farmacológicas que se podrían atribuir a los aceites esenciales como bactericida o antimicótica, pero sólo algunas de ellas han sido estudiadas totalmente. Hay que tener en cuenta no obstante que algunas esencias pueden ser peligrosas” (p.28).

Se sabe claramente también que las esencias obtenidas de las diversas hierbas que existen, no solo presentan actividades antimicrobianas, sino también farmacológicas, motivo por el cual es cada vez más difundido el uso de ellos, pero que debiera usarse siempre con la supervisión de un profesional para indicar la dosis adecuada.

Staschenko (como se citó en Julio, Rodriguez, Urbina ,Granados, & Acevedo, 2012), en un artículo titulado: *Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de la candia (hibiscus esculentus) aplicada a una hamburguesa de carne bovina*, de la revista Redalyc ,Medellin, Colombia nos dice acerca de los

aceites esenciales que: “Presentan diferentes componentes volátiles, debido al metabolismo secundario de las plantas, mezclados entre sí y cuya composición en parte está dada por terpenos que responden a la fórmula $(C_5H_8)_n$ además de otros compuestos casi siempre oxigenados”.

Esta sinergia de terpenos (en su mayoría), con alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y compuestos fenólicos hacen de los aceites esenciales, sustancias capaces de inhibir diversos tipos de microorganismos, que le son de beneficio a ellas mismas para protegerse de diferentes tipos de insectos y que el ser humano las aprovecha, no sólo para aromatizar, sino también para preservar sus alimentos de microorganismos patógenos.

Watson *et al* (como se citó en Guiza, 2007), en su tesis de pregrado titulado: *Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado con inactivación térmica*, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia nos dice que: “Las plantas tienen una capacidad casi ilimitada para sintetizar sustancias, siendo la mayoría fenoles o sus derivados oxígeno – sustituidos. En general son metabolitos secundarios de los cuales por lo menos el 10% se han aislado”.

Murphy (como se citó en Guiza, 2007) nos dice que “en muchos casos, estas sustancias sirven a la planta como mecanismos de defensa contra el ataque de microorganismo, insectos y herbívoros. Algunos como los terpenoides, proporcionan a la planta sus olores, otros (quinonas y taninos) son responsables del pigmento”.

Dentro de los compuestos presentes en los extractos vegetales que poseen actividad antimicrobiana, se pueden mencionar el timol, el carvacrol, o el eugenol; algunos autores como Conner en 1993, reportaron la alta actividad antimicrobiana de éstos compuestos en forma pura.

Se puede concluir una vez más la importancia de la composición química que presentan los aceites esenciales de las distintas hierbas que existen en el Mundo, pues su alto contenido en terpenoides, la convierte en un buen antibacteriano natural.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Carhuapoma et al. (2009) en un artículo titulado: *Actividad antibacteriana del aceite esencial de *minthostachys mollis* griseb "ruyaq muña*, de la revista Ciencia e investigación, Lima, Perú nos dice que: "existe dentro de los componentes que poseen los aceites esenciales, gran capacidad de poseer efectos antibacterianos, debido básicamente a las sustancias terpénicas y fenilpropánicas" (p.38).

Viendo que las sustancias principales halladas en la gran mayoría de aceites esenciales obtenidos de diversas hierbas naturales son los terpenos, podríamos concluir que gracias a ésta sustancias, se logra inhibir el crecimiento de muchos microorganismos causantes de la descomposición de los productos alimenticios, en especial las carnes.

Buitrón & Quispe (2016) en su tesis de pregrado titulado: *Conservación de la carne de cuy (*Cavia porcellus*) línea Perú en ambiente modificado con aceite esencial natural de romero (*Rosmarinus officinalis*), y orégano (*Origanum vulgare*)*, Universidad Nacional del Centro, Huancayo, Perú nos dice que:

(...) teniendo la carne de cuy un gran potencial alimenticio es necesario buscar otros métodos de conservación y de esta manera incentivar su consumo. Los aceites esenciales purificados a partir de hierbas de uso tradicional. El timol, el carvacrol, y el pineno son fenoles que se encuentran presentes en los aceites esenciales de orégano y romero, los que se emplean en la industria alimenticia como antibacterianos; estos aceites han mostrado un efecto frente a bacterias Gram negativas y Gram positivas. Teniendo ambos una buena aceptación por el consumidor por ser hierbas aromáticas utilizadas en la gastronomía. (p.1)

Se concluye pues, de manera tácita, que existe un nuevo concepto por cambiar

la forma de preservar los alimentos , acercandonos más a lo que la naturaleza nos brinda: los aceites esenciales.

Rudas(2017) en su tesis de pregrado titulado: *Composición química, fraccionamiento y actividad in vitro del aceite esencial de Aloysia citriodora Palau ("Cedrón") sobre las bacterias Escherichia coli y Salmonella typhimurium*, Universidad Peruana Cayetano Heredia,Lima,Perú nos dice que en 2011, en un estudio realizado por F. Romero, se evaluó la actividad antimicrobiana de algunos aceites esenciales comercialmente disponibles, entre ellos, el cedrón.

El mayor componente del aceite esencial de cedrón fue el geranial (41%), seguido por neral y 1,8–cineol. La actividad antimicrobiana de sus aceites esenciales se evaluó sobre la supervivencia y el crecimiento de algunos microorganismos considerados peligrosos para el consumo humano: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* mediante el método de difusión de disco. De esta manera, el cedrón fue clasificado extremadamente sensible para el *S. aureus*, y sensible para *E. coli* y *Listeria innocua*. (p.12)

Podríamos concluir que las propiedades físico químicas de los aceites esenciales de las diversas hierbas naturales, son de vital importancia para determinar cuál es la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos para diversos tipos de alimentos, sobre todo en las carnes rojas.

2.2. Bases teóricas

2.2.1 Cuy (*Cavia porcellus*)

a. Reseña histórica. - El cuy es un roedor conocido en el Perú y diversas zonas alto andinas de América del Sur desde muchos años atrás, como datan los estudios realizados por diversos historiadores y arqueólogos. El principal uso que se le ha dado a este animalito, es como fuente de alimentación, por presentar una carne muy sabrosa y nutritiva.” El cuy (*Cavia porcellus*), conocido también como cobayo, curiel o curí, es un mamífero roedor que fue domesticado en la región Andina de Sudamérica, donde ha sido utilizado, principalmente, como fuente de alimento” (Flores, Duarte, & Salgado, 2016, p. 41).

De acuerdo a los antecedentes históricos podríamos decir que existen diversas pruebas de la existencia de este roedor, y de su relación directa con el ser humano, que datan incluso desde las culturas pre incas.

Se tienen diversas pruebas que nos demuestran que el cuy fue domesticado hace 2500 a 3600 años. En los estudios de los diversos tipos de rocas hechos en el templo del Cerro Sechín (Perú), se hallaron abundantes excretas de cuy y en el primer periodo de la cultura Paracas, llamado Cavernas (250 a 300 a.C.), ya se alimentaba con carne de cuy (Chauca, 1997).

Estudios realizados por diversos científicos peruanos acerca del cuy en el antiguo Perú, nos dan una idea de la importancia que presenta para ellos (arqueólogos e historiadores en especial) ya que de esta manera se ha podido conocer más acerca de las costumbres y actividades que fueron realizadas por los antiguos peruanos.

Tello (como se citó en Segura, 2007, p.12) en sus estudios realizados en el templo del cerro Sechin encontró abundantes depósitos del estiércol de cuy. Engel en sus estudios realizados sobre la cultura de paracas denominado “cavernas” por Tello determinó que 250 a 300 años A.C. ya el hombre se

alimentaba con carne de cuy y más tarde en el tercer periodo de esta misma cultura descubrió en un pueblo donde todas las casas tenían cuyeras; es decir, que 1400 años d.C. ya se consumía grandes cantidades de carne de cuy.

b. Clasificación. - De acuerdo a su clasificación zoológica podemos decir que el cuy se clasifica de la siguiente manera:

Phylum..... Vertebrado
Subpylum..... Gnasthosmata
Clase..... Mamífero
Subclase..... Thería
Infraclase..... Eutheria
Orden..... Roedores
Suborden..... Hystricomorpha
Familia..... Cavididae
Género..... Cavia
Espécie..... *Cavia porcellus*

Debido a los difíciles términos usados en la clasificación zoológica, la forma más comercial de clasificar a los cuyes por los microempresarios es por su tipo de raza, en la cual podemos diferenciar: raza Andina, raza Inti, raza Mantaro y raza Perú, siendo este último el que presenta mejor biotipo y el de mayor consumo por la población. Es sabido que la raza Perú presenta gran desarrollo muscular y por tanto es un gran convertidor de alimento. Su coloración es marrón, similar al de la canela, con toques blancos y puede ser combinada o fajada, su pelo es liso, por lo que se le clasifica de acuerdo a ello al tipo A. En su cabeza puede o no existir remolino, las orejas caídas y ojos negros en su mayoría, siendo los de ojos rojos no recomendables para el consumo. (Ataucusi, 2015, p.12)



Figura.1. Cuy raza Perú.

Copyright 2011 por Instituto Nacional de Innovación Agraria.
Reimpreso con permiso.

c. Sacrificio. – Existen diversas formas de sacrificar al cuy, pero de la buena manipulación que se tenga al momento del proceso se evitará tener una contaminación cruzada en la carne, lo cual nos permitirá un análisis más correcto en cuanto a la carga microbiana.

La forma más usual de sacrificio por muchos comercializadores de cuy es aquella en la que se realiza un desnucamiento del animal mediante un estiramiento de sus patas y cuello, para su posterior corte en el cuello y desangrado. Acto seguido el animal es sumergido en agua caliente para eliminar el pelaje y dejar sólo la piel.

d. Caracterización de la carne de cuy. - La carne de cuy ha alcanzado en los últimos años gran demanda, no sólo en el Perú sino también en otros países del altiplano, justamente por su gran sabor y propiedades nutritivas, como lo muestra la tabla 1. Lamentablemente uno de los mayores problemas que se presenta en esta carne, de alto valor nutritivo, es el tiempo de vida que posee, pues en muchos casos la carne ya viene contaminada (como lo muestra la tabla 2), sea por la naturaleza del animal o por contaminación cruzada al momento del sacrificio, lo que no permite tenerla por mucho tiempo almacenada para su posterior consumo. La tabla 3 nos permite saber el rango promedio de aceptación de la población de bacterias en la carne de cuy.

Tabla 1

Caracterización fisicoquímica de la carne de tres líneas de cuyes.

<i>Variables</i>	Peruano mejorado	Criollo	Andino
Proteína %	17,78	19,39	18,55
Grasa %	8,56	7,93	7,66
Humedad %	73,48	72,83	75,84
Ceniza %	1,26	1,21	1,08
pH	6,47	6,38	6,41

Recuperado de Flores, C., Duarte C. y Salgado. Copyright 2017 por Morales. Reimpreso con permiso.

Tabla 2

Presencia de microorganismos en carne de tres líneas de cuyes

Microorganismo	Línea de cuyes	UFC/g (log)
Coliformes totales	Criollo	1,0
	Peruano mejorado	1,0
	Andino	1,0
<i>Escherichia coli</i>	Criollo	1,0
	Peruano mejorado	1,0
	Andino	1,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	Criollo	2,5
	Peruano mejorado	2,2
	Andino	2,5
<i>Salmonella</i> spp.	Criollo	Ausencia
	Peruano mejorado	Ausencia
	Andino	Ausencia

Recuperado de Flores, C., Duarte C. y Salgado. Copyright 2017 por Morales. Reimpreso con permiso.

Tabla 3

Rangos de aceptación de la población de bacterias NTE INEN:1346

Microorganismo	Mínimo	Máximo
Coliformes totales	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$
<i>Escherichia coli</i>	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^2$
<i>Salmonella</i> spp.	Ausencia	_____

Recuperado de Flores, C., Duarte C. y Salgado. Copyright 2017 por Morales. Reimpreso con permiso.

2.2.2 *Escherichia coli*.

a. Microorganismos. - El mundo actual en el que nos desarrollamos sigue presentando un sinfín de pequeños seres vivientes denominados microorganismos, los cuales pueden tener diferentes formas y tipos, y ser beneficiosos o perjudiciales para el hombre. *Escherichia coli* es uno de los tantos millones de microorganismos que habitan y han habitado la Tierra durante muchos años. Estos seres primitivos y numerosos los hallamos en todo tipo de ambiente como el agua, aire o suelo, motivo por el cual participan en todos los ecosistemas y por ende en relación con las plantas, animales y el hombre (Montaño y Camargo, 2010).

b. Clasificación de los microorganismos. – Es sabido que la microbiología es una ciencia que se ha encargado de realizar un estudio más concienzudo de los diferentes tipos de microorganismos que existen, y de sus principales aportes o perjuicios que representan para el ser humano. “Se agrupan en dos categorías: procarióticos y eucarióticos. En la primera están las archaeas y las bacterias, mientras que en la segunda se encuentran hongos, algas y protozoarios. De manera convencional los virus, viroides y priones son también considerados microorganismos” (Montaño , Sandoval, Camargo, & Sánchez, 2010, p. 16).

c. *Escherichia coli*. - Es una bacteria que la encontramos en diversos lugares del cual nos desarrollamos, principalmente en los alimentos que consumimos a diario, los cuales pueden llegar contaminados de manera natural como es el caso de las carnes o lácteos, o por contaminación cruzada. Respecto de qué es la *Escherichia coli* y de cómo afecta al ser humano, Rodriguez (2002) afirma:

Escherichia coli es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, tribu Escherichia. Esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea. (p. 465)

Escherichia coli es una bacteria que ataca el intestino del ser humano, principalmente a los de menor edad, causando en ellos fuertes diarreas que si no son tratadas a tiempo podrían causar daños muy graves.

Enfermedad diarreica aguda (EDA) es el término adoptado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para referirse a un proceso inflamatorio gastrointestinal infeccioso o no infeccioso, asociado a una disminución en la consistencia y un aumento en la frecuencia (mayor a tres veces por día) de las deposiciones fecales. La diarrea puede ser líquida, semilíquida, y puede contener moco y sangre. Otras manifestaciones clínicas de la EDA son náuseas, vómitos, dolor abdominal, fiebre y deshidratación. (Gómez,2014,p.3)

d. Clasificación de *Escherichia coli*. - La clasificación taxonómica de la *Escherichia coli* es:

Dominio:	Bacteria
Reino:	Bacteria
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Enterobacteriales
Género:	Escherichia
Especie:	E.coli



Figura 2. E.coli verotoxigenica.
Copyright 2013 por Erika: Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Reimpreso con permiso

Si bien es cierto existen cientos de cepas de *Escherichia coli*, la clasificación de acuerdo a su mecanismo de patogenicidad es la que más importa al ser humano, por los daños que pueda causar. Rodríguez (2002) afirma:

Las cepas de *E. coli* causantes de diarrea se clasifican en seis grupos: enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica también conocidas como productoras de toxina Vero o toxina semejante a Shiga (EHEC o VTEC o STEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y adherencia difusa (DAEC). (p.465)

La tabla 4 nos da en resumen las características de *Escherichia coli* causantes de enfermedades diarreicas y de cómo éstas (las enfermedades diarreicas) las adquieren en mayor grado los niños menores de un año debido a que su organismo no está aún fortalecido, siendo las bajas defensas que presentan, lo que los hace más vulnerables.

Tabla 4

Características de los grupos de Escherichia coli causantes de diarrea

Grupo	Síntomas clínicos	Epidemiología	Serogrupos y serotipos más comunes	Factores de patogenicidad
ETEC	Diarrea aguda acuosa	Niños menores de dos años y diarrea del viajero	O8:H9, O15:H11, O20:H-, O25:H-, O27:H7, O78:H12, O148:H28, O159:H20	ST y LT CFA
EHEC	SUH, CH, diarrea sin sangre, dolor abdominal, fiebre, vómito	Niños y adultos que adquieren por comer carne cruda o mal cocida	O157:H7, O26:H11, O103:H2, O113:H21, O119, O128, O145	STX A/E Intimina pO157
EIEC	Diarrea con moco y sangre o diarrea acuosa, también se presenta cuadro disentérico	Niños menores de seis meses	O28:H-, O112ac:H-, O144:H-, O152:H-, 164:H-, O167:H-	Invasividad de Plásmido 140MDa
EPEC	Diarrea aguda, dolor abdominal, vómito, fiebre baja	Niños menores de seis meses hasta dos años	O55, O86, O142, O111:H- O127	A/E, BFP Plásmido EAF de 50-70MDa
EAEC	Diarrea líquida, verde con moco, sin sangre, diarrea persistente hasta 20 días	Recién nacidos y niños menores de dos años	O44:H18	Fimbria AAFI y II EASTI Proteínas Pet y Pic OMP Plásmido de 60 MDa Citotoxina
DAEC	Diarrea acuosa sin sangre	Niños de 1 a 5 años	O126:H27	Fimbria OMP F1845

LT= toxina termolábil
 CFA= factor de colonización antigénico
 ST= toxina termo estable
 BFP= pili con forma rizada
 MDa=Megadaltones

EAF= factor de adherencia de EPEC
 OMP= proteína de membrana externa
 STX= toxina shiga
 EAST= toxina ST de cepas enteroagregativas

Recuperado de Rodríguez, M. Copyright 2002 por Morales. Reimpreso con permiso.

2.2.3 Microbiología alimentaria.

Los alimentos como las carnes deben estar exentas de microorganismos que sean patógenos para el ser humano, para ello se realizan diversas técnicas que determinen la cantidad de carga microbiana que puede poseer un alimento, determinando de esta manera que los productos que se comercialicen estén en óptimas condiciones para su consumo. Los principales métodos que se usan para determinar la carga microbiana en alimentos como las carnes son:

a. Método de recuento en profundidad de microorganismos aerobios mesófilos. - Según la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (anmat, 2014) (...) el método resulta aplicable para:

- Productos destinados al consumo humano y la alimentación animal;
- Muestras ambientales de área de producción y manipulación de alimentos para consumo humano y alimentación animal.

El proceso en resumen es:

- Preparación de la muestra: Por cada gramo de muestras, adicionar nueve mL del diluyente (dilución 1/10)
- Inoculación e incubación: transferir por duplicado un mL de las diluciones preparadas en placas de Petri. Si se siembra más de una dilución sembrar solo 1 placa por dilución (sembrar al menos 2 diluciones decimales consecutivas).
 - Verter 12 ml -15 ml del agar Plate Count Agar(PCA).
 - Incubar a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, $72 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$.
- Recuento y selección de las colonias:
 - Seleccionar preferiblemente las placas que tienen menos de 300 colonias.
 - Se cuentan las colonias que se observan en cada placa y se calcula el número de unidades formadoras de colonias presentes en 1 mL o 1g de muestra.

b. Método de aerobios mesófilos por recuento en placa. - Según (anmat, 2014): Este procedimiento se aplica para realizar la enumeración de microorganismos aerobios mesófilos por la técnica de recuento de colonias en placa a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ en muestras de alimentos congelados, refrigerados, precocidos o preparados. El proceso en resumen es:

- Preparación de la suspensión inicial:
 - Procedimiento 1
50 g de muestra más 450 mL de diluyente (dilución 10^{-1})
 - Procedimiento 2
 10 ± 0.1 g de muestra + 90 mL de diluyente (dilución 10^{-1})
- Inoculación e incubación:
 - Transferir por duplicado 1 mL de la suspensión inicial y 1 mL de las diluciones en placas de Petri vacías.
 - Verter 10 ml – 15 mL de agar para recuento en placa e incubar a $29^{\circ}\text{C} - 31^{\circ}\text{C}$, 48 ± 3 h
- Recuento y selección de las colonias características:
- Seleccionar las placas con un mínimo de treinta colonias y un máximo de 300 colonias y calcular el recuento.

2.2.4 Muña (*Minthostachys mollis*)

a. Reseña histórica de la muña. - La muña es una hierba autóctona del Perú que ha sido usada por las antiguas civilizaciones alto andinas de forma empírica, como una forma de medicina alternativa principalmente. Los usos que se le han dado a esta hierba han ido pasando de generación en generación hasta nuestros días de tal manera que muchas personas, generalmente de las zonas alto andinas del Perú, aún conservan estas formas de uso.

Como se mencionó anteriormente, la muña ha sido utilizada en el Perú hace muchos años atrás desde antes de la llegada de los españoles. Al respecto Cano (como se citó en Yapachura, 2010) nos dice:” Esta planta se denomina en lengua quechua “muña” y en aymara posee dos

nombres “coa” y “huaycha”; debido a sus características semejantes al poleo y al orégano, los españoles lo llamaban poleo silvestre perteneciendo este a una especie diferente” (p. 14).

MBG (como se citó en Quispe, 2015) nos informa que: “bajo el nombre de genérico de Muña se reconocen especies de por lo menos tres géneros diferentes, los cuales pertenecen a la familia de las lamiáceas: *Minthostachys*, *Satureja* y *Hedeona*” (p.3).

Rojas et al (como se citó en Quispe, 2015) nos dice que a lo largo de la Cordillera Andina crecen, en forma silvestre, alrededor de 12 especies del género *Minthostachys*. De éstas, hasta la fecha seis especies han sido reconocidas en el Perú donde reciben diferentes nombres locales, como el de muña como el más generalizado.

Salamanca (como se citó en Quispe, 2015) informa que otros nombres comunes que se le dan a las diversas especies del género *Minthostachys* son: Poleo Silvestre (Debido a su similitud con el Orégano y al Poleo), Huaycha (en lengua Aimara), Coa (en lengua Quechua), Muña-Muña, Arash Muña, Kon, Orcco-Muña, Ismush, Pachamuña y Hayamuña o Inkamuña.

b. Aceites esenciales - Clasificación. - Los estudios científicos realizados sobre la muña, datan de fechas no muy lejanas, y se le está dando realce sobre todo por su acción bactericida que presenta frente a diversos tipos de microorganismos debido a los compuestos químicos que posee tales como los terpenoides, los cuales se pueden apreciar en la caracterización que se le hace de su aceite esencial.” Los aceites esenciales son el producto final del metabolismo secundario de las plantas aromáticas. Están constituidos por terpenos con actividad y composición variada; después de la extracción generalmente son líquidos y rara vez sólidos o pastosos” (Alzamora, Morales , Armas, & Fernández, 2001 , p. 157).

Los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo a su consistencia, origen y composición química. Martínez (2003) afirma:

De acuerdo con su consistencia se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas. De acuerdo a su origen se clasifican como naturales, artificiales y sintéticas. Desde el punto de vista químico los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpenoides. Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpenoides. Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales fenilpropanoides. (p.1)

En la tabla 9 se pueden observar los principales grupos funcionales presentes en los aceites esenciales

- c. Extracción de los aceites esenciales. - La forma más usual de extraer los aceites esenciales es por el método de arrastre de vapor, no siendo el único ni el más efectivo. Al respecto Martínez (2003) afirma:

En la destilación por arrastre con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, es encerrada en una cámara inerte y sometida a una corriente de vapor de agua sobrecalentado, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias fluidas, especialmente las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada. (p.3)

- d. Clasificación de la muña. – La clasificación taxonómica de la muña (*Minthostachys mollis*) se presenta de la siguiente manera:

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Verbenales
Familia:	Lamiaceae
Subfamilia:	Nepetoideae
Género:	Minthostachys (Benth.) Spach
Especie:	Minthostachys mollis (Kunth) Grisebach

- e. Caracterización del aceite esencial de muña. – Las propiedades físico - químicas que presenta el aceite esencial de muña varía de acuerdo al lugar de procedencia, pero estas variaciones son mínimas en cuanto a lo que se refiere al porcentaje de abundancia de sus principales moléculas tal como lo muestra la tabla número 5, 6, 7 y 8.

Tabla 5

Ensayos físicos aceite esencial de Minthostachys mollis

Prueba	Resultados					
	Muña Tarma		Muña Huaraz		Muña Pampas	
Aspecto	Líquido transparente, color amarillo, olor agradable, sabor picante.	oleoso, color fuerte	Líquido transparente, ligeramente olor muy agradable, sabor picante.	oleoso, color verdoso.	Líquido transparente, ligeramente olor agradable, sabor picante.	oleoso, color amarillo, sabor
Miscibilidad	Inmiscible en agua, ligeramente miscible en alcohol al 70%, miscible en éter clorofonno y tetracloruro de carbono.		Idem.		Idem.	
Gravedad específica(25°C)	0.9189		0.9176		0.9159	
Índice de refracción (20°C)	1.4727		1.4746		1.4725	
Rotación óptica (20°C)	+ 3.45°		- 4.15°		- 3.30°	

Recuperado de Fuertes C., y Munguía Y. Copyright 2002 por Morales. Reimpreso con permiso.

Tabla 6

Espectro infrarrojo aceite esencial de muña

Número de onda	Grupos funcionales
3500 cm ⁻¹	Presencia de alcoholes, estiramiento OH
3080 cm ⁻¹	Presencia de C - H aromático
2957 - 2864 cm ⁻¹	Estiramiento C - H alifático
1709 cm ⁻¹	Estiramiento C = O (Cetona)
1664 cm ⁻¹	Corresponde a un doble enlace combinado con un grupo carbonilo.
1600-1500cm ⁻¹	Presencia de anillo aromático
1448 cm ⁻¹	Presencia de iso - propil
1369 cm ⁻¹	Presencia de enlaces metilénicos
1202 -799 cm ⁻¹	Presencia de alcoholes primarios, secundarios y terciarios.
1200-1100 cm ⁻¹	Presencia de C - O

Recuperado de Fuertes C., y Munguía Y. Copyright 2002 por Morales. Reimpreso con permiso.

Tabla 7

Espectro ultravioleta aceite esencial de muña (Concentración: 0,1 %. Rango: 190 - 820 nm.)

Banda de absorción			
Muña de Tarma	Muña de Huaraz	Muña de Pampas	
216-244 nm	218-242nm	218-244nm	Presencia de compuestos insaturados
266nm	268nm	270nm	Presencia de compuestos aromáticos

Recuperado de Fuertes C., y Munguía Y. Copyright 2002 por Morales. Reimpreso con permiso.

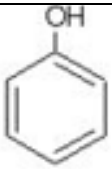
Tabla 8
Composición química por cromatografía de gases y espectrometría de masa del aceite esencial de muña.

Número de pico	Tiempo de retención(min)	Nombre	Porcentaje
1	2,092	Compuesto 1	0,12%
2	2,842	Compuesto 2	0,64%
3	4,083	β - Pineno	0,31%
4	4,342	β - Pineno (1 S)	0,26%
5	5,217	β - Mirceno	0,71%
6	5,692	α - Terpineno	0,58%
7	6,233	Limoneno	1,17%
8	6,533	β - Felandreno	0,08%
9	7,242	β - trans - ocimeno	0,52%
10	7,750	γ- Terpineno	7,55%
11	8,540	Cimeno	2,10%
12	10,442	Acetato de octilo	0,85%
13	12,325	3-Octanol (Amileti1 carbinol)	0,23%
14	14,908	2S-Trans-Mentona	41,48%
15	15,300	Copaeno	0,13%
16	15,708	2R-Cis-Mentona	2,80%
17	16,017	Compuesto 17	0,10%
18	16,600	Germacreno D	0,09%
19	16,600	Compuesto 19	0,09%
20	16,900	Compuesto 20	0,03%
21	17,242	Linalol	1,89%
22	18,392	Isocariofileno	1,96%
23	18,600	Compuesto23	0,00%
24	18,875	Compuesto24	0,15%
25	19,125	Compuesto 25	1,44%
26	19,675	Compuesto26	0,25%
27	20,400	Pulegona	16,02%
28	20,633	alpha.-Cariofileno	0,19%
29	21,617	Compuesto 29	0,93%
30	22,083	l-tetradeceno	0,17%
31	22,333	Germacrene B	1,48%
32	22,567	Piperitona	2,56%
33	22,717	Epóxido	4,32%
34	22,825	Compuesto 34	0,00%
35	22,950	Compuesto 35	0,04%
36	23,167	Compuesto36	0,28%
37	24,633	2 - Hidroxipiperitona	0,06%
38	25,817	Acetato de Timol	2,12%
39	27,475	Melonal	0,04%
40	27,650	2 - Pinen - 4 ona	0,38%
41	28,608	Epóxido	0,23%
42	29,575	6-Allyl-O-cresol	0,02%
43	30,325,	Metil eugenol	0,11%
44	34,242	Epóxido	0,28%
45	37,908	Timol	2,14%
46	39,500	Durenol	0,07%
47	46,517	Compuest047	0,12%
48	54,992	Androst-5-en-7-ona	0,19%
		TOTAL	97,28%

Recuperado de Fuertes C., y Munguía Y. Copyright 2002 por Morales. Reimpreso con permiso.

Tabla 9

Principales grupos funcionales de categoría en los aceites esenciales

Compuesto	Grupo funcional	Ejemplo	Propiedades
Alcohol	$\begin{array}{c} \\ -C-OH \\ \end{array}$	Mentol, geraniol	Antimicrobiano, antiséptico, tónico, espasmolítico.
Aldehído	$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C-H \end{array}$	Citral, citronelal	Espasmolítico, sedante, antiviral.
Cetona	$\begin{array}{c} O \\ \\ R^1-C-R^2 \end{array}$	Alcanfor, tujona	Mucolítico, regenerador celular, neurotóxico.
Éster	$\begin{array}{c} O \\ \\ R^1-C-O-R^2 \end{array}$	Metil, salicilato	Espasmolítico, sedativo, antifúngico.
Ésteres	$-C-O-C-$	Cineol, ascaridol	Epectorante, estimulante.
Éter fenólico	Anillo - O - C	Safrol, anetol, miristicina	Diurético, carminativo, estomacal, espectorante.
Fenol		Timol, eugenol, carvacrol	Antimicrobiano, irritante, estimulante, inmunológico.
Hidrocarburo	Sólo contiene C y H	Pineno, limoneno	Estimulante, descongestionante, antivírico, antitumoral.

Recuperado de Guerra Alva.

Copyright 2012 por Morales. Reimpreso con permiso.



Figura 3. Especie: *Minthostachys Setosa*.

Copyright 2015 por Quispe. Reimpreso con permiso.

2.3. Conceptual

El presente trabajo se está desarrollando, conocedores de las bondades antioxidantes y antimicrobianas que presentan las hierbas de origen natural y que abundan en nuestro territorio, como lo es la muña (*Minthostachys mollis*), así como difundir en la población, una nueva forma de preservar alimentos a través de los aceites esenciales. Una alimentación sana, libre de alguna posibilidad de mutación a nivel celular y que con el tiempo produzca daños sobre todo en la población de menor edad, asegurará no solo una mejora en las actividades físicas sino también un mejor rendimiento a nivel cognitivo. Es por ello el hecho de difundir a nivel nacional y mundial, la carne de cuy conservada de manera natural con aceite esencial de muña, que no sólo cumplirán con la misión de darle un prolongado tiempo de vida, sino que también le adicionara a la carne un sabor especial para su consumo.

2.4. Definición de términos básicos

- a. Aceites esenciales. – Son sustancias de bajo punto de ebullición y que se obtienen de las hojas, tallo, flores, semillas o raíces de una planta por diversos métodos de separación. La mayoría de ellos presenta en su composición química, sustancias químicas que resultan siendo fungicidas, bactericidas, antimicrobianas y antioxidantes.
- b. Antioxidantes. – Son sustancias que pueden ser de origen natural o artificial y que estabilizan o inhiben la formación de radicales libres, evitando la destrucción celular. (Coronado , Vega , Gutierrez, Vásquez , & Radilla, 2015, p.206).
- c. Antimicrobianos. – Son sustancias químicas que usadas en concentraciones adecuadas pueden eliminar o inhibir ciertos microorganismos patógenos para el ser humano.
- d. Concentración. – Matemáticamente es una relación que existe entre la cantidad de soluto, solvente o solución de una mezcla homogénea.
- e. Inhibidor microbiológico. – Es toda aquella sustancia que retarda o suspende el crecimiento de algún microorganismo en estudio.
- f. Cepas. – “Grupo de microorganismos, como bacterias o virus, que

pertenecen a la misma especie y comparten ciertas características que no se encuentran en otros miembros de la especie. Por ejemplo, el VIH puede sufrir mutaciones que producen diferentes cepas y cada cepa tiene un tipo diferente de resistencia a los medicamentos antirretrovirales (ARV)” (Anónimo).

g. Hierba.- “Una hierba es una planta de tamaño pequeño que no presenta un órgano del tipo leñoso. Hay hierbas anuales que nacen de las semillas cuando se inicia la estación más propicia, y otras que son vivaces y crecen desde tallos que se encuentran en la superficie o que son subterráneos” (Anónimo).

h. Unidad formadora de colonia(UFC). – Es una unidad de medida que permite cuantificar la cantidad de microorganismos en una muestra dada.

i. Número más probable. – Es una estimación estadística probabilística que permite cuantificar densidades poblacionales de microorganismos o células individuales.

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1 Hipótesis general y específicas

3.1.1 Hipótesis general

“Una concentración en volumen entre 0,5 % hasta 3,0 % del aceite esencial de muña, logrará inhibir el crecimiento de la *Escherichia coli*, en la carne de cuy, siendo este último (*E. coli*) uno de los causantes de su contaminación.”

3.1.2 Hipótesis específica

1. Los hidrocarburos terpénicos presentes en el aceite esencial de muña, lograrán inhibir de manera adecuada el crecimiento de microorganismos causantes de la descomposición de la carne de cuy, entre ellos a la *Escherichia coli*.
2. La carne de cuy adquirida de diversos establecimientos, viene ya con cierta cantidad de carga microbiana, sea por contaminación del propio animal o por contaminación cruzada, producto del manipuleo a la hora de la matanza.
3. Un análisis microbiológico realizado adecuadamente a la carne de cuy tratada con el aceite esencial de muña nos determinará la inhibición de la *Escherichia coli* mediante el método de número más probable y un conteo bacteriano, llevado a cabo en placas Petri, a diferentes concentraciones y tiempos.

3.2 Definición conceptual de las variables

3.2.1 Variable dependiente:

- Concentración mínima del aceite esencial de muña para inhibir el desarrollo de la *Escherichia coli*. - Los aceites esenciales son sustancias volátiles de gran uso industrial que son obtenidos de diversas partes de la planta. Para el caso del aceite esencial de muña, debido básicamente a su composición química que presenta, se le considera como un excelente

antibacteriano y por tanto se tomará una concentración adecuada del mismo para lograr inhibir el crecimiento de microorganismos, entre ellos

3.2.2 Variables independientes:

- Número de unidad formadora de colonias en la carne de cuy. – La unidad formadora de colonias (UFC) se analizan en los productos alimenticios y de acuerdo al grado de carga microbiana que presente el alimento en estudio se puede determinar si es de riesgo para la salud del consumidor. Para el caso del estudio de las UFC en las carnes, el método más usual es el de conteo de placas, que nos permitirá determinar la cantidad aproximada de carga microbiana que posee el alimento.
- Tiempo de desarrollo de la cepa *Escherichia coli*. - Rodriguez, M. (2002) refiere que esta bacteria coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea. De allí la importancia de inhibir el crecimiento de sus diversas variedades de cepas y darle un mayor tiempo de vida a la carne de cuy.

3.2.3 Operacionalización de la variable

La tabla 10 muestra cómo se ha llevado a cabo el manejo de las variables para dar solución al problema de estudio.

Tabla 10

Operacionalización de las variables

Variable dependiente	Dimensiones	Indicadores	Índices	Técnica estadística	Método y técnica
Concentración mínima del aceite esencial de muña para inhibir el desarrollo de la Escherichia coli.	Concentraciones adecuadas del aceite esencial de muña.	Presencia del aceite esencial de muña en la carne de cuy post mortem.	Concentración física del aceite esencial de muña dado en mL de aceite esencial por cada 100g de carne de cuy	Estadística Descriptiva.	Preparación de las soluciones.
Variable Independiente Número de unidad formadora de colonias en la carne de cuy.	Dimensiones Crecimiento de microorganismos entre ellos la (<i>Escherichia coli</i>) en la carne de cuy.	Indicadores Presencia de microorganismos patógenos en la carne de cuy.	Índices Número de microorganismos presentes tomadas en diversas zonas de la carne de cuy..	Técnica estadística El método por conteo de placas y número más probable(NMP).	Método y técnica Cultivo de la cepa de estudio.
Tiempo de desarrollo de la cepa Escherichia coli.	Cuatro días de observación del desarrollo de microorganismos.	Variación en cada tiempo, del desarrollo de microorganismos.	Cantidad de carga microbiana constante en un tiempo dado.	Estadística Descriptiva.	Observación del tiempo.

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Tipo y diseño de la investigación

4.1.1 Tipo de investigación

La presente investigación fue de tipo experimental, cuantitativa y longitudinal en el tiempo porque se desprende del conocimiento teórico un saber operativo, al buscar determinar la relación entre la causa y efecto utilizando los conocimientos científicos de la Química analítica, la Fisicoquímica y la Microbiología para resolver el problema del crecimiento de microorganismos patógenos como es el caso de la *Escherichia coli* en la carne de cuy a fin de mantener este alimento altamente nutritivo inocuo, y darle a su vez de manera indirecta un mayor tiempo de vida.

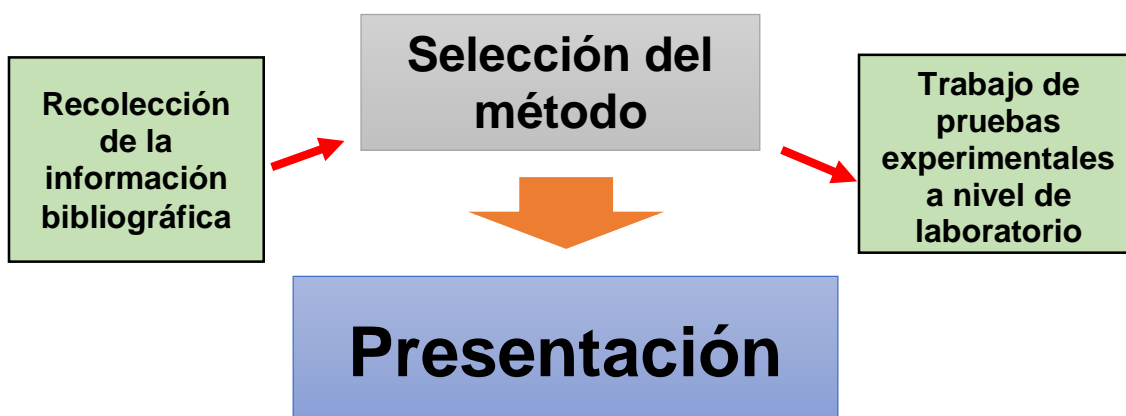
4.1.2 Nivel de la investigación

El nivel de la investigación es a nivel de laboratorio, con un grado de control riguroso, sobre las variables independientes.

4.1.3 Diseño de la investigación

La presente investigación obedece a un modelo experimental. Aquí se buscará relacionar a las variables a través de un proceso sistemático y controlado.

Se establece un programa para la recolección de la data:



4.2 Método de investigación

En el presente trabajo se empleará el método descriptivo, el mismo que se complementará con el estadístico, análisis, síntesis, deductivo y experimental.

4.3 Población y muestra

4.3.1 Población

Está representado por 50 cuyes del mercado de Caquetá, ubicado en el distrito de San Martín de Porres, departamento de Lima.

4.3.2 Muestra

Debido a que la población es pequeña comparada con otras de mayor tamaño y de acuerdo a la naturaleza del estudio realizado, se tomará un muestreo por conveniencia, el cual tendrá para la elección de los cuyes, las siguientes características:

- Cuyes que posean un peso promedio e 1Kg a más
- Color de ojos negros
- Color de pelo alazán o alazán con blanco
- Pelo liso y pegado

De acuerdo a los criterios dados anteriormente para la elección de los cuyes de toda la población, se escogieron tres cuyes de la raza Perú con dichas características. Cabe señalar que este muestreo es no probabilístico debido a que no brinda las mismas oportunidades para todos los integrantes de la población.

Los cuyes escogidos fueron sacrificados para posteriormente ser llevados a los respectivos análisis microbiológicos. La figura 4 muestra la carne de cuy fresca después del sacrificio.

4.4. Lugar del estudio y periodo de desarrollo

El análisis experimental se llevará a cabo en el laboratorio de la facultad de Ciencias Naturales, de la Universidad Nacional del Callao, la cual está ubicada en el distrito de Bellavista, en la Provincia Constitucional del Callao, Perú y tendrá un periodo de desarrollo de un mes, el cual corresponderá al mes de junio específicamente.

4.5. Técnicas e instrumentos para la recolección de la información

4.5.1 Materiales y equipos

a. Materia prima

La materia prima de estudio fue el cuy del cual se tomaron tres porciones de 100g, cada uno de diferentes partes de su cuerpo, y de cada porción se tomó 10g para los análisis microbiológicos correspondientes.

b. Medios de cultivo, reactivos, materiales y equipos.

- Agua de peptona para diluciones
- Agar para recuento en placa
- Homogeneizador
- Vasos o recipientes de vidrio o de metal, adecuados para el homogeneizador.
- Balanza de una capacidad no inferior a 2.500 g y de una sensibilidad de 0.1 g
- Instrumentos para preparar las muestras: cuchillos, tenedores, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, todo ello previamente esterilizado.
- Bolsas de polietileno de paredes delgadas.
- Congeladora 2°C - 5°C
- Pipetas bacteriológicas estériles de 1 ml, 5 ml y 10 ml de idénticas características.
- Tubos de cultivo para el diluyente de 15 ml - 20 ml de capacidad.
- Placas de Petri de vidrio (100 x 15 mm) o plástico de (90 x 15 mm) de diámetro.

- Varillas de vidrio en forma de bastón de hockey para distribuir el inóculo.

4.5.2 Técnicas para la recolección de la información.

- Obtención de la materia prima.** – Se usaron tres tipos de cuyes diferentes del mercado de Caquetá, para determinar si el grado de carga microbiana era el mismo en los tres animales.



Figura 4. Carne de cuy del mercado de Caquetá.
Elaboración propia.

- Troceado de la carne de cuy.** – De cada cuy, cuya masa aproximada fue de 900g cada uno, se hace un troceado de 100g de diferentes partes del cuerpo del animal y se le coloca en bolsas de polietileno de paredes delgadas, tal como muestra la figura 5.



Figura 5. Carne de cuy empacada en bolsa de polietileno.
Elaboración propia

- c. **Preparación de la muestra.** – De cada porción de 100g de carne de cuy, se toma una sub porción de 10g cada una y se tritura para poder homogenizarla en 90mL de agua peptonada. Luego en condiciones totalmente estéril se toman nueve tubos con caldo lauril sulfato de sodio.

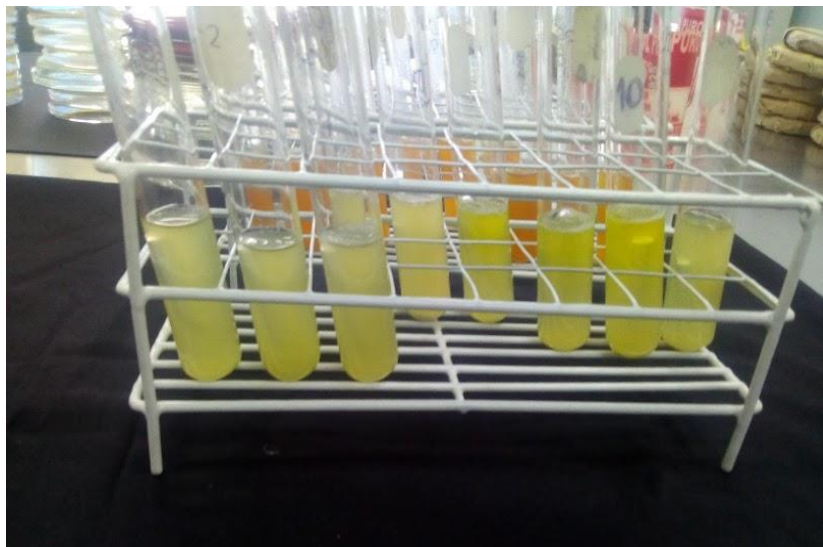


Figura 6. Análisis de coliformes totales: método número más probable.
Elaboración propia

Los tres primeros tubos tendrán una dilución 10^{-1} , los tres siguientes de 10^{-2} y los tres últimos tendrán una dilución de 10^{-3} . Esta prueba no dejará crecer los Gram positivos, sólo los Gram negativos, observándose en los tubos la formación de burbujas como lo muestra la figura 6. Luego de ello se va a la tabla de número más probable para determinar de

manera aproximada la cantidad de carga microbiana como por ejemplo salmonela.

Luego de veinticuatro horas se vuelven a tomar nueve tubos, en caldo de cultivo Brilla, para la prueba confirmativa, donde los tres primeros tubos tendrán una gota de la primera dilución, los tres siguientes una gota de la segunda dilución y los tres últimos tubos una gota cada uno de la tercera dilución (de las diluciones hechas en caldo lauril sulfato) para dejar crecer a los coliformes totales y puesto que de cada dilución sale un tubo con presencia de gas, se va nuevamente a la tabla de número más probable.

En el tercer día, de los tubos positivos se siembra en caldo E. coli (una gota de los tres tubos anteriores) y son llevados a baño maría a una temperatura de 44,5°C para dejar desarrollar a los coliformes fecales termotolerantes tal como muestra la figura 7.

Puesto que nuevamente hay presencia de burbujas, se lleva nuevamente a la tabla de número más probable, para realizar en el cuarto día la siembra por estrías en una placa EMB (Eosin Methylene Blue Agar).



Figura 7. Análisis de coliformes fecales: método número más probable.
Elaboración propia

d. Recuento en placa por siembra en extensión en superficie.

En la placa EMB, luego de que se observa en la misma un brillo metálico, se confirma la presencia de coliformes fecales tal como muestra la figura 8 y posteriormente se siembra una colonia de esta placa en medios diferenciales para observar la presencia de *Escherichia coli*.

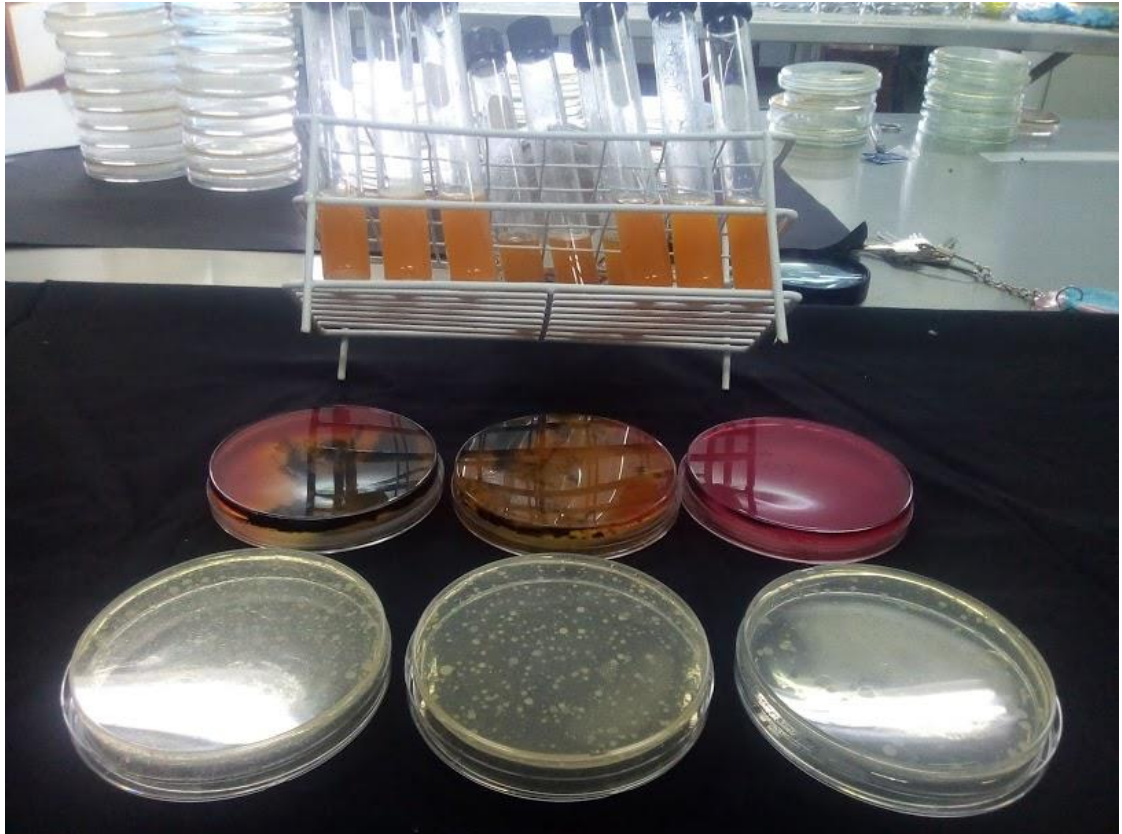


Figura8. Siembra en placa de mesófilos y coliformes fecales.
Elaboración propia

4.6. Análisis y procesamiento de datos

El presente trabajo de investigación es del tipo cuantitativo, motivo por el cual se hará uso de la experimentación a nivel de laboratorio para la recolección de datos, los cuales se analizarán posteriormente mediante el uso de software como Excel, Statistics 10 y SPSS 25

- **Análisis microbiológico de la carne de cuy fresca:**

A la carne de cuy fresca se realizaron pruebas microbiológicas, como: número más probable, cualitativo y recuento por placas; que determinaron la presencia de microorganismos patógenos en la carne.

La tabla número 11 nos indica la presencia de los microorganismos presentes en la carne de cuy.

Tabla 11

Calidad microbiológica de la carne de cuy fresca

Microorganismo	Población
Mesofilos aerobios (U.F.C/g)	3.87×10^5
Staphylococcus aureus	<10
Salmonella sp.	Ausente
Coliformes totales (NMP UFC/g)	$>2.4 \times 10^3$
Escherichia coli (NMP UFC/g)	1.5×10^1

Elaboración propia

El Ministerio de Salud (MINSA) nos determina ciertos requisitos microbiológicas para las carnes, como lo muestra la tabla número 12.

Tabla12

Carne cruda, refrigerada y congelada de algunos tipos de carnes.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por gramo	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10^5	10^7
Salmonella sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g

Recuperado de MINSA RM 007-2008 Copyright 2008. Reimpreso con permiso.

- **Conservación de la carne de cuy:**

Para determinar cuál sería la mejor temperatura de trabajo en la carne de cuy refrigerada, se usaron dos temperaturas, en las cuales se determinó como la mejor, aquella que presente menor crecimiento microbiano respecto del tiempo como lo muestra la tabla 13.

Tabla 13

Crecimiento de E.coli en carne de cuy a 4 °C y 18 °C.

Tiempo	Temperatura	
Horas	4 °C	Ambiente 18 °C

	Log UFC/g	Log UFC/g
0	4.32428246	4.29885308
3	4.56466606	4.88479536
6	4.92737036	5.51134852
9	5.26245109	6.8344207
12	6.65513843	8.54654266
15	7.80208926	9.87098881
18	8.28330123	9.97954837

Elaboración propia

La figura 9 nos ayuda a entender mejor el crecimiento de los microorganismos en la carne de cuy a las temperaturas antes mencionadas.

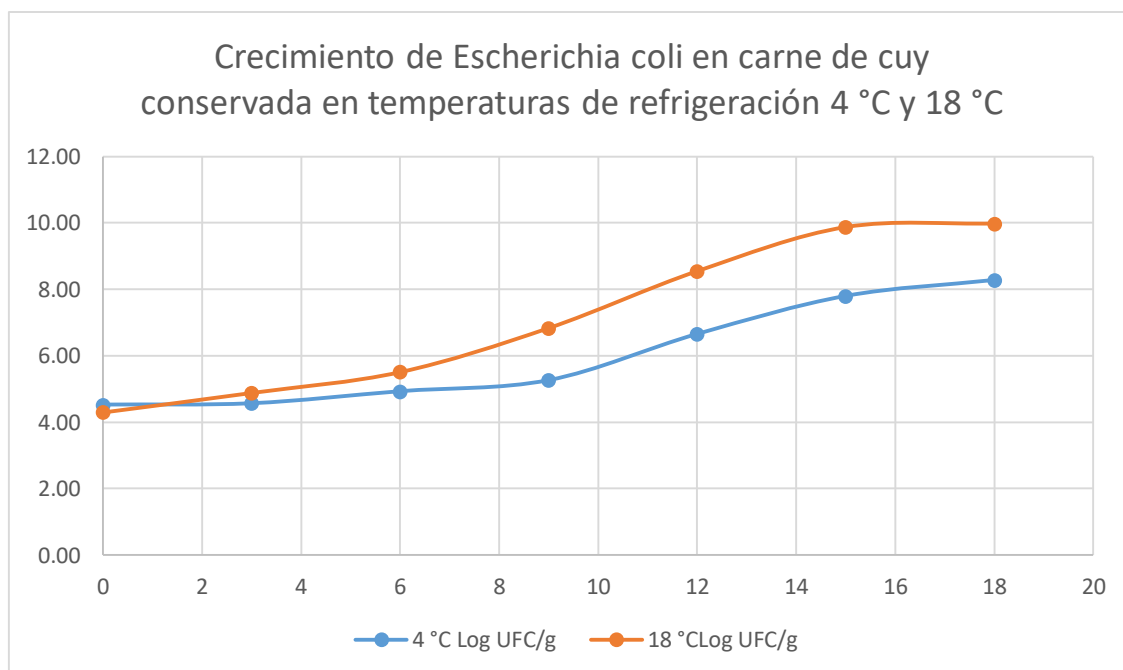


Figura9. Crecimiento de E.coli a dos temperaturas diferentes.
Elaboración propia

V. RESULTADOS

5.1 Resultados descriptivos

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo a la temperatura de 4 °C por tener la certeza, previo análisis microbiológico, de ser la temperatura más óptima para la conservación de la carne de cuy.

Se aplicó a la carne de cuy el aceite esencial de muña a diferentes cantidades, realizándose el análisis microbiológico en cada caso a diferentes tiempos, para poder observar el número de poblaciones distintas que se iban obteniendo, tal como lo muestra la tabla 14.

Tabla 14

Crecimiento de Escherichia coli en carne de cuy fresca (Log UFC/g) conservado con extracto de Muña y 4 °C

Tiempo Hrs	Concentración de extracto de muña		
	0.6%	1.2%	2.4%
0	3.91	3.41	3.63
6	3.98	3.41	3.51
12	4.15	3.45	3.19
18	4.32	3.43	2.56
24	4.49	3.42	2.22
30	4.79	3.34	1.57
36	4.98	3.28	1.24
42	5.15	3.12	1.13
48	5.32	3.03	1.12
52	5.49	2.95	1.11
58	5.67	2.81	1.11
64	5.84	2.65	1.11
72	6.06	2.65	1.11
78	6.23	2.65	1.15
84	6.4	2.75	1.18
90	6.57	2.85	1.24
96	6.64	2.95	1.27

Elaboración propia

La tabla número 15 nos muestra mediante la prueba de Tukey, la media que existe entre el crecimiento de la bacteria E.coli dado en Log(UFC/g) respecto de las diferentes concentraciones del aceite esencial de Muña (en mL/100g) .Los tres subconjuntos diferentes, muestran la poca relación que existe entre cada una de las medias , lo que implica que cada crecimiento bacteriano, a diferentes concentraciones es independiente uno del otro.

Tabla 15

Prueba de Tukey: Medias del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones.

Log(UFC/g)				
HSD Tukey ^a				
CONCENTRACIÓN	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
CONCENTRACIÓN 2.4	17	1,7324		
CONCENTRACIÓN 1.2	17		3,0676	
CONCENTRACIÓN 0.6	17			5,2935
Sig.		1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 17,000.				

Elaboración propia

La figura 10 nos aclara lo expuesto en la prueba de Tukey, pues se puede observar que la media obtenida en las concentraciones de 0,6 mL/100g; 1,2 mL/100g y 2,4 mL/100g del aceite esencial de Muña con un intervalo de confianza al 95% no solapan debido a la gran diferencia que existe entre ellas. Luego, se tiene que la concentración de aceite esencial de Muña a 2,4 mL/100g es la que, al presentar un valor menor en media, nos indica un menor crecimiento de la bacteria Ecoli.

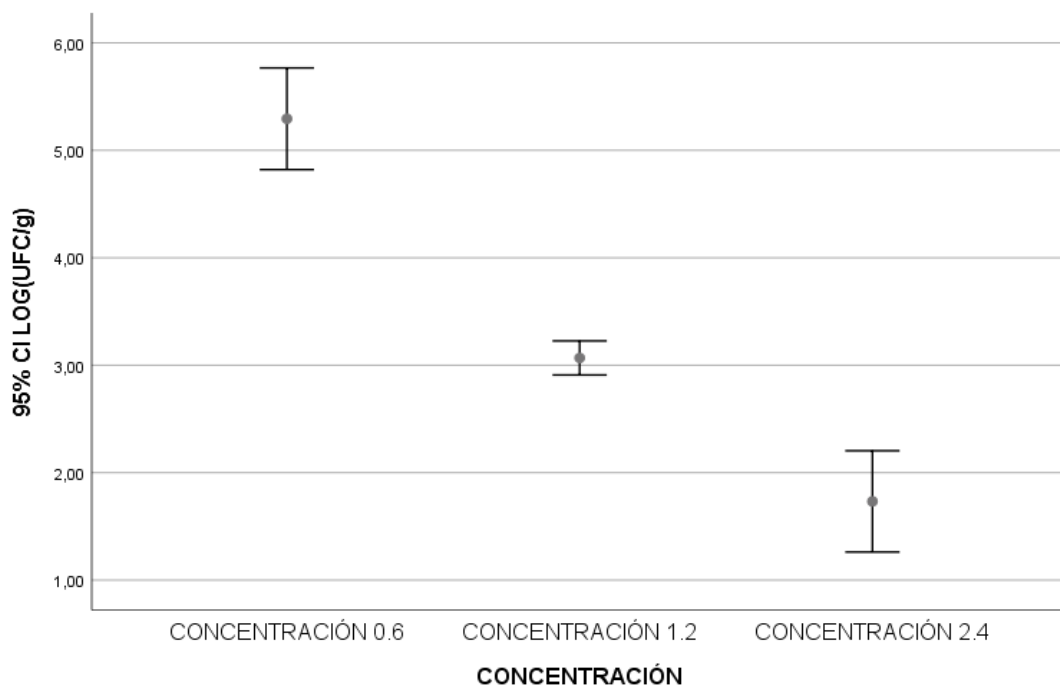


Figura10. Media del crecimiento de E.coli a diferentes concentraciones.
Elaboración propia

5.2 Resultados inferenciales.

Se puede observar de los datos de la tabla 14, que una concentración de 2,4 mL/100g inhibe el crecimiento de *Escherichia coli* en la carne de cuy.

A una concentración de 1,2 mL/100g se logró inhibir el crecimiento de la *Escherichia coli*, pero conforme avanzaba el tiempo nuevamente hubo un aumento del crecimiento poblacional, motivo por el cual se duplico la dosis de la concentración para tener la seguridad de inhibirlo completamente. La dosis de 0,6 mL/100g prácticamente no inhibe en nada el crecimiento poblacional de la *Escherichia coli*, pero nos sirvió de referencia para obtener nuestra concentración óptima. La figura 11 nos muestra un comparativo del crecimiento poblacional de la *Escherichia coli* con respecto al tiempo a diferentes concentraciones de acuerdo a la ecuación de Baranyi.

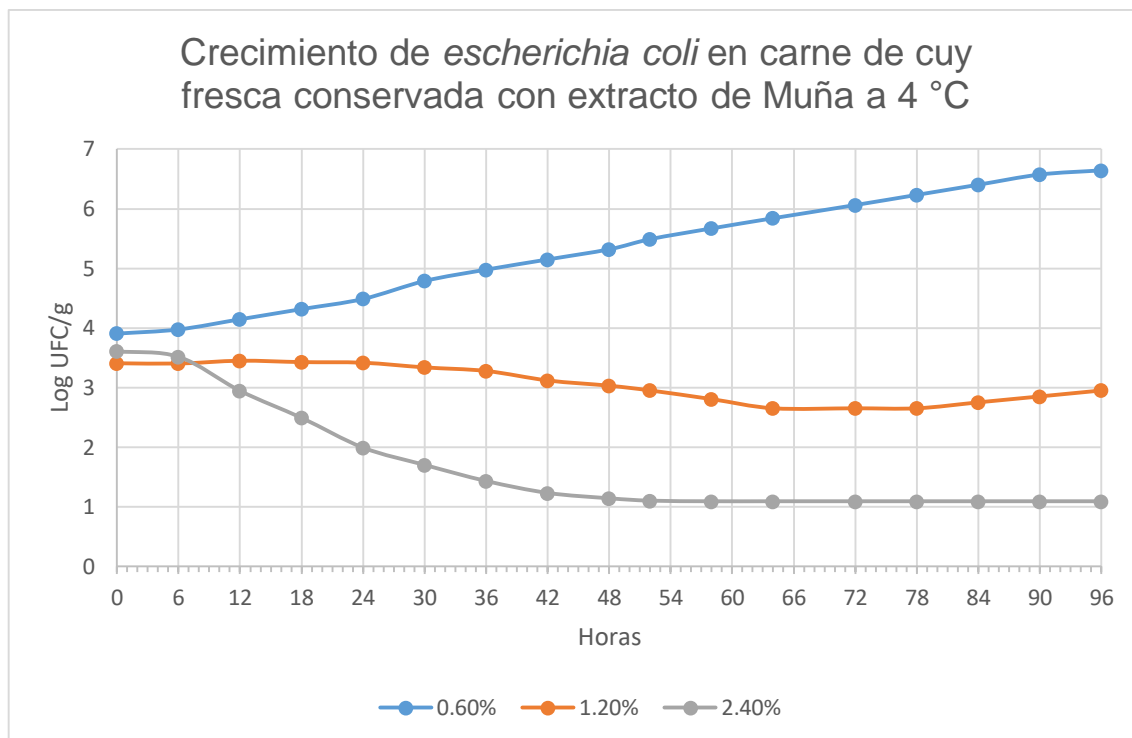


Figura 11. Crecimiento poblacional de *Escherichia coli* a diferentes concentraciones usando la ecuación de Baranyi.
Elaboración propia

Se puede observar, de la gráfica estadística, que una concentración de 2,4 mL/100g del aceite esencial de muña inhibe el crecimiento de la *Escherichia coli* en la carne de cuy raza Perú de manera adecuada ya que para el tiempo estimado no permite el crecimiento o rebrote de la bacteria en estudio.

Se confirma con ello que la abundancia de compuestos terpénicos en la composición del aceite esencial de muña, cumple muy bien la acción de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos.

La mayoría de alimentos cárnicos que se obtienen por distintas formas de sacrificio, vienen ya con cierto grado de contaminantes patógenos, motivo por el cual un tratamiento adecuado para su conservación con aceite esencial de muña evitará enfermedades gastrointestinales en los consumidores de la carne de cuy, sobre todo aquellos de menor edad.

Los parámetros obtenidos de los datos estadísticos nos muestran claramente la relación que existe entre nuestras variables (para cada concentración) tal como lo muestra la tabla 16.

Tabla 16

Parámetros de crecimiento de Escherichia coli en carne de cuy fresca conservado con aceite esencial de Muña (AEM) y 4 °C

Parámetros	AEM 0,6%		AEM 1,2%		AEM 2,4%	
Población Inicial	3.983	± 0.069	3.423	± 0.039	3.629	± 0.0709
Población Final	6.877	± 0.234	2.753	± 0.035	1.115	± 0.0258
Fase Lag o Adaptación	4.507	± 3.759	30.28	± 4.778	7.323	± 1.539
Tasa Máxima crecimiento	0.031	± 0.002	-0.023	± 0.006	-0.0898	± 0.0060 ²
Coeficiente de determinación (R ²)	0.991		0.929		0.992	
Desviación Estándar del ajuste	0.0814		0.0818		0.0808	

Elaboración propia

Puesto que el crecimiento bacteriano obedece a una ecuación exponencial, un análisis estadístico mediante la ecuación de Gompertz nos mostrará de forma clara también cómo se comporta el crecimiento poblacional de la *Escherichia coli* respecto del tiempo, lo que nos permitirá identificar la mejor concentración a usar para inhibir el crecimiento de dicho microorganismo, tal como se observa en la figura 12.

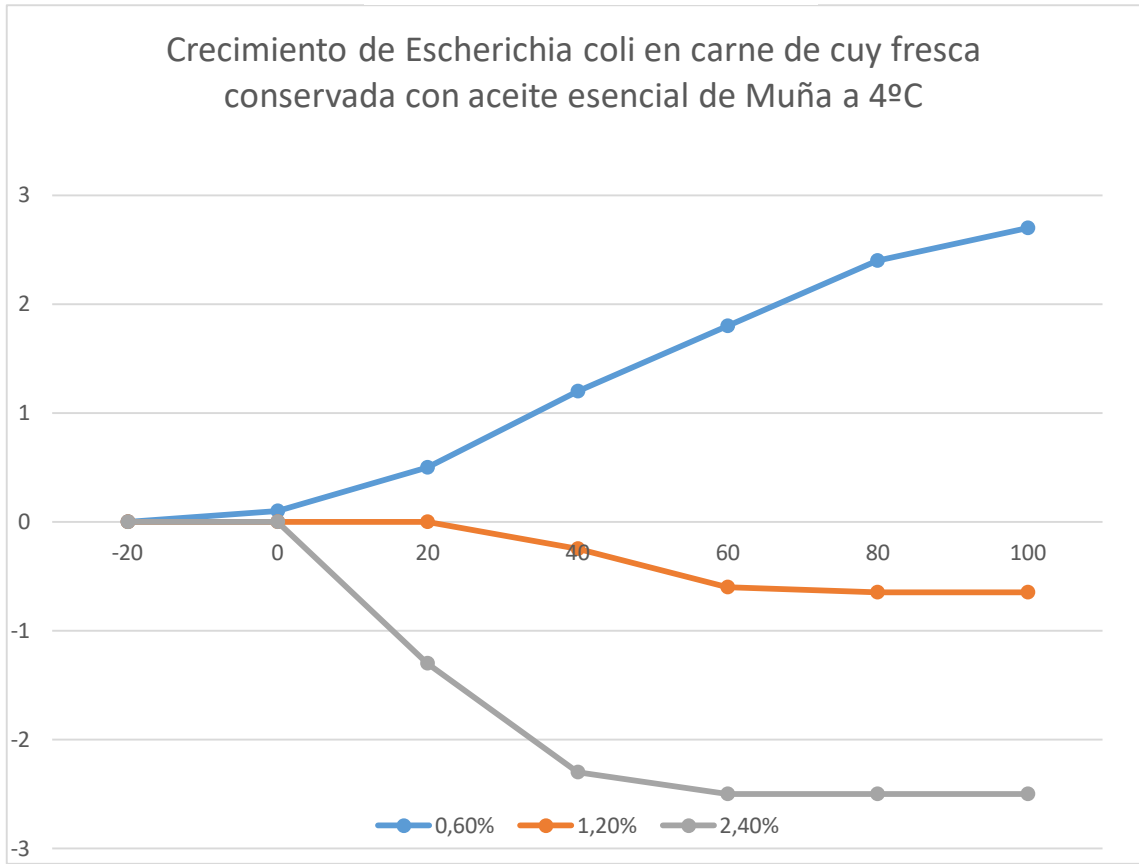


Figura12. Crecimiento poblacional de *Escherichia coli* a diferentes concentraciones usando la ecuación de Gompertz.
Elaboración propia

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados

- Experimentalmente se demostró que una concentración mínima para inhibir el crecimiento de la *Escherichia coli* en la carne de cuy es de 2,4%, lo que concuerda con el rango establecido en nuestra hipótesis general, el cual era entre 0,5 % hasta 3,0 %.
- La acción plaguicida, pesticida y antimicrobiana que presentan los principales componentes del aceite esencial de Muña como, por ejemplo, la Pulegona y la 2S- Trans- Mentona lograron inhibir de manera adecuada el crecimiento de la *Escherichia coli* en la carne de cuy.
- Un análisis microbiológico realizado a la carne de cuy post mortem, demostró que ésta ya viene con cierta carga microbiana, generalmente por una mala manipulación al momento del sacrificio.
- Un análisis microbiológico realizado a la carne de cuy tratada con aceite esencial de Muña, nos demostró por conteo llevado a cabo en placas Petri, la acción inhibidora de este aceite esencial frente a varios microorganismos entre ellos la *Escherichia coli*.

6.2 Contrastación de resultados con otros estudios similares

Araujo F., (2016) realizó un trabajo sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre coliformes y mesófilos en carnes de hamburguesas preparadas artesanalmente usando diversas concentraciones de aceite esencial de orégano para determinar el efecto antibacteriano que presenta mas no así la concentración mínima adecuada para inhibir y evitar el crecimiento de los microorganismos en estudio.

Para Muquincho M., en su estudio realizado sobre la aplicación de aceites esenciales de albahaca (*Ocimum bacilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y guayava (*Psidium guajaba*) como antioxidante en salchichas de pollo tipo Frankfurt, determinó mediante análisis microbiológico que *Escherichia*

coli, no presentó resultados positivos por un periodo de treinta días debido a que dichos análisis se habían realizado con presencia de los aceites esenciales en estudio mientras que el presente trabajo analiza la presencia de *Escherichia coli* antes y después de agregado el aceite esencial de muña, para determinar la inhibición a una determinada concentración del aceite esencial.

CONCLUSIONES

1. Una concentración de 2,4mL de aceite esencial de muña por cada 100g de carne de cuy, logra inhibir de manera eficiente el crecimiento de la *Escherichia coli*, evitando toda posibilidad en el consumidor de contraer algún tipo de enfermedad gastrointestinal.
2. Los compuestos terpenoides que conforman la composición química del aceite esencial de Muña, son los causantes de inhibir el crecimiento de la *Escherichia coli* en la carne de cuy raza Perú, debido a sus propiedades antioxidantes, pesticidas y plaguicidas de muchas de ellas.
3. La carne de cuy viene contaminada, producto de la mala manipulación que realizan los trabajadores al momento del sacrificio del animal y de las malas condiciones en que se encuentran las instalaciones donde se lleva a cabo la venta del animal, debido a ello se infringen en muchos casos las normas sanitarias que deben poseer los locales de venta de alimento para consumo humano.
4. Los análisis microbiológicos llevados a cabo a la carne de cuy fresca y con aceite esencial de muña, logran determinar el comportamiento de los microorganismos en cuanto a su crecimiento o desarrollo.

RECOMENDACIONES

1. Debido a la mala manipulación al momento del sacrificio en la carne de cuy, es recomendable que el consumidor conserve la carne a temperaturas inferiores o iguales a 4°C, para evitar de esta forma el posible crecimiento de algún microorganismo patógeno, o de lo contrario consumirlo de manera inmediata.
2. Conservar la carne de cuy con las hojas o extracto de muña, de manera artesanal, no sólo evitará el crecimiento de ciertos microorganismos patógenos, sino que a la vez le dará a la carne cierto sabor especial que es de agrado a muchos consumidores.
3. En lugares de mucha humedad y altas temperaturas, es preferible consumir el alimento en forma inmediata pues cualquier hierba natural que se desee usar (sea su aceite esencial o un extracto de la misma) no logra conservar a la carne de cuy debido a la volatilidad de los componentes que tienen éstas hierbas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alzamora, L., Morales, L., Armas, L., Fernández, G. (2001). Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas . *Anales de la Facultad de Medicina*, 62 (2), 156 - 161. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/379/37962208.pdf>
- Araujo ,S. (2016). *Efecto antibacteriano del aceite esencial de Origanum vulgare sobre Coliformes y Mesófilos en carnes de hamburguesas preparadas artesanalmente*. (Tesis de pregrado), Universidad César Vallejo, Trujillo, Perú.
- Astudillo,S. (2014).*Utilización de aceites esenciales naturales como conservantes en la elaboración de salchicha de pollo*.(Tesis de maestría), Universidad politecnica salesiana,Cuenca,Ecuador.
- Ataucusi,S.(2015). *Manejo técnico de la crianza de cuyes en la sierra del Perú*. Recuperado de <http://www.caritas.org.pe/documentos/MANUAL%20CUY%20PDF.pdf>
- Buitrón, R. y Quispe, D. (2016). *Conservación de la carne de cuy (Cavia porcellus) línea Perú en ambiente modificado con aceite esencial natural de romero (Rosmarinus officinalis), y orégano (Origanum vulgare)*. (Tesis de pregrado), Universidad Nacional del Centro, Huancayo, Perú.
- Carhuapoma M ., López,S., Roque,M., Velapatiño,B., Bell, C.y Whu,D.(2009). Actividad antibacteriana del aceite esencial de *minthostachys mollis* griseb “ruyaq muña. *Ciencia e investigación*, 12(2),83-89.Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12_n2/pdf/a06v12n2.pdf

- Castillo, M. (2017). *Efecto combinado del aceite esencial de orégano y extracto de ajo, en la conservación de hamburguesas de carne vacuna refrigerada*. (Tesis de pregrado), Universidad nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.
- Centro de Calidad Ambiental UNINET. (1992). *Calidad del agua-determinación del número más probable (NMP) de coliformes totales, coliformes fecales (termotolerantes) y escherichia coli presuntiva*(Tabla1). Recuperado de: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa042.pdf>
- Chauca, L (1997). *Producción de cuyes (cavia porcelus)*. Lima: Estudio FAO producción y sanidad animal. Recuperado de <https://es.slideshare.net/quiteriabecerra/chauca-1997>
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez., Vázquez y Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 206-212. Recuperado de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000200014
- Flores, M. (2010). *Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso*. (Tesis de pregrado), Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Flores, C., Duarte, C. y Salgado I. (2016,27 de abril). Caracterización de la carne de cuy (*Cavia porcellus*) para utilizarla en la elaboración de un embutido fermentado. *Revista Ciencia y Agricultura*. Recuperado de (Flores, Duarte, & Salgado, 2016)García, H.(30 de octubre de 2014). Número más probable (NMP). [Mensaje en un blog]. Recuperado de <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/numero-mas-probable-nmp.html>

- Gonzalez, A. (2004). *Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia.
- Gómez, O. (octubre del 2014). Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* patógenas en Colombia. *Revista chilena infectol*, (5). Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4469391/>
- Guiza, P. (2007). *Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Mintostachys mollis* combinado con inactivación térmica*. (Tesis de pregrado), Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Julio, G.J., Rodríguez, E., Urbina, G., Granados, C., Torrenegra, M., y Acevedo, D. (2012). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de la candia (*hibiscus esculentus*) aplicada a una hamburguesa de carne bovina. *Vitae*, 19 (1), 153-155. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914043.pdf>
- Lizano, I. (2013). *Efecto de la aplicación de los aceites esenciales extraídos a partir de las hojas de pimienta de JAMAICA (*Pimenta dioica*), hojas de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y oregano (*Oreganum vulgare*) en la preservación de carne de res*. (Tesis de pregrado), Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Martínez, M. (2003). *Aceites esenciales*. Recuperado de http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
- Matos, A. (2010). Evaluación de la Capacidad Antimicrobiana del Aceite Esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) Microencapsuladas en β -ciclodextrina Aplicados en Cultivos Microbianos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1), 18-24. Recuperado de https://revistas.upeu.edu.pe/index.php/ri_alimentos/article/view/8

- Mérida, R.(2012). *Estudio del rendimiento y composición del aceite esencial de diferentes poblaciones silvestres de Lippia chiapasensis Loes. del altiplano occidental guatemalteco.* (Tesis de pregrado), Universidad San Carlos de Guatemala, Ciudad de Guatemala, Guatemala.
- Montaño,N.,Sandoval, A., Camargo, S. y Sánchez. Los microorganismos: pequeños gigantes. *Revista Elementos*, (77), p.15-16. Recuperado de <https://elementos.buap.mx/num77/pdf/15.pdf>
- Muquincho, M. (2016) *Aplicación de aceites esenciales de Albahaca (Ocimum bacilicum), Cilantro (Coriandrum sativum) y Guayava (Psidium guajaba) como antioxidante en salchichas de pollo tipo Frankfurt.* (Tesis de pregrado), Universidad de las Américas, Santiago, Chile.
- Quispe, S. (2015). *Caracterización físico química del aceite esencial de la muña (Minthostachys setosa) y su estudio antibacteriano.* (Tesis de pregrado), Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.
- Reduca.Serie Fisiológica Vegetal.(2009). *Síntesis de terpenos y clasificación según las unidades de isopreno que contienen.*[Gráfico].Recuperado de https://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
- Reyes, A. (2011). Escherichia coli. (Diapositivas de PowerPoint). Recuperado de: <https://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/Escherichia-coli-I.pdf>
- Rodriguez, M. (2002,17 de abril). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. *Salud pública de México*.Recuperado de http://www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf

- Rudas,D (2017). *Composición química, fraccionamiento y actividad in vitro del aceite esencial de Aloysia citriodora Palau ("Cedrón") sobre las bacterias Escherichia coli y Salmonella typhimurium.* (Tesis de pregrado),Universidad Peruana Cayetano Heredia,Lima,Perú.
- Ruiz, C., Díaz, C., y Rojas., R. (2015). Composición química de aceites esenciales de 10 plantas aromáticas peruanas. *Revista Sociedad química del Perú*,81(2),1-8.Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2015000200002
- Segovia, B, & Suarez, D. (2010). *Composición química del aceite esencial de Tagetes elliptica Smith "Chincho" y determinación de su actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica.* (Tesis de pregrado), Universidad Nacional Mayor de San Marcos,Lima, Perú.
- Segura, C. (2007). *Influencia del perejil (petroselinum sativum var.latifolium) fresco, en el almacenamiento de la carcasa de cuy (Cavia porcellus).* (Tesis de pregrado), Universidad Nacional del Centro, Huancayo, Perú.
- Soler,J.(2016). *Films activos de quitosano para la conservación de carne.* (Tesis de pregrado), Universidad Politecnica de Valencia,Valencia,España.
- Stashenko,E.(2009).*Aceites esenciales.*Recuperado de <http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/documentos/libros/1.pdf>
- Urbina,G. (2011). *Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial extraído de la candia (hibiscus esculentus) aplicada a la conservación de hamburguesa de res.* (Tesis de pregrado), Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia.
- Yapachura,R.(2010).*Estudio de los componentes antioxidantes de las hojas de muña (Mithostachys mollis (kunt)Griseb) e inca*

muña(*Clinopodium bolivianum* (enth)Kuntze) (Tesis de post grado),Universidad Agraria la Molina, Lima,Perú.

ANEXOS

A. 1

Matriz de consistencia

Título: “CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*), FRENTE A LA E. COLI (*Escherichia coli*) EN LA CARNE DE CUY RAZA PERÚ”

Problema general	Objetivo general	Hipótesis general	Variable dependiente	Dimensiones	Indicadores	Métodos
¿Cuál será la concentración mínima del aceite esencial de muña para inhibir el desarrollo de <i>Escherichia coli</i> en la carne de cuy raza Perú?	Determinar la concentración mínima del aceite esencial de Muña para inhibir el desarrollo de <i>Escherichia coli</i> en la carne de cuy raza Perú.	“Una concentración en volumen entre 0,5 % hasta 3,0 % del aceite esencial de muña, logrará inhibir el crecimiento de la <i>Escherichia coli</i> , en la carne de cuy, siendo este último (<i>E. coli</i>) uno de los causantes de su contaminación.”	Concentración mínima del aceite esencial de muña para inhibir el desarrollo de la <i>Escherichia coli</i> .	Concentración mínima del aceite esencial de muña.	Presencia del aceite esencial de muña en la carne de cuy post mortem.	Cultivo de la cepa de estudio
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específica	Variable independiente	Dimensiones	Indicadores	Métodos
¿Cómo se determinarán las propiedades físicas químicas del aceite esencial de muña?	Determinar las propiedades físico químicas del aceite esencial de muña.	Los hidrocarburos terpénicos presentes en el aceite esencial de Muña, lograrán inhibir de manera adecuada el crecimiento de microorganismos causantes de la descomposición de la carne de cuy, entre ellos a la <i>Escherichia coli</i> .	Tiempo de desarrollo de la cepa <i>Escherichia coli</i> .	Crecimiento de la cepa (<i>Escherichia coli</i>) en la superficie de la carne de cuy.	Presencia de microorganismos en la carne de cuy.	Preparación de las soluciones
¿Cómo se realizará el análisis microbiológico de la carne de cuy fresca?	Definir el análisis microbiológico que se aplicará a la carne de cuy fresca.	La carne de cuy adquirida de diversos establecimientos, viene ya con cierta cantidad de carga microbiana, sea por contaminación del propio animal o por contaminación cruzada, producto del manipuleo a la hora de la matanza.	Número de unidad formadora de colonias en la carne de cuy	Propiedades físico - químicas de la carne de cuy post mortem.	Olor, color de la carne de cuy.	Análisis físico (visual) .
¿Cómo se realizará el análisis microbiológico de la carne de cuy tratada con el aceite esencial de muña?	Determinar el análisis microbiológico que se aplicará a la carne de cuy tratada con el aceite esencial de muña.	Un análisis microbiológico realizado adecuadamente a la carne de cuy tratada con el aceite esencial de muña nos determinará la inhibición de la <i>Escherichia coli</i> mediante el método de número más probable y un conteo bacteriano, llevado a cabo en placas Petri, a diferentes concentraciones y tiempos.				

A. 2

Modelamiento de la ecuación de Gompertz a la concentración de 0,6%.

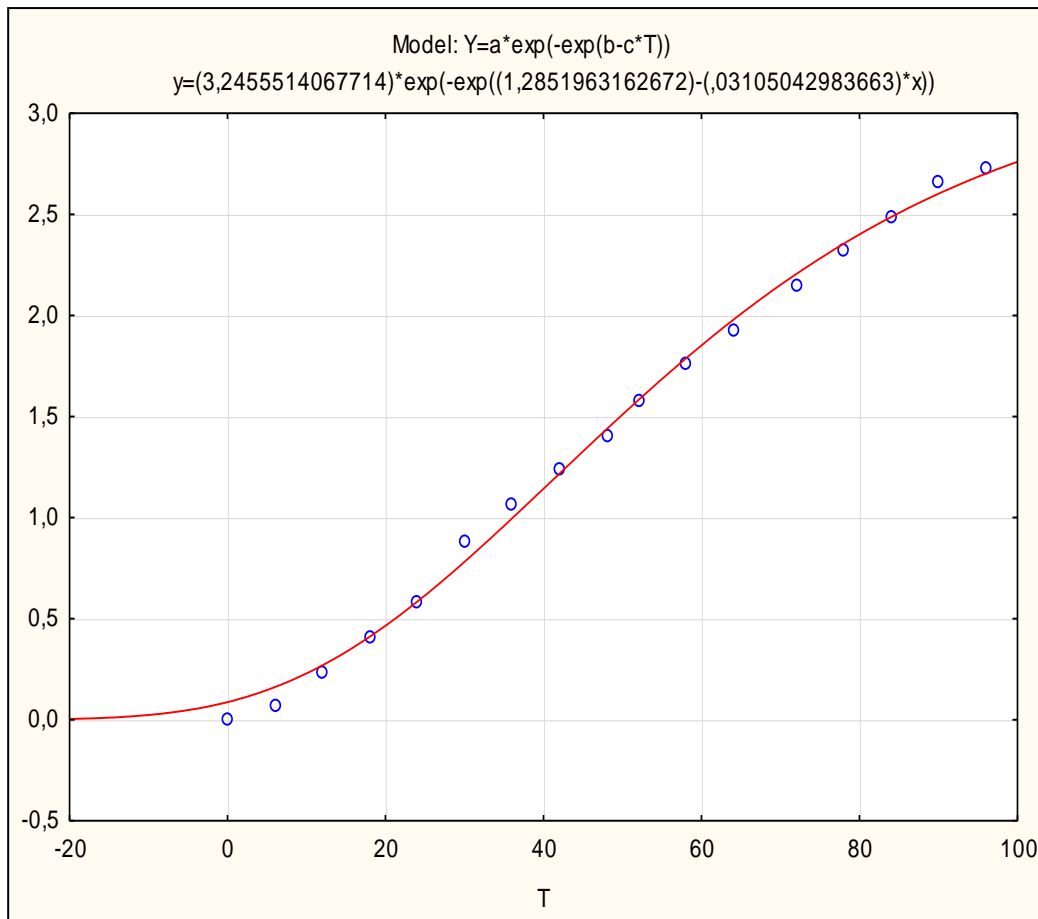


Figura12. Crecimiento poblacional de *Escherichia coli* a 0,6mL/g
Elaboración propia

A.3

Modelamiento de la ecuación de Gompertz a la concentración de 1,2%.

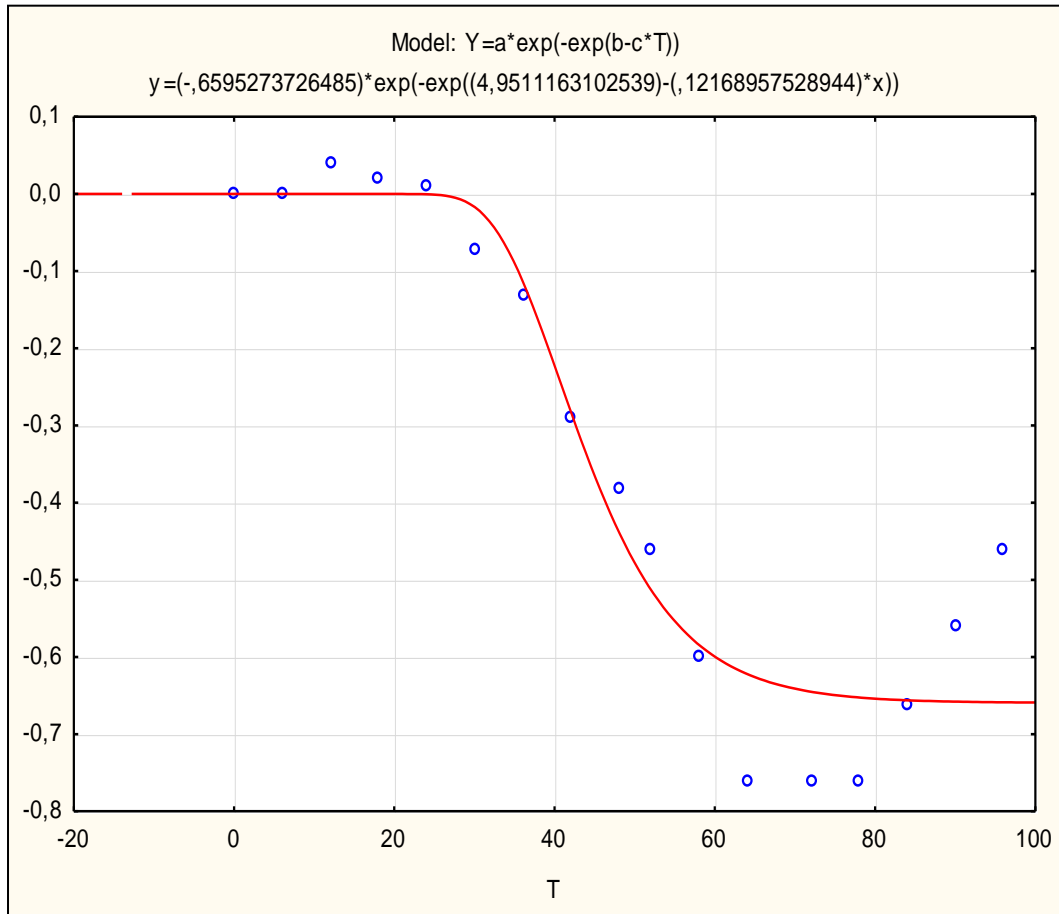


Figura15. Crecimiento poblacional de *Escherichia coli* a 1,2mL/g
Elaboración propia

A. 4

Modelamiento de la ecuación de Gompertz a la concentración de 2,4%.

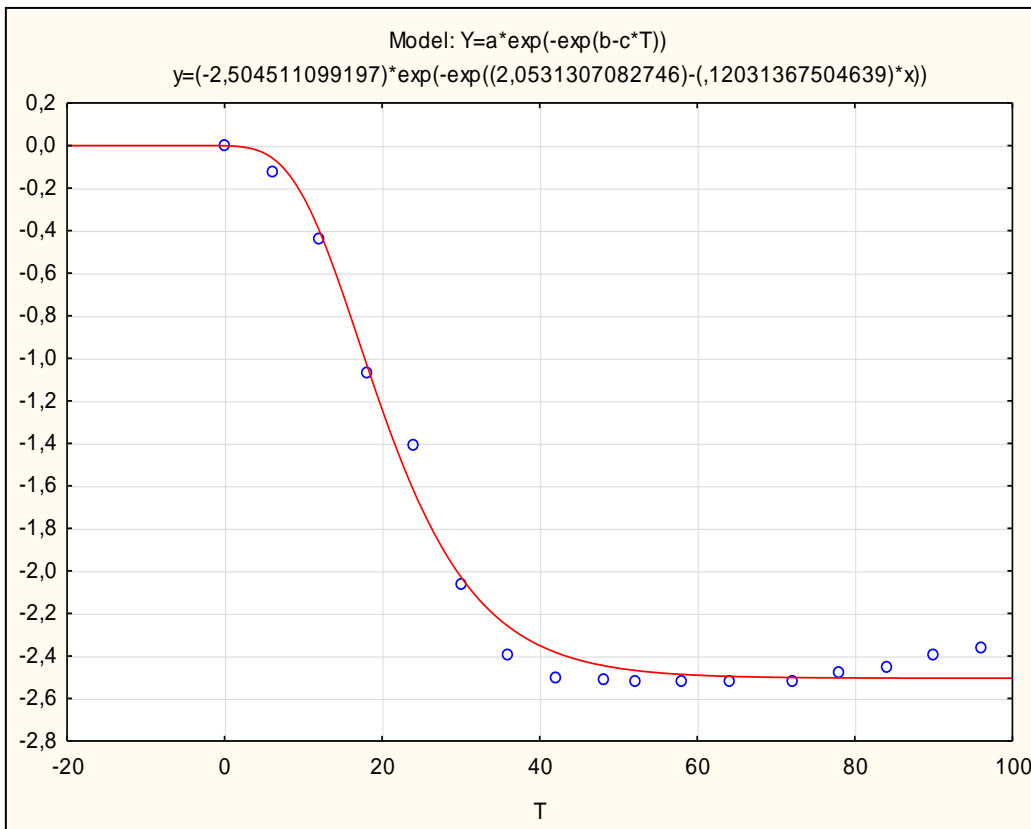


Figura16. Crecimiento poblacional de *Escherichia coli* a 2,4mL/g
Elaboración propia

A.5

Prueba de post hoc

Tabla 17

Prueba de post hoc, indicando la relación nula que existe entre el crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones.

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: Log UFC						
HSD Tukey						
(I) CONCENTRACIÓN	(J) CONCENTRACIÓN	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
CONCENTRACIÓN 0.6	CONCENTRACIÓN 1.2	2,22588*	,26436	,000	1,5865	2,8652
	CONCENTRACIÓN 2.4	3,56118*	,26436	,000	2,9218	4,2005
CONCENTRACIÓN 1.2	CONCENTRACIÓN 0.6	-2,22588*	,26436	,000	-2,8652	-1,5865
	CONCENTRACIÓN 2.4	1,33529*	,26436	,000	,6959	1,9746
CONCENTRACIÓN 2.4	CONCENTRACIÓN 0.6	-3,56118*	,26436	,000	-4,2005	-2,9218
	CONCENTRACIÓN 1.2	-1,33529*	,26436	,000	-1,9746	-,6959

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Elaboración propia

A. 6

Clonas de E.coli patógenos

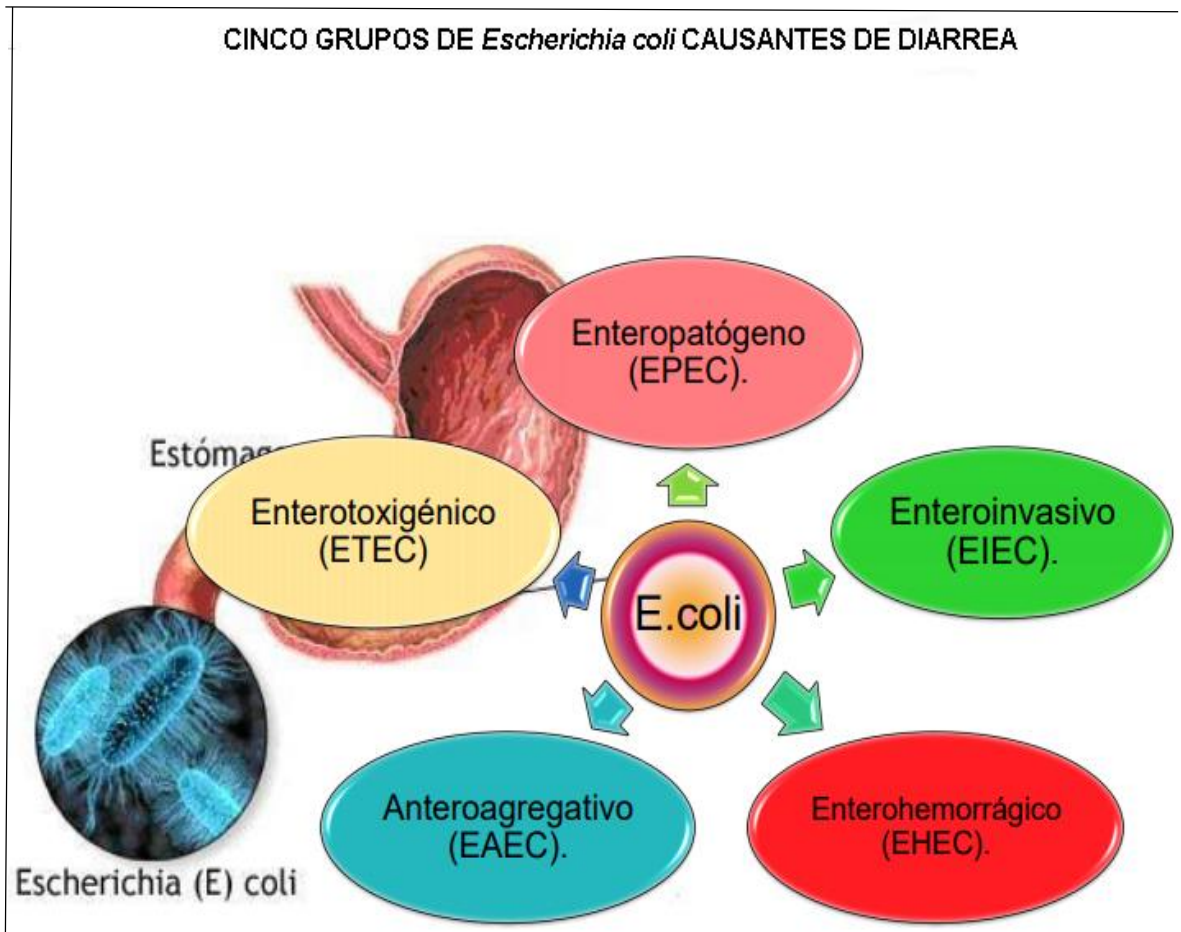


Fig.17. Grupos de E.coli causantes de diarrea. Copyright 2011 por Reyes. Reimpreso con permiso.

A. 7 Tabla de número más probable (NMP)

Tabla 18

Número más probable en una serie de nueve tubos.

Número de tubos con reacciones positivas			Índice del NMP Por 100cm ³	Límite confiable de 95%	
3 tubos con 10 cm ³	3 tubos con 1 cm ³	3 tubos con 0,1 cm ³		Inferior	Superior
0	0	0	< 3		
0	0	1	3	< 0.5	9
0	1	0	3	< 0.5	13
1	0	0	4	< 0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800
3	3	3	≥2400		

Recuperado de NOM-AA-42-1987. Copyright 1987 por Morales. Reimpreso con permiso.