



ANEXO 1

FORMATO PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
CON EL FINANCIAMIENTO DEL FEDU

1. Título del proyecto

Aplicación de aceites esenciales en la calidad microbiológica y fisicoquímica de hamburguesas elaboradas a base carne de cuy (*Cavia porcellus*)

2. Área de Investigación

Área de investigación	Línea de Investigación	Disciplina OCDE
Ingeniería de Procesos	Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes	

3. Duración del proyecto (meses)

12

4. Tipo de proyecto

Individual	<input type="radio"/>
Multidisciplinario	<input type="radio"/>
Director de tesis pregrado	<input type="radio"/>

4. Datos de los integrantes del proyecto

Apellidos y Nombres	Alvarado Mamani Ulises
Escuela Profesional	Ingeniería Agroindustrial
Celular	993370388
Correo Electrónico	ualvarado@unap.edu.pe

- I. Título (El proyecto de tesis debe llevar un título que exprese en forma sintética su contenido, haciendo referencia en lo posible, al resultado final que se pretende lograr. Máx. palabras 25)

Aplicación de aceites esenciales en la calidad microbiológica y fisicoquímica de hamburguesas elaboradas a base carne de cuy (*Cavia porcellus*)

- II. Resumen del Proyecto de Tesis (Debe ser suficientemente informativo, presentando -igual que un trabajo científico- una descripción de los principales puntos que se abordarán, objetivos, metodología y resultados que se esperan)

En la industria cárnica existe la constante búsqueda de nuevas sustancias antimicrobianas con máxima efectividad para evitar el crecimiento de los patógenos y alargar la vida útil, lo que ha despertado la atención en el uso de sustancias naturales como los aceites esenciales del orégano y hierba buena. Por lo tanto, el presente proyecto de investigación tiene como objetivo general,



evaluar la calidad microbiológica en la aplicación de aceites esenciales en hamburguesas elaboradas a partir de carne de cuy (*Cavia porcellus*). Se evaluará la aplicación de los aceites esenciales de orégano, hierba buena y su combinación de ambos aceites esenciales (50% y 50%) en hamburguesa elaborada a partir de carne de cuy. Para lo cual se evaluará el análisis microbiológico y análisis fisicoquímico (pH, acidez, color) durante 20 (cada 5 días) días a 4°C en donde las hamburguesas de carne de cuy serán sometidas a tres tratamientos (0.5, 1 y 1.5% de aceite esencial de orégano, 0.5, 1 y 1,5 % de aceite esencial de hierba buena y 0.5, 1 y 1.5% combinada de ambos aceites esenciales) y para el análisis sensorial se seleccionarán las muestras que cumplan con los criterios sanitarios y luego se someterán a evaluación respecto a la apariencia general, color, olor, sabor y textura por un mínimo de 20 jueces. Los datos serán analizados por grado de variación y diferencia significativa utilizando análisis de varianza (ANVA) con un nivel de confianza al 95% y el test de Duncan ($p \leq 0.05$). Resultados esperados; los aceites esenciales aplicadas en las hamburguesas elaboradas a partir carne de cuy lograrán ampliar la vida útil, además, mejorará las características sensoriales como sabor y aroma.

III. Palabras claves (Keywords) (Colocadas en orden de importancia. Máx. palabras: cinco)

Aceites esenciales, *Cavia porcellus*, efecto antimicrobiano, hamburguesa

IV. Justificación del proyecto (Describa el problema y su relevancia como objeto de investigación. Es importante una clara definición y delimitación del problema que abordará la investigación, ya que temas cuya definición es difusa o amplísima son difíciles de evaluar y desarrollar)

En estos tiempos comer hamburguesas no es sano, no es apto para nuestra salud (cita). Sin embargo, la hamburguesa es una fuente importante de proteínas, genera un aumento de energía con el hierro y grasa, este último dependiendo de la carne dependiendo siempre el tipo de la carne que se utilice.

Tal como se mencionó en el apartado anterior, este proyecto de investigación pretende sustituir las carnes rojas comúnmente utilizados en la elaboración de hamburguesas, debido a que son perjudiciales para la salud por su alto contenido en grasas saturadas, por lo que se optará por la carne de cuy, debido que el Perú es el primer exportador con un 71.3% a nivel mundial. Además, contiene 78,1% de agua, 19% de proteína, 1,6% de grasa, 1,2% de minerales y 0,1% de carbohidratos totales y disponibles. Entre los minerales más importantes están el Calcio (29 mg/kg), Fosforo (29 mg/kg), Zinc (1,57 mg/kg) y Hierro (1,90 mg/kg). Asimismo, muestra el contenido de las principales vitaminas como la Tiamina (0,06 mg/kg), Riboflavina (0,14 mg/kg) y la Niacina (6,50 mg/kg); así como el contenido de energía que alcanza las 96 kcal (Contreras Flores, 2019).

Por otro lado, en la actualidad existe una tendencia negativa en el consumo de productos que agregan aditivos sintéticos en su formulación, ya que el mercado mundial y las empresas han generado una tendencia favorable hacia el consumo de productos con conservantes naturales o bioconservantes. Por lo tanto, se toma en consideración; el aceite esencial de orégano cuyos componentes más importantes son el timol y el carvacrol (Abdul Qadir, 2017), la carvona es un compuesto terpenoide, compuesto principal del aceite esencial de hierba buena (Giler Moran & Perez Perez, 2020) y su respectiva combinación de ambos aceites esenciales. Los aceites esenciales mencionados en su aplicación como agente antimicrobiano y antioxidante es una tendencia creciente hacia la prolongación de la vida útil de los alimentos (Prakash, 2016).

Los aceites esenciales en la industria cárnica además de su efecto antimicrobianos mejoran las características sensoriales. Es por este motivo, que el presente proyecto de investigación



se centrará en el estudio microbiológico de la aplicación de aceites esenciales en hamburguesas elaboradas a partir de carne de cuy, debido a que hasta el momento no existe investigación alguna.

V. Antecedentes del proyecto (Incluya el estado actual del conocimiento en el ámbito nacional e internacional. La revisión bibliográfica debe incluir en lo posible artículos científicos actuales, para evidenciar el conocimiento existente y el aporte de la Tesis propuesta. Esto es importante para el futuro artículo que resultará como producto de este trabajo)

Condori cutipa, (2015), en su tesis “efecto del aceite esencial de orégano como conservante de la carne cuy” tuvo como objetivo determinar la concentración de aceite esencial de orégano que permita conservar las características microbiológicas de la carne cuy, realizó dos muestras uno con aceite esencial de 0.33% y la otra muestra sin aceite esencial almacenada a 5 °C durante 42 días, obtuvo que la adición de aceite esencial de orégano como conservante en concentración del 0.33% prolonga el tiempo de vida útil, por un tiempo de 28 días, aptos para el consumo humano.

Quispe Velasquez, (2017), en su tesis “Efecto de los aceites esenciales de romero (*rosmarinus officinalis*) y hierba buena (*mentha spicata*) en hamburguesa de carne de llama (*lama glama*)”, tuvo como objetivo evaluar el efecto de los aceites esenciales de Romero (*rosmarinus officinalis L.*) y Hierba buena (*Mentha spicata*) en la carga microbiológica de la hamburguesa de carne de llama (*Lama glama*) para lo cual sometió las hamburguesas de llama a tratamientos (0.5% y 1% de aceite esencial de romero; 0.5% y 1% de aceite esencial de hierba buena más una muestra control) para evaluar microorganismos y otros factores. Los resultados del análisis microbiológico fue que los dos aceites esenciales tuvieron un efecto antimicrobiano en la hamburguesa de carne de llama ya que no hubo presencia de E. Coli ni Salmonella sp. en ninguna de las muestras.

Quispe Nina, (2017) realizó una investigación del “efecto antimicrobiano y antioxidante del aceite esencial de orégano (*origanum vulgare*), en el jamón de carne de alpaca (*vicugna pacos*)” tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante del aceite esencial de orégano en el jamón de carne de alpaca para lo cual trabajó con 2 concentraciones de aceite esencial de orégano (C2=0.5 y C3= 1%) y una C1= muestra control, cada 3 días realizó el análisis microbiológico almacenando a 5 °C y obtuvo como resultado que la concentración al 1% fue el mejor inhibiendo los microorganismos desde el día inicial hasta el último día de estudio.

Araujo Sánchez, (2016) investigó sobre “efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre Coliformes y Mesófilos en carnes de hamburguesas preparadas artesanalmente” con el objetivo de determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre coliformes y mesófilos en carnes de hamburguesas preparadas artesanalmente, en su metodología trató las hamburguesas con aceite esencial de *Origanum vulgare* a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%. Reportó que no encontró efecto antibacteriano sobre las bacterias coliformes por el resultado de no apto para el consumo, pero si hubo efecto sobre los aerobios mesófilos ya que se aprecia que 50% de las muestras son aptas para consumo humano en concentraciones de 75% y 100% de AEOV y evidenció una diferencia estadística significativa.

Culqui Arce, (2018) en su trabajo de tesis “Determinación de vida útil de carne de cuy empacado al vacío utilizando aceites esenciales de especias nativas de la región amazonas”, tuvo como objetivo evaluar el tiempo de vida útil de carne de cuy empacado al vacío utilizando aceite esencial de huacatay almacenado a 3°C. su procedimiento para determinar la vida útil fue mediante la carga microbiana (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*), oxidación y pH en 26 g de carne de cuy. Como resultado reportó que, a los 14 días, todas las muestras, mantuvieron sus características para ser consumida; además observó que para la inhibición de E. coli ninguna de las concentraciones tuvo diferencia alguna sin embargo para S. aureus la concentración de 0,35% tubo mayor efecto inhibitor. Por lo que concluye que el aceite esencial de T. minuta, puede prolongar el tiempo de vida útil de carne de cuy empacada al vacío hasta por 14 días.



Hilvay Gómez, (2015) en su investigación “Efecto de los aceites esenciales de limón (*Citrus limon*), albahaca (*Ocimum basilicum L.*) y orégano (*Origanum vulgare*), en la conservación de la carne de cuy (*Cavia porcellus*)” con el objetivo de estudiar el efecto de aplicar aceites esenciales de Limón, Albahaca y Orégano, sobre el tiempo de vida útil y las características sensoriales de la carne de Cuy. Utilizó un diseño de bloques con un arreglo factorial A x B más un testigo. Preparó concentraciones de 0.3 %, 0.4 % y 0.5 % de aceite esencial e inyectó al músculo hasta alcanzar un aumento en peso equivalente al 30 % y masajeó cada 20 min por 12 horas. Para analizar sus datos aplicó un análisis de Varianza ANOVA seguido de una prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95 %. Como resultado reportó como mejor tratamiento el T7 correspondiente a aceite esencial de Orégano en un 0.30 % de concentración.

VI. Hipótesis del trabajo (Es el aporte proyectado de la investigación en la solución del problema)

Hipótesis general

1. **La aplicación de los aceites esenciales influirá de forma significativa en la calidad microbiológica y fisicoquímica en hamburguesas elaboradas a partir de carne de cuy (*Cavia porcellus*).**

Hipótesis específicas

1. **La concentración de PH, acidez y color influirán significativamente en hamburguesas elaboradas a partir de carne de cuy (*Cavia porcellus*) durante el almacenamiento.**
2. **Las tres concentraciones de aceites esenciales influirán significativamente en la vida útil de la hamburguesa de carne de cuy (*Cavia porcellus*).**
3. **La aplicación de aceites esenciales de concentración óptima en la hamburguesa elaborada a partir de carne cuy (*Cavia porcellus*) influirá significativamente en las características sensoriales.**

VII. Objetivo general

1. **Evaluar la calidad microbiológica y fisicoquímica en la aplicación de aceites esenciales en hamburguesas elaboradas a partir de carne de cuy (*Cavia porcellus*).**

VIII. Objetivos específicos

1. Evaluar el pH, acidez y color de la hamburguesa elaboradas a partir de carne de cuy (*cavia porcillus*) durante el alm9
2. acenamiento.
3. Analizar el tiempo de vida útil mediante la evaluación microbiológica en la hamburguesa a partir de carne de cuy (*cavia porcillus*) con adición de aceites esenciales almacenado en refrigeración.
4. Evaluar las características sensoriales de la hamburguesa elaboradas a partir de carne de cuy (*cavia porcillus*) con la aplicación de aceites esenciales de concentración óptima.

IX. Metodología de investigación (Describir el(los) método(s) científico(s) que se empleará(n) para alcanzar los objetivos específicos, en forma coherente a la hipótesis

de la investigación. Sustentar, con base bibliográfica, la pertinencia del(los) método(s) en términos de la representatividad de la muestra y de los resultados que se esperan alcanzar. Incluir los análisis estadísticos a utilizar)

De acuerdo a la naturaleza del problema y objetivos de investigación, el presente proyecto de investigación es de tipo experimental, puesto que, se realizarán análisis microbiológicos que permitirán determinar la calidad microbiológica e inferir en el tiempo de vida útil de las hamburguesas.

10.1. Lugar de ejecución

El estudio microbiológico de la aplicación de aceites esenciales en hamburguesas elaboradas a partir de carne de cuy, se llevará a cabo en el laboratorio de Evaluación Nutricional, Taller de Carnes y en el Laboratorio de Análisis Microbiológico de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIAI), Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA-PUNO.

10.2. Material experimental

- Cepas de Aerobios Mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella sp* y *Escherichia Coli* O157:H7; obtenidas del Laboratorio de higiene de alimentos - Instituto Nacional de Investigación en Alimentos – Japón.
- Aceites esenciales de Orégano (*Origanum vulgare*) y hierba buena (*Mentha spicata*), obtenidas de la Empresa Essential Oils Perú – Lima.
- Hamburguesa elaborada a partir de carne de cuy, muestra proveniente del Taller de Carnes de la escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial Facultad Ciencias Agrarias UNA Puno.

10.3. Metodología experimental

10.3.1. Proceso para la obtención de hamburguesa

En la Figura 1, se muestra el procedimiento que se seguirá para obtener la muestras y/o tratamientos de estudio que se usarán para llevar a cabo este proyecto de investigación.

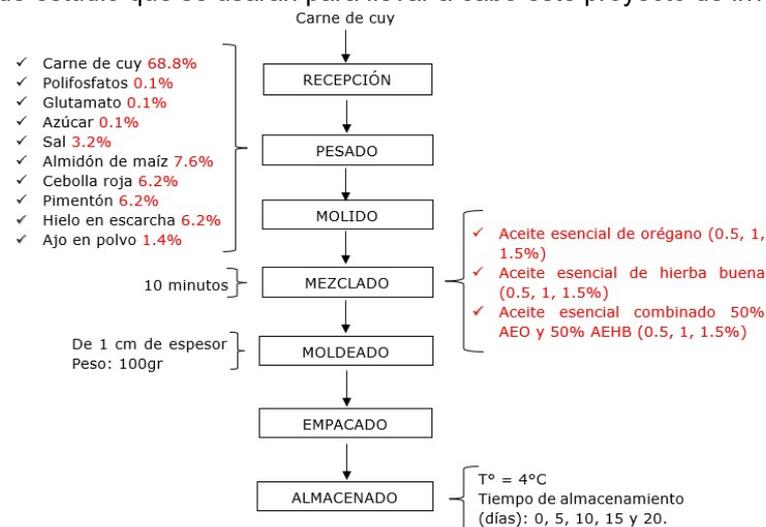


Figura 1: Diagrama de flujo de la elaboración de hamburguesa adaptado de Quispe Velasquez, (2017).

Descripción del proceso:

- **Carne de cuy:** la carne de cuy será adquirida del Mercado Unión y Dignidad ubicada en la ciudad de Puno, para ello se revisará que la carne este en buen estado (fresco).
- **Recepción:** la carne de cuy se recepcionará a refrigeración de 4°C en el laboratorio de

carnes de la EPIA.

- **Pesado:** Se pesará la carne de cuy y demás ingredientes de acuerdo a la formulación que se muestra en la Tabla 1.
- **Picado:** Se picará la carne de cuy a un tamaño que permita introducirlos fácilmente a la tolva del molino.
- **Molido:** Se realizará la molienda en el laboratorio de carnes. En cuanto al diámetro de orificio interior de disco será de 6mm.
- **Mezclado:** En un recipiente hondo, se mezclará la carne y los ingredientes, hasta que este homogéneo y en este proceso se le añadirá las diferentes concentraciones (0.5, 1 y 1.5%) de aceites esenciales y también se tendrá una muestra control (0%) de aceites esenciales.
- **Moldeado:** Para darle forma a la hamburguesa, se usarán las manos húmedas de esta manera facilitar esta operación. El peso promedio de las hamburguesas será de 100 gramos. Se utilizará plástico para separar las hamburguesas una de otra.
- **Empacado:** Se empacará en bandejas de espuma de poliestireno con film plástico.
- **Almacenado:** Las hamburguesas una vez armadas y envasadas se refrigerarán a 4°C.

Tabla 1: Formulación para hamburguesa elaboradas a partir de carne de cuy.

INGREDIENTES	INGREDIENTES (g)
Carne de cuy	1153
Polifosfatos	2
Glutamato	2.31
Azúcar	2.31
Sal	53.3
Almidón de maíz	127.07
Cebolla roja	103.95
Pimentón	103.95
Hielo en escarcha	103.95
Ajo en polvo	23.1
Aceite esencial de orégano (AEO)	0.5, 1 y 1.5%
Aceite esencial de hierba buena (AEHB)	0.5, 1 y 1.5%
Aceite esencial combinada (50% AEO y 50% AEHB)	0.5, 1 y 1.5%

Fuente: Rodríguez, Valdés, & Alemán, (2006).

10.4. Factores de estudio en la hamburguesa a partir de carne de cuy.

Las variables de estudios para los tres objetivos son:

- Aceite esencial orégano (AEO), hierbabuena (AEHB) y combinación (50% AEO y 50% AEHB).
- Concentración de aceites esenciales (0.5%, 1% y 1.5%).
- Tiempo de almacenamiento (día) (día 0, día 5, día 10, ...día 20).

10.5. Variables de respuesta en la hamburguesa a partir de carne de cuy.

Para el primer objetivo

- Análisis fisicoquímico (pH, acidez y color)

Para el segundo objetivo

- Análisis microbiológico (Aerobios Mesófilos, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella sp, Escherichia coli 0157:H7) (UFC/g).

Para el tercer objetivo

- Evaluación sensorial (apariencia general, sabor, olor, textura y color).

10.6. Métodos de análisis

10.6.1. Metodología para el desarrollo del primer objetivo

ANÁLISIS DE pH.

Se determinará el pH de acuerdo al procedimiento seguido por Medina, (2009).

1. Pesar 10g. de muestra.
2. Añadir 100 ml. de agua destilada y moler en la licuadora durante un minuto.
3. Estandarizar el PH en el potenciómetro con buffer de fosfatos con PH = 6.0.
4. Filtrar la mezcla de carne en manta de cielo para eliminar tejido conectivo.
5. Después de leer el PH de la carne, enjuagar el electrodo con agua destilada.

ANÁLISIS DE ACIDEZ

Se determinará la acidez de acuerdo a la metodología seguido por Medina, (2009).

1. Pesar 10 g. de carne o producto cárnico y colocarlo en un vaso de licuadora. Moler junto con 200 ml. de agua destilada.
2. Filtrar la muestra en manta de cielo para eliminar el tejido conectivo. Colocar el filtrado en un matraz de 250 ml. y aforar con agua destilada.
3. Tomar 25 ml. de esta solución y colocarla en un matraz Erlenmeyer de 150 ml. Añadir 75 ml. de agua destilada.
4. Titular con NaOH 0.01 N, usando fenolftaleína como indicador. Esta determinación debe hacerse por triplicado.
5. Preparar un blanco usando 100 ml. de agua destilada.
6. Informar como porcentaje de ácido láctico.

$$\% \text{Ácido Láctico} = \frac{\text{ml}(\text{NaOH}) \times \text{N}(\text{NaOH}) \times \text{Meq}(\text{ac. láctico}) \times f}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

En donde:

- ml NaOH= ml gastados en la titulación
- N=Normalidad del NaOH
- Meq= mili equivalente del ácido predominante en la muestra (Meq = 90/1000 = 0.09) cabe indicar que este método de titulación se utilizara para las muestras de hamburguesa elaboradas a partir de carne de cuy.
- f= factor de dilución.

ANÁLISIS DEL COLOR

Se determinará el análisis de color de acuerdo a la metodología seguido por Alvis & Granados, (2017), por lo tanto, se utilizará el espectrofotómetro y se realizará la medición de los parámetros de color empleados en la metodología CIELAB, por medio de L*: luminosidad (negro- blanco), a* (verde -rojo), b* (azul-amarillo), método planteado por la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE). Para esto se tomarán muestras en triplicado con un corte rectangular, aproximadamente 4 cm de largo por 2 cm de ancho y un espesor de 1 cm, obtenidas de las hamburguesas elaboradas a partir de carne de cuy.

Tabla 2: Diseño experimental para evaluar las características fisicoquímicas (pH, acidez y color).

ACEITE ESENCIAL	CONCENTRACIÓN (%)	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (DÍAS)															VARIABLES DE RESPUESTA		
		0			5			10			15			20					
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
AEO	0.5																		<ul style="list-style-type: none"> • pH • Acidez • Color
	1																		
	1.5																		
AEHB	0.5																		
	1																		
	1.5																		
AEC	0.5																		
	1																		
	1.5																		
TC	0.5																		
	1																		
	1.5																		

*AEO, Aceite esencial de orégano; AEHB, Aceite esencial de hierba buena; AEC, Aceite esencial combinada; TC, Tratamiento control. *R1, repetición 1; R2, repetición 2; R3, repetición 3.

Fuente: Elaboración propia, (2022).

En la Tabla 2, se tomará en cuenta el tratamiento control, para realizar las comparaciones



con las muestras en estudio de este proyecto de investigación.

10.6.2. Metodología para el desarrollo del segundo objetivo.

Los microorganismos en estudio de este proyecto de investigación se consideran de acuerdo a los Criterios-Microbiológicos-RM-591-2008-MINSA, por lo tanto, los procedimientos a, b y c se llevarán a cabo bajo la metodología descrita por Yousef & Carlstrom, (2006) y los procedimientos d y e se llevarán a cabo bajo la metodología descrita por Abdollahzadeh, Rezaei, & Hosseini (2014).

a. Procedimiento para la determinación de Aerobios Mesófilos

- Preparación de diluciones

Se pesa en un vaso previamente tarado, 1 +/-0.1 gramos representativos de hamburguesa elaboradas a partir de carne de cuy, seguidamente se añade un volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (9ml), homogenizándolo en la licuadora y obtendrá una dilución 10⁻¹. Luego se toma 1 ml del homogenizado y se coloca en un tubo con 9ml de diluyente, obteniéndose así la dilución 10⁻², prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

- Siembra

Se pipetea alícuotas de 1ml de las diluciones 10⁻³ y 10⁻⁴, sobre placas Agar Plate Count previamente temperada. Seguidamente se mezcla las alícuotas con el agar, mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a 35-37°C durante 48 horas.

- Conteo de colonias

Transcurridas 48 horas de incubación se procede al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo de muestra.

b. Procedimiento para la determinación de Escherichia coli.

- Preparación de diluciones

Se pesa en un vaso previamente tarado 1 +/- 0.1 gr representativos de hamburguesa elaborados a partir de carne de cuy, seguidamente se añade 1 volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (9ml), homogenizándolo hasta conseguir 15.000 a 20.000 revoluciones en la licuadora y se obtendrá una dilución de 10⁻¹. Luego se toma 1ml del homogenizado y se coloca en un tubo con 9ml de diluyente obteniéndose así la dilución de 10⁻², prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

- Procedimiento de prueba presuntiva

Se pipetea 1ml de cada dilución decimal de la muestra, a cada uno de los tres tubos conteniendo caldo verde brillante- BRILLA 2% (10⁻², 10⁻³ y 10⁻⁴) para incubarlos a 35-37°C por 24 horas. Después de este periodo, se seleccionarán los tubos gas- positivos para continuar con el procedimiento de determinación de bacterias coliformes de origen fecal.

- Procedimiento de prueba confirmativa

A partir de los tubos de caldo brillante- brilla positivos, se realiza la prueba confirmativa usando 1ml de la muestra positiva en un tubo del mismo caldo verde brillante brilla. A continuación, se incubo a 44.5°C durante 24 horas concluido el tiempo se observa si hay tubos de caldo verde brillante brilla positivos (gas), se añade 0.2 ml de reactivo de KOVACS en los tubos de caldo brilla brillante. La aparición de color rojo en la parte superficial del cultivo indica que es positivo para la presencia de E. coli. La confirmación se siembra en agar EMB que se incubo por 24 horas a 37°C. Las colonias de E. Coli son de 2-3 mm de diámetro de color oscuro y con un brillo verde metálico muy característico en agar EMB.



c. Procedimiento para el recuento de Staphylococcus Aureus

- **Preparación de diluciones**

Se pesa en un vaso previamente tarado, $1 \pm 0,1$ gramos representativos de hamburguesa de carne de cuy, seguidamente se añade un volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (9ml), homogenizándolo en la licuadora y finalmente se obtendrá una dilución 10-1. Luego se toma 1ml de homogenizado y se coloca en un tubo con 9ml de diluyente, obteniéndose así la dilución 10-2, prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

- **Siembra**

Se pipetea alícuotas de 1ml de las diluciones 10³ y 10⁻⁴, sobre placas Agar Manitol Salt Phenol previamente temperadas. Seguidamente se mezcla las alícuotas con el agar, mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a 37 ± 1 °C durante 72 horas

- **Conteo de colonias**

Transcurridas 72 horas de incubación se procede al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo de muestra.

d. Procedimiento para la determinación de Salmonella sp.

- **Preparación de diluciones**

Se pesa en un vaso previamente tarado, $25 \pm 0,1$ gr representativos de hamburguesa elaboradas a partir de carne de cuy, seguidamente se añade 1 volumen de diluyente igual a 9 veces la muestra (225 ml), homogenizándolo en la licuadora y se obtendrá una dilución de 10-1. Luego se toma 1ml de homogenizado y se coloca en un tubo con 9 ml de diluyente, obteniéndose así la dilución 10-2, prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

- **Siembra**

Se pipetea alícuotas de 1ml de las diluciones 10⁻³ y 10⁻⁴, sobre placas SS Agar previamente temperadas. Seguidamente se mezclarán las alícuotas con el agar mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a 35°C durante 72 horas.

- **Conteo de colonias**

Transcurridas 72 horas de incubación se procede al conteo de colonias en las placas, haciendo el cálculo correspondiente, expresando el número de colonias por gramo de muestra.

e. Procedimiento para la determinación de Escherichia Coli O157:H7

- **Preparación de diluciones**

Para el análisis microbiano, pesar en un vaso previamente tarado 5 g de hamburguesa elaborada a partir de carne de cuy con 45 ml de agua destilada estéril homogenizándolo hasta conseguir 15.000 a 20.000 rpm en la licuadora y finalmente obtener una dilución 10-1. Luego tomar 1 ml del homogenizado y colocar en un tubo de ensayo con 9 ml de diluyente, obteniéndose así la dilución 10-2, prosiguiendo hasta obtener más diluciones.

- **Siembra**

Pipetear alícuotas de 1 ml de las diluciones 10⁻² y 10⁻³, sobre placas con Agar Mc Conkey previamente temperadas. Seguidamente mezclar las alícuotas con el agar, mediante movimientos de vaivén y rotación para su posterior incubación a 37°C durante 24 horas.

- **Conteo de colonias**

Transcurridas las 24 horas de incubación se procede al conteo de colonias en las placas seleccionadas para el conteo. El número de Echerichia coli O157:H7 viables por gramo de muestra es reportado los resultados en log ufc/g.

Fórmula que se usará para el conteo de los microorganismos:

$$UFC/g = \frac{\text{Media Del Número De Colonias De Placas Duplicadas}}{\text{Factor De Dilución} \times \text{Volumen Inoculado En La Placa}}$$

Tabla 3: Diseño experimental para analizar la calidad microbiológica en la hamburguesa elaborada a partir de carne de cuy.

ACEITE ESENCIAL	CONCENTRACIÓN (%)	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (DÍAS)															VARIABLES DE RESPUESTA		
		0			5			10			15			20					
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
AEO	0.5																		<ul style="list-style-type: none"> • Aerobios Mesófilos • Escherichia coli • Staphylococcus aureus • Salmonella sp • Escherichia coli O157:H7
	1																		
	1.5																		
AEHB	0.5																		
	1																		
	1.5																		
AEC	0.5																		
	1																		
	1.5																		
TC	0.5																		
	1																		
	1.5																		

*AEO, Aceite esencial de orégano; AEHB, Aceite esencial de hierba buena; AEC, Aceite esencial combinada; TC, Tratamiento control. *R1, repetición 1; R2, repetición 2; R3, repetición 3.

Fuente: Elaboración propia, (2022).

En la Tabla 3, se tomará en cuenta el tratamiento control, para realizar las comparaciones con las muestras en estudio de este proyecto de investigación.

10.6.3. Metodología para el desarrollo del tercer objetivo

La evaluación sensorial se realizará tanto sin cocción (apariencia general y color) y con cocción (sabor, olor y textura), para obtener una mejor degustación en cada una de sus características.

- Cocción

Se seleccionarán hamburguesas de los mejores 3 tratamientos para llevarlos a cocción, en horno convencional en que la transferencia térmica ocurre por convección, por 10 a 15 minutos a una temperatura de 175 °C Quiral, Donoso, & Jiménez, (2020).

- Evaluación

Todas las características sensoriales serán evaluadas por 20 jueces quienes, llevarán una ficha de evaluación que se muestra en la Figura 2. Según Lawless, (2010), en el desarrollo de la prueba de grado de satisfacción, se brindará a los Jueces las 4 muestras de hamburguesas en orden y se buscará conocer su grado de aceptabilidad a través de una ficha que incluye una escala hedónica de cinco puntos, la cual abarco desde “excelente” asociado al número 5, hasta “Malo” correspondiente al número 1, con algunas modificaciones. al siguiente puntaje de calificación.

En la Figura 2, se muestra la ficha de evaluación sensorial para obtener resultados requeridos y necesarios para cumplir con el tercer objetivo de este proyecto de investigación.

FICHA DE EVALUACION SENSORIAL					
NOMBRE DEL PANELISTA					
PRODUCTO			CÓDIGO		
FECHA					
INSTRUCCIONES					
Frente a Ud. se presentan 4 muestras M1, M2, M3 y M4 en la que se le pide observar y evaluar la apariencia general, color, olor, sabor y textura asignando un puntaje a las muestras en el orden de su preferencia o aceptación, de acuerdo al puntaje escriba los números.					
Siga la siguiente escala:					
Excelente		5 puntos			
Muy bueno		4 puntos			
Bueno		3 puntos			
Regular		2 puntos			
Malo		1 punto			
MUESTRAS DE LAS REPETICIONES	APARIENCIA GENERAL	COLOR	OLOR	SABOR	TEXTURA
M1					
M2					
M3					
M4					
Pruebe la muestra e indique en la escala con una (x) en cuál de las circunstancias que se presentan ¿usted consumiría el producto?					
Siempre.....					
Frecuentemente.....					
En ocasiones.....					
Casi nunca.....					
OBSERVACIONES:.....					
.....					
.....					

Figura 2: Ficha de evaluación sensorial para la hamburguesa elaborada a partir de carne de cuy.

Tabla 4: Diseño experimental para evaluar las características sensoriales en la hamburguesa elaborada a partir de carne de cuy.

ACEITE ESENCIAL	CONCENTRACIÓN (%)	TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (DÍAS)												VARIABLES DE RESPUESTA			
		0			5			10			15				20		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
AEO	0.5																<ul style="list-style-type: none"> • Apariencia general • Color • Olor • Sabor • Textura
	1																
	1.5																
AEHB	0.5																
	1																
	1.5																
AEC	0.5																
	1																
	1.5																
TC	0.5																
	1																
	1.5																

*AEO, Aceite esencial de orégano; AEHB, Aceite esencial de hierba buena; AEC, Aceite esencial combinada; TC, Tratamiento control. *R1, repetición 1; R2, repetición 2; R3, repetición 3.

Fuente: Elaboración propia, (2022).

En la Tabla 4, se tomará en cuenta el tratamiento control, para realizar las comparaciones con las muestras en estudio de este proyecto de investigación.

10.7. Diseño estadístico

Para procesar los datos obtenidos durante la investigación se aplicará un diseño factorial, el análisis de varianza (ANVA) con un nivel de confianza del 95% y el test de Duncan ($p \leq 0.05$) para determinar las posibles diferencias entre las muestras de la hamburguesa de carne de cuy con la adición de aceites esenciales, para lo cual se emplea el software SPSS V 21 en español. Para comparar el efecto de las concentraciones de aceites esenciales en la hamburguesa de carne de cuy; en las características fisicoquímicas, microbiológicas y la evaluación sensorial. se aplica el diseño estadístico Modelo Lineal General.

$$Y = B_0 + B_1 X_1 + B_2 X_2 + e$$

Donde:

Y = Representa la variable dependiente.

X1 X2 = Son las variables independientes.

B0 B1 B2 = Son los parámetros desconocidos que será estimado.

e = Efecto del error experimental.



La significancia se mide de acuerdo a los siguientes valores:

P<0.01=diferencia altamente significativa

P<0.05=diferencia significativa

P>0.05=diferencia no significativa

X. Referencias (Listar las citas bibliográficas con el estilo adecuado a su especialidad)

- Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., & Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*.
- Abdul Qadir, M. S. (2017). *Evaluation of Phenolic Compounds and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Some Common Herbs*.
- Alvis, A., & Granados, C. (2017). *Evaluación Del Color, Las Propiedades Texturales Y Sensoriales De Salchicha Elaborada Con Carne De Babilla (Caiman Crocodilus Fuscus)*. *Rev Chil Nutr*.
- Araujo Sánchez, F. E. (2016). *Efecto Antibacteriano Del Aceite Esencial de Origanum Vulgare Sobre Coliformes y Mesófilos En Carnes de Hamburguesas Preparadas Artesanalmente*. Trujillo – Perú.
- Bejarano Roncancio, J., & Suárez Latorre, L. (2015). *Some chemical and nutritional dangers of consuming food sales in public spaces*. Santander: Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud.
- Condori cutipa, J. C. (2015). "Efecto Del Aceite Esencial de Orégano (*Origanum Vulgare*) Como Conservante En La Carne de Cuy (*Cavia Porcellus*)".
- Contreras Flores, S. T. (19 de febrero de 2019). *Potencial Del Mercado Internacional Para La Carne De Cuy*. "El Peruano", págs. 1-10.
- Culqui Arce, C. A. (2018). *Determinación De Vida Útil De Carne De Cuy Empacado Al Vacío Utilizando Aceites Esenciales De Especies Nativas De La Region Amazonas*. Chachapoyas – Amazonas: Universidad Nacional Toribio Rodríguez De Mendoza De Amazonas Facultad.
- García, F. M. (2017). *La conservación de los alimentos: nitratos, nitritos y la seguridad de los 'curados' (V)*. Restauración Colectiva, 1-2.
- Giler Moran, I., & Perez Perez, T. (2020). *Evaluación De La Capacidad Antimicrobiana Y Antioxidante De La Mezcla De Aceites Esenciales, Hierba Buena (*Mentha Spicata*) Y Hierba Luisa (*Cymbopogon Citratus*), Frente A *Salmonella Typhimurium*, *Listeria Monocytogenes* Y *Escherichia Coli**. GUAYAQUIL: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL.
- Hilvay Gómez, L. R. (2015). "Efecto De Los Aceites Esenciales De Limón (*Citrus Limon*), Albahaca (*Ocimum Basilicum L.*) Y Orégano (*Origanum Vulgare*), En La Conservación De La Carne De Cuy (*Cavia Porcellus*)". Ambato – Ecuador: Universidad Técnica De Ambato.
- Humberto, O. C., & Fragosó Díaz, S. (2013). *Consumo de comida rápida y obesidad, el poder de la buena alimentación en la salud*. Guadalajara - Mexico: RIDE Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo.
- Lawless, H. Y. (2010). *Sensory evaluation of food : principles and practices*. New York.: 2nd ed.
- Londoño Pereira, M., & Gómez Ramírez, B. (2020). *Nitratos y nitritos, la doble cara de la moneda*. Colombia: Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo.
- Medina M, L. A. (2009). *Determinacion De Humedad, Ph Y Acidez En La Carne Fresca Y Productos Carnicos*.
- Prakash, B. &. (2016). *Essential Oils: A Traditionally Realized Natural Resource For Food Preservation*. *Current Science*; 110 (10): 1890-1892.
- Quispe Nina, R. (2017). "Efecto Antimicrobiano Y Antioxidante Del Aceite Escencial De Orégano (*Origanum Vulgare*), En El Jamón De Carne De Alpaca (*Vicugna Pacos*)".
- Quispe Velasquez, D. D. (2017). "Efecto De Los Aceites Esenciales De Romero *Rosmarinus Officinalis* Y Hierba Buena (*Mentha Spicata*) En Hamburguesa De Carne De Llama (*Lama Glama*)". Puno-Perú: Universidad Nacional del Altiplano.
- Quitaral, V., Donoso, M., & Jiménez, P. (2020). *Effect Of Conventional Oven Versus*



Microwave Cooking On Rancidity, Cooking Loss And Sensory Difference Of Hamburger Patties. Santiago, Chile: Escuela de Nutrición y Dietética.

- Rodríguez, J. L., Valdés, O., & Alemán, A. (2006). *Evaluación De La Actividad Antioxidante De Cinco Hierbas Aromáticas, Instituto De Investigaciones Para La Industria Alimenticia.* Ciencia y Tecnología de Alimentos.
- Teneda Llerena, A. d. (2015). *Efectos Del Aceite Esencial De Orégano (Oreganum Vulgaris) Como Promotor De Crecimiento En Cerdos (Sus Scrofa).* Quito: Pontificia Universidad Católica Del Ecuador.
- Yousef, A., & Carlstrom, C. (2006). *Microbiología De Los Alimentos. Manual De Laboratorio.* Zaragoza-España: Editorial Acirbia S.A.
- Zapata, L., & Aguilera, N. (2018). *Composición nutricional de hamburguesas de vacuno, pollo y cerdo.* Chile: Organización De Consumidores Y Usuarios De Chile.

XI. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto (Señalar el posible uso de los resultados y la contribución de los mismos)

Una vez probado que el aceite esencial logra alargar la vida útil de la hamburguesa a partir de carne de cuy esta puede ser usada como un conservante natural en las industrias de las hamburguesas de esta manera mejorar la eficiencia y efectividad en la conservación de los alimentos para una buena adaptación a las necesidades del mercado.

XII. Impactos esperados

i. Impactos en Ciencia y Tecnología

En este proyecto se busca sustituir a los conservantes químicos que se usan para la elaboración de hamburguesas por un conservante natural que según investigadores contiene timol y carvacrol los cuales son los componentes antimicrobianos de mayor importancia presentes en AEO, por lo tanto, el uso de aceites esenciales ha ganado interés por su carga antimicrobiano que ofrece protección a los alimentos liberando sus componentes contra patógenos resistentes que son usados en una amplia variedad de alimentos como conservantes sanos mas no sintéticos que prolonga su vida útil del producto cárnico.

ii. Impactos económicos

Con los resultados de este proyecto se tendrá la oportunidad de minimizar los índices de errores con productos químicos, incrementar los beneficios económicos y reducir sustancialmente de los costos de elaboración. El consumo de hamburguesas en zonas populosas tiene elevada demanda por sus costos que pueden ser económicos; sin embargo, es responsabilidad de los mercados de abastos que además de ofertar calidad a bajo precio deben incorporar necesariamente la condición de inocuidad por lo tanto este proyecto también incluye la inocuidad para un producto de calidad.

iii. Impactos sociales

Con este proyecto se podrá tener la oportunidad de mejorar las relaciones e interrelaciones con los clientes, al hacerlos participes del uso de conservantes naturales y comercialización de alimentos naturales que no utilizan aditivos sintéticos (nitros) debido a que han sido reportados efectos adversos para la salud en algunos de ellos ocasiona el botulismo. Por ello, tanto los tecnólogos de alimentos como los científicos se han interesado en el uso de antioxidantes naturales de esta manera aumentar la confianza de los clientes e imagen positiva en la comunidad y el mercado.



iv. Impactos ambientales

Lograr la concientización sobre la preservación del medio ambiente al no utilizar conservantes químicos (nitratos, glutamato monosódico, nitritos, etc.), de esta manera generar un entorno de trabajo más seguro para todos los trabajadores en las empresas evitando las intoxicaciones en los procesamientos de producción de conservantes artificiales.

XIII. Recursos necesarios (Infraestructura, equipos y principales tecnologías en uso relacionadas con la temática del proyecto, señale medios y recursos para realizar el proyecto)

- **Materia prima**
 - Cuy (Mercado Unión y Dignidad - Puno)
 - Aceites esenciales (Essential Oils Perú)
- **Insumos**
 - Polifosfatos
 - Glutamato
 - Azúcar
 - Sal
 - Almidón de maíz
 - Cebolla roja
 - Pimentón
 - Hielo en escarcha
 - Ajo en polvo
- **Reactivos químicos**
 - Agar Plate count (APC)
 - Agar Salmonella Shigella (SS)
 - Agar Manitol salado (MSA)
 - Verde Brillante Bilis 2% (Caldo brilla)
 - Agua destilada.
 - Solución de fenolftaleína 2%, PM: 318.327 g/mol
 - Hidróxido de sodio 0.1N.
- **Materiales de laboratorio**
 - Placas Petri PIREX.
 - Pipetas de 1,5 y 10ml.
 - Matraz de 300, 500 y 1000 ml.
 - Tubos de ensayo de 20, 50 y 100ml.
 - Espátula de drigalsky.
 - Gradillas de plástico capacidad de 60 tubos.
 - Probetas 10, 50, 100 y 250ml.
 - Vasos precipitados 10, 250 y 500 ml PIREX.
 - Tripode metal hierro.
 - Crisoles de porcelana.
 - Mortero y pilón.
 - Cuenta gotas.
 - Papel aluminio.
 - Pinzas de aluminio.
 - Pabilo.
 - Papel Kraft.
 - Bandejas de espuma de poliestireno.
 - Film plástico.
- **Equipos de laboratorio y materiales para el proceso**
 - pH-metro digital modelo-903, marca-nahita
 - Autoclave modelo LS-BSOL-II, volumen de 50L.
 - Espectrofotómetro modelo 4802 UV/VIS, marca UNICOR.



- Balanza electrónica marca ACCULAB SARTORIUSB sensible al 0,0001 g.
- Balanza analítica a precisión marca AND FR-300 Japon, capacidad de 0,0001 a 310g.
- Cuenta colonias marca LIGHTBOX.
- Mufla 0 a 600°C marca LABPOR.

XIV. Localización del proyecto (indicar donde se llevará a cabo el proyecto)

El estudio microbiológico de la aplicación de aceites esenciales en hamburguesas elaboradas a partir de carne de cuy (*Cavia porcellus*) se llevará a cabo en el laboratorio de Evaluación Nutricional, Taller de Carnes y en el Laboratorio de Análisis Microbiológico de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNA-PUNO.

XV. Cronograma de actividades

Actividad	Meses											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Determinación de la idea de investigación	X											
Revisión bibliográfica	X	X										
Presentación del proyecto de investigación			X	X								
Ejecución de la base experimental del proyecto de tesis					X	X	X	X				
Registro y colección de resultados								X				
Estructuración de la investigación								X				
Procesamiento de resultados								X	X			
Redacción de Artículo científico									X	X		
Revisión de artículo científico										X		
Correcciones y recomendaciones										X	X	
Publicación del artículo científico											X	X

XVI. Presupuesto

Descripción	Unidad de medida	Costo Unitario (S./.)	Cantidad	Costo total (S./.)
Aceites esenciales	Unid	S/ 60.0	4	S/ 240.0
Cuy	Unid	S/ 20.0	10	S/ 200.0
Insumos para hamburguesa	Unid	S/200.0	1	S/200.0
Materiales de limpieza y utensilios	Unid	S/100.0	1	S/100.0
Materiales y equipos	Unid	S/300.0	2	S/600.0
Reactivos	Unid	S/120.0	4	S/480.0
Uso de laboratorio	Unid	S/100.0	20	S/2000.0
Materiales de escritorio	Unid	S/100.0	1	S/100.0
Material informativo	Unid	S/100.0	1	S/100.0
Recolección de información	Unid	S/150.0	1	S/150.0
Elaboración de perfil	Unid	S/150.0	1	S/150.0
Elaboración de borrador	Unid	S/300.0	1	S/300.0
Sub total				S/ 4,620
Imprevistos (10%)				S/462.0
Total				S/ 5,082.0