

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



**“ESTABILIDAD OXIDATIVA Y MICROBIOLÓGICA DE UN
EMBUTIDO COCIDO DE VÍSCERAS ROJAS DE *Cavia porcellus* CON
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Mentha spicata*”**

Presentado por:

EDMIR DIEGO SALVÁ MAMANI

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

Lima-Perú

2016

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**“ESTABILIDAD OXIDATIVA Y MICROBIOLÓGICA DE UN EMBUTIDO
COCIDO DE VÍSCERAS ROJAS DE *Cavia porcellus* CON EXTRACTO
ETANOLICO DE *Mentha spicata*”**

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE:
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

EDMIR DIEGO SALVÁ MAMANI

APROBADA POR EL SIGUIENTE JURADO:

Dr. David Campos Gutiérrez
PRESIDENTE

Mg.Sc. Carlos Elías Peñafiel
MIEMBRO

Dra. Patricia Glorio Paulet
MIEMBRO

Dra. Bettit Salvá Ruiz
ASESORA

Dr. Marcial Silva Jaimes
CO-ASESOR

Lima-Perú

2015

*A mis padres, Alicia y Demetrio,
por su amor, trabajo y sacrificios
en todos estos años. Todo lo que
soy es gracias a ellos.*

*A mi hermana y amigos, por su
motivación y compañía durante mi
vida universitaria*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer a mi asesora, Dra. Bettit Salvá Ruiz, por su apoyo, la paciencia y motivación incondicional; y por los consejos e información brindada. Sin su apoyo, esto no habría sido posible.

Al Dr. Marcial Silva, por su apoyo y por brindarme la oportunidad de trabajar con carne de cuy.

Resaltar la ayuda brindada por las técnicas y técnicos de los laboratorios de Análisis Físico Químico, Investigación e Instrumentación, Microbiología de Alimentos e Ingeniería de Alimentos; a los productores de carne de cuy de Pucyura - Cusco que colaboraron con la materia prima para esta investigación. Finalmente, a todos los profesores de la facultad de Industrias Alimentarias por haber contribuido a mi formación profesional.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1.	CUY.....	3
2.1.1.	GENERALIDADES.....	3
2.1.2.	TIPOS DE CUY.....	4
2.1.3.	PRODUCCIÓN DE CARNE DE CUY EN EL PERÚ.....	6
2.1.4.	COMERCIALIZACIÓN DE CARNE DE CUY EN EL PERÚ.....	6
2.1.5.	COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA CARNE DE CUY.....	7
2.2.	VÍSCERAS DE CUY.....	8
2.3.	HIERBA BUENA.....	11
2.3.1.	GENERALIDADES.....	11
2.3.2.	ASPECTOS BOTÁNICOS.....	12
2.3.3.	USOS.....	13
2.3.4.	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HIERBA BUENA.....	14
2.4.	COMPUESTOS FENÓLICOS.....	16
2.4.1.	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS.....	17
2.5.	FLAVONOIDES.....	18
2.5.1.	EFFECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS FLAVONOIDES.....	20
2.6.	EMBUTIDOS CÁRNICOS COCIDOS.....	21
2.6.1.	DEFINICIÓN.....	21
2.6.2.	PRINCIPALES EMBUTIDOS COCIDOS.....	21
2.6.3.	ELABORACIÓN DE EMBUTIDOS COCIDOS.....	22
2.6.4.	PRINCIPALES DEFECTOS EN LOS EMBUTIDOS COCIDOS.....	24
2.6.5.	REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA LOS EMBUTIDOS COCIDOS...25	
2.7.	OXIDACIÓN LIPÍDICA.....	25
2.7.1.	OXIDACIÓN DE LÍPIDOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS.....	25
2.7.2.	MECANISMO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA.....	26
2.7.3.	MEDIDA DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA.....	28
2.8.	DETERIORO MICROBIOLÓGICO.....	29
2.8.1.	ALTERACIÓN MICROBIOLÓGICA DE EMBUTIDOS CÁRNICOS COCIDOS.....	29

2.9. EXTRACTOS HERBALES COMO AGENTES ANTIOXIDANTES.....	31
2.10. EXTRACTOS HERBALES AGENTES ANTIMICROBIANOS.....	32
III. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1. LUGARES DE EJECUCIÓN.....	33
3.2. MATERIA PRIMA.....	33
3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	34
3.3.1. MATERIALES.....	34
3.3.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS.....	35
3.3.3. REACTIVOS.....	36
3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	37
3.4.1. ANÁLISIS A LAS HOJAS FRESCAS Y POLVO DE HIERBA BUENA.....	37
3.4.2. ANÁLISIS REALIZADOS AL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA.....	38
3.4.3. ANÁLISIS REALIZADOS AL EMBUTIDO COCIDO DE VÍSCERAS ROJAS DE CUY.....	40
3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	42
3.5.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA.....	42
3.5.2. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE UN EMBUTIDO CÁRNICO DE VÍSCERAS DE CUY.....	44
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	47
3.6.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA.....	49
3.6.2. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA Y MICROBIOLÓGICA DEL EMBUTIDO COCIDO.....	49
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	50
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	51
4.1. CARACTERIZACIÓN DEL EMBUTIDO CÁRNICO COCIDO DE VÍSCERAS ROJAS DE CUY.....	51
4.2. CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA...53	
4.2.1. COMPOSICIÓN DE LA HIERBA BUENA.....	53
4.2.2. RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO A PARTIR DE HIERBA BUENA DESHIDRATADA Y MOLIDA.....	55
4.2.3. CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y FLAVONOIDES EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA.....	56

4.2.4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH.....	59
4.3. EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL EMBUTIDO COCIDO DE VÍSCERAS ROJAS DE CUY DURANTE EL ALMACENAMIENTO.....	60
4.3.1. EFECTO SOBRE EL PH.....	60
4.3.2. EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE AGUA.....	63
4.4. ESTABILIDAD OXIDATIVA.....	65
4.4.1. SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO.....	65
4.5. ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA.....	71
4.5.1. RECUENTO DE FLORA MESÓFILA AEROBIA.....	71
4.5.2. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES.....	76
4.5.3. PRESENCIA DE SALMONELLA.....	77
V. CONCLUSIONES	79
VI. RECOMENDACIONES	80
VII. BIBLIOGRAFÍA	81
VIII. ANEXOS	93

ÍNDICE DE TABLAS

Cuadro 1: Clasificación según el color del pelaje	6
Cuadro 2: Composición química de las principales carnes de abasto	7
Cuadro 3: Requisito microbiológicos para Vísceras Refrigeradas y Congeladas	9
Cuadro 4: Pesos promedios de vísceras de cuyes de tres meses de edad	10
Cuadro 5: Estadística descriptiva de Pesos vivo y órganos de cuyes de Lima (150 msnm) y de Huancayo (3280 msnm).....	10
Cuadro 6: Análisis proximal de órganos de cuyes (mg/g tejido húmedo).....	11
Cuadro 7: Propiedades medicinales reconocidas de la hierba buena (<i>Mentha spicata</i>).....	13
Cuadro 8: Compuestos fenólicos encontrados en la hierba buena (<i>Mentha spicata</i>).....	15
Cuadro 9: Composición química del paté (100g).....	21
Cuadro 10: Composición química del relleno (100 g)	22
Cuadro 11: Requisitos microbiológicos para embutidos con tratamiento térmico.....	25
Cuadro 12: Formulación del embutido cocido de vísceras de cuy	45
Cuadro 13: Diseño experimental de la Investigación.....	48
Cuadro 14: Composición proximal* del embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy (Media ± DE).....	51
Cuadro 15: Composición proximal* de la hierba buena fresca (Media ± DE)	54
Cuadro 16: Rendimiento* del extracto etanólico de hierba buena deshidratada (Media ± DE)	55
Cuadro 17: Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto etanólico de hierba buena (Media ± DE)	56
Cuadro 18: Capacidad antioxidante del extracto etanólico de hierba buena (Media ± DE).....	59
Cuadro 19: Resultados de actividad de agua durante el almacenamiento del embutido cocido de vísceras de cuy con extracto etanólico de hierba buena (Media ± DE)	64
Cuadro 20: Porcentajes de inhibición de la formación de malonaldehído (MDA) de los extractos de hierba buena aplicados en los embutidos cocidos de vísceras rojas de cuy almacenados a 4°C	69
Cuadro 21: Recuento de coliformes totales (Log ₁₀ ufc/g de muestra) en los embutidos cocidos de vísceras rojas de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena almacenados a 4°C (n=3).....	77
Cuadro 22: Presencia de Salmonella en los embutidos cocidos de vísceras rojas de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena almacenados a 4°C (n=3)	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo de reacción de compuestos fenólicos frente a radicales libres	17
Figura 2: Estructura básica del esqueleto flavonólico	18
Figura 3: Familias más comunes de flavonoides presentes en los alimentos.....	19
Figura 4: Diagrama general para la elaboración de embutidos cocidos	24
Figura 5: Mecanismo de oxidación lipídica	27
Figura 6: Reacción entre el MDA y el TBA.....	28
Figura 7: Flujo de operaciones para la obtención de extracto etanólico de hierba buena ...	43
Figura 8: Diagrama de flujo de la elaboración del embutido cocido de vísceras rojas de cuy con extracto etanólico de hierba buena.....	46
Figura 9: Evolución del pH durante el almacenamiento del embutido cocido de vísceras de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena (n=3)	62
Figura 10: Evolución de la oxidación lipídica en el embutido cocido de vísceras rojas de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena a 0, 50, 100 y 150 ppm de CFT en la formulación (n=6).....	66
Figura 11: Evolución del crecimiento de mesófilos aerobios (Log_{10} ufc/g) en el embutido cocido de vísceras rojas de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena a 0, 50, 100 y 150 ppm de CFT durante el almacenamiento (n=3)	72

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Curva estándar Trolox (TEAC) para la determinación de la capacidad antioxidante a 517nm – método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)	93
Anexo 2: Curva estándar de ácido gálico para la determinación de compuestos fenólicos a 760 nm	94
Anexo 3: Curva estándar de catequina para la determinación de flavonoides a 510 nm	95
Anexo 4: Curva estándar TEP para determinar la concentración de malonaldehído a 532 nm	96
Anexo 5: Análisis estadístico del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre el pH del embutido cocido de vísceras rojas de cuy.....	97
Anexo 6: Análisis estadístico del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre la actividad de agua del embutido cocido de vísceras rojas de cuy.....	100
Anexo 7: Análisis estadístico del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre la formación de malonaldehído en mg MDA / kg de muestra del embutido cocido de vísceras rojas de cuy.....	103
Anexo 8: Análisis estadístico del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre la carga microbiana de mesófilos aerobios del embutido cocido de vísceras rojas de cuy ...	115

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto de un extracto etanólico de *Mentha spicata* sobre la estabilidad oxidativa y microbiológica de un embutido cocido de vísceras rojas de cuy. Las vísceras, incluyendo corazón, riñones, hígado y pulmones, provenientes de Cusco fueron preparadas incluyendo cebolla, papa y hierba buena, siendo esta última reemplazada por un extracto etanólico de la misma hierba (*Mentha spicata*). Al extracto se le determinó el contenido de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu, flavonoides totales por el ensayo colorimétrico con cloruro de aluminio ($AlCl_3$) y capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical DPPH. Luego el extracto etanólico fue adicionado al embutido en cuatro tratamientos considerando la concentración de compuestos fenólicos, siendo estos 50, 100 y 150 ppm y una muestra control sin extracto. El embutido fue almacenado refrigerado ($4^{\circ}C$), llevándose a cabo las siguientes mediciones: pH, actividad de agua, oxidación de lípidos (TBARS), carga microbiana aerobia mesófila, coliformes totales y presencia de *Salmonella sp.*, al día 0, 3, 7, 10 y 15 de almacenamiento. Los resultados se analizaron mediante un Diseño Completamente al Azar (DCA), aplicando un análisis de varianza (ANOVA) para los tratamientos establecidos, al existir diferencias significativas ($P < 0.05$) se realizó un test de comparación múltiple de medias de Tukey. Los resultados de la evaluación demostraron el efecto significativo ($P < 0.05$) del extracto etanólico de *Mentha spicata* y su interacción con el tiempo. El extracto etanólico tuvo un efecto positivo al favorecer en mantener el pH, retardar la oxidación lipídica en las tres concentraciones aplicadas y sobre la inhibición del crecimiento de mesófilos aerobios al aplicarse al 0.3 por ciento. Sin embargo no se observa efecto significativo sobre la actividad de agua. Además no se pudo evaluar su efecto sobre los coliformes y *Salmonella sp.*, debido a que el tratamiento térmico del producto eliminó esta carga microbiana.

Palabras clave: cuy, hierba buena, TBARS, antimicrobiano, fenoles totales, flavonoides

ABSTRACT

In the present study the effect of an ethanol extract of *Mentha spicata* on the oxidative and microbiological stability of a cooked sausage guts guinea pig was evaluated. Viscera, including heart, kidneys, liver and lungs, from Cusco were prepared including onions, potatoes and mint, the latter being replaced by an ethanol extract the same plant (*Mentha spicata*). Extract is determined phenolics content by the Folin-Ciocalteu, total flavonoids by colorimetric assay with aluminum chloride (AlCl₃) and antioxidant capacity by DPPH free radical scavenging activity. Then the ethanol extract was added stuffed into four treatments considering the concentration of phenolic compounds, these were 50, 100 and 150 ppm and a sample control without extract. The sausage was stored refrigerated (4° C), carrying out the following measurements: pH, water activity, lipid oxidation (TBARS), aerobic mesophilic count, total coliforms and presence of *Salmonella* sp. at day 0, 3, 7, 10 and 15 storage. The results were analyzed using a completely randomized design (CRD), using an analysis of variance (ANOVA) for established treatments, to be significant differences (P <0.05) multiple comparison test of Tukey was performed. The results of the evaluation showed significant effect (P <0.05) of ethanol extract of *Mentha spicata* and its interaction with time. The ethanol extract had a positive effect to promote maintaining the pH, retard lipid oxidation in the three concentrations were applied and inhibited the growth of aerobic mesophilic when applied 0.3 per cent. However, no significant effect on the water activity is observed. Also it could not assess their effect on coliforms and *Salmonella* sp., because heat treatment product that eliminated microbial load.

Keywords: guinea pig, spearmint, TBARS, antimicrobial, total phenolics, flavonoids

I. INTRODUCCIÓN

Por al menos los últimos 500 años, el cuy ha sido utilizado en los andes de Sudamérica, principalmente en Perú, Bolivia y Ecuador, como un alimento especial en la dieta del poblador andino (Rosenfeld, 2007). Tras el proceso migratorio de las décadas pasadas, su consumo se ha extendido hacia otras regiones y ha llegado a Lima Metropolitana. En el Perú se ha estimado que anualmente se consume 25 000 toneladas de carne de cuy, es decir que en promedio el consumo personal es de 1kg/año de carne de cuy.

El cuy, plato considerado tradicional de la zona alto andina del Perú, ha pasado de ser un producto de consumo familiar a ser parte del negocio gastronómico que traspasa regiones y el país. En los últimos años, gracias a distintos proyectos, han surgido o se han fortalecido distintas redes de productores y de comercialización (Esqueche, 2012). Sin embargo, el trabajo de investigación en la generación de valor a partir de esta carne no ha sido igual de amplio que el realizado para mejorar los sistemas de producción del animal.

A pesar de que más del 65 por ciento de un cuy es utilizable, en el cual se incluye la piel, cabeza, corazón, pulmones, riñones e hígado (Rico, 2003), solo se comercializa su carne. Sin embargo, el aprovechamiento adecuado de las vísceras podría aumentar el valor que hasta el momento tiene el cuy. Para el aprovechamiento de las vísceras, en la sierra peruana se elaboran de manera artesanal embutidos cocidos denominados *Ccuwilon* o *Tuillan* que se preparan con las vísceras rojas del cuy, papa, cebolla, condimentos, hierba buena, entre otros y se sirven como acompañamiento del cuy o como entrada. Debido a las condiciones de su preparación, este producto tiene una alta perecibilidad, lo que limita su comercialización y consumo.

Un problema común en los productos cárnicos es la oxidación lipídica y deterioro microbiológico, que ocurren durante el procesamiento y el almacenamiento de estos, por lo que es necesario controlar estos cambios para el desarrollo de mejores productos. Al respecto, existen algunos estudios sobre la propiedad antioxidante y antibacteriana de

variedades de Mhenta (Djenane *et al.*, 2012, Gulluce *et al.*, 2007, Dorman *et al.*, 2003; Marinova y Yanishlieva, 1997; Zheng & Wang, 2001). Asimismo, Kanatt *et al.* (2007) encontraron que la adición de extracto de hierba buena a la carne de cordero irradiada es capaz de prevenir la peroxidación de lípidos, además de impartir sabor y el gusto a la carne.

En la actualidad, la industria de los alimentos está empezando a utilizar especias y extractos de éstas en la formulación de sus productos con el fin principal de retrasar la oxidación y no de contribuir al aroma. En este sentido a la hora de obtener extractos de especias se busca obtener la mayor cantidad de compuestos antioxidantes reduciendo en lo posible la presencia de compuestos aromáticos (Madsen y Bertensen, 1995). Por lo que el objetivo principal en la presente investigación es evaluar el efecto del extracto etanólico de hierba buena, menta que es ingrediente en la formulación del *Ccuwilon*, en la estabilidad oxidativa y microbiológica de este embutido de vísceras rojas de cuy, tradicional de la sierra peruana. Además como objetivos específicos están el determinar el nivel de formación de MDA y de crecimiento microbiano de aerobios mesófilos, coliformes totales y salmonella en quince días de almacenamiento en refrigeración.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CUY

2.1.1. GENERALIDADES

El cuy o cobayo es un mamífero roedor originario de la zona andina del Perú, Ecuador, Colombia y Bolivia. Como animal productor de carne se le conoce también como Curí. Constituye un producto alimenticio, de alto valor biológico. Contribuye en dar seguridad alimentaria a la población rural de escasos recursos (Chauca, 1995).

La distribución de la población de cuyes en Perú y Ecuador es amplia, se encuentra en casi la totalidad del territorio, mientras que en Colombia y Bolivia su distribución es regional por lo que manejan poblaciones menores. Por su capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas, los cuyes pueden encontrarse desde la costa o el llano hasta alturas de 4 500 metros sobre el nivel del mar y en zonas tanto frías como cálidas (Chauca, 1997).

Actualmente, el Perú concentra la mayor población de cuyes en la región; para el 2003 el INIA y la Dirección General de Promoción Agraria (DGPA) calcularon una población de 23,2 millones de animales, principalmente en la sierra (92 por ciento). La población es mucho menor en la costa (6 por ciento) y en la selva (2 por ciento). En la cultura andina el cuy es un producto alimenticio de gran demanda; el consumidor andino aprovecha la facilidad que hay para su crianza y reproducción (Chirinos *et al.*, 2008).

Según Chauca (1995) en términos generales se define al cuy como una especie precoz, prolífica, de ciclos reproductivos cortos, de fácil manejo y adaptable a diferentes ecosistemas. Estas afirmaciones son ciertas si se tienen en cuenta los conocimientos básicos para poder manejar la etapa reproductiva.

a. Descripción zoológica

En la escala zoológica (Orr, 1966, citado por Chauca, 1997) se ubica al cuy dentro de la siguiente clasificación zoológica:

- Reino: Animal
- Phylum: Vertebrata
- Sub-phylum: Gnathostomata
- Clase: Mammalia (Mamífero, sangre caliente, piel cubierta de pelos)
- Sub-clase: Theria (Mamífero vivíparo)
- Infra-clase: Eutheria
- Orden: Rodentia
- Sub-orden: Hystricomorpha
- Familia: Caviidae (Roedor con 2 mamas, 4 dedos ant. y 3 post.)
- Género: *Cavia*
- Especie: *Cavia aperea aperea* Erxleben
Cavia aperea aperea Lichtenstein
Cavia cutleri King
Cavia porcellus Linnaeus
Cavia cobaya

2.1.2. TIPOS DE CUY

Se les ha agrupado a los cuyes de acuerdo a su conformación, forma y longitud del pelo.

a. Clasificación según la conformación

- **Tipo A:** corresponde a cuyes “mejorados” que tienen una conformación enmarcada dentro de un paralelepípedo, clásico en las razas productoras de carne. Son de temperamento tranquilo, responden eficientemente a un buen manejo y tienen buena conversión alimenticia (Chauca, 1997).

- **Tipo B:** corresponde a los cuyes de forma angulosa, cuyo cuerpo tiene poca profundidad y desarrollo muscular escaso. La cabeza es triangular y alargada. Es muy nervioso, lo que hace dificultoso su manejo (Chauca, 1997).

b. Clasificación según el pelaje

- **Tipo 1:** es de pelo corto, lacio y pegado al cuerpo, es el más difundido y caracteriza al cuy peruano productor de carne. Se encuentran de colores simples claros, oscuros o combinados. Es el que tiene el mejor comportamiento como productor de carne (Chauca, 1997).
- **Tipo 2:** es de pelo corto, lacio pero forma rosetas o remolinos a lo largo del cuerpo, es menos precoz. Está presente en poblaciones de cuyes criollos, existen de diversos colores. No es una población dominante. Tiene buen comportamiento como productor de carne (Chauca, 1997).
- **Tipo 3:** es de pelo largo y lacio, presenta dos subtipos que corresponden al tipo 1 y 2 con pelo largo, así tenemos los cuyes del subtipo 3-1 presentan el pelo largo, lacio y pegado al cuerpo, pudiendo presentar un remolino en la frente. El subtipo 3-2 comprende a aquellos animales que presentan el pelo largo, lacio y en rosetas. Está poco difundido pero bastante solicitado por la belleza que muestra. No es buen productor de carne, si bien utilizado como mascota (Chauca, 1997).
- **Tipo 4:** es de pelo ensortijado, característica que presenta sobre todo al nacimiento, ya que se va perdiendo a medida que el animal se desarrolla, tornándose en erizado. Este cambio es más prematuro cuando la humedad relativa es alta. Su forma de cabeza y cuerpo es redondeado, de tamaño medio. Tiene una buena implantación muscular y con grasa de infiltración, el sabor de su carne destaca a este tipo. La variabilidad de sus parámetros productivos y reproductivos le da un potencial como productor de carne (Chauca, 1997).

c. Clasificación según la coloración del pelaje

En el Cuadro 1, se muestra la clasificación según el color del pelaje, pudiendo ser claros y oscuros.

Cuadro 1: Clasificación según el color del pelaje.

Clasificación	Características
Claros	Blancos, bayos y marrones y combinaciones entre estos
Oscuros	Negro, gris, marrón barreado (con pelos negros) y combinaciones de estos

FUENTE: Sarria (2005)

2.1.3. PRODUCCIÓN DE CARNE DE CUY EN EL PERÚ

En el Perú se ha estimado que anualmente se consume 25 000 toneladas de carne de cuy, es decir que en promedio el consumo personal es de 1kg/año de carne de cuy. Desafortunadamente no se dispone de información oficial actualizada sobre población y producción de cuyes. Según algunos datos, de trabajos realizados por W. Caballero, deducen que a la fecha hay una población constante de unos 25 millones 500 mil unidades (Téllez, 2007 citado por Salvá, 2012).

El desarrollo de la cuyicultura va en incremento debido al mejor conocimiento de la especie y la tradición arraigada de su consumo en las zonas rurales y urbanas. Actualmente se encuentra muy difundido el sistema de crianza familiar comercial, el mismo que se encuentra en crecimiento hacia consolidarse en comerciales cuando cuentan con los recursos necesarios (Vargas y Chauca, 2006).

2.1.4. COMERCIALIZACIÓN DE CARNE DE CUY EN EL PERÚ

Mayormente se comercializa la canal del cuy, que incluye la cabeza, patitas y riñones. Existe en el mercado dos tipos de cuyes destinados para el consumo, los “parrilleros”, que son cuyes de 3 meses de edad, y los de “saca”, que corresponden a cuyes hembras después del tercer parto. Al mercado deben salir animales parejos en tamaño, peso y edad, con esto

se consigue carcasas de excelente calidad. No deben sacrificarse animales golpeados ni con afecciones fungosas que desmerecen la calidad de la carcasa (Chauca, 1997). También se utilizan la piel para comercializarlo con fines artesanales.

En la actualidad, el cuy sigue siendo parte de la dieta de muchos de los mismos criadores de cuyes pero también se ha tornado una actividad comercial muy rentable a comparación de la agricultura y ganadería mayor. Es así, que para abastecer al mercado creciente han tenido que adoptar una crianza tecnificada, que implica la construcción de galpones, mejoramiento genético, dieta balanceada para el cuy y medidas de control sanitario (Esqueche *et al.*, 2002).

El cuy en la ciudad se comercializa sacrificado y eviscerado, con valor agregado en la presentación, facilitando su utilización a los consumidores. El aumento de la demanda por la carne de cuy exige un producto de excelente condiciones de presentación, aseguramiento sanitario y valor nutricional. Por ello, la transacción comercial de cuyes en granja, se valoriza no solamente como unidad viva, sino calculada a rendimiento de carcasa, donde la crianza tecnificada rinde sus dividendos (Higaonna, 2006).

2.1.5. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA CARNE DE CUY

La carne de cuy es muy valorada por su composición nutricional. Se puede observar en el Cuadro 2, detalle de la composición en proteína, grasa y calorías por kilo de carne de cuy, comparándola con la de otros productos cárnicos.

Cuadro 2: Composición química de las principales carnes de abasto.

Especie	% Proteína	% Grasa	Calorías por kg
Cuy	20.3	7.8	960
Conejo	20.4	8.0	1590
Cabra	18.7	9.4	1650
Ave	18.2	10.2	1700
Vacuno	18.7	18.2	2440
Porcino	12.4	35.8	3760
Ovino	18.2	19.4	2530

FUENTE: Sarria (2005) citado por Chirinos (2008)

La carne de cuy, como alimento es muy valiosa, es fuente de proteínas superior a otros productos, lo cual permitiría suplir la carencia o déficit reportados por la OMS en la composición de la dieta peruana. Atributos complementarios como la alta digestibilidad, bajas trazas de colesterol y triglicéridos, alta presencia de ácidos grasos linoleico y linolenico esenciales para el ser humano, cabe resaltar que la existencia de dichos ácidos grasos son bajísimos o casi inexistentes en otras carnes y son precursores de la conformación del ácido graso araquidónico (AA) y ácido graso docosahexaenoico (DHA). Estas sustancias AA y DHA son vitales para el desarrollo de las neuronas, membranas celulares (protección contra agentes externos), forman el cuerpo de los espermatozoides (Leonard, 1981 citado por Vargas y Chauca, 2006).

2.2. VÍSCERAS DE CUY

Según la NTP 201.058 (INDECOPI, 2006a), las vísceras comprenden los órganos digestivos, respiratorios, circulatorios, urogenitales y nerviosos. Forman parte del conjunto llamado menudencias. En el caso del cuy comprende: corazón, pulmones, riñones e hígado.

Madrid (1999), define como despojos a aquellas partes comestibles que se obtiene de los animales de abasto y que no están comprendidos en el término canal. Y que estos comprenden: el hígado, bazo, riñones, ganglios, corazón, pulmones, medula, glándulas, tiroides, páncreas, estomago e intestinos de los rumiantes, patas, tripas, vejiga, cabeza lengua y sangre.

Las vísceras están destinadas para el consumo humano ya que desde el punto de vista de la nutrición equilibrada, son alimentos de primerísimo orden por el contenido vitamínico que es relativamente elevado (Weinling, 1973 citado por Llerena, 1982). Según FAO (2006), vísceras rojas como el hígado y los riñones de cualquier origen son fuente importante de vitaminas A y D, y en menor medida de otras vitaminas liposolubles.

Según (INDECOPI, 2006a) las principales vísceras son:

- Corazón: corresponde anatómicamente al órgano del mismo nombre, desprovisto de sus grandes vasos adyacentes (aferentes y eferentes).

- Hígado: corresponderá anatómicamente al órgano del mismo nombre y debe expendirse sin vesícula y sin ganglios adyacentes. Schiffner *et al.* (1996), menciona que el hígado es uno de los productos de la matanza que con mayor rapidez se descompone y deteriora. Sus características suelen ser:
 - Proporción elevada de proteína soluble en agua.
 - Alto valor de pH
 - Órgano almacenante de hidrato de carbono.
- Pulmones, corresponde anatómicamente al órgano del mismo nombre.
- Riñones, corresponde anatómicamente a los órganos del mismo nombre y debe comercializarse libre de grasa perirenal.

En el Cuadro 3 se resumen los requisitos microbiológicos para las vísceras refrigeradas y congeladas.

Cuadro 3: Requisito microbiológicos para Vísceras Refrigeradas y Congeladas.

Agentes microbianos	Categoría	Clases	n	c	m	M
Aerobios Mesófilos (30°C)	2	3	5	2	10 ⁵	10 ⁷
Salmonella en 25g	10	2	5	0	Ausencia /25g	---
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	5 x 10 ²

FUENTE: MINSA (2008)

De otra parte, se muestra información sobre los pesos y composición proximal de las vísceras de cuy en los cuadros 4, 5 y 6.

Cuadro 4: Pesos promedios de vísceras de cuyes de tres meses de edad.

Órganos	Machos	Hembras	Promedio
	(g)	(g)	(g)
Corazón	3.04	2.54	2.79 ± 0.76
Pulmones	5.41	4.29	4.85 ± 1.51
Hígado	24.91	21.,66	23.29 ± 6.03
Riñón	6.46	5.66	6.06 ± 1.43
Bazo	1.04	1.20	1.13 ± 0.26
Estómago vacío	5.75	5.50	5.63 ± 1.34
Estómago lleno	18.16	16.50	17.33 ± 7.54
Intestino	87.75	82.33	85.04 ± 14.91

FUENTE: INIA (1994) citado por Chauca (1997)

Cuadro 5: Estadística descriptiva de Pesos vivo y órganos de cuyes de Lima (150 msnm) y de Huancayo (3280 msnm).

Pesos	Nivel del mar n=10 Media ± DE	Altura n=10 Media ± DE
Peso vivo	979.62 ± 65.25	1440.50 ± 144.75
Pulmones	6.50 ± 1.25	8.49 ± 1.18
Corazón	2.91 ± 0.26	3.26 ± 0.37
Hígado	24.46 ± 2.10	52.23 ± 2.82
Riñones	7.31 ± 0.49	10.10 ± 0.95

FUENTE: Clavo y Ramírez (2002)

Cuadro 6: Análisis proximal de órganos de cuyes (mg/g tejido húmedo).

Órgano		Nivel del Mar n = 10	Altura n =10	p
Pulmones	Humedad	787.05 ± 10.81	777.03 ± 4.63	< 0.05
	Ceniza	9.28 ± 0.72	12.27 ± 0.53	<0.01
	Proteína	162.25 ± 10.76	170.80 ± 7.66	n.s.
	Lípidos	38.75 ± 3.56	27.18 ± 3.15	<0.001
	Carbohidratos	2.67 ± 0.48	12.72 ± 2.64	<0.01
Corazón	Humedad	768.96 ± 8.64	776.95 ± 8.85	n.s.
	Ceniza	11.50 ± 1.34	10.04 ± 1.48	<0.05
	Proteína	180.60 ± 7.42	180.38 ± 8.26	n.s.
	Lípidos	33.98 ± 3.79	23.73 ± 1.94	<0.001
	Carbohidratos	5.30 ± 0.78	8.90 ± 0.24	<0.001
Hígado	Humedad	672.48 ± 11.01	627.07 ± 9.45	<0.001
	Ceniza	10.38 ± 0.73	11.02 ± 0.55	<0.05
	Proteína	208.91 ± 8.81	197.42 ± 7.56	<0.05
	Lípidos	85.10 ± 12.92	123.05 ± 10.84	<0.001
	Carbohidratos	23.13 ± 6.20	41.44 ± 5.56	<0.001
Riñones	Humedad	775.86 ± 6.63	780.39 ± 5.48	n.s.
	Ceniza	10.53 ± 0.66	11.18 ± 1.15	n.s.
	Proteína	162.04 ± 5.90	162.89 ± 5.30	n.s.
	Lípidos	33.73 ± 3.37	37.13 ± 3.44	<0.05
	Carbohidratos	17.84 ± 0.37	8,41 ± 0.98	<0.001

FUENTE: Clavo y Ramírez (2002)

2.3. HIERBA BUENA

2.3.1. GENERALIDADES

La hierba buena (*Mentha spicata*) es una hierba perenne, de crecimiento rápido, que pertenece a la familia de las lamináceas. Se emplea en gastronomía y perfumería por su

aroma intenso y fresco. Para describirla se puede decir que ésta es una planta perenne de tallo fino y erecto, que alcanza hasta 60 cm de altura. Sus hojas dan su nombre por su forma lanceolada (spica significa “lanza” en latín); son muy aromáticas, serradas, glabras, pilosas por el envés y de color verde claro brillante. Son apenas distinguibles las brácteas de la inflorescencia. Las flores aparecen principalmente durante los meses de verano, poseen un cáliz con cinco sépalos aproximadamente iguales y garganta glabra. La corola es lila, rosa o blanca, y muy glandulosa, de hasta 3 mm de largo. Las raíces son extensas e invasivas (FEN, 2011).

2.3.2. ASPECTOS BOTÁNICOS

a. Clasificación taxonómica

Según el sistema de clasificación de A. Cronquist (1988) citado por Mamani (2003), la especie vegetal *Mentha spicata* tiene la siguiente clasificación taxonómica:

- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Sub clase: Asteridae
- Orden: Lamiales
- Familia: Lamiaceae
- Género: *Mentha*
- Especie: *Mentha spicata* L.
- Nombre vulgar: “Menta”

b. Características botánicas

Según Resquín *et al.* (2011) la descripción botánica de la *Mentha spicata* es la siguiente:

- Planta perenne, de 30-50 cm altura, ascendente, suavemente aromática, rizomatosa.
- Tallos ramificados, principalmente a partir de la zona media con pubescencia rala de coloración rojizo morado.

- Hojas subsésiles con pecíolos de 1-1,5 mm de longitud, de 2-4 x 1-2 cm, lanceoladas u ovado-lanceoladas, glabras o glabrescentes, con pelos simples ralos en ambas caras o principalmente sobre las nervaduras en la cara abaxial.
- Inflorescencia terminal, cónica, de 3-5 cm x 5-8 mm, alargada y estrecha.
- Brácteas foliáceas; bractéolas filiformes, de borde ciliado, las del ápice de la inflorescencia por lo general mayores que las flores.
- Flores lilas o violáceas, claras, pediceladas; pedicelos de 1-2 mm, pubescentes.
- Cáliz de 1,5-3 mm, persistente, infundibuliforme, dientes iguales o desiguales, los 3 inferiores más largos, glabros o ciliados en el borde.
- Corola de 2,5- 4 mm, lóbulo dorsal más ancho, glabra o con pelos cortos, pocos pelos peltados.
- Filamentos estaminales de 4 mm, generalmente exertos; anteras elipsoides.
- Estilo de 3 mm, ramas estigmáticas desiguales.

2.3.3. USOS

Los usos más frecuentes se describen a continuación:

a. Medicina

Según INFOMED (2003) la hierba buena tiene las siguientes propiedades medicinales reconocidas:

Cuadro 7: Propiedades medicinales reconocidas de la hierba buena (*Mentha spicata*).

Sistema	Acción farmacológica
Digestivo	Antiespasmódico Carminativo
Respiratorio	Antiséptico Antiinflamatorio
Piel y mucosas	Antiséptico

FUENTE: INFOMED (2003)

Como forma farmacéutica descrita es un medicamento vegetal. Su vía de administración puede ser oral, tópica, inhalatoria (INFOMED, 2003).

Además según FEN (2011) la menta es una de las plantas más conocidas y utilizadas de entre las plantas medicinales. Sus hojas contienen un aceite esencial cuyo compuesto principal es el mentol. Sus propiedades principales son: antiespasmódica, antiséptica, calma la pared interna del estómago, ayuda a acelerar la digestión y estimula la secreción de la bilis. La menta ayuda a calmar los cólicos o espasmos intestinales, las náuseas y las flatulencias. Es también una buena ayuda contra los parásitos intestinales (vermífugo) y estimula el sistema nervioso.

b. Alimentación

Su uso está bastante extendido como saborizante y aromatizante en la gastronomía mundial. Siendo típico su uso en la culinaria local por su aroma característico.

c. Industria

Utilizada como agente saborizante en las industrias farmacéutica, alimentaria y de bebidas. El aceite o algunos de sus componentes se utilizan en la preparación de productos de perfumería y cosméticos (INFOMED, 2003).

2.3.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HIERBA BUENA

La composición química de las hojas de menta y de su aceite varían con la naturaleza de la planta, variedad, región geográfica y condiciones de procesamiento (McKay y Blumberg, 2006).

Además según McKay y Blumberg (2006) el contenido de polifenoles totales de hojas en hierbabuena es de aproximadamente 19-23 por ciento (flavonoides 12 por ciento), que incluye 59-67 por ciento eriocitrina y ácido rosmarínico, 7-12 por ciento luteolina 7-O-rutinósido, 6-10 por ciento hesperidina.

La *Mentha spicata* contiene aceites volátiles, resinas, taninos, cumarinas, flavonoides, esteroides, alcaloides. El constituyente principal es la carvona junto con algunos otros componentes monoturpenos como limoneno, felendreno, dihidrocarveol, cetato, cineol, alfa pineno y linalol. Por lo que posee propiedades antieméticas también utilizados como analgésico, estimulante, expectorante y carminativo, para la digestión / ingestión. Puede también actuar como refrigerante, analgésico, afrodisíaco, estimulante, expectorante y anti inflamatorio. Antiséptico, antiespasmódico, diurético y además la menta verde se ha estudiado por su actividad antifúngica; en aceite esencial se encontró que tenía un poco de actividad antifúngica (Sweetie *et al.*, 2007 citado por Ullah *et al.*, 2011).

En el Cuadro 8 se detallan los componentes fenólicos reportados previamente en hojas de *Mentha spicata* de diferentes procedencias, recopilados por Brahmi *et al.* (2015).

Cuadro 8: Compuestos fenólicos encontrados en la hierba buena (*Mentha spicata*).

Componente	Componente fenólico detectado	Origen	Referencia
Ácidos fenólicos	<ul style="list-style-type: none"> • Ácidos caféico, clorogénico y rosmarínico • Ácido gálico • Ácidos gálico, clorogénico, caféico, vanílico, siríngico, cumárico, ferúlico, rosmarínico • Ácidos gálico, 3,4-dihidroxibenzoico, vanílico, cafeico, ferúlico, rosmarínico 	<ul style="list-style-type: none"> • Finlandia • Grecia • Finlandia • Grecia 	<ul style="list-style-type: none"> • Dorman <i>et al.</i>, 2003 • Proestos <i>et al.</i>, 2005 • Kivilompolo y Hyotylaine, 2007 • Papageorgiou <i>et al.</i>, 2008
Flavonoides	<ul style="list-style-type: none"> • Diosmetina, diosmina, diosmina-7-glucósido • Thimonin 5,6,4'-trihidroxi-7,3'-dimethoxiflavona • Eriocitrina, luteolina glucosido, isorhoifolina, luteolina, apigenina • Apigenina, rutina, catequina • Rutina, escopoletina • Catequina, epicatequina, rutina, miricetina, luteolina, apigenina 	<ul style="list-style-type: none"> • India • España • Finlandia • Grecia • Rep.Checa • Malasia 	<ul style="list-style-type: none"> • Sankara <i>et al.</i>, 1972 • Tomas <i>et al.</i>, 1988 • Dorman <i>et al.</i>, 2003 • Proestos <i>et al.</i>, 2005 • Adam <i>et al.</i>, 2009 • Bimakr <i>et al.</i>, 2011

FUENTE: Brahmi *et al.*(2015)

2.4. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos en los alimentos y productos nutracéuticos, son uno de los principales metabolitos secundarios en plantas, derivados de fenilalanina y, en menor medida en algunas plantas, también a partir de tirosina. Químicamente, los compuestos fenólicos pueden ser definidos como una sustancia que posee un anillo aromático que lleva uno o más grupos hidroxilo, incluyendo arreglos que derivan en su funcionalidad. Su presencia en los tejidos animales y materiales no vegetales se deben generalmente a la ingestión de alimentos vegetales. Compuestos fenólicos sintéticos también pueden entrar en el sistema alimentario a través de su incorporación intencional con el fin de evitar la oxidación de sus componentes lipídicos (Shahidi y Naczk, 2003).

En los alimentos pueden estar presentes diferentes compuestos denominados metabolitos secundarios, entre los que se encuentran los compuestos fenólicos, los cuales provienen de plantas y frutos. Poseen actividad antioxidante, antiinflamatoria, quimioprotectora, neuroprotectora, reguladora de la glucosa, moderadora del metabolismo de lípidos, entre otras (Munguía *et al.*, 2011).

Según Gracia (2007) los compuestos fenólicos presentan un numeroso grupo ampliamente distribuido en la naturaleza. Son componentes importantes en la dieta humana, el consumo promedio de fenoles en los países europeos se estima en 23 mg/día. Existe un interés creciente en los compuestos fenólicos debido a su efecto contra algunas enfermedades como ciertos cánceres y desordenes cardíacos derivados de su poderosa actividad antioxidante.

Los compuestos fenólicos presentes en la dieta mejoran la estabilidad frente a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), proceso que ha sido asociado de forma significativa con la génesis de aterosclerosis y enfermedades del corazón (Steinbert *et al.*, 1989). Los compuestos fenólicos presentes en las frutas incluyen a un amplio rango de componentes con actividad antioxidante, tales como los ácidos hidroxicinámicos, hidroxibenzóicos, flavonoles, flavanoles, antocianinas, etc. La abundancia relativa de cada uno de estos compuestos depende en gran medida de la especie, tipo de cultivo, piel y parte

comestible o pulpa, suelo, estado de madurez, horas luz, incluso de la fertilización (Eberhardt *et al.*, 2000; Barberan *et al.*, 2001; citado por García *et al.*, 2011).

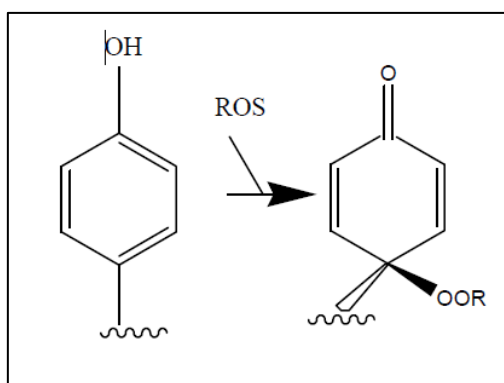
Según Gonzáles (2013), los compuestos fenólicos se clasifican en tres grandes grupos:

- Fenoles simples y ácidos fenólicos
- Flavonoides
- Taninos

2.4.1. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captadores de radicales libres neutralizando peligrosas especies reactivas de oxígeno e iones metálicos quelantes. Además, debido a su reactividad, se encuentran en la mayoría de los casos combinadas con un ácido orgánico, un azúcar o bien, con ellas mismas para formar un polímero (Gracia, 2007).

Según Jiménez y Girbés (2013) los compuestos fenólicos son atrapadores de radicales libres. El mecanismo de reacción es el siguiente:



FUENTE: Jiménez y Girbés (2013)

Figura 1: Mecanismo de reacción de compuestos fenólicos frente a radicales libres.

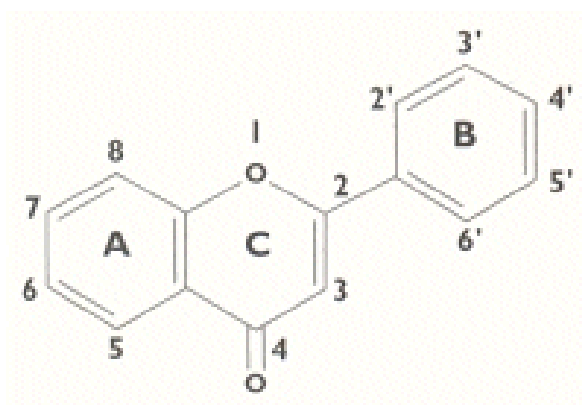
En esta reacción el fenol se oxida a quinona y después a peróxido (- OOR). El peróxido más sencillo es el peróxido de hidrógeno de fórmula H₂O₂ (HO-OH). Los peróxidos superiores se forman sustituyendo un hidrógeno del HO-OH por un resto **R** (RO-OH).

Cuando el peróxido se forma en una biomolécula, se pierde la función de dicha biomolécula y ello puede provocar daños serios en el funcionamiento de las células y los tejidos (Jiménez y Girbés, 2013).

Según Reşat *et al.* (2007) citado por Gonzales (2013), los compuestos fenólicos pueden exhibir su capacidad antioxidante de varias maneras como: (a) por su actividad captadora hacia cualquiera de las especies reactivas al oxígeno (ROS) tales como OH, O₂•⁻, o hacia los radicales lipídicos como R•, RO•, y ROO•; generalmente se realiza a través de transferencia de un átomo de hidrógeno o donación electrones; (b) quelando iones metálicos como el Fe³⁺, Cu²⁺ y Zn²⁺; y (c) la interacción con otros antioxidantes (acciones cooperativas).

2.5. FLAVONOIDES

Los flavonoides, uno de los dos grandes grupos de compuestos fenólicos junto con los ácidos fenólicos, son un grupo extenso de compuestos derivados del benzo- γ -pirano. Poseen varios grupos hidroxilos enlazados a estructuras anulares, C₆-C₃-C₆, designadas como A, B y C. Dependiendo del grado de oxidación y de sustitución del anillo pirano central pueden subdividirse en flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas, flavanos y antocianinas. El anillo pirano puede ser abierto (chalconas) y reciclado en un anillo furano (auronas) (Gracia, 2007).

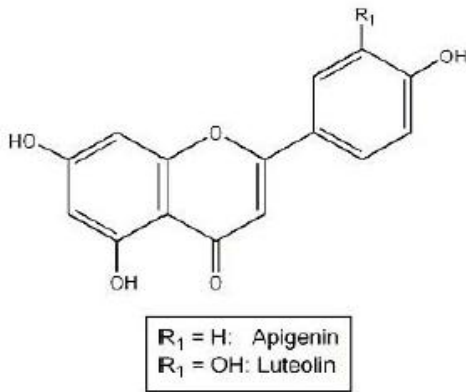


FUENTE: Jiménez y Girbés (2013)

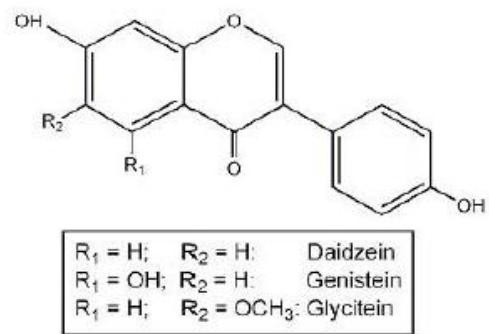
Figura 2: Estructura básica del esqueleto flavonólico.

Según Jiménez y Girbés (2013), en función de los diversos sustituyentes y su colocación espacial aparecen diversas familias de flavonoides. Las familias más importantes se indican a continuación, dando alguno de los ejemplos más importantes de compuestos de cada familia.

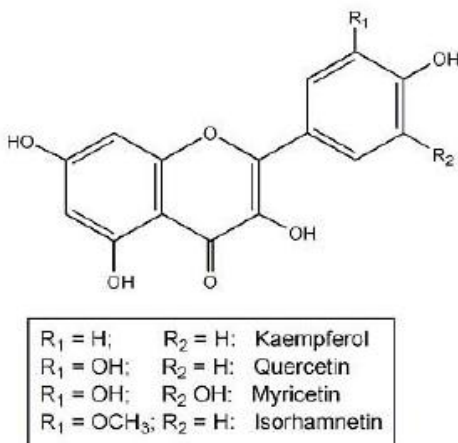
Flavonas



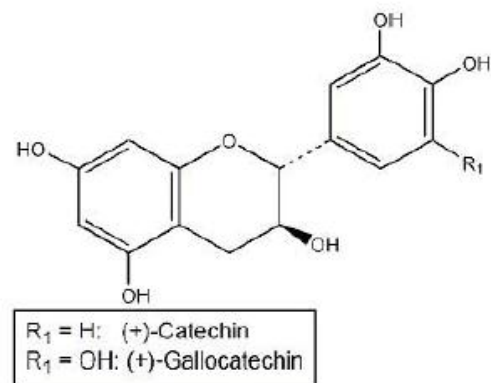
Isoflavonas



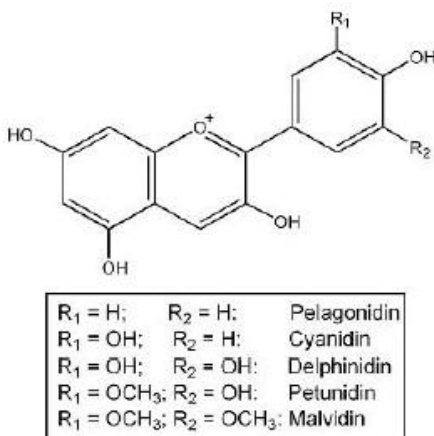
Flavonoles



Flavanoles



Antocianidinas



FUENTE: Jiménez y Girbés (2013)

Figura 3: Familias más comunes de flavonoides presentes en los alimentos.

2.5.1. EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS FLAVONOIDES

Según Jiménez y Girbés (2013) Los efectos fisiológicos de los flavonoides son muy diversos. A continuación se indican algunos de los más importantes.

- Acción antiinflamatoria
 - Inhibición de la fosfolipasa A2 (efecto parecido a la aspirina)
 - Inhibición de la prostaglandina sintetasa
 - 5-lipooxigenasa
 - Ciclooxygenasa (COX)
 - Inhibición de la liberación de histamina
 - Inhibición de la migración celular
 - Acción antirradicalaria
- Protección vascular
 - Inhibición de la catecol O-metil transferasa (aumento de catecolaminas)
 - Aumento de la resistencia vascular
 - Efectos anti-agregantes plaquetarios
- Efecto sobre la úlcera péptica
 - Efecto gastroprotector
 - Aumento de la cantidad y calidad del mucus gástrico
 - Acción vasoprotectora
 - Actividad antirradicalaria y antioxidante
 - Efecto anti-secretor
 - Disminución del volumen y la acidez del jugo gástrico
 - Disminución de la secreción de pepsina
 - Inhibición de la histidin descarboxilasa (bloqueo de la síntesis de histamina)
- Protección de la vitamina C en los zumos frescos de frutas
- Acción anti-tumoral (quercetina-ensayos clínicos, kaempferol, apigenina)
- Efectos antialérgicos (quercetina, apigenina)
- Efectos antimicrobianos y antivirales (quercetina, rutina)
- Efectos diuréticos, antihepatotóxicos, espasmolíticos
- Efectos sobre el metabolismo de lípidos

- Inhibición de la oxidación de LDL-bloqueo de la formación de ateromas
- Anti-hipercolesterémicos-efecto en genotipos E2 y E3
- Inhibición de la lipasa intestinal-menor absorción de lípidos

2.6. EMBUTIDOS CÁRNICOS COCIDOS

2.6.1. DEFINICIÓN

Schiffner *et al.* (1996), denominan embutidos cocidos a todos aquellos que se elaboran con materia prima cocida y que una vez embutidos o conservados, son tratados otra vez al calor. Dependiendo del tipo de embutido se agregan determinadas materias primas en crudo.

2.6.2. PRINCIPALES EMBUTIDOS COCIDOS

a. Embutido de Hígado

Son aquellos cuya consistencia y untuosidad se deben a una emulsión lípido–proteica. En el Cuadro 9, se muestra la composición química del paté, donde se aprecia su alto contenido en grasa.

Cuadro 9: Composición química del paté (100g).

Agua	35.00 g
Proteína	10.90 g
Grasa	49.80 g
Carbohidratos	1.10 g
Ceniza	3.20 g
Minerales y Vitaminas:	
Calcio	57.0 mg
Fósforo	289 mg
Hierro	7.10 mg
Tiamina	0.07 mg
Riboflavina	0.24 mg
Niacina	2.25 mg

FUENTE: Collazos *et al.* (1996)

b. Embutidos de Sangre

En esta clasificación encontramos a la morcilla o relleno. La Norma Técnica Peruana 201.014 (INDECOPI, 1999), define a la morcilla o relleno como un embutido cocido constituido por una masa hecha en base a sangre, grasa, recortes de vísceras de porcino y verduras; los cuales deben estar perfectamente triturados y mezclados y con agregados de especias uniformemente distribuidas. En el Cuadro 10 se muestra la composición química del relleno, donde se aprecia su importante contenido proteico y niveles apropiados de calcio, fósforo y hierro.

Cuadro 10: Composición química del relleno (100 g).

Agua	75.5 g
Proteína	14.4 g
Grasa	5.00 g
Ceniza	1.90 g
Minerales y Vitaminas:	
Calcio	63.0 mg
Fósforo	41.0 mg
Hierro	16.9 mg
Tiamina	0.02 mg
Riboflavina	0.06 mg
Niacina	0.86 mg

FUENTE: Collazos *et al.* (1996)

c. Embutidos de Gelatina

Cuya consistencia y firmeza al corte vienen determinadas por sustancias gelatinosas. Un ejemplo común es el Queso de Chanco, el cual es un embutido cocido constituido por tejido muscular conectivo y grasa procedente de la cabeza de porcino, los cuales han sido adecuadamente condimentados (Elías *et al.* 2000).

2.6.3. ELABORACIÓN DE EMBUTIDOS COCIDOS

Los embutidos cocidos se fabrican con carne, grasa de cerdo, vísceras, sangre y despojos. Téllez (1978), menciona que estos productos son de textura blanda y que por su

composición son de corta duración. Las operaciones principales para la elaboración de embutidos cocidos son:

a. Selección

Weinling (1973) citado por Llerena (1982), menciona que cuantas más frescas sean las materias crudas empleadas y más cuidadosa sea su manipulación, en especial si se trata de vísceras, mejor será la calidad del embutido.

b. Picado

El objetivo es reducir el tamaño de partícula de la masa y aumentar la superficie de contacto (Girard, 1992). Además Téllez (1978) recomienda para la elaboración de relleno, picar las carnes y vísceras en discos de 6 mm y las grasas en discos de 4 mm., las verduras luego de ser escaldadas y picadas deben ser guardadas en artesas entre 3 a 6°C por 24 horas en depósitos adecuados y bien protegidos.

c. Embutido

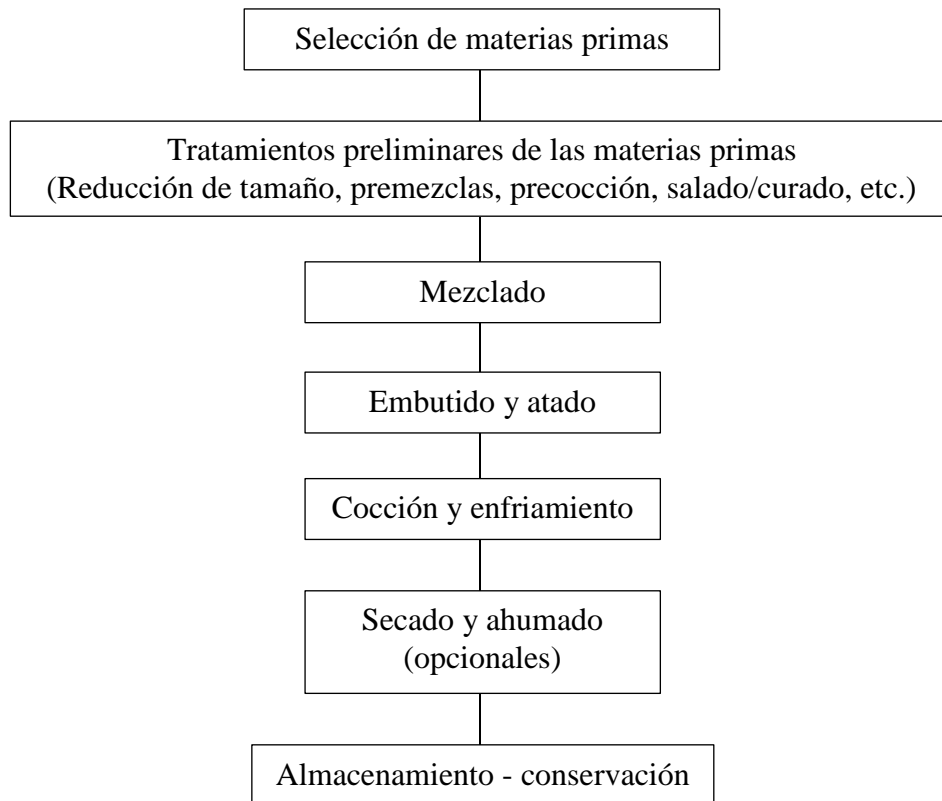
Tiene por finalidad introducir la masa en la tripa para constituir las piezas (Frey, 1983). Grau (1965) citado por Rivera (1984), sostiene que para los embutidos de sangre se prefieren envolturas naturales de bovino o porcino con diámetros de 50-55 a 60-65 mm.

d. Cocción

Las materias primas ya embutidas en la tripa deben sufrir un proceso de cocción para uniformizar la masa y a la vez conferirle más tiempo de conservación (Weinling, 1973 citado por Llerena, 1982).

e. Enfriado

Téllez (1978) señala que se debe enfriar sobre una mesa por espacio de 10 a 15 minutos y luego ser colgados para su oreo completo.



FUENTE: Cabeza (2006)

Figura 4: Diagrama general para la elaboración de embutidos cocidos.

2.6.4. PRINCIPALES DEFECTOS EN LOS EMBUTIDOS COCIDOS

Entre los principales defectos en los embutidos cocidos se pueden encontrar los siguientes:

- Alteraciones de aspecto y textura, normalmente causado por una temperatura y/o tiempo de cocción inadecuado. Son especialmente frecuentes en las morcillas y en los fiambres de gelatina. También se menciona la permeabilidad de las tripas como un posible causante.
- Exudación, por la incorrecta proporción entre la grasa y el hígado o entre la grasa y carne magra. También es frecuente la formación defectuosa de la emulsión cuando no se aplican las temperaturas óptimas al mezclar los diferentes ingredientes (Schiffner *et al.*, 1996).
- Olores y sabores anómalos, causada por una cocción incorrecta, falta de escurrido, presencia de bilis en la materia prima, uso de grasa alterada o proliferación de

bacterias acidificantes. Asimismo, Schiffner *et al.* (1996) también mencionan a las tripas como un posible causante de la alteración del aroma, al no ser limpiados bien antes de su utilización.

- Putrefacción, suele originarse por la presencia de gran cantidad de bacterias esporulantes y por almacenar los productos en condiciones incorrectas.
- Enranciamiento, Schiffner *et al.* (1996), menciona que la elevada cantidad de grasa de las morcillas la hace especialmente sensible al enranciamiento. Por lo que es recomendable almacenarla en lugares oscuros y frescos.

2.6.5. REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS PARA LOS EMBUTIDOS COCIDOS

Los requisitos microbiológicos para los embutidos cocidos, se resumen en el Cuadro 11.

Cuadro 11: Requisitos microbiológicos para embutidos con tratamiento térmico.

Agentes microbianos	Categoría	Clases	n	C	m	M
<i>Aerobios mesófilos</i>	3	3	5	1	5×10^4	5×10^5
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	10	10^2
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	10^2
<i>Clostridium perfringes</i>	8	3	5	1	10	10^2
Salmonella en 25g	10	2	5	0	Ausencia /25g	---
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	Ausencia /25g	---

FUENTE: MINSA (2008)

2.7. OXIDACIÓN LIPÍDICA

2.7.1. OXIDACIÓN DE LÍPIDOS EN PRODUCTOS CÁRNICOS

La oxidación de los lípidos de la carne es un fenómeno espontáneo que se produce aún a temperaturas de refrigeración y congelación (Baur, 1999; citado por Cabeza, 2006). Tiene lugar por un mecanismo de reacción en cadena mediado por radicales libres y los propios productos originados en la reacción (Nogala-Kalucka *et al.*, 2005).

Independientemente del deterioro microbiano, la oxidación de lípidos es el principal factor de reducción de la calidad de la carne y productos cárnicos. Aunque las reacciones oxidativas de lípidos contribuyen a ciertos atributos de calidad deseables tales como el desarrollo de un agradable sabor en carnes cocidas, el efecto global de la oxidación lipídica es negativa dando lugar a efectos adversos en los rasgos sensoriales, valor nutricional y la salubridad de los alimentos cárnicos (Kanner, 1994; Morrissey *et al.*, 1998 citado por Estévez, 2005).

La oxidación lipídica es un proceso de degradación que resulta en la rancidez en la carne cruda y alteración de sabor en la carne cocinada. Es una de las causas principales de deterioro del color, la textura, y el sabor de fresco, congelado, y carne cocida. El almacenamiento de la carne precocida durante un corto período da como resultado el desarrollo de un característico sabor desagradable causado por la peroxidación catalítica de los fosfolípidos en biomembranas (Kanner, 1994). Además de la consecuencia de la peroxidación lipídica en cambios de sabor en la carne, color y textura, la autooxidación de los lípidos insaturados y de colesterol resulta en la generación de compuestos aterogénicos (Addis y Park, 1989, citado por Liu *et al.*, 1995).

La estabilidad de la carne a la oxidación depende de varios factores intrínsecos como la composición de la grasa y de la actuación de compuestos o mecanismos con carácter antioxidante o prooxidante presentes (Morrissey *et al.*, 1998). Entre estos factores cabe destacar, por su presencia en los embutidos de sangre, el hierro, en forma hémica y no hémica, que juega un papel claramente prooxidante formando compuestos activados con el oxígeno y con los hidroperóxidos que actúan como catalizadores de la oxidación (Cabeza, 2006).

2.7.2. MECANISMO DE OXIDACIÓN LIPÍDICA

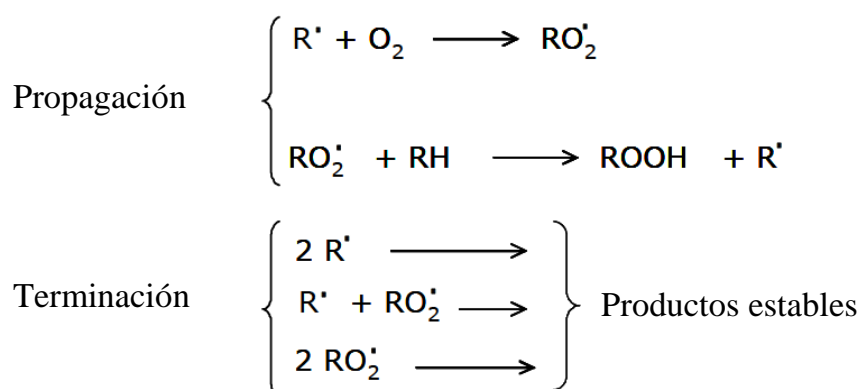
La autooxidación de las grasas procede vía mecanismos en los que participan radicales libres, como ponen de manifiesto: (a) su acusada inhibición por sustancias que se sabe interfieren con reacciones bien conocidas que transcurren por vías radicalarias, (b) los efectos catalíticos de la luz y las sustancias que generan radicales libres, (c) rendimientos elevados en hidroperóxidos, ROOH, (d) rendimientos cuánticos superiores a la unidad,

cuando las reacciones de oxidación son iniciadas por la luz y (e) un período relativamente largo de inducción si se inician con sustratos puros (Fennema, 2000).

El mecanismo global de oxidación de ácidos grasos es generalmente un proceso de radicales libres, que incluye las etapas de iniciación, propagación y terminación (Frankel, 1984). En la etapa de iniciación el radical lipídico, R•; se forma a partir del lípido (RH), usualmente por el ataque de radicales, luz, calor, irradiaciones o por trazas de metales. El radical lipídico formado reacciona rápidamente con oxígeno para dar un radical peroxilo, ROO•; el cual ataca otra molécula de lípido y sustrae un átomo de hidrógeno para formar un hidroperóxido lipídico ROOH, y un nuevo radical lipídico, que inicia de nuevo la secuencia de propagación. De esta manera, muchas moléculas de lípidos pueden ser oxidadas hasta hidroperóxidos por muchas formas de iniciación. El ciclo de propagación es interrumpido por las reacciones de terminación, en las cuales hay consumo de los radicales. Las interacciones bímoleculares de radicales libres originan productos no-radicales muy estables (Rojano, 1997).

Según Fennema (2000), la oxidación lipídica no es un proceso único que siga una secuencia estricta. En diferentes zonas del alimento pueden estar teniendo lugar diversos eventos. Generalmente las distintas reacciones se solapan y la velocidad de cada una de ellas varía de acuerdo con las condiciones reinantes en cada zona del alimento.

Iniciación Acilo graso (R-) y formación de radicales (RO₂^{*})



FUENTE: Frankel (1984)

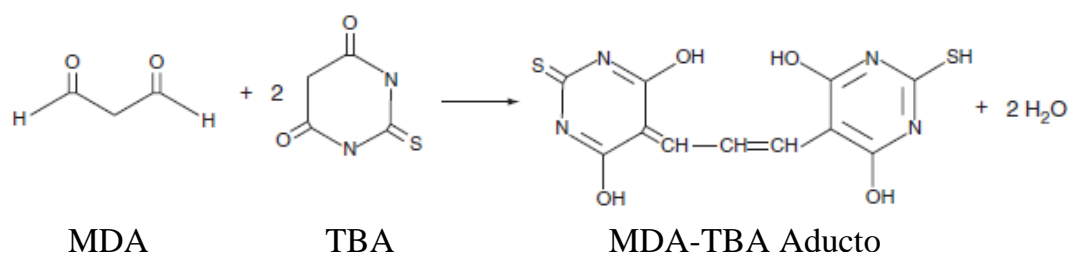
Figura 5: Mecanismo de oxidación lipídica.

2.7.3. MEDIDA DE LA OXIDACIÓN LIPÍDICA

- **Test de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico**

El malonaldehído, MDA, (1,3- propanedial) es un producto secundario de la oxidación lipídica, es un dialdehído que posee 3 moléculas de carbono con grupos carbonilos en las posiciones C1 y C3. Existen diferentes teorías acerca de los posibles mecanismos de la formación de MDA; a través de hidroperóxidos formados de los ácidos grasos poliinsaturados con 3 dobles enlaces (trienos) o más, asociados a fosfolípidos. La cantidad de MDA ha sido utilizado comúnmente como un indicador de la oxidación lipídica en músculos de carne, los factores que determinan la medida y la cantidad de MDA que se forma de los ácidos grasos poliinsaturados son: el grado de insaturación de los ácidos grasos, la presencia de metales, el pH y la temperatura y tiempo de calentamiento a la que es sometida durante su análisis (Estévez *et al.*, 2008).

Según Laguerre *et al.* (2007), el test del ácido tiobarbitúrico, implica la reacción de ácido tiobarbitúrico con malonaldehído producido por la descomposición del hidroperóxido de lípidos para formar un cromóforo rojo con pico de absorbancia a 532 nm. Este complejo color rojo resulta de la condensación de 2 moles de TBA y 1 mol de malonaldehído, bajo el efecto conjunto de la temperatura media y pH. TBA se define como la cantidad de malonaldehído (en mg) presente en 1 kg de muestra.



FUENTE: Cayman (2013)

Figura 6: Reacción entre el MDA y el TBA.

Existen compuestos que no se producen en la oxidación lipídica y reaccionan con el TBA para dar el pigmento rojo característico. Por ejemplo, la sacarosa y algunos componentes del humo. Cuando estén presentes en las muestras a ensayar, los resultados deben

corregirse para compensar estas interferencias. Por otro lado, si parte del malonaldehído reacciona, en un sistema en oxidación, con proteínas, se obtienen valores de TBA anómalamente bajos. Además, no pueden establecerse correlaciones consistentes entre las valoraciones sensoriales y los índices de TBA, porque es distinta la cantidad de productos que reaccionan con el TBA presentes en un determinado grado de desarrollo del proceso oxidativo en los distintos alimentos. La prueba del TBA resulta útil para comparar muestras de un determinado producto en distintas etapas del proceso oxidativo (Fennema, 2000).

2.8. DETERIORO MICROBIOLÓGICO

2.8.1. ALTERACIÓN MICROBIOLÓGICA DE EMBUTIDOS CÁRNICOS COCIDOS

Los mecanismos de actuación de los microorganismos en la alteración de los alimentos radican fundamentalmente en el metabolismo asociado a su crecimiento. Las actividades metabólicas ocasionadas por la proliferación microbiana traen como consecuencia la degradación y/o transformación de los componentes de los alimentos en general y de los productos cárnicos cocidos en particular (Cabeza, 2006).

Los cambios ocasionados por la acción microbiana en los productos cárnicos cocidos se manifiestan con una modificación de la apariencia, mediante la formación de limosidad superficial, exudados lechosos, desarrollo de colonias visibles, producción de gas, decoloración por oxidación del pigmento cárnico o enverdecimiento, así como con la aparición de olores y sabores atípicos: putrefacción, acidificación, agriado, olores a queso, sudor, etc. (Hayes, 1993 citado por Cabeza, 2006). En el laboratorio, el potencial de alteración de un microorganismo se define como la capacidad de un cultivo puro para producir los metabolitos asociados a la alteración de un producto particular (Gram *et al.*, 2002).

En el alimento, para que los microorganismos puedan modificar las características de los alimentos en general y de los productos cárnicos cocidos en particular y producir su

alteración, se necesita que estos se encuentren por encima de una determinada población. La población con la cual se inicia la alteración normalmente está en el intervalo de 10^6 - 10^8 ufc/g o cm^2 . Cuando se produce el deterioro de los alimentos y el número de bacterias es bastante inferior al mencionado, es presumible que su origen no sea bacteriano (Hayes, 1993 citado por Cabeza, 2006). Sin embargo, ni el recuento de microorganismos totales, ni el de grupos microbianos alterantes puede predecir directamente la calidad de los productos cárnicos cocidos (Gram *et al.*, 2002), este es solo un valor orientativo pues hay otros muchos factores que pueden influir (Cabeza, 2006).

En función al envasado y las condiciones de almacenamiento se puede diferenciar la microbiota dominante y el tiempo de vida del producto cárnico cocido. A continuación se mencionan las dos situaciones más comunes en la industria cárnica.

- Almacenamiento refrigerado en presencia de aire

Cuando los productos cárnicos cocidos son almacenados a refrigeración en presencia de aire hasta producirse su alteración microbiana, se observa la presencia mayoritaria de microorganismos psicrótrofos aerobios y anaerobios facultativos en su superficie, o en el interior siempre y cuando haya suficiente cantidad de oxígeno (alto potencial redox). En embutidos cárnicos almacenados en presencia de aire, el potencial redox puede ser alto y variable, según Cabeza (2006) el potencial de óxido reducción en morcillas de cerdo puede llegar a máximos de entre 100 y 200 mV.

La microbiota dominante es variable y suele estar compuesta por uno o más de los siguientes grupos microbianos: *Pseudomonas* spp., bacterias ácido lácticas (BAL), *B. thermosphacta* y/o levaduras, y también aunque más ocasionalmente por *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp. y *Enterobacteriaceae* (Krabisch, 1992; citado por Cabeza, 2006). La vida útil observada en condiciones de almacenamiento suele ser menor a 15 días (Borch *et al.*, 1996).

- Almacenamiento refrigerado con atmósfera modificada

El envasado con atmósferas modificadas también es frecuentemente utilizado para este tipo de productos y están compuestas normalmente por 20 por ciento de CO_2 y 80 por ciento de

N₂. La eliminación del oxígeno junto con la presencia de CO₂ retrasa el crecimiento de los microorganismos. La flora aerobia se ve considerablemente inhibida. Las BAL acusan menos la presencia de CO₂ que otros microorganismos anaerobios y anaerobios facultativos alterantes como *B. thermosphacta*, enterobacterias y levaduras, por lo que constituyen la flora dominante en los productos cárnicos cocidos envasados en atmósferas modificadas. Los principales géneros asociados con la alteración son *Carnobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., y *Leuconostoc* spp. (Barakat et al., 2000; citado por Cabeza). El crecimiento microbiano en general parece ser más lento en las atmósferas modificadas con respecto al vacío y por lo tanto la alteración del producto puede verse retrasada unas semanas más (Borch *et al.*, 1996).

2.9. EXTRACTOS HERBALES COMO AGENTES ANTIOXIDANTES

En la actualidad, la industria de los alimentos está empezando a utilizar especias y extractos de las mismas en la formulación de sus productos con el fin principal de retrasar la oxidación y no de contribuir al aroma. En este sentido a la hora de obtener extractos de especias se busca obtener la mayor cantidad de compuestos antioxidantes reduciendo en lo posible la presencia de compuestos aromáticos (Madsen y Bertensen, 1995).

Varios estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de frutas y verduras y los de antioxidantes naturales seleccionados, tales como polifenoles vegetales, vitamina C y flavonoides se correlaciona con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares y crónicas y ciertos tipos de cáncer. El uso de antioxidantes sintéticos en los alimentos para la prevención de la oxidación de lípidos no se recomienda debido a la potencial carcinogénico percibido. Durante los últimos años, mucho esfuerzo se ha dedicado a la exploración de antioxidantes viables, seguros y naturales (Anwar *et al.* 2010).

El efecto antioxidante de cada una de las especias depende a su vez de varios factores (Madsen y Bertensen, 1995). Uno de ellos es el sustrato del alimento donde se encuentran, ya que la actividad antioxidante de determinadas especias puede verse potenciada por la presencia de determinados compuestos, por ejemplo un estudio realizado por Yanishlieva y Marinova (2001) han descrito determinados sinergismos entre los antioxidantes de las especias y los ácidos orgánicos o los fosfatos. También, el efecto antioxidante varía en

función de las diferencias de composición de las especias debida a la región donde hayan sido cultivadas. Igualmente, la concentración de especia, si está o no molida, si se utiliza como tal o como extracto, o si el alimento es sometido a tratamiento térmico, así como las condiciones de almacenamiento (temperatura, tiempo, iluminación, etc.) son otros factores importantes de la acción antioxidante (Cabeza, 2006).

2.10. EXTRACTOS HERBALES AGENTES ANTIMICROBIANOS

Los extractos de plantas se han convertido en potenciales alternativas tanto para la industria de medicamentos como para la alimentaria debido a la actividad antioxidante de los compuestos naturales y al desarrollo de multirresistencia por parte de los microorganismos a los conservantes y antibióticos de uso común (Falco *et al.*, 2011).

Esta acción antimicrobiana se atribuye en gran medida a la presencia en sus aceites esenciales de compuestos con grupos fenólicos activos y terpenos de bajo peso molecular (Hirasa y Takemasa, 2002; citado por Cabeza, 2006). Además Burt (2004) ha elaborado recopilaciones de diversos estudios realizados durante el siglo pasado y el presente donde ha quedado demostrado que diversos compuestos de los aceites esenciales como el eugenol (canela, clavo y pimiento), carvacrol (orégano y tomillo), timol (orégano y tomillo), aldehído cinámico (canela), borneol (menta) e isoborneol presentan efectos antimicrobianos elevados y son bastante activos frente a *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella enteritidis* entre otras bacterias.

La mayoría de los estudios se han centrado en comprobar la acción inhibitoria frente a bacterias patógenas más que alterantes. De todos modos, parece estar bastante claro que los aceites esenciales de hierbas y especias son más activos frente a bacterias Gram-positivas que contra Gram-negativas (Burt, 2004), ya que las primeras solo presentan la pared celular que las aísla del medio exterior, mientras que las segundas presentan mecanismos de resistencia más complicados debido a que poseen una doble membrana (externa e interna) lo que hace más difícil la accesibilidad de los agentes antimicrobianos al interior de la célula (Cabeza, 2006).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGARES DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los siguientes lugares, de acuerdo a la etapa involucrada:

- Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Laboratorios de Análisis Físico-Químico de Alimentos, Investigación e Instrumentación de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Análisis fisicoquímicos).
- Laboratorio de Ingeniería de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Análisis fisicoquímicos).
- Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Análisis microbiológicos).
- Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Ciencias y Filosofía de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.2. MATERIA PRIMA

Se utilizó 10 kg de vísceras rojas de cuy provenientes de aproximadamente 250 especies, criados en el distrito de Pucyura, provincia de Anta, Cusco. Los cuales fueron criados y sacrificados en la misma localidad, congelados y transportados a Lima por vía aérea.

La hierba buena (*Mentha spicata*), procedente de Huancayo, fue adquirida en un mercado local en el distrito de San Martín de Porres en el invierno del 2013.

3.3. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.3.1. MATERIALES

a. De soporte

- Gradilla
- Pinzas
- Soporte universal

b. De uso específico

- Baguetas.
- Bolsa de polietileno de cierre deslizable REYNOLDS.
- Bombillas.
- Campana desecadora.
- Cápsulas metálicas.
- Crisoles de porcelana.
- Cuchillos.
- Embudo de vidrio.
- Espátulas.
- Envase de plástico de 1 L de capacidad..
- Envase de vidrio ámbar de 50 mL de capacidad.
- Guantes.
- Matraz Kitasato de 500 mL.
- Papel de seda.
- Papel filtro Whatman #40.
- Placas Petri.
- Placas Petrifilm 3M para recuento Total de Aerobios.
- Placas Petrifilm 3M para recuento de Coliformes totales.
- Plancha de calentamiento.
- Sistema de destilación por arrastre de vapor.
- Tablas de picar.

- Tubos de centrífuga.
- Vasos de precipitado de 25 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL y 1 L.

c. Recipientes

- Balón de digestión Kjeldhal.
- Matraz Erlenmeyer de 50 mL, 150 mL, 250 mL y 500 mL.
- Tubos de ensayo.
- Tubos de vidrio con rosca (13x10mm).
- Picetas

d. Volumétricos

- Buretas de 25 mL.
- Matraz volumétrico de 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL y 100 mL.
- Pipetas de 1mL, 5 mL y 10 mL.
- Probetas de 25 y 50 mL.

3.3.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS

- Agitador magnético FISHER SCIENTIFIC y magneto
- Agitador tipo vortex, VELP SCIENTIFICA.
- Aqualab DECAGON DEVICES Mod. Series 3 TE
- Balanza analítica ADAM, modelo CBW-12Ah.
- Balanza eléctrica comercial CASIO.
- Cámara de bioseguridad microbiológica ESCO Mod. LA2-4A3
- Cámara de incubación MEMMERT
- Centrifuga MLW, modelo T62.
- Cocina a gas BOSCH
- Cronómetro CASIO.
- Equipo de baño maría MEMMERT, modelo TYP:WB14.
- Equipo semi-micro Kjeldahl RELES: digestor y destilador.
- Equipo Soxhlet KOSSODO: sifón, condensador y balón de vidrio.
- Espectrofotómetro MILTON TOY, modelo Spectronic Génesys 5.

- Estufa eléctrica HERAEUS, modelo KF-500.
- Estufa de vacío MEMMERT
- Homogenizador STOMACHER 400
- Horno mufla eléctrica HERAEUS GmbH.
- Micropipeta BRAND de volumen variable 20-250 µL.
- Procesador de alimentos marca Phillips
- Potenciómetro digital HANNA.
- Rotavapor BUCHI
- Refrigeradora LG
- Termómetro digital CASIO
- Termómetro de mercurio BOECO

3.3.3. REACTIVOS

- 1,1,3,3-Tetraetoxipropano (TEP), SIGMA-ALDRICH.
- 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), SIGMA-ALDRICH.
- Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox)
- Ácido bórico, MERCK, solución de ácido bórico al 4%.
- Ácido clorhídrico MERCK, solución valorada al 0.1N.
- Ácido gálico, SIGMA-ALDRICH.
- Ácido sulfúrico concentrado, libre de nitrógeno, MERCK.
- Ácido tiobarbitúrico (TBA), FERMONT.
- Ácido tricloroacético (TBA), MERCK.
- Agua destilada,
- Arena de mar lavada grado fino, MERCK.
- Butilato hidroxitolueno (7,2% en etanol, v/v), SIGMA-ALDRICH.
- Buffer Tris-HCl, SIGMA-ALDRICH.
- Carbonato de sodio, MERCK.
- Catequina, SIGMA-ALDRICH.
- Cloruro de sodio (NaCl), FERMONT.
- Cloruro de aluminio (AlCl₃), SIGMA-ALDRICH.
- Etanol al 96 por ciento, SIGMA ALDRICH.

- Etanol al 99 por ciento, MERCK.
- Éter de petróleo, M. TEDIA.
- Fenoltaleina, FERMONT.
- Folin-Ciocalteu, SIGMA-ALDRICH
- Fosfato de sodio, CARLO ERBA.
- Fosfato de potasio, MERCK.
- Hidróxido de sodio, MERCK.
- Metanol
- Nitrito de sodio (NaNO₂), MERCK.
- Sulfato de Cobre (II) pentahidratado (CuSO₄.5H₂O), J .T. BAKER.
- Sulfato de Potasio anhidro (K₂SO₄), JT. BAKER.

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1. ANÁLISIS A LAS HOJAS FRESCAS Y POLVO DE HIERBA BUENA

Las hojas de hierba buena empleadas en la experimentación fueron sometidas a los ensayos descritos a continuación para determinar su composición química proximal. Mientras que en la hierba buena molida solo se determinó el contenido de humedad.

a. Humedad

Las hojas de hierba buena fresca y molida deshidratada se sometieron al método por desecación en estufa hasta peso constante, según la Norma AOAC (1995).

b. Proteína

Se siguió el método de la AOAC (1995), por cuantificación de nitrógeno total por el método Kjeldahl.

c. Grasa

Se determinó basado en la norma AOAC (1995), utilizando el digestor de grasa.

d. Fibra bruta

Se siguió el método de la AOAC (1995)

e. Cenizas

Se realizó basado en el procedimiento de la AOAC (1995), por incineración completa de los componentes orgánicos de una muestra del alimento.

f. Carbohidratos

Por diferencia MS-INN Collazos (1993).

3.4.2. ANÁLISIS REALIZADOS AL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA

Una vez obtenido el extracto etanólico de hierba buena se sometió a los siguientes ensayos:

a. Determinación de la capacidad antioxidante

Para la cuantificación de la capacidad antioxidante por el método DPPH, se empleó el método de Yamaguchi *et al.* (1998) que fue usado también por Kannat *et al.* (2007). En el ensayo se diluyeron 200 μ l del extracto etanólico (diluido en etanol) con 800 μ l de buffer Tris-HCl (100 mM, pH 7.4). A esto se le adicionó 1 mL de solución diluida de DPPH (solución de 500 μ M DPPH en etanol) y se agitó en un vortex vigorosamente. Los tubos fueron almacenados a temperatura ambiente por 20 minutos protegidos de la luz. Luego la absorbancia fue medida a 517 nm y el resultado fue transformado en porcentaje de inhibición, el cual fue reemplazado en una curva estándar como equivalente de Trolox (Anexo 1). Los resultados fueron expresados como TEAC (Actividad antioxidante equivalente al Trolox).

La curva estándar correlaciona la concentración de Trolox (μM) con el porcentaje de inhibición, el cual se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \left[\frac{(\text{Absorbancia del blanco} - \text{Absorbancia del extracto})}{\text{Absorbancia del blanco}} \right] \times 100$$

b. Determinación de compuestos fenólicos totales

Se utilizó el método de Folin y Ciocalteu (1927) descrito por Doroteo *et al.* (2013). Donde de una dilución 1/250 del extracto de hierba buena se tomó 100 μL y se le añadió 250 μL de la solución de Folin-Ciocalteu (diluido 1 en 2 con agua milli-Q), se sonicó por 5 minutos, luego se le añadió 1250 μL de carbonato de sodio al 20 por ciento y 400 μL de agua ultra pura. Se agitó vigorosamente, se cubrió de la luz y se le llevó a reposo por 90 minutos a temperatura ambiente. Las absorbancias respectivas fueron medidas a 760 nm en un espectrofotómetro.

Se preparó una curva de calibración de ácido gálico cuyo rango de concentraciones finales fue de 1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, con la cual se estimó el contenido de compuestos fenólicos (Anexo 2). Cada una de las muestras de ácido gálico fue procesada de manera similar a la muestra problema. El contenido de compuestos fenólicos totales fue expresado en mg de ácido gálico /g de extracto.

c. Determinación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides en el extracto de hierba buena fue determinado mediante el ensayo colorimétrico con AlCl_3 , propuesto por Ivanova *et al* (2010). De una dilución 1/250 del extracto etanólico se tomó 0.5 mL y se le añadió 1.5 mL de agua destilada y 150 μL de nitrito de sodio. Se dejó reposar por 5 minutos y se le añadió 150 μL de cloruro de aluminio. Se dejó reposar por 6 minutos y se le añadió 1 mL de hidróxido de sodio, se mezcló bien y se completó con agua destilada hasta un volumen final de 5 mL.

Para la cuantificación de flavonoides totales, se elaboró una curva de calibración de catequina a concentraciones finales de 8 a 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Anexo 3). Las lecturas de

absorbancia fueron realizadas en un espectrofotómetro a longitud de onda de 510 nm. El contenido de flavonoides totales fue expresado como mg de catequina /g de extracto.

3.4.3. ANÁLISIS REALIZADOS AL EMBUTIDO COCIDO DE VÍSCERAS ROJAS DE CUY

a. Análisis fisicoquímicos

Con la finalidad de caracterizar el embutido cárnico cocido hecho con vísceras rojas de cuy y adición de hierba buena, se realizó el análisis proximal a la muestra de Tratamiento 1: Embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy con 0 ppm de compuestos fenólicos totales debido a la no inclusión del extracto etanólico de hierba buena. Para ello se emplearon los siguientes métodos:

- Humedad

Por desecación en estufa según el método de análisis de carne y productos cárnicos que cita la NTP ISO 1442 de INDECOPI (2006b).

- Proteína

Según el método de análisis de carne y productos cárnicos que cita la NTP 201.021 de INDECOPI (2002b). Cuantificando el nitrógeno total por el método de Kjeldahl.

- Grasa

Se obtuvo por medio del extractor Soxhlet basándose en el método de análisis de carne y productos cárnicos que cita la NTP 201.016 de INDECOPI (2002a).

- Cenizas

Por medio de la calcinación en mufla según el método de análisis de carne y productos cárnicos que cita la NTP 201.022 de INDECOPI (2002c).

- Carbohidratos

Por diferencia MS-INN Collazos (1993).

- pH

Se realizó siguiendo la metodología de la NTP-ISO 2917 (INDECOPI, 2005).

- Determinación de la actividad de agua (A_w)

Se determinó en el equipo Aqualab. Se colocó la muestra en una cubeta Aqualab, de manera que cubra la mitad de esta y se procedió a leer la actividad de agua en el equipo (Aqualab, 2009).

b. Determinación de la oxidación lipídica

Para medir la oxidación lipídica se empleó el método descrito por Jung *et al.* (2010), con ligeras modificaciones, el cual se basa en la reacción del malonaldehído (MDA) con el ácido tiobarbitúrico (TBA) para obtener un pigmento rojo que se forma por la condensación de dos moléculas de TBA con una molécula de MDA. A continuación se describe el procedimiento para la determinación del contenido de malonaldehído.

De cada unidad de embutido cocido de vísceras de cuy se tomaron 2 g, se homogenizaron en 30 mL de agua destilada durante 30 segundos. Se transfirió 1 mL de muestra homogenizada a un tubo ensayo y se determinó las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. En el tubo de ensayo se añadió 100 μ l de BHT (7,2 por ciento en etanol) y 4 mL de solución TBA/TCA (20 mM de TBA en 15 por ciento de TCA, p/v), esta mezcla se homogenizó en un vortex durante 20 segundos. Los tubos se calentaron (90 °C) en un baño María durante 15 minutos hasta desarrollarse el color, luego fueron enfriados por 10 minutos en un baño de agua fría, tras lo cual las muestras fueron homogenizadas y centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos. Finalmente el sobrenadante fue recogido en tubos de ensayo limpios y fue medida a 532 nm (longitud de onda de máxima absorción) en un espectrofotómetro. Al resultado obtenido se le restó el blanco, el cual fue preparado colocando 1 mL de agua destilada y 2 mL de solución TBA/TCA (sin adición de BHT) y siguiendo el procedimiento anterior. El valor de TBARS se expresa en mg de malonaldehído (MAD) por kg de embutido cocido de vísceras de cuy, para ello se preparó una curva estándar utilizando 1,1,3,3,- Tetrametoxipropano (TEP) (Anexo 4).

c. Análisis microbiológico

- Recuento de aerobios mesófilos

Según el método de análisis que cita la AOAC (2005a). Recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos en alimentos, métodos del film seco rehidratable - Petrifilm™.

- Recuento de coliformes totales

El recuento de coliformes totales en el embutido, se realizó mediante el método de siembra para recuento en placa de coliformes - Petrifilm™. AOAC (2005b).

- Presencia de Salmonella sp.

La presencia o ausencia de Salmonella sp. en el embutido, se realizó de acuerdo al método para el aislamiento e identificación de salmonelas a partir de los alimentos de la ICMSF (2000).

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.5.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA

Para la obtención del extracto etanólico de hierba buena se siguió el flujo de operaciones presentado en la Figura 7 que se detalla a continuación:

- a. Limpieza. En esta operación se eliminaron elementos extraños y tierra, retirándolos con agua. A continuación se desinfectó la hierba buena para eliminar contaminación microbiana, se realizó con 100 ppm cloro libre residual.
- b. Deshojado. En esta etapa se separaron las hojas en buen estado de los tallos de hierba buena.
- c. Secado. Se realizó con el objetivo de disminuir la humedad de la hierba buena y facilitar la molienda. Se llevó a cabo en una estufa a 60°C hasta alcanzar una humedad inferior a 10 por ciento.

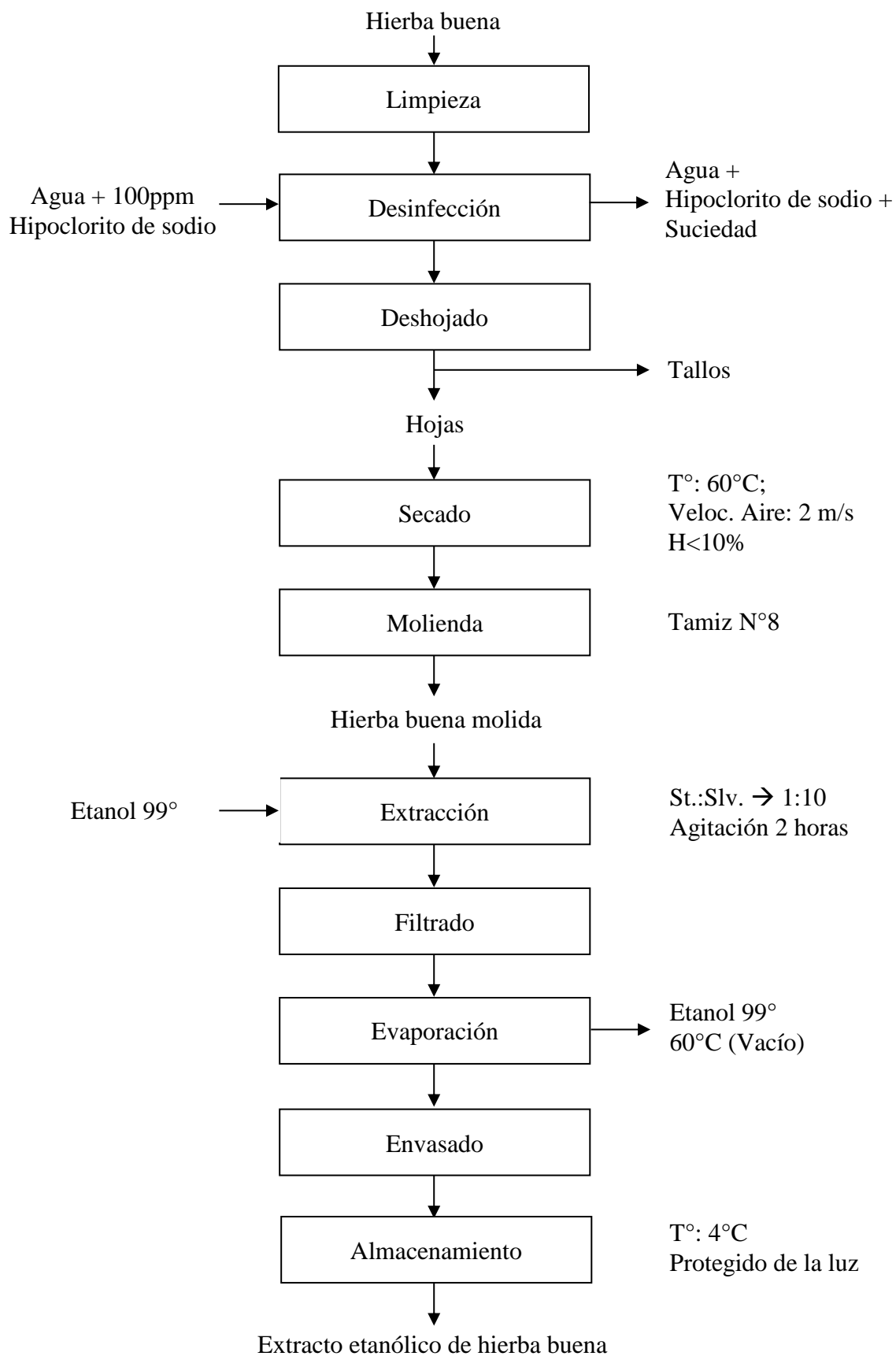


Figura 7: Flujo de operaciones para la obtención de extracto etanólico de hierba buena.

- d. Molienda. Para reducir el tamaño de partícula y realizar una extracción más efectiva. Se empleó un mixer, para ser capaz de pasar a través de un tamiz N°8.
- e. Extracción. Se realizó con el objetivo de obtener un extracto etanólico que pueda ser inoculado en un embutido cárnico de vísceras de cuy. La extracción se realizó mediante lixiviación entre el solvente, alcohol etílico, y la hierba buena. Se colocaron 50 g de hierba buena molida en un Erlenmeyer de un litro donde se añadió alcohol etílico 99° en la proporción 1:10 (soluto: solvente). Luego se dejó macerar con agitación magnética a temperatura ambiente por dos horas (Monroy *et al.*, 2002).
- f. Filtrado. Para separar el extracto lixiviado de las partículas de hierba buena. Usando estopilla, el filtrado se separó y se filtró adicionalmente usando papel filtro Whatman N°4 (Kannat *et al.*, 2007).
- g. Evaporación. Con la finalidad de separar el etanol del extracto de hierba buena, el producto lixiviado se llevó a un rotavapor a 60°C, donde se obtuvo el extracto libre de solvente y se recuperó el alcohol etílico.
- h. Envasado. Obtenido el extracto, con el fin de evitar la degradación de este por efecto del medio ambiente, se depositó en frascos de vidrio color ámbar.
- i. Almacenamiento. Para evitar cambios durante el almacenamiento, se conservó el extracto a 4°C protegido de la luz.

3.5.2. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE UN EMBUTIDO CÁRNICO DE VÍSCERAS DE CUY

Previamente se caracterizó el embutido cárnico experimental en el que se aplicarían las distintas concentraciones del extracto etanólico de hierba buena. Se realizó el análisis proximal y el análisis microbiológico del producto.

En el Cuadro 12 se muestran los ingredientes y las concentraciones que conformaron la formulación base del embutido cocido. A este se le adicionaron diferentes concentraciones del extracto etanólico de hierba buena.

Cuadro 12: Formulación del embutido cocido de vísceras de cuy.

Ingredientes	Cantidad
Vísceras rojas de cuy	60%
Papa	20%
Cebolla	20%
Sal	2%
Polifosfatos	0.2%
ppm Compuestos fenólicos	0 ppm / (0%)
totales /	50 ppm / (0.1%)
(% Extracto etanólico de	100 ppm / (0.2%)
hierba buena)	150 ppm / (0.3%)

En la Figura 8 se presenta el diagrama de flujo de operaciones para la elaboración del embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy con extracto etanólico de hierba buena, el cual se describe a continuación.

- a. Lavado y desinfección. Con el fin de eliminar suciedad de las materias primas. Las vísceras fueron lavadas con agua luego de ser descongeladas. Mientras que papas y cebollas se lavaron para retirarles la tierra y se desinfectaron en solución con 100 ppm de cloro libre residual.
- b. Acondicionamiento de las vísceras rojas de cuy. De acuerdo a la preparación tradicional, las vísceras limpias fueron curadas con sal común y conservadas en refrigeración (4° C) por 24 horas antes de ser procesadas.
- c. Cocido. Las papas fueron sometidas a cocción por inmersión en agua a temperatura de ebullición.

- d. Pelado y picado. Para reducir su tamaño y poder dosificarlas adecuadamente, papas y cebollas fueron peladas y picadas en cubos de 1 cm de lado aproximadamente.

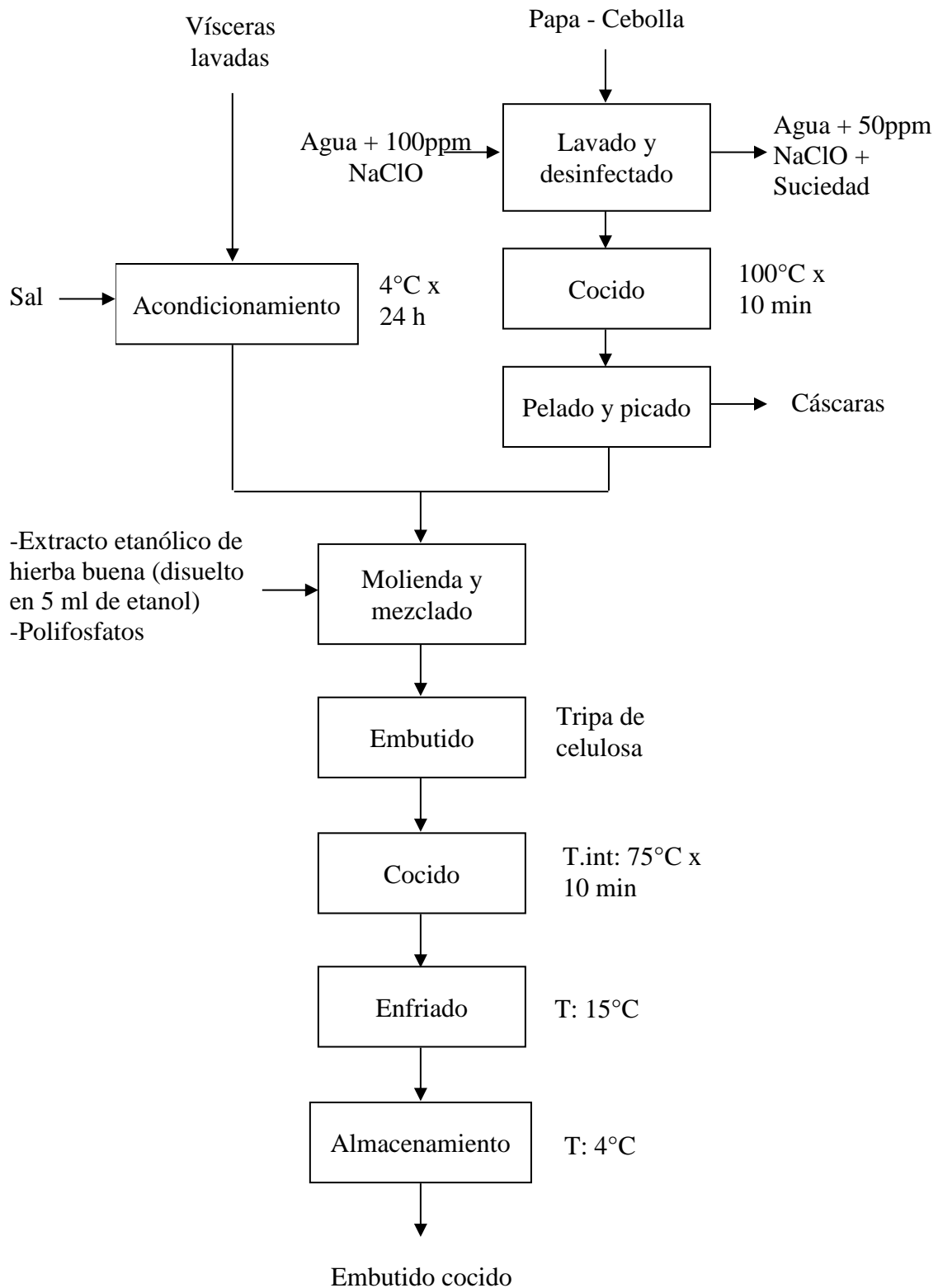


Figura 8: Diagrama de flujo de la elaboración del embutido cocido de vísceras rojas de cuy con extracto etanólico de hierba buena.

- e. Molienda y mezclado. Con el fin de incorporar todos los ingredientes y obtener una masa cárnica homogénea. Se mezclaron las vísceras rojas de cuy, con la sal y el polifostato, luego se adicionó la cebolla y papa. Al final se adicionó el extracto etanólico de hierba buena, el cual fue disuelto en 5 mL de etanol para facilitar su aplicación (Estévez, 2005), en la concentración correspondiente según el tratamiento asignado al lote. A la muestra control sin extracto etanólico se le adicionó 5 mL de etanol. Se mezcló a velocidad media, hasta obtener una masa homogénea.
- f. Embutido. El objetivo será introducir la masa en la tripa y constituir las piezas (Frey, 1983) de 5 a 6 cm de largo. La masa lista se llevará a la embutidora, y colocando la tripa de celulosa de 30 mm de diámetro aproximadamente en la salida se embute tratando de no introducir aire.
- g. Cocido. Con el fin de pasteurizar la mezcla y acondicionarla para su consumo directo. Se cocerá por inmersión en agua caliente a 90 °C por 30 minutos (Estévez, 2005).
- h. Enfriado. Se enfriará rápidamente por inmersión en agua hasta 15°C, para evitar tener temperaturas de crecimiento de bacterias y así favorecer su capacidad de conservación.
- i. Almacenamiento. Para conservar los embutidos durante la investigación, se almacenaron en refrigeración (4°C).

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

En el Cuadro13 se presenta el diseño experimental de la presente investigación. En esta se distinguen dos etapas, las cuales se explican a continuación.

Cuadro 13: Diseño experimental de la Investigación.

Etapa	Obtención del extracto etanólico de hierba buena		Evaluación de la estabilidad oxidativa y microbiológica							Seguimiento (días)				
	Recep. Hierba buena	Hierba buena en polvo	Extracto etanólico	Recepción y acondicionamiento de MP	Formulación	Molienda y mezclado	Embutido	Cocido	Almacenamiento	0	3	7	10	15
Metodología Experimental	→	→	→	→	Control 50 ppm CFT 100 ppm CFT 150 ppm CFT	→	→	→	→	○				
Variables			Rendimiento	Rendimiento										
Controles Análisis y Parámetros	Análisis proximal	Humedad	-Peso -Cont. Compuestos fenólicos totales -Cont. Flavonoides totales -Capacidad antioxidante	Peso	CFT: Compuestos fenólicos totales			Ti: 75°C	-Análisis proximal de embutido cocido base T: 4°C	-pH -aw -TBARS -Flora aerobia mesófila viable -Coliformes -Salmonella				

3.6.1. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA

Se determinó la composición química proximal de la hierba buena utilizada en la experimentación, por medio de los análisis de humedad, proteína bruta, extracto etéreo, fibra y cenizas. Además se determinó el contenido de agua en la hierba buena molida antes de proceder con la extracción.

Una vez obtenido el extracto etanólico de hierba buena, se procedió a determinar su capacidad oxidativa por el ensayo DPPH, el contenido total de compuestos fenólicos por el método de Folin-Cilcateu y el contenido total de flavonoides. Se realizaron las evaluaciones por triplicado.

3.6.2. EVALUACIÓN DE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA Y MICROBIOLÓGICA DEL EMBUTIDO COCIDO

Para evaluar la estabilidad oxidativa y microbiológica del embutido cocido de vísceras rojas de cuy se tomaron como factores independientes: (a) la concentración de compuestos fenólicos totales (CFT) en la formulación del embutido cocido de vísceras rojas de cuy, presentes debido a la adición de un extracto etanólico de hierba buena, cuyos niveles fueron de 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm y 150 ppm y (b) los días en los que se realizaron las pruebas fisicoquímicas y microbiológicas, siendo estos los días 0, 3, 7, 10 y 15 de almacenamiento a 4°C. La unidad experimental es el embutido cocido de vísceras rojas de cuy, al que se aplicaron los tratamientos respectivos. La variable respuesta son las medidas obtenidas de los ensayos de sustancias reactivas al TBA, pH, Aw y la carga microbiana obtenida para flora aerobia mesófila viable, coliformes totales y presencia de Salmonella durante el almacenamiento. Para cada uno de los cuatro tratamientos se prepararon muestras por 500 g de embutido cocido de vísceras rojas de cuy, siendo estas muestras producidas por triplicado en lotes independientes, en los cuales se realizaron las evaluaciones por duplicado.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Los factores en estudio fueron en forma independiente la concentración de compuestos fenólicos totales (CFT) en la formulación del embutido cárnico cocido y el tiempo de almacenamiento del embutido. El efecto de ambos sobre la estabilidad oxidativa y microbiológica del embutido cocido de vísceras de cuy fue evaluado utilizando un análisis de varianza (ANOVA), para determinar la validez de la hipótesis planteada de que a determinado nivel el extracto etanólico de hierba buena tiene un efecto sobre la estabilidad oxidativa y microbiológica de un embutido cocido de vísceras de cuy, y en el caso donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) se continuó con el estudio aplicando el test de comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia del 95 por ciento. Para el análisis estadístico mencionado se utilizó el paquete estadístico Statgraphics Centurion®.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. CARACTERIZACIÓN DEL EMBUTIDO CÁRNICO COCIDO DE VÍSCERAS ROJAS DE CUY

En el Cuadro 14 se muestran los valores de los componentes mayoritarios (humedad, grasa, proteína bruta, ceniza y carbohidratos) obtenidos de las muestras del embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy, expresados tanto en base húmeda como en base seca.

Cuadro 14: Composición proximal* del embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy (Media \pm DE).

Componente	Base húmeda	Base seca
Humedad	73.78 \pm 0.05	0.00 \pm 0.00
Proteína	17.07 \pm 0.04	65.10 \pm 0.11
Grasa	4.58 \pm 0.38	17.48 \pm 1.41
Carbohidratos	2.75 \pm 0.09	10.51 \pm 0.34
Ceniza	1.81 \pm 0.29	6.91 \pm 1.13

*n=3

El embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy, por su procesamiento y composición se asemeja al producto que el INDECOPI (1999) define como morcilla o relleno, el cual consiste en un embutido cocido constituido por una masa hecha en base a sangre, grasa, recortes de vísceras de porcino y verduras; los cuales deben estar perfectamente triturados y mezclados y con agregados de especias uniformemente distribuidas. De este modo, Reyes *et al.* (2009) considera que el contenido promedio de humedad para el relleno peruano es de 75.5 por ciento, valor similar al contenido promedio de humedad encontrado en la presente investigación, el cual fue de 73.78 por ciento.

Otros autores como Santos *et al.* (2003) reportan como contenido de humedad promedio, 62.21 por ciento, con valores máximos de 70.44 por ciento, en morcillas de Burgos, mientras que Cabeza (2006), reporta 67.14 por ciento como promedio de humedad, para morcillas de León. Cabeza (2006), también menciona que actualmente la tecnología de los embutidos de sangre es extremadamente variable, siguiendo tradiciones y gustos regionales a veces muy localizados. Existe una gran variedad de embutidos de sangre típicos a lo largo y ancho de Europa y también en Latinoamérica. Sin embargo, a pesar de la reconocida tradición en la fabricación de embutidos de sangre son pocos los trabajos publicados sobre formulación y tecnología de elaboración de estos productos cárnicos en comparación con otros más conocidos. Esto puede deberse a que los embutidos de sangre han sido y aún son alimentos ligados a la elaboración artesanal en zonas rurales, siendo escasamente industrializados a gran escala (Bermúdez *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2002).

Cabeza (2006), afirma que el porcentaje de humedad, que depende inversamente de la cantidad grasa empleada en la formulación y de las pérdidas de humedad por secado, varía entre el 15,9 por ciento de la morcilla extremeña, morcilla crudo-curada, y el 77,8 por ciento de la morcilla tradicional de Chile. Así, esta variabilidad en el contenido de humedad, también se expresa en los contenidos de proteína, grasa y carbohidratos, debido a lo diferente que puede ser la formulación de las morcillas en cada región.

Luego del agua, el componente encontrado en mayor proporción es el de proteína, reportándose 17.07 por ciento en promedio. Al respecto Reyes *et al.* (2009), reportan un valor promedio de 14.4 por ciento de proteína para el relleno peruano, siendo este valor inferior al encontrado en el presente estudio, debido al alto contenido de vísceras rojas utilizadas en la formulación, 60 por ciento de la masa total.

El contenido de proteínas según Santos *et al.* (2003), en promedio fue de 13.09 por ciento y en las morcillas donde la sangre fue la única fuente de proteína, esta fue de 15.34 por ciento, para morcillas de Burgos, mientras que para Cabeza (2006), reporta en promedio 5.23 por ciento para la morcilla de León, donde el ingrediente principal es la cebolla, alrededor de 70 por ciento de la masa total. Estos valores son inferiores al encontrado en el embutido cocido de la experimentación, donde el ingrediente principal son las vísceras rojas de cuy, debido a que estas tienen un alto contenido proteico, de alrededor de 16 por

ciento en riñones y pulmones, 18 por ciento en el corazón y 20 por ciento en el hígado (Clavo y Ramírez, 2002).

El contenido de grasa en promedio fue de 4.58 por ciento, próximo al valor reportado por Reyes *et al.* (2009), que fue de 5.0 por ciento en promedio para el relleno peruano. Mientras que Cabeza (2006), reporta valores que van desde 7.28 por ciento hasta 18.11 por ciento, para morcilla de León, en la cual se le adiciona grasa de cerdo entre 10 por ciento a 20 por ciento de la masa total. En cambio, el embutido cocido de vísceras rojas de cuy no contiene grasa adicional en su formulación. Esto explica las diferencias en los resultados de contenido graso.

El contenido aproximado de carbohidratos fue de 2.75 por ciento, valor inferior al reportado por Reyes *et al.* (2009), de 3.2 por ciento en promedio para el relleno peruano. Por otro lado Cabeza (2006), reporta valores que varían desde 6.02 por ciento hasta 10.32 por ciento, en morcilla de León, donde las cantidades de cereales o derivados u otras fuentes de almidón suelen estar comprendidas entre el 5 y el 35 por ciento, además de contener alrededor de 70 por ciento de cebolla. Mientras que en el embutido cocido obtenido en el presente estudio se empleó solo 20 por ciento de cebolla y 20 por ciento de papa cocida. Lo que explicaría el menor contenido en carbohidratos.

Por último el contenido de cenizas promedio fue de 1.81 por ciento. Al respecto Reyes *et al.* (2009), reportan un promedio de 1.9 por ciento, para el relleno peruano, correspondiendo con lo hallado en la presente experimentación. Próximo a lo obtenido, Cabeza (2006), reporta como valor promedio de cenizas 1.86 por ciento, para morcilla de León, mientras que Santos *et al.* (2003), encontró un contenido de cenizas significativamente mayor, en promedio 4.61 por ciento, para morcilla de Burgos.

4.2. CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA

4.2.1. COMPOSICIÓN DE LA HIERBA BUENA

En el Cuadro 15 se presentan los resultados del contenido de humedad, proteína, grasa,

carbohidratos, fibra, y cenizas para la hierba buena fresca empleada en la presente investigación.

Cuadro 15: Composición proximal* de la hierba buena fresca (Media \pm DE).

Componente	Base húmeda	Base seca
Humedad	88.72 \pm 0.25	0.00 \pm 0.00
Proteína	2.81 \pm 0.10	24.95 \pm 0.01
Grasa	0.81 \pm 0.19	7.20 \pm 0.01
Carbohidratos	3.61 \pm 0.35	31.97 \pm 0.03
Fibra	2.11 \pm 0.08	18.71 \pm 0.005
Ceniza	1.94 \pm 0.07	17.17 \pm 0.007

*n=3

Los porcentajes promedio de humedad, proteína, grasa, fibra y cenizas fueron de 88.72 por ciento; 2.81 por ciento; 0.81 por ciento, 2.11 por ciento y 1.94 por ciento, respectivamente, estos valores encontrados concuerdan con lo reportado para la parte comestible de la hierba buena por Reyes *et al.* (2009), que presentan valores de 86.7 por ciento de humedad, 3.1 por ciento de proteínas, 1.0 por ciento grasa total, 2.5 por ciento de fibra cruda y 2.0 por ciento de cenizas. Sin embargo se observan diferencias en los valores de carbohidratos, donde se obtuvo 3.61%, mientras que Reyes *et al.* (2009) reportan un valor muy superior, de 7.0 por ciento en promedio.

De otro lado, FEN (2011), reporta valores que corresponde a los encontrados en la experimentación, estos son 86.4 por ciento de humedad, 3.8 por ciento de proteína y 0.7 por ciento de lípidos totales. Sin embargo reporta 5.3 por ciento de hidratos de carbono, superior a los 3.61 por ciento obtenidos en la experimentación.

Según FEN (2011), la ración usada en gastronomía para la menta fresca se aproxima a 1 g. Es ésta una cantidad que no justifica el aporte de nutrientes a la ingesta diaria de cualquier persona. No obstante, la menta es una de las plantas más conocidas y utilizadas de entre las plantas medicinales. Mientras que Anwar *et al.* (2010) menciona que las plantas de la familia Lamiaceae son una rica fuente de polifenoles y por lo tanto podrían poseer propiedades antioxidantes fuertes. Además recientemente, la *Mentha spicata* se ha

convertido en un tema de interés científico a la vista de otros usos potenciales de su aceite esencial y extractos, en su mayor parte, como antimicrobiano y agentes antioxidantes.

4.2.2. RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO A PARTIR DE HIERBA BUENA DESHIDRATADA Y MOLIDA

Se preparó un extracto etanólico de hierba buena con el objetivo de tener una forma en la que se asegure la concentración y distribución del material bioactivo de la hierba buena sobre toda la masa del embutido cocido de vísceras de cuy. Por lo que se utilizó etanol como solvente, para asegurar la inocuidad del producto cárnico y extraer la mayor cantidad de compuestos fenólicos posibles. Según Biswas *et al.* (2012) en la preparación de muestras de extractos, el tipo de disolvente es uno de los factores más importantes para obtener un antioxidante natural de alta calidad. El disolvente ideal para la extracción debe ser no tóxico, respetuoso del medio ambiente, aumentar el rendimiento de extracción y tener la capacidad para extraer los componentes más activos sin pérdida no deseada. Además según Brahmi *et al.* (2012), después del metanol, el etanol es el solvente orgánico con el que se obtienen mejores rendimientos de extracto en peso, superando a la acetona.

En el cuadro 16 se observan los resultados de rendimiento para el extracto etanólico de hierba buena, en base húmeda y seca, a partir de la hierba buena deshidratada y molida.

Cuadro 16: Rendimiento* del extracto etanólico de hierba buena deshidratada (Media \pm DE).

Análisis	Base húmeda (g/ 100g)	Base seca (g/ 100g)
Rendimiento	5.20 \pm 0.23	5.48 \pm 0.25

*n=3

El rendimiento de extracto etanólico de hierba buena deshidratada fue de 5.20 por ciento en base húmeda. Brahmi *et al.* (2012) reportan que el rendimiento para la extracción con etanol es de 4.6 por ciento, valor inferior al obtenido en la experimentación. Esto se puede explicar debido a las diferencias en las condiciones de extracción y principalmente a la muestra empleada. Así, Brahmi *et al.* (2012) mencionan que es bien conocido que el rendimiento de extracción química depende del tipo de disolventes con diferentes

polaridades, pH, tiempo de extracción y la temperatura, así como de la composición química de la muestra. Bajo las mismas condiciones de tiempo y temperatura, el disolvente y las propiedades químicas de la muestra son los factores más importantes. Así, la eficiencia del procesamiento está cuantitativamente relacionada con rendimiento de extracción.

4.2.3. CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y FLAVONOIDES EN EL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA

En el Cuadro 17 se muestran los valores del contenido de compuestos fenólicos y flavonoides provenientes de extracto etanólico de hierba buena.

Cuadro 17: Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto etanólico de hierba buena (Media \pm DE).

Característica	Resultado
Compuestos fenólicos totales (mg AGE/ g de extracto)	52.31 \pm 6.40
Flavonoides totales (mg Catequina Equivalentes / g extracto)	9.47 \pm 0.95

*n=3

En el presente estudio se encontró un contenido de compuestos fenólicos totales (expresados como Ácido gálico equivalente) de 52.31 mg AGE/ g de extracto. Según Brahmi *et al.* (2012) el contenido de compuestos fenólicos en extractos de hierba buena varía entre 5.91 mg hasta los 39.47 mg AGE/ g de extracto, dependiendo del tipo de solvente utilizado en la extracción. Reportando para etanol 9 mg AGE/ g de extracto, valor muy por debajo del encontrado en el presente estudio. Salim *et al.* (2015) concluyen que las diferentes condiciones de secado para la obtención de extractos de *Mentha spicata*, puede afectar el contenido de este como sus propiedades fisicoquímicas. Esto podría explicar las diferencias encontradas en diversos estudios donde se evalúa el contenido de fenoles totales en extractos de menta.

Otros autores como Nickavar *et al.* (2008) reportan contenido total de fenoles para diferentes tipos de mentas entre 150.91 a 433.60 mg AGE/ g de extracto, de muestras de mentas de la provincia de Theran en Irán, en el verano del 2006, siendo la *Mentha spicata* la especie con menor contenido de compuestos fenólicos. Valores significativamente superiores a los reportados en el presente estudio. Gonzáles (2013) concluye que las condiciones climáticas afectan la producción de fenoles, siendo la mejor respuesta de la planta de hierbabuena durante la estación de primavera. Además las condiciones de cultivo, como el estrés hídrico, pueden incrementar la producción de metabolitos secundarios como polifenoles. En el presente estudio el extracto etanólico fue preparado con *Mentha spicata* cosechada en invierno, lo que podría explicar, parte de las diferencias en los contenidos totales de compuestos fenólicos.

De otra parte Kannat *et al.* (2007), menciona que para un extracto acuoso de *Mentha spicata* el contenido de compuestos fenólicos es de 25.62 mg en términos de catequina equivalentes / g de extracto seco. Además Dorman *et al.* (2003) han informado de un contenido de fenoles totales en el rango de 128 a 230 mg equivalentes de ácido gálico/ g (peso seco) de extracto de diferentes tipos de menta. Estas diferentes experiencias demuestran que existe una alta variabilidad en el contenido de compuestos fenólicos en variedades de mentas, debido a las diferentes condiciones de extracción, solventes, condiciones de cultivo y región de procedencia de la planta.

También se determinó el contenido de flavonoides (expresado como equivalentes de Catequina), siendo este de 9.47 mg de catequina / g de extracto. Los compuestos fenólicos más extendidos y diversos son los flavonoides, que son metabolitos secundarios polifenólicos ampliamente dispersos por todo el reino vegetal (Kanatt *et al.*, 2007).

Según McKay y Blumberg (2006) el 12 por ciento de los compuestos fenólicos en la hierba buena está constituido por flavonoides. En el presente estudio el contenido de flavonoides representa aproximadamente el 18 por ciento de los compuestos fenólicos totales en el extracto etanólico de hierba buena.

Según Kanatt *et al.* (2007) el contenido de flavonoides total es de $13,5 \pm 1,38$ mg en términos de equivalentes de catequina / g de la muestra, para un extracto acuoso de *Mentha spicata* cultivado en la India. Valor superior al reportado en la presente experimentación.

Mientras que Brahmi *et al.* (2012) menciona que el contenido total de flavonoides en *Mentha spicata* varía de 1.98 a 7.68 mg de quercetina equivalentes / g de extracto seco, dependiendo del solvente utilizado, reportando para el etanol un valor aproximado de 4 mg de quercetina equivalentes / g de extracto seco, para un extracto a partir de una planta cultivada en Argelia. Valor inferior al encontrado en esta experimentación. Según Anwar *et al.* (2010) las variaciones en la composición química de los extractos de *Mentha spicata* producidos a partir de plantas cultivadas en diferentes países podrían ser atribuidos a la variación de condiciones agroclimáticas (geográficas, climáticas, estacional) de las regiones, la etapa de madurez, y el metabolismo de adaptación de las plantas. Esto podría explicar que diferentes autores, que emplearon *Mentha spicata* de diversos orígenes, reporten variados resultados en la cuantificación de compuestos fenólicos y la composición química de los extractos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con lo encontrado en diferentes estudios sobre la *Mentha spicata* como fuente de compuestos fenólicos. Así, Mozaffarian *et al.* (1996) citado por Nickavar *et al.* (2008) afirma que las plantas pertenecientes a la familia Lamiaceae son ricas en compuestos fenólicos y un gran número de ellas son bien conocidas por sus propiedades antioxidantes. El género *Mentha* es uno de los miembros más importantes de esta familia.

Existen diferentes métodos de extracción de compuestos bioactivos para ser usados en carne como prevención de la oxidación lipídica, las variaciones de estos métodos afectan al contenido final en compuestos fenólicos del extracto obtenido, siendo el tipo de solvente uno de los principales factores en la experimentación. Kumar *et al.* (2015) menciona que la extracción con solventes orgánicos es la más eficiente en muchas instancias, pero que tiene como desventaja el problema de remover los residuos de solvente orgánico por varios métodos de evaporación que generan un incremento en el costo de la operación. De otro lado menciona que los extractos acuosos a pesar de tener una eficiencia menor son seguros, porque garantizan la ausencia de solventes orgánicos. En la presente experimentación se empleó etanol como solvente, como ha sido visto antes, después del metanol es el solvente orgánico con mayor eficiencia de extracción. Sin embargo, investigaciones como la de Tawaha *et al.* (2007) reportan que obtuvieron un mayor contenido de compuestos fenólicos con un extracto acuoso que con uno metanólico, 47.6 frente a 39.1 mg AGE / g peso seco. A pesar de esto, al evaluar la capacidad antioxidante, el extracto metanólico resulta con un

mejor desempeño frente al extracto acuoso. Por lo que se infiere que los compuestos solubles de la *Mentha spicata* en el solvente orgánico podrían tener una mayor capacidad antioxidante que los solubles en agua.

4.2.4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH

Los resultados de capacidad antioxidante expresados como $\mu\text{mol Trolox equivalentes / g}$ de extracto se muestra en el Cuadro 18.

Cuadro 18: Capacidad antioxidante del extracto etanólico de hierba buena (Media \pm DE).

Característica	Resultado
Capacidad antioxidante TEAC ($\mu\text{mol TE/ g}$ de extracto)	444.79 \pm 2.88

*n=3

In vitro, la capacidad antioxidante reportada para el extracto etanólico de hierba buena fue de 444.79 $\mu\text{mol TE/ g}$ de extracto. Según Kanatt *et al.* (2007) una correlación directa entre el contenido de fenoles totales y la actividad inhibitoria del radical DPPH fue encontrado en el extracto de *Mentha spicata*. Otros investigadores también han informado de una correlación positiva entre la actividad de captación de radicales libres y los compuestos fenólicos totales (Wangensteen *et al.*, 2004; Zheng y Wang, 2001). Los compuestos fenólicos son donantes de hidrógeno eficaces, que los hacen buenos antioxidantes. Además, poseen propiedades estructurales ideales para actividades de barrido de radicales libres. Según Martínez-Flores *et al.* (2002) las características estructurales que le permiten a los flavonoides ser efectivos antioxidantes son: (a) la presencia en el anillo B de la estructura catecol u O-dihidroxi; (b) la presencia de un doble enlace en posición 2,3; (c) la presencia de grupos hidroxilo en posición 3 y 5.

Tawaha *et al.* (2008) reporta una capacidad antioxidante de 237 $\mu\text{mol TE/ g}$ de peso, en un extracto acuoso de *Mentha spicata* y 251 $\mu\text{mol TE/ g}$ de peso seco, para un extracto metanólico. Si bien, Moldovan *et al.* (2014) menciona que los datos de la literatura sobre las actividades antioxidantes de especies de *Mentha* a menudo son difíciles de comparar

debido a las diferencias en las metodologías. A pesar de esto Nickavar *et al.* (2008) afirma que se puede deducir que todas las variedades de *Mentha* que estudió, siendo estas *Mentha longifolia* L., *Mentha piperita* L., *Mentha pulegium* L., *Mentha rotundifolia* L. y *Mentha spicata* L., son ricas en compuestos fenólicos y tienen altas propiedades antioxidantes.

Los componentes de las especias a los que se ha atribuido efecto antioxidante son diversos: compuestos fenólicos (flavonoides y catequinas principalmente), ácido ascórbico, tocoferoles, y carotenoides. Muchos de estos compuestos antioxidantes actúan en la fase de propagación, reaccionando con los radicales libres que se forman en la oxidación, neutralizando su reactividad (Shahidi y Wanasundara, 1992; Madsen y Bertensen, 1995; Yanishlieva y Marinova, 2001; Tomaino *et al.*, 2005; citados por Cabeza, 2006). Esto explica los resultados positivos de diversos estudios al evaluar la capacidad antioxidante y la actividad inhibitoria del radical DPPH de extractos de *Mentha spicata* (Anwar *et al.*, 2010; Brahmi *et al.*, 2012; Kanatt *et al.*, 2007; Nickavar *et al.*, 2008). Ya que todas estas investigaciones reportan una correlación positiva entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante *in vitro*.

Las diferencias en los resultados de capacidad antioxidante también se pueden explicar a las diferencias en la composición del extracto etanólico. Según Robards *et al.* (1999); citado por Kanatt *et al.* (2007), hay un amplio grado de variación entre diferentes compuestos fenólicos en su efectividad como antioxidantes. El número de grupos hidroxilo y la sustitución con grupos alquilo o metoxi, donantes de electrones de flavonoides aumenta el potencial antioxidante (Kanatt *et al.*, 2007). Por esto, considerando la significativa cantidad de flavonoides en el extracto etanólico de hierba buena, se espera que esta se correlacione con una alta capacidad antioxidante.

4.3. EFECTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HIERBA BUENA SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL EMBUTIDO COCIDO DE VÍSCERAS ROJAS DE CUY DURANTE EL ALMACENAMIENTO

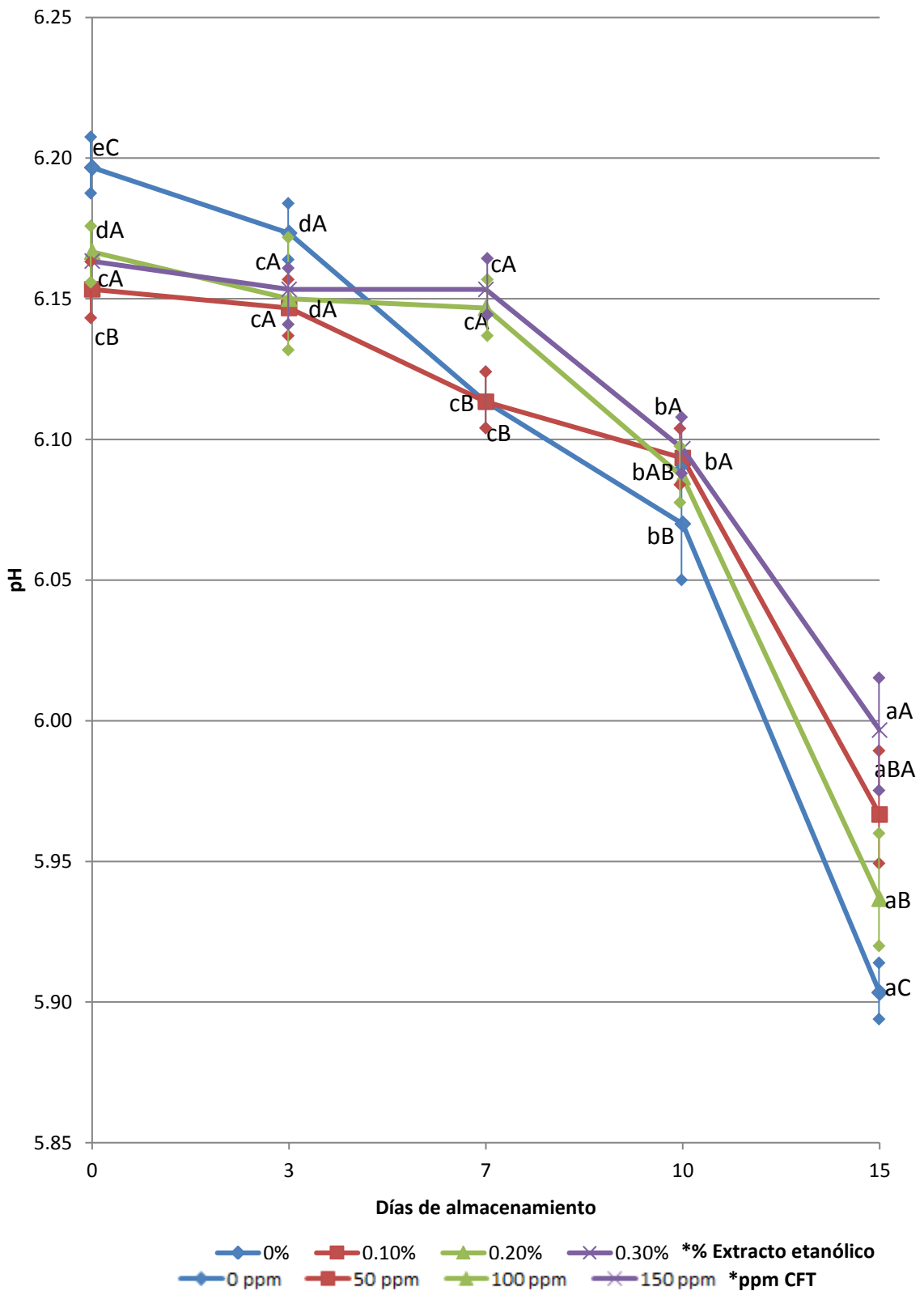
4.3.1. EFECTO SOBRE EL PH

En la Figura 9 se presentan los valores de pH obtenidos durante el almacenamiento del embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy, con las diferentes concentraciones de

compuestos fenólicos totales (CFT) en la formulación del embutido cocido. De manera general se verifica que el pH se ve influenciado de forma significativa ($p < 0.05$) tanto por el tipo de tratamiento al que estuvo sujeto el embutido como por el tiempo de almacenamiento (Anexo 5).

El pH en el día cero para el tratamiento con 0 ppm de CFT fue 6.20 y resultó significativamente diferente a los demás tratamientos con 50, 100 y 150 ppm de CFT en la formulación (6.15, 6.17 y 6.16 respectivamente). Según Korkeala y Björkroth (1997) el pH de salchichas cocidas oscila entre 6,0 y 6,5. Esto corresponde con lo encontrado en la presente investigación.

De otro lado según Santos *et al.* (2003) la evaluación del pH de morcillas de tres diferentes zonas resultó en valores de 6.19, 6.35 y 6.91. Mientras que Cabeza (2006) reporta un valor promedio de pH de 5.99 para morcilla de León. Estando los valores del presente estudio entre estos. Además Cabeza (2006) afirma que las diferencias encontradas en los valores de pH están relacionadas a la cuantía de los ingredientes utilizados y sus propiedades, en concreto con el pH de la cebolla que es 5.5 y con el de la sangre que es cercano a la neutralidad. En el embutido cocido elaborado para esta investigación, el contenido de cebolla fue del 20 por ciento y la sangre presente solo fue la proporcionada por las vísceras rojas que representaron el 60 por ciento de masa en la formulación.



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

Figura 9: Evolución del pH durante el almacenamiento del embutido cocido de vísceras de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena (n=3).

Como se observa en la Figura 9, existe un descenso del pH con el pasar de los días de almacenamiento, presentándose diferencias significativas a partir del día 7 para los tratamientos con 0 y 50 ppm de CFT proporcionados por el extracto etanólico de hierba buena en la formulación y a partir del día 10 para los tratamientos con 100 y 150 ppm de CFT. Siendo más notorias las diferencias entre los cuatro tratamientos al día 15 de almacenamiento. Cabeza (2006) afirma que durante el almacenamiento se produce un constante descenso del pH, que es más acusado a medida que la temperatura aumenta, mostrando diferencias significativas al día 15 cuando las temperaturas de almacenamiento fueron de 3°C y 6°C. En el presente estudio se mantuvo constante la temperatura de almacenamiento a 4°C.

El mayor descenso de pH se presenta en la muestra con 0 ppm de CFT en su formulación, que va desde 6.20 en el día cero a 5.91 en el día 15, y el menor descenso, pero significativamente diferente, fue para el tratamiento con 150 ppm de CFT en su formulación, iniciando en 6.16 y terminando en 6.00 al día 15 de almacenamiento. Santos *et al.* (2005) reporta que el pH de las muestras envasadas en condiciones aerobias a 4°C, de morcilla de Burgos, al día 15 de almacenamiento fue de 6.1, descendiendo desde un pH inicial de 6.31. Descenso significativo como el observado en el presente estudio.

Cabeza (2006) afirma que otra causa de variación en el pH del producto final es la mayor o menor formación de ácidos por el crecimiento microbiano durante la conservación del producto. Esto explica que se presenten diferencias significativas para los cuatro tratamientos al día 15 de almacenamiento respecto del día 0, además que el mayor descenso se haya dado en el tratamiento sin extracto etanólico de hierba buena. Lo que confirma que este tiene un efecto sobre la estabilidad del pH durante el almacenamiento.

4.3.2. EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD DE AGUA

En la Figura 10 se presentan los valores de la actividad de agua durante el almacenamiento del embutido cocido de vísceras rojas de cuy con la adición del extracto etanólico de hierba buena para lograr diferentes concentraciones de CFT en su formulación. De manera general se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a los diferentes tratamientos con extracto etanólico de hierba sobre la actividad de agua. Sin embargo no se observan

diferencias significativas sobre la actividad de agua en los tratamientos con 50 y 100 ppm de CFT, manteniéndose constantes durante el almacenamiento (Anexo 6).

Cuadro 19: Resultados de actividad de agua durante el almacenamiento del embutido cocido de vísceras de cuy con extracto etanólico de hierba buena (Media \pm DE).

Tratamiento	Días de almacenamiento				
	1	3	7	10	15
0 ppm CFT	0.984 \pm 0.001	0.984 \pm 0.001	0.982 \pm 0.001	0.980 \pm 0.000	0.979 \pm 0.001
50 ppm CFT	0.988 \pm 0.001	0.989 \pm 0.001	0.989 \pm 0.001	0.989 \pm 0.001	0.986 \pm 0.001
100 ppm CFT	0.974 \pm 0.000	0.976 \pm 0.001	0.972 \pm 0.001	0.972 \pm 0.000	0.973 \pm 0.001
150 ppm CFT	0.968 \pm 0.001	0.968 \pm 0.001	0.966 \pm 0.000	0.962 \pm 0.001	0.964 \pm 0.001

*n=3

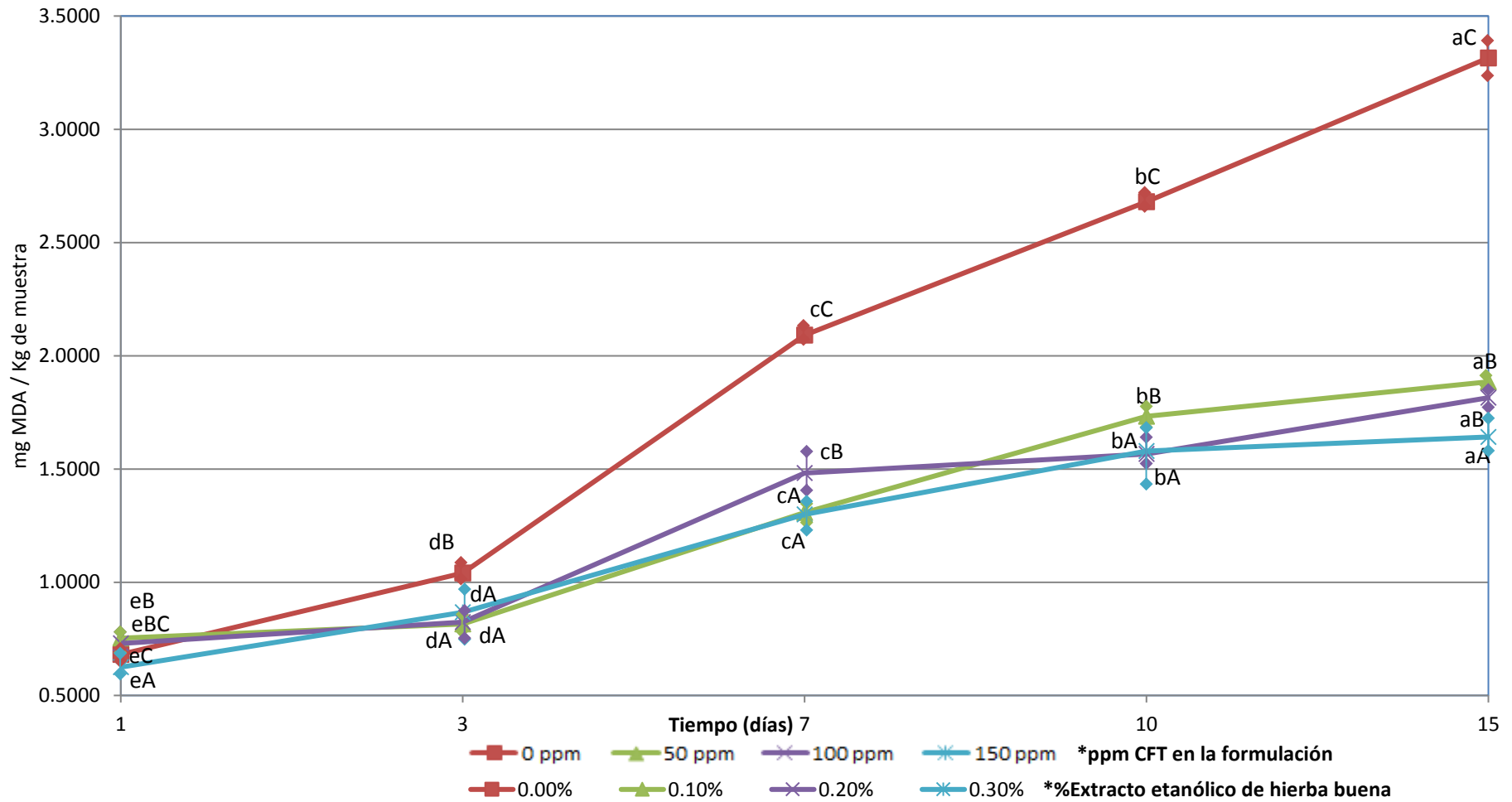
Los valores de actividad de agua entre los distintos días de almacenamiento varían escasamente en los diferentes tratamientos, entre 0.988 a 0.991, a 50 ppm de CFT; entre 0.974 a 0.973, a 100 ppm de CFT; de 0.968 a 0.964, a 100 ppm de CFT y la mayor variación se observó en la muestra con 0 ppm de CFT en su formulación, de 0.984 a 0.979 como actividad de agua. Según Cabeza (2006), al evaluar la actividad de agua de la morcilla de León durante el almacenamiento a 0°C, 3°C y 6°C, no encontró cambios aparentes durante treinta días de seguimiento. Por lo tanto no existe efecto del tiempo sobre la actividad de agua para determinada concentración del extracto, pero sí se observa un efecto en la disminución de la actividad de agua al aumentar la concentración de extracto etanólico de hierba buena. Según menciona Pisabarro (2008) la actividad de agua de un alimento puede reducirse aumentando la concentración de solutos en la fase acuosa de este mediante la extracción del agua o mediante la adición de solutos. Siendo el extracto etanólico un componente de la formulación con escasa cantidad de humedad, se puede esperar que contribuya en aumentar el contenido de los componentes no acuosos en el embutido cocido, contribuyendo con la disminución de la actividad de agua.

Santos *et al.* (2003) midió la actividad de agua a tres grupos de morcilla de Burgos, encontrando como resultados 0.988, 0.985 y 0.982. Además Cabeza (2006) reporta valores de actividad de agua entre 0.970 a 0.980 para la morcilla de León. El mismo menciona que, valores superiores a 0.950 de actividad de agua, indican que se encuentra en el rango típico de productos cárnicos cocidos. Lo que corresponde a lo encontrado en el presente estudio para los cuatro tratamientos evaluados.

4.4. ESTABILIDAD OXIDATIVA

4.4.1. SUSTANCIAS REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO

Los resultados de la oxidación lipídica producida en el embutido cocido de vísceras rojas de cuy con aplicación de extracto etanólico de hierba buena a diferentes concentraciones de CFT en la formulación 0, 50, 100 y 150 ppm, almacenados a 4°C durante quince días, se muestran en la Figura 10. El detalle del análisis estadístico de estos resultados se puede observar en el Anexo 7.



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

^{A, B} Medias con la misma letra mayúscula no son significativamente diferentes ($P < 0.05$) para el mismo día

Figura 10: Evolución de la oxidación lipídica en el embutido cocido de vísceras rojas de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena a 0, 50, 100 y 150 ppm de CFT en la formulación (n=6).

El nivel de malonaldehído, un producto de la peroxidación lipídica, se mide muy a menudo con el fin de evaluar el alcance de la rancidez que se ha producido en los sistemas biológicos (Kanatt *et al.*, 2007). De los resultados, se puede confirmar que la cantidad de malonaldehído formado, en el embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy, se vio influenciado de forma significativa ($p < 0.05$) tanto por el tipo de tratamiento, concentración de CFT en ppm presentes en la formulación debido a la inclusión del extracto etanólico de hierba buena, como por el tiempo de almacenamiento, además de una interacción significativa ($p < 0.05$) entre ambos factores (Anexo 7). Monroy *et al.* (2012) menciona que al transcurrir el tiempo de almacenamiento se incrementa la concentración de malonaldehído, relativo al desarrollo de la oxidación de lípidos.

Según los datos presentados en la Figura 10, el contenido de MDA, se incrementó gradualmente a lo largo de los 15 días de almacenamiento, aunque en diferente medida según el contenido de CFT debido al extracto etanólico de hierba buena. Además los resultados muestran que para los tratamientos con 0, 50, 100 y 150 ppm de CFT, la oxidación de lípidos se dio principalmente a partir del día 7 de almacenamiento, mientras que la muestra con 0 ppm de CFT en la formulación, muestra un significativo incremento de la oxidación lipídica desde el día 3 de almacenamiento, superando ampliamente a los demás tratamientos, en la formación de MDA, en todos los días de seguimiento. Por lo tanto, se puede afirmar que existe un efecto de la concentración de CFT en la formulación del embutido sobre la estabilidad oxidativa del embutido cocido de vísceras rojas de cuy. Estévez (2005) afirma que la adición de antioxidantes exógenos sobre los patés de hígado mejoran la estabilidad oxidativa de los lípidos, lo que reduce la degradación de los ácidos grasos poliinsaturados y la inhibición de la generación de componentes residuales, tales como MDA y derivados lípidos volátiles. Esto explicaría que se encuentren menores resultados de formación de MDA en los embutidos cocidos de la experimentación que contenían compuestos fenólicos en su formulación debido a la presencia del extracto etanólico de hierba buena.

Se puede observar en los resultados, que en el día uno se presentan valores de mg MDA/kg de muestra con diferencias significativas de parte de los tres tratamientos con diferentes concentraciones de compuestos fenólicos (50 ppm: 0.75; 100 ppm: 0.73; 150 ppm: 0.63) con respecto a la muestra control (0 ppm: 0.68). Y esto se repite en cada uno de los días de evaluación durante el almacenamiento, haciéndose más notorias estas diferencias a medida

que transcurre el tiempo. Biswas *et al.* (2012) evaluó el potencial de un extracto acuoso de hierba buena en carne de cerdo refrigerada, reportando valores de 0.548 mg MDA/ kg para el control y 0.487 mg MDA/ kg para la muestra con 1 por ciento de extracto acuoso de *Mentha spicata*, que representaba 30 ppm de CFT en el producto cárnico. Corroborando que las diferencias significativas en la formación de MDA se pueden observar desde el primer día de almacenamiento entre muestras con y sin presencia de compuestos fenólicos debidos al extracto etanólico de *Mentha spicata*.

Al analizar los cambios acontecidos en la formación de MDA para los diferentes tratamientos tomando al tiempo como factor constante, se observó que se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento con 150 ppm de concentración de CFT, respecto a los demás tratamientos con menor cantidad de compuestos fenólicos en su formulación, al 0, 50 y 100 ppm. Por lo que se puede afirmar que una mayor concentración de CFT aportados por el extracto etanólico de *Mentha spicata*, en la formulación del embutido, evita en mayor medida la formación de MDA y por ende, favorece a la estabilidad oxidativa del embutido cárnico cocido de vísceras rojas de cuy. Juntachote *et al.* (2007) citado por Monroy *et al.* (2012) menciona que el efecto de la estabilidad oxidativa de los extractos etanólicos está relacionada con la composición del extracto, es decir, con el contenido de polifenoles, flavonoides y antocianinas. Esto corresponde con lo encontrado en la cuantificación de compuestos fenólicos y de flavonoides, donde se observa que el extracto de *Mentha spicata*, de la presente investigación, es fuente de estos compuestos con capacidad antioxidante. Kumar *et al.* (2015) menciona que los compuestos activos con capacidad antioxidante en extracto de *Mentha spicata* son los fenoles. Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de plantas y son muy importantes en virtud de su actividad antioxidante al quelar iones metálicos con actividad redox, la inactivación de cadenas lipídicas de radicales libres y la prevención de las conversiones de hidroperóxido en oxiradicales reactivos (Brahmi *et al.*, 2012). Los compuestos fenólicos, que pueden ser ácidos fenólicos, flavonoides o polifenoles (Gonzales, 2013), son diferentes en cada especie vegetal. Correspondiente a esto Dorman *et al.* (2003) menciona que los principales ácidos fenólicos reportados en el extracto de *Mentha spicata* soluble en agua son eriocitrina, glucósido de luteolina, ácido rosmarínico y ácido cafeico. Estos componentes, provenientes de diferentes fuentes vegetales, han sido estudiados por diversos investigadores comprobando sus efectos antioxidantes (Arcila *et al.*, 2004; Miyake *et al.*, 1997; Hong y Ho, 1997; Chun *et al.*, 2004).

A pesar de haber encontrado una relación positiva entre la concentración de CFT debido a un mayor contenido de extracto etanólico de hierba buena y la menor formación de MDA, se debe considerar que algunos autores han reportado que a altas concentraciones del extracto herbal, el efecto antioxidante puede reducirse o incluso volverse un prooxidante. Estévez (2005) menciona que obtuvo un significativo efecto antioxidante de parte de un extracto de romero a 150 ppm, mientras que dosificaciones de 300 ppm y 600 ppm, no tuvieron diferencias con la muestra control. Algunos factores pueden ejercer un papel inhibidor o acelerador de la oxidación, según el evento oxidativo considerado. Por ejemplo, un antioxidante fenólico puede bloquear la formación de productos de oxidación volátiles y promover el acúmulo de peróxidos (Fennema, 2000).

El porcentaje de inhibición de la oxidación lipídica, relacionada con la formación de MDA, que ofrecieron los tres tratamientos donde se incluyó una concentración de CFT debido al aumento del porcentaje de extracto de *Mentha spicata*, respecto a la muestra control, sin extracto, se presentan en el Cuadro 20.

Cuadro 20: Porcentajes de inhibición de la formación de malonaldehído (MDA) de los extractos de hierba buena aplicados en los embutidos cocidos de vísceras rojas de cuy almacenados a 4°C.

TRATAMIENTO	% Inhibición de formación de MDA			
	3	7	10	15
50 ppm CFT	28%	60%	55%	76%
100 ppm CFT	26%	41%	71%	83%
150 ppm CFT	20%	61%	70%	102%

*n=6

En la presente experimentación el contenido de compuestos fenólicos en el extracto etanólico de *Mentha spicata* muestra un efecto retardando la formación de sustancias reactivas al TBA en: más del 20 por ciento al tercer día, en más del 40 por ciento al séptimo día, en más del 50 por ciento al décimo día y en más del 70 por ciento al día quince, para los tres tratamientos que incluyen el extracto etanólico de *Mentha spicata*. Kanatt *et al.* (2007) determinó el potencial antioxidante de un extracto etanólico de *Mentha spicata* en carne procesada por radiación, el cual añadió liofilizado a la carne antes de la irradiación. Evaluó dos concentraciones de extracto, que fueron 0,05 por ciento y 0,1 por ciento, obteniendo 18 por ciento y un 34 por ciento menos de sustancias reactivas al TBA,

respectivamente, que la carne irradiada tratada sin adición de extracto etanólico. Y concluye que el tratamiento antioxidante redujo significativamente la oxidación de lípidos para todas las muestras irradiadas durante todo el período de almacenamiento, corroborando lo encontrado en el presente estudio.

En el Cuadro 19 destaca que al día 15 de almacenamiento se observa que la inhibición de la formación de MDA por parte de una concentración de 150 ppm de CFT en la formulación del embutido con extracto etanólico de *Mentha spicata* es del 102 por ciento, lo que significa que fue la mitad de lo que hubiera sido si no tuviera compuestos fenólicos proporcionados por el extracto etanólico de hierba buena en su formulación. Según Estévez (2005) al evaluar el porcentaje de inhibición de la oxidación lipídica en paté de hígado durante 90 días de almacenamiento refrigerado, el extracto de romero logró un 52.50 por ciento y el extracto de salvia un 48.22 por ciento. Mientras que Biswas *et al.* (2012) menciona que después de 4 semanas de almacenamiento refrigerado, el contenido de TBARS en la carne de cerdo irradiada con adición de extracto etanólico de *Mentha spicata* fue la mitad que en la carne irradiada tratada sin extracto. Lo que corresponde con lo encontrado en el presente estudio. El efecto de extractos herbales como antioxidantes ha sido evaluado por diversos autores que confirman su potencial, en algunos casos superiores al de antioxidantes artificiales como el BHT (Estévez, 2005; Kanatt *et al.*, 2007).

Un punto importante a tomar en cuenta es la matriz alimentaria, en este caso un embutido cocido de vísceras rojas de cuy, ya que esta puede tener efecto sobre la capacidad antioxidante del extracto empleado. El efecto antioxidante de cada una de las especias depende a su vez de varios factores. Uno de estos es el sustrato, que viene a ser el alimento donde se encuentran, ya que la actividad antioxidante de determinadas especias puede verse potenciada por la presencia de determinados compuestos, por ejemplo se han descrito determinados sinergismos entre los antioxidantes de las especias y los ácidos orgánicos o los fosfatos (Yanishlieva y Marinova, 2001). En este estudio, se incluyó fosfatos al 0.2 por ciento en la formulación para todos los tratamientos, por lo que no se descarta su interacción con los compuestos antioxidantes del extracto etanólico de *Mentha spicata*. También, el efecto antioxidante varía en función de las diferencias de composición de las especias debida a la región donde hayan sido cultivadas. Igualmente, la concentración de especia, si está o no molida, si se utiliza como tal o como extracto, o si el alimento es sometido a tratamiento térmico, así como las condiciones de almacenamiento (temperatura,

tiempo, iluminación, etc.) son otros factores importantes de la acción antioxidante (Cabeza, 2006).

Kanatt *et al.* (2007) menciona que la actividad antioxidante de compuestos naturales ahora se estudia intensamente debido a la corriente creciente de demanda de las industrias farmacéutica y alimentaria, que están interesados en compuestos bioactivos naturales que poseen beneficios para la salud. Las fuentes vegetales pueden llevar a nuevos productos naturales en la industria de alimentos con antioxidantes más seguras y mejores que proporcionan una buena protección contra el daño oxidativo, lo que se produce tanto en el cuerpo y en el alimento elaborado. En este caso, considerando los resultados del presente estudio, se puede decir que el extracto etanólico de *Mentha spicata* es una alternativa segura y que proporciona compuestos fenólicos con una buena actividad antioxidante en un embutido cocido de vísceras rojas de cuy.

4.5. ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA

4.5.1. RECUENTO DE FLORA MESÓFILA AEROBIA

En la Figura 12 se muestran los resultados del recuento de mesófilos aerobios viables, expresados en Log₁₀ ufc/g, durante el almacenamiento del embutido cocido de vísceras rojas de cuy, con la adición de un extracto etanólico de hierba buena a diferentes concentraciones de CFT en su formulación. De manera general se presentan diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a la concentración de CFT debido a la adición del extracto de hierba buena y a los días de almacenamiento, además se verifica una interacción entre ambos factores. El detalle del análisis estadístico de los resultados se observa en el Anexo 8.

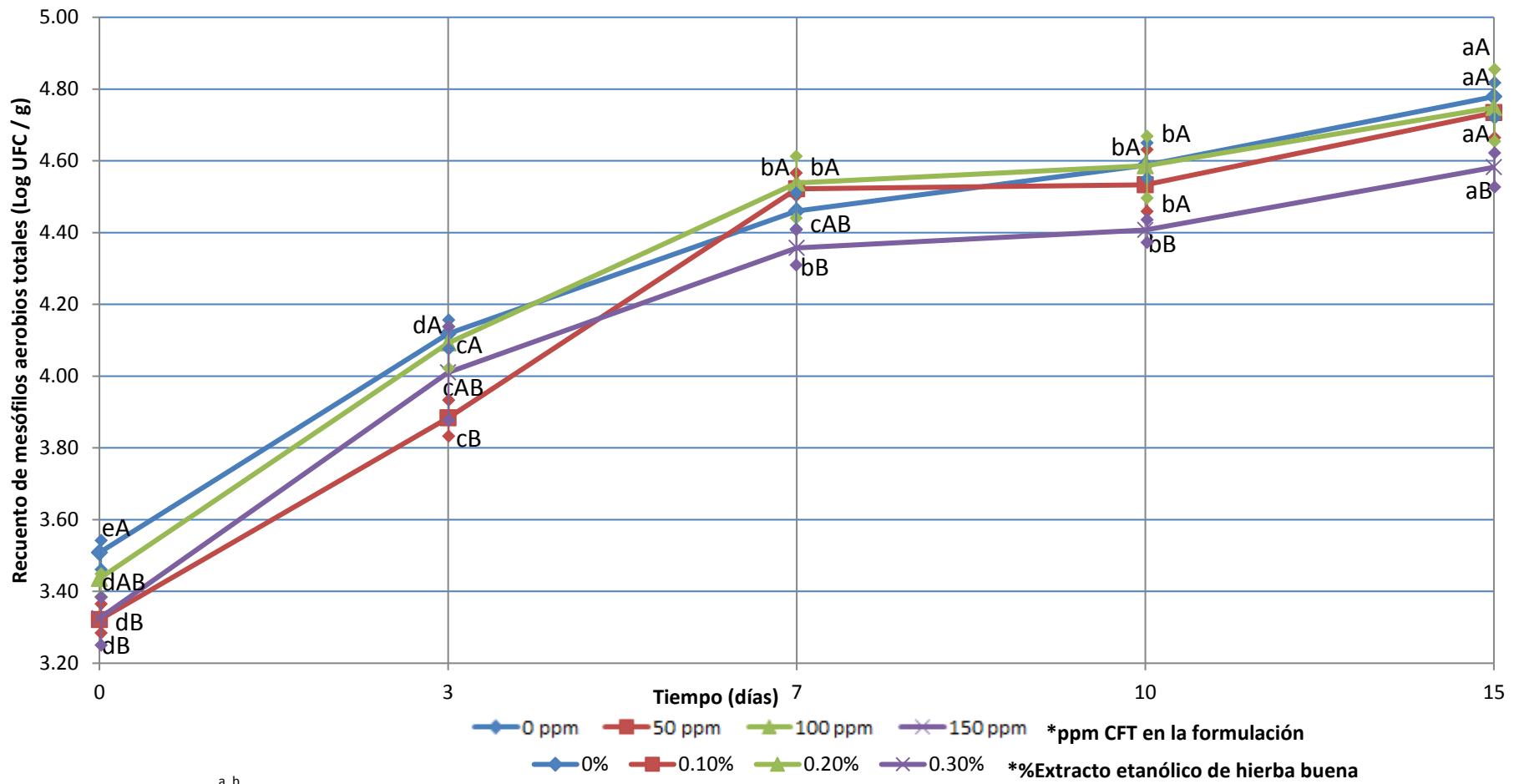


Figura 11: Evolución del crecimiento de mesófilos aerobios (Log₁₀ ufc/g) en el embutido cocido de vísceras rojas de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena a 0, 50, 100 y 150 ppm de CFT durante el almacenamiento (n=3).

Se puede observar que en el día cero de almacenamiento las cargas de mesófilos aerobios en términos de Log_{10} ufc/g son: 3.51, para 0 ppm de CFT; 3.32, para 50 ppm de CFT; 3.44, para 100 ppm de CFT y 3.33, para 150 ppm de CFT en la formulación del embutido. Encontrándose diferencias significativas entre el tratamiento con 0 ppm de CFT y los tratamientos con 50 y 150 ppm de CFT en la formulación del embutido. Lo cual puede indicar que hay un efecto de los CFT debido a la inclusión del extracto etanólico de hierba buena desde el inicio de las evaluaciones, además este efecto no puede ser atribuido al etanol, sustancia reconocida como bacteriostática, ya que este fue adicionado en similar cantidad en todos los tratamientos de la experimentación.

Santos *et al.* (2005) evaluó los cambios sensoriales y microbiológicos de la morcilla de Burgos refrigerada a 4°C, encontrando en el día cero, valores promedio de 4.3 Log_{10} ufc/g. Resultado superior a lo encontrado en el presente estudio, lo que indica que se procesó adecuadamente el embutido, evitando su contaminación luego de la cocción. Santos *et al.* (2005) menciona que dado que este producto es sometido a altas temperaturas durante el proceso de fabricación, no se espera que la sobrevivencia de las células vegetativas, pero ya que el manejo del producto cocido es un paso necesario en el proceso de elaboración, se puede producir después contaminación del producto. El pH de este tipo de producto, alrededor de 6,0, así como el alto aw y la ausencia de una fermentación no ayudan a restringir el crecimiento microbiano (Santos *et al.* 1998). Esto corresponde a lo discutido en torno al pH y actividad de agua del embutido cocido de vísceras rojas de cuy, el cual según los resultados obtenidos, es un medio propicio para el crecimiento bacteriano.

Como se puede ver la carga mesófila aerobia aumenta de manera significativa en todos los días de evaluación. Sin embargo, pese a existir diferencias significativas en algunos días, entre el conteo realizado a la muestra control, 0 ppm de CFT, y las muestras con 50 y 100 ppm de CFT en la formulación del embutido, en el día 15 de almacenamiento no se evidencian diferencias significativas entre estos tratamientos. Pero si se destacan diferencias significativas entre el recuento de mesófilos aerobios en la muestra con 150 ppm de CFT y los tres tratamientos con menor contenido de CFT debido a la inclusión del extracto etanólico de hierba buena, sobretodo en el día 15 de almacenamiento, donde se registran las mayores diferencias. Por lo tanto se puede afirmar que existe un efecto del extracto etanólico de *Mentha spicata* a partir de una concentración de 150 ppm de CFT en la formulación del embutido. Monroy *et al.* (2012) evaluó la capacidad antimicrobiana in

situ en cuanto a la inhibición de mesófilos totales en batidos cárnicos, de extractos etanólicos de romero y chile ancho, al 0.5 por ciento y 1.0 por ciento. Concluyendo que la incorporación de los extractos retardaron el crecimiento de mesófilos durante los primeros 7 días de almacenamiento. Sin embargo, respecto al efecto del tipo de extracto y la concentración, los tratamientos con extracto presentaron una menor población de mesófilos. La mayor inhibición la obtuvo utilizando chile ancho, donde a mayor cantidad de extracto, mayor la inhibición de mesófilos. Esto corresponde con lo encontrado en el presente estudio, donde se verifica la acción antimicrobiana del extracto etanólico de hierba buena, sin embargo el efecto solo se visualiza a partir del 150 ppm de CFT en la formulación del embutido, que representa un 0.3 por ciento de extracto etanólico de hierba buena, concentración cercana a la empleada por a Monroy *et al.* (2012).

Al día 15 de almacenamiento bajo refrigeración, se observan valores que superan los 4.7 Log₁₀ ufc/g para los tratamientos con 0, 50 y 100 ppm de CFT debido a la inclusión del extracto etanólico de hierba buena, siendo este un conteo superior a las 5 x 10⁴ ufc/g. Según MINSA (2008) el límite en el recuento de aerobios mesófilos para embutidos con tratamiento térmico es de 5 x 10⁴ ufc. Lo que indica que los tres tratamientos con el menor contenido de extracto etanólico de hierba buena, están fuera de los límites microbiológicos que exige la normatividad nacional. Sin embargo, el tratamiento con mayor contenido de extracto, 150 ppm de CFT, presenta un recuento de 4.58 Log₁₀ ufc/g, que corresponde a 3.8 x 10⁴ ufc/g, valor dentro de los límites microbiológicos. Según Santos *et al.* (2005) un considerable incremento de la flora aerobia mesófila fue observado en las muestras envasadas al aire y refrigeradas de morcilla de Burgos, siendo el recuento superior a 6 Log₁₀ ufc/g al día 15 de almacenamiento. El mismo autor también reporta que, para estas muestras, la apariencia no era aceptable después de 12 días debido al secado de la superficie, y al día 17 de almacenamiento los otros atributos sensoriales alcanzaron valores por debajo del nivel aceptable, detectando enmohecimiento, aroma ligeramente pútrido, sabor a moho y deshidratación. Esto corresponde con los resultados obtenidos para las muestras con los menores contenidos de CFT en su formulación.

El crecimiento de la carga microbiana es mayor a 0.3 por ciento de extracto etanólico de hierba buena, tratamiento donde la concentración de compuestos fenólicos es la mayor, 150 ppm. Hirasa y Takemasa, (2002); citado por Cabeza (2006) afirman que esta acción antimicrobiana se atribuye en gran medida a la presencia en los aceites esenciales de

compuestos con grupos fenólicos activos y terpenos de bajo peso molecular. Esto corresponde con lo discutido anteriormente, donde el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto etanólico de *Mentha spicata*, elaborado para el presente estudio, es significativo. Brul y Coote (1999), explican que los compuestos químicos con un grupo hidroxilo (-OH) o un grupo aldehído (-CHO), como los flavonoides encontrados en el extracto de hierba buena, tienden a poseer alta actividad antimicrobiana, al formar enlaces de hidrógeno con el sitio activo de una enzima, ocasionando su inactivación, o por medio de las reacciones con los grupo sulfhidrilo (-SH) necesarios para el crecimiento bacteriano. Burt, (2004) menciona que otros mecanismos de acción de los componentes antibacterianos de las especias son: la degradación de la pared celular, daño de la membrana citoplasmática, daño de las proteínas de membrana, pérdida de los contenidos celulares, coagulación del citoplasma y reducción de la fuerza protón motriz, pero considerando el gran número de diferentes grupos de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales, lo más probable es que la actividad antibacteriana no se deba a un mecanismo específico sino a la suma de dos o más de ellos

La actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Mentha spicata* se puede explicar también por el tipo de compuestos fenólicos encontrados en su composición. Según Fialová *et al.* (2015) los principales compuestos fenólicos en mentas son los ácidos fenólicos, especialmente el ácido rosmarínico, y los flavonoides, entre ellos destaca al eriodictiol, luteolina, apigenina y sus glucósidos. En el caso del ácido rosmarínico, Park *et al.* (2008) afirma que la actividad biológica de este compuesto fenólico es descrita como antibacterial, antiviral y antioxidante. Además menciona que este es usado en la preservación de alimentos, por lo que extractos ricos en ácido rosmarínico son usados en Japón para extender la vida útil de pescados y mariscos frescos. Además Brahmí *et al.* (2015) menciona que en la *Mentha spicata* también se puede encontrar ácidos fenólicos como el gálico, clorogénico, cafeico y vanílico. Los cuales tienen comprobada actividad antimicrobiana según diferentes estudios específicos para cada compuesto fenólico. Correspondiente a esto Velurri *et al.* (2004) afirma que la catequina y sus derivados, debido a su actividad fitotóxica y antimicrobiana, pueden usarse como herbicidas y antimicrobianos naturales.

Estructuralmente se han determinado ciertas características que hacen de los flavonoides efectivos antimicrobianos frente a microorganismos patógenos. Cushnie (2005) menciona

que Tsuchiya *et al.* (1996) encontró en sus estudios que los 2, 4 o 2, 6 -dihidroxilación del anillo B y 5,7 – dihidroxilación del anillo A en la estructura flavanona era importante para la actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), además que estudios posteriores de Alcaraz *et al.* (2000) destacan la importancia de un grupo hidroxilo en la posición 5 de flavanonas y flavonas para la actividad contra SARM. Además afirma que los flavonoides pueden actuar contra los microorganismos mediante tres mecanismos: (a) inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos; (b) inhibición de la función de la membrana citoplasmática y (c) inhibición del metabolismo energético.

4.5.2. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES

En el Cuadro 21 se presentan los resultados para el conteo de coliformes totales, expresado en Log_{10} ufc/g de muestra, durante los días de almacenamiento en refrigeración. Donde se puede observar que no se registró un conteo significativo de coliformes totales en todos los días de seguimiento, reportándose como $< 1 \text{ Log}_{10}$ ufc/g de muestra.

La muestra de embutido cocido de vísceras rojas de cuy, pasó por un tratamiento térmico de 90°C por 30 minutos. Santos *et al* (2005) menciona que la cocción a altas temperaturas durante el proceso elimina las formas vegetativas de los microorganismos y sólo sobreviven al tratamiento esporas bacterianas. Correspondiente a esto, García (2012) al evaluar el efecto de la temperatura en las características microbiológicas de una mortadela, reporta que los conteos obtenidos para los coliformes totales en los tratamientos térmicos a 77°C , 80°C , 82°C y 87°C obtuvieron $< 1 \text{ Log}_{10}$ ufc/g, además afirma que esto se debió al tratamiento térmico aplicado al producto, ya que los coliformes en su mayoría son mesófilos, por lo que se eliminaron cuando el producto alcanzó una temperatura interna de 72°C . Se espera que en productos cárnicos cocidos no exista mayor crecimiento de coliformes totales, ya que de haberlo, podría indicar una contaminación cruzada al momento del empaquetado o un tratamiento térmico deficiente. Observando los resultados, se podría indicar que el producto fue cocido, manipulado y almacenado de manera correcta durante el experimento.

Cuadro 21: Recuento de coliformes totales (Log_{10} ufc/g de muestra) en los embutidos cocidos de vísceras rojas de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena almacenados a 4°C (n=3).

Tratamiento	Días de almacenamiento				
	1	3	7	10	15
0 ppm CFT	<1	<1	<1	<1	<1
50 ppm CFT	<1	<1	<1	<1	<1
100 ppm CFT	<1	<1	<1	<1	<1
150 ppm CFT	<1	<1	<1	<1	<1

Monroy *et al.* (2012) afirma que para los coliformes se encontró un efecto inhibitorio mayor al utilizar los extractos etanólicos de romero y chile ancho en las formulaciones. Sin embargo el tratamiento térmico del batido cárnico empleado en su experimentación fue de 72°C por 15 minutos, lo que permitiría el crecimiento microbiano de coliformes en su matriz alimentaria, a diferencia del embutido desarrollado para el presente estudio, que fue sometido a 90°C por 30 minutos, por lo tanto no se pudo evaluar si existe un efecto de los CFT del extracto etanólico de hierba buena sobre el crecimiento de coliformes.

4.5.3. PRESENCIA DE SALMONELLA

En el Cuadro 22 se presentan los resultados para la evaluación de presencia de *Salmonella* sp. en los embutidos cocidos de vísceras rojas de cuy, durante su almacenamiento refrigerado a diferentes concentraciones de CFT en la formulación del embutido debido a la adición del extracto etanólico de hierba buena. Se puede observar que no se detectó presencia de *Salmonella* en ninguno de los días de almacenamiento, independientemente del tratamiento con extracto de hierba buena.

Cuadro 22: Presencia de Salmonella en los embutidos cocidos de vísceras rojas de cuy con adición de extracto etanólico de hierba buena almacenados a 4°C (n=3).

Tratamiento	Días de almacenamiento				
	1	3	7	10	15
0 ppm CFT	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g
50 ppm CFT	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g
100 ppm CFT	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g
150 ppm CFT	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g	Ausencia/25g

La ausencia de *Salmonella* sp. en los embutidos cocidos de la experimentación evidencia que se procesaron siguiendo buenas prácticas de higiene y no hubo contaminación cruzada luego de la cocción. Según Castaño et al. (1996); citado por Cabeza (2006) encontró que en la región de Murcia el 84 por ciento de las muestras de morcilla analizadas (194) cumplían con las recomendaciones microbiológicas del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (CENAN) en ninguna de ellas encontró la presencia de *Salmonella* y/o *Shigella*, mientras que en solo dos muestras detectó la presencia de *S. aureus*.

V. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de *Mentha spicata* presenta un contenido de compuestos fenólicos de 52.31 mg AGE/ g de extracto y de flavonoides de 9.47 mg Catequina / g extracto. Lo que indica que el extracto de esta hierba, usada en la cocina nacional comúnmente, es una importante fuente de compuestos fenólicos.
2. Con respecto al pH, se encontró que el extracto etanólico de *Mentha spicata* contribuye con la estabilidad de esta características fisicoquímica durante el almacenamiento en refrigeración.
3. Con respecto a la actividad de agua, se encontró que esta se mantiene constante durante el almacenamiento refrigerado por 15 días y que el extracto etanólico de *Mentha spicata* no tiene efecto sobre esta.
4. Al aplicar 150 ppm del extracto etanólico en el embutido experimental se logró inhibición de la mitad de la formación de malonaldehído respecto a la muestra sin tratamiento. Por lo que se puede concluir que este extracto contribuye en mantener la estabilidad oxidativa del embutido cocido de vísceras rojas de cuy.
5. La formulación de embutido con 150 ppm de compuestos fenólicos debido a la inclusión del extracto etanólico de *Mentha spicata* puede inhibir el crecimiento microbiano de flora aerobia mesófila en un embutido cocido de vísceras rojas de cuy, y contribuye con mantener la estabilidad microbiológica de este.
6. No se puede afirmar que este exista efecto de la concentración de compuestos fenólicos del extracto etanólico de *Mentha spicata* sobre el crecimiento de coliformes y *Salmonella* sp., ya que no se encontró presencia de estos microorganismos en el embutido cocido de vísceras rojas de cuy, debido al tratamiento térmico empleado, suficiente para eliminar esta carga microbiana, que luego no fue registrada durante el almacenamiento.

VI. RECOMENDACIONES

1. Determinar el efecto antioxidante del extracto etanólico de *Mentha spicata* a mayores concentraciones en carne procesada y compararlo con el efecto de antioxidantes artificiales.
2. Evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Mentha spicata*, *in vivo* e *in vitro* sobre coliformes totales y Salmonella.

VII. BIBLIOGRAFÍA

ALCARAZ, L; BLANCO, S; PUIG, O; TOMAS, F; FERRETTI, F. 2000. Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Journal Theor Biol* 205:231-40.

ANH, J.; GRUN, I.; FERNANDO, L. 2002. Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *Journal of Food Science* 67 (4): 1364-1369.

ANWAR, F.; HUSSAIN, A.; SHAHID, M.; ASHRAF, M.; PRZYBYLSKI, R. 2010. Chemical Composition, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil of Spearmint (*Mentha spicata L.*) From Pakistan. *Journal of Essential Oil Research* 22 (1): 78-84.

AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Editado por M.P. Bueno. US.

AOAC. 2005a. Método Oficial 990.12. *Official Methods of Analysis*. 18th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Madison, US.

AOAC. 2005b. Método Oficial 991.14. *Official Methods of Analysis*. 18th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Madison, US.

ARCILA, C.; LOARCA, G.; LECONA, S.; GONZÁLEZ DE MEJÍA, E. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54 (1).

AQUALAB. 2009. *Operator's manual*. Versión 6. Decagon Devices, Inc. Pullma, US. 105p.

- BERMÚDEZ, J.; SERENO, J.; FERNÁNDEZ, M.; BARBA, C.; SOLÍS, S. 2002. Productos tradicionales no convencionales del cerdo ibérico. *Porci* 69: 59-66.
- BISWAS, A.; CHATLI, M.; SAHOO, J. 2012. Antioxidant potential of curry (*Murraya koenigii* L.) and mint (*Mentha spicata*) leaf extracts and their effect on colour and oxidative stability of raw ground pork meat during refrigeration storage. *Food Chemistry* 133: 468-470p.
- BORCH, E.; KANT, M.L.; BLIXT, Y. 1996. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology* 33 (1): 103-120.
- BRAHMI, F.; MADANI, K.; DAHMOUNE, F.; RAHMANI, T.; BOUSBAA, K.; OUKMANOU, S.; CHIBANE, M. 2012. Optimisation Of Solvent Extraction Of Antioxidants (Phenolic Compounds) From Algerian Mint (*Mentha spicata* L.). *Pharmacognosy Communications* 2 (1): 73-75.
- BRAHMI, F.; HAUCHARD, D.; GUENDOUZE, N.; MADANI, K.; KIENDREBEOGO, M.; KAMAGAJU, L.; ST'EVIGNY, C.; CHIBANE, M.; DUEZ, P. 2015. Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Industrial Crops and Products* 74 (1): 722-730.
- BRUL, S.; COOTE, P. 1999. Review: Preservative agents in foods: Mode of action and microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology* 50 (1): 1-17.
- BURT, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - review. *International Journal of Food Microbiology* 94 (3): 223-253.
- CABEZA, E. 2006. Aportaciones a la caracterización de la morcilla de León y evolución de determinados parámetros físicos, químicos y microbiológicos durante su conservación a refrigeración (en línea). Tesis doctoral. León, ES, Universidad de León. Consultado 29 set. 2015. Disponible en: http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/portallIG/PaginasAmarillas/archivos/objetosConocimiento/1/47/Tesis_Doctoral_Enrique_Cabeza.pdf;jsessionid=8DE37C74C936A62B3BDD057C69BB7E34

CHAUCA, L. 1995. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*) en los países andinos. Revista mundial de zootecnia 83 (2): 9-19.

CHAUCA, L. 1997. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). Roma, IT, FAO. 138p.

CHIRINOS, O.; MURO, K.; CONCHA, W.; OTINIANO, J.; QUEZADA, J.; RÍOS, V. 2008. Crianza y comercialización de cuy para el mercado limeño. Lima, PE, Ediciones ESAN. 194p.

CHUN, S.; VATTEM, D.; LIN, Y.; SHETTY, K. 2004. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. Process Biochemistry 40 (2): 809-816.

CLAVO L.; RAMIREZ, S. 2002. Composición Química de órganos de cobayos de altura. Tesis (Químico Farmacéutico). Lima, PE, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 82p.

COLLAZOS, C.; WHITE, P.; WHITE, H.; VIÑAS, E.; ALVISTAN, E.; URQUIETA, R.; VÁSQUEZ, S.; DÍAS, C.; QUIROZ, A.; ROCE, A.; HENGSTED, D.; BRODFIELD, R.; HERRERA, N.; FACHING, A.; ROULES, N.; HERNÁNDEZ, E.; ARIES, M. 1996. Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. 7ma. Edición. Instituto Nacional de Salud. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Lima, PE.

DJENANE, D.; AIDER, M.; YANGUELA, J.; IDIR, L.; GOMEZ, D.; RONCALES, P. 2012. Antioxidant and antibacterial effects of *Lavandula* and *Mentha* essential oils in minced beef inoculated with *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* during storage at abuse refrigeration temperature. Meat Science 92 (4): 667-674.

DORMAN, H.; KOSAR, M.; KAHLOS, K.; HOLM, Y.; HILTUNEN, R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51 (16): 4563-4569.

DOROTEO, V.; DÍAZ, C.; TERRY, C.; ROJAS, R. 2013. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante *in vitro* de seis plantas peruanas. Revista de la Sociedad Química del Perú 17 (1): 13-20.

ELIAS, C.; SALVÁ, B.; CHIRINOS, R. 2000. Manual de Industrias Cárnicas. Editorial Book Express. Lima, PE.

ESQUECHE, E.; HOLGADO, C.; PALOMINO, N.; PAREDES, D.; RAMÍREZ, C. 2012. Inclusión rural en el boom gastronómico: El caso de la cadena de cuyes en cuatro provincias de Cusco. Lima, PE. Centro Peruano de Estudios Sociales. 112p.

ESTÉVEZ, M. 2005. Desarrollo de nuevos transformados cárnicos cocidos a partir de carne, hígado y grasa de cerdo Ibérico con antioxidantes naturales (En línea). Tesis doctoral. Cáceres, ES, Universidad de Extremadura. Consultado 14 set. 2015. Disponible en: <http://biblioteca.unex.es/tesis/8477237433.pdf>

ESTÉVEZ, M.; MORCUENDE, D.; VENTANAS, S. 2008. Handbook of Processed Meats and Poultry Analysis. Chapter 8: Determination of oxidation. Boca Ratón, US, CRC Press. 760p.

FAO. 2006. Guía de nutrición de la familia. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Consultado 30 ene. 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-y5740s/y5740s16.pdf>

FALCO, A.; MARTÍNEZ, W.; RODRÍGUEZ, J.; VILLAVICENCIO, M.; SEVILLANO, E. 2011. Antimicrobial activity of ethanolic extracts of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and turmeric (*Curcuma longa*). Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 2 (1): 85-93.

FEN (FUNDACIÓN ESPAÑOLA DE NUTRICIÓN). 2011. Mercado de los alimentos: *Mentha spicata*. Consultado 1 nov. 2015. Disponible en <http://www.fen.org.es/mercadoFen/pdfs/menta.pdf>

FENNEMA, O. 2000. Química de los alimentos. 2ed. Zaragoza, ES, Acribia. 1280p.

FIALOVA, S.; TEKELOVÁ, D.; RENDEKOVÁ, K.; KLINČOK, J.; KOLÁRIK, M.; KURUCOVÁ, K.; GRANČAI, D. 2015. Phenolic compounds variation in *Mentha L.*

species in the course of a four-years period. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae* 62 (9): 2-7.

FOLIN, C.; CIOCALTEU, V. 1927. Tyrosine and tryptophan determination in protein. *Journal of Biology and Chemistry* 73: 627-650.

FRANKEL, E. 1984. Lipid oxidation: Mechanism, products and biological significance. *Journal of the American Oil Chemists Society* 61 (12): 1908-1917.

FREY, W. 1983. *Fabricación fiable de embutidos*. Zaragoza, ES, Acribia. 194p.

GARCÍA, J.; DE LA ROSA, L.; HERRERA, B.; GONZÁLEZ, A.; LÓPEZ, J.; GONZÁLEZ, G.; RUIZ, S.; ALVAREZ, E. 2011. Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México. *Tecnociencia Chihuahua* 2 (2): 67-75.

GARCÍA, E. 2012. Efecto de la temperatura del medio de cocción en las características físicas, microbiológicas y sensoriales de una mortadela. Tesis (Ingeniero en agroindustria alimentaria). Zamorano, HO, Universidad Zamorano. 32p. Consultado 8 oct. 2015. Disponible en: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/953/1/T3249.pdf>

GIRARD, J. 1992. *Tecnología de la carne y los productos cárnicos*. Zaragoza, ES. Acribia. 316p.

GONZALES, M. 2013. Efecto del estrés hídrico en hierbabuena (*Mentha piperita*) sobre polifenoles y capacidad antioxidante de infusiones. Tesis (Ingeniero químico en alimentos). Querétaro, MX, Universidad Autónoma de Querétaro. 79p. Consultado 8 oct. 2015. Disponible en: <http://ri.uaq.mx/handle/123456789/320>

GRACIA, M. 2007. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales (en línea). Querétaro, MX, Universidad Autónoma de Querétaro. Consultado 1 oct. 2015. Disponible en: http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1U_AQGarciaNava.pdf

GRAM, L., RAVN, L., RASCH, M., BRUHM, J. B., CHRISTENSEN, A. B., GIVSKOV, M. 2002. Food spoilage - interactions between food spoilage bacteria. *Int J Food Microbiol* 78 (1): 79-97.

GULLECE, M.; SAHN, F.; SOKMEN, M.; OZER, H.; DAFERERA, D.; SOKMEN, A.; POLISSIOU, M.; ADIGUZEL, A.; OZKAN, H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. *Food Chemistry* 103 (4): 1449-1456.

HIGAONNA, R.; MUSCARI, J.; CHAUCA, L.; PINTO, L. 2006. Caracterización de la carcasa de seis genotipos de cuyes. Trabajos presentados en la reunión anual de la asociación peruana de producción animal 2006 Junín. Lima, PE. INIA. 77p.

HONG, J.; HO, C. 1997. Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 (7): 2374-2378.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 200. *Microbiología de Alimentos I: Significado y métodos de elaboración*. 2da Edición. Zaragoza, ES, Acribia.

INDECOPI. 1999. Norma técnica peruana, NTP 201.014:1999. CARNE Y PRODUCTOS CARNICOS. Embutidos con tratamiento térmico antes de embutir o enmoldar. Definiciones, clasificación y requisitos. Lima, PE. 15p.

INDECOPI. 2002a. Norma técnica peruana, NTP 201.016:2002. CARNE Y PRODUCTOS CARNICOS. Determinación del contenido de grasa total. Lima. PE. 8p.

INDECOPI. 2002b. Norma técnica peruana, NTP 201.021:2002. CARNE Y PRODUCTOS CARNICOS. Determinación del contenido de proteínas. Lima. PE. 11p.

INDECOPI. 2002c. Norma técnica peruana, NTP 201.022:2002. CARNE Y PRODUCTOS CARNICOS. Determinación del contenido de cenizas. Lima. PE. 7p

INDECOPI. 2005. Norma Técnica Peruana, NTP-ISO 2917:2005. CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. Medición de pH. Método de referencia. Lima, PE 12p.

INDECOPI. 2006a. Norma técnica peruana, NTP 201.058. CARNE Y PRODUCTOS CARNICOS. Definiciones, Clasificación y requisitos de las carcasas y carne de cuy (*Cavia porcellus*). Lima, PE. 14p.

INDECOPI. 2006b. Norma técnica peruana, NTP-ISO 1442:2006. CARNE Y PRODUCTOS CARNICOS. Determinación del contenido de humedad. Método de referencia. Lima, PE. 7p.

INFOMED (Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas de Cuba). 2003. Fitomed: *Mentha spicata*. Consultado 20 oct. 2015. Disponible en: <http://www.infomed.sld.cu/fitomed/hierbabuena.htm>

IVANOVA, V.; STEFOVA, M.; CHINNICI, F. 2010. Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society* 75 (1): 45-59.

JIMÉNEZ, P.; GIRBÉS, T. 2012. Determinación del contenido total de polifenoles en alimentos con el reactivo de Folin-Ciocalteu. *Prácticas de fundamentos de alimentación y nutrición* (En línea). Valladolid, ES, Universidad de Valladolid. 11p. Consultado 10 oct. 2015. Disponible en: https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2012/470/45808/1/Documento17.pdf

JUNG, S.; LEE, J.; HA, Y.; PARK, G. 2002. Effects of dietary conjugated linoleic acid on fatty acid composition, lipid oxidation, color and water-holding capacity of pork loin. *Journal Animal Science* 80: 108-112.

KANATT, S.; CHANDER, R.; SHARMA, A. 2007. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry* 100 (2): 451-458.

KANNER, J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Science* 36 (2): 169-186.

KORKEALA, H.; BJÖRKROTH, K. 1997. Microbiological Spoilage and Contamination of Vacuum-Packaged Cooked Sausages. *Journal of Food Protection* 60 (6): 724-731.

KUMAR, Y.; NARAYAN, D.; AHMAD, T.; NARSAIAH, K. 2015. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 1-17.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in Lipid Research* 46 (5): 244-282.

LIU, Q.; LANARI, M.; SCHAEFER, D. 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *J Anim Science* 73 (10): 3131-3140.

LLERENA, T.; TÉLLEZ, J.; NEYRA, L. 1982. Utilización de la carne y algunas vísceras de vicuña en la elaboración de: chorizo, hot dog, jamonada, mortadela, paté y paté con riñón. *Boletín de Lima* 25 (22): 85-92.

MADRID, A. 1999. Aprovechamiento de los Subproductos Cárnicos. Madrid, ES, Mundi-Prensa. 324p.

MADSEN, H.; BERTELSEN, G. 1995. Spices as antioxidants. *Trends Food Science & Technology* 6 (8): 271-277.

MAMANI, B. 2013. Actividad antibacteriana de aceite esencial de *Mentha spicata* L. sobre flora mixta salival. Tesis (Cirujano dentista). Lima, PE, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 89p.

MARINOVA, E.; YANISHLIEVA, N. 1997. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chemistry* 58 (3): 245-248.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S; GONZÁLEZ-GALLEGO, J; CULEBRAS, M; TUÑÓN, M. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria* 17 (6) 271-278.

MCKAY, D.; BLUMBERG, J. 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita L.*). Wiley InterScience 20 (8) 619-633.

MINSA. 2008. NTS 071. Criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Lima, PE. 23p.

MIYAKE, Y.; YAMAMOTO, K.; OSAWA, T. 1997. Metabolism of Antioxidant in Lemon Fruit (*Citrus limon BURM. f.*) by Human Intestinal Bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45 (10) 3738-3742.

MOLDOVAN, R.; OPREAN, R.; BENEDEC, D.; HANGANU, D.; DUMA, M.; ONIGA, I.; VLASE, L. 2014. LC-MS Analysis, antioxidant and antimicrobial activities for five species of mentha cultivated in romania. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 9 (2): 559-566.

MONROY, A.; GARCÍA, I.; TOTOSAUS, A. 2012. Evaluación de la Actividad Antioxidante y Antimicrobiana de Extractos Etanólicos de Romero y Chile Ancho y su Aplicación en un Batido Cárnico. Ciencia y Tecnología de la Carne 3 (1): 21-32.

MORRISSEY, P.A., SHEEHY, P.J.A., GALVIN, K., KERRY, J.P. BUCKLEY, D.J. 1998. Lipid Stability in Meat and Meat Products. Meat Science 49 (1): 73-86.

MUNGUÍA, A.; CARDOSO, M.; INUNGARAY, M. 2011. Antioxidantes: La magia de lo natural. Revista académica de investigación. Consultado 21 oct. 2015. Disponible en: <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/08/rgc.html>

NICKAVAR, B.; ALINAGHI, A.; KAMALINEJAD, M. 2008. Evaluation of the Antioxidant Properties of Five Mentha Species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 7 (3): 203-209.

NOGALA-KALUCKA, M.; KORCZAK, J.; DRATWIA, M.; LAMPART-SZCZAPA, E.; SIGER, A.; BUCHOWSKI, M. 2005. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated test. Food Chemistry 93 (2): 227-235.

PARK, S.; ROMIJ, U.; XU, H.; KYOUNG, Y.; LEE, Y. 2008. Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant. *African Journal of Biotechnology* 7 (25) 4959-4965.

PISABARRO, A. 2008. Microbiología de los alimentos: Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Universidad de Navarra. Consultado 21 oct. 2015. Disponible en: <http://www.unavarra.es/genmic/curso%20microbiologia%20general/09-factores%20de%20supervivencia.htm>

REYES, M.; GÓMEZ-SÁNCHEZ, I.; ESPINOZA, C.; BRAVO, F.; GANOZA, L. 2009. Tablas peruanas de composición de alimentos. 8va Edición. Lima, PE. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 64p.

RESQUÍN, G.; DEGEN, R.; DELMÁS, G.; MACCHI, G. 2011. Las especies de *Mentha L.* Cultivadas en Paraguay. *Rojasiana* 10 (1): 77-91.

RICO, E.; RIVAS, C. 2003. Guinea Pig Management Manual. Provo UT, US, Benson Agriculture and Food Institute. 61p.

RIVERA, F. 1984. Utilización de residuos de pan en la elaboración de Morcilla. Tesis (Ingeniero en Industrias Alimentarias). Lima, PE, Universidad Nacional Agraria La Molina. 108p.

ROJANO, B. 1997. Oxidación de lípidos y antioxidantes (En línea). Bogotá, CO, Universidad Nacional de Colombia. Consultado 20 set. 2015. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/8413/1/6884161.1997.pdf>

ROSENFELD, S. 2007. Delicious guinea pigs: Seasonality studies and the use of fat in the pre-Columbian Andean diet. *Quaternary International* 180: 127-134.

SALIM, E.; ABU-GOUKH, A.; KHALID, H.; EL HASSAN, G. 2015. Effect of Drying Method on Spearmint (*Mentha spicata* var. *Viridis L.*) Oil Content and Physicochemical Properties. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics* 3 (6): 487-49.3

SALVÁ, B. 2012. Valor nutritivo de la carne de cuy (*Cavia porcellus*) y alternativas para su conservación y comercialización en la zona altoandina de Perú. Proyecto final de máster. León, ES, Universidad de León. 69p.

SANTOS, E.; JAIME, I.; ROVIRA, J. 1998. Use of modified atmosphere packaging to extend the shelf-life of "Morcilla". Proceedings 44th International Congress of Meat Science and Technology. 448-449.

SANTOS, E.; GONZÁLEZ, C.; JAIME, I.; ROVIRA, J. 2002. Elaboración y caracterización fisicoquímica de la morcilla de Burgos. *Eurocarne*, 103: 133-142.

SANTOS, E.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; JAIME, I.; ROVIRA, J. 2003. Physicochemical and sensory characterisation of Morcilla de Burgos, a traditional Spanish blood sausage. *Meat Science* 65 (2): 893-898p.

SANTOS, E.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; JAIME, I.; ROVIRA, J. 2005. Microbiological and sensory changes in "Morcilla de Burgos" preserved in air, vacuum and modified atmosphere packaging. *Meat Science* 71 (2): 249-255.

SARRIA, J. 2005. Producción comercial de cuyes. Lima, PE, UNALM. 126p.

SCHIFFNER, E.; OPPEL, K.; LOTZUNG, D. 1996. Elaboración casera de carne y embutidos. Zaragoza, ES, Acribia. 291p.

STEINBERG, D.; PARTHASARATHY, S.; CAREW, T.; KHOO, J.; WITZTUM, J. 1989. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *New England Journal of Medicine* 320 (14): 915-924.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. 2003. Phenolics in Food and Nutraceuticals. Boca Ratón, US, CRC Press. 545p.

TAWAHA, K.; ALALI, F.; GHARAIBEH, M.; MOHAMMAD, M.; EL-ELIMAT, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry* 104: 1372-1378.

TÉLLEZ, J. 1978. Manual de industrias cárnicas. Trozado de carnes, embutidos y salchichas. Lima, PE.

TSUCHIYA, H; SATO, M; MIYAZAKI, T.1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal Ethnopharmacology* 50: 27–34.

VARGAS, Y.; CHAUCA, L. 2006. Evaluación anátomo - histológica de la carne del cuy (*cavia porcellus*), en cruces de la raza Perú. Trabajos presentados en la reunión anual de la asociación peruana de producción animal 2006 Junín. Lima, PE. INIA. 77p.

ULLAH, N.; KHURRAM, M.; HUSSAIN, H.; ALI, F.; UMAR, S.; ASIF, M. 2011. Comparison of Phytochemical constituents and antimicrobial activities of *Mentha spicata* from four northern districts of Khyber pakhtunkhwa. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (07). 72-76.

WANGENSTEEN, H.; SAMUELSEN, A.; MALTERUD, K. 2004. Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food Chemistry* 88 (1): 293-297.

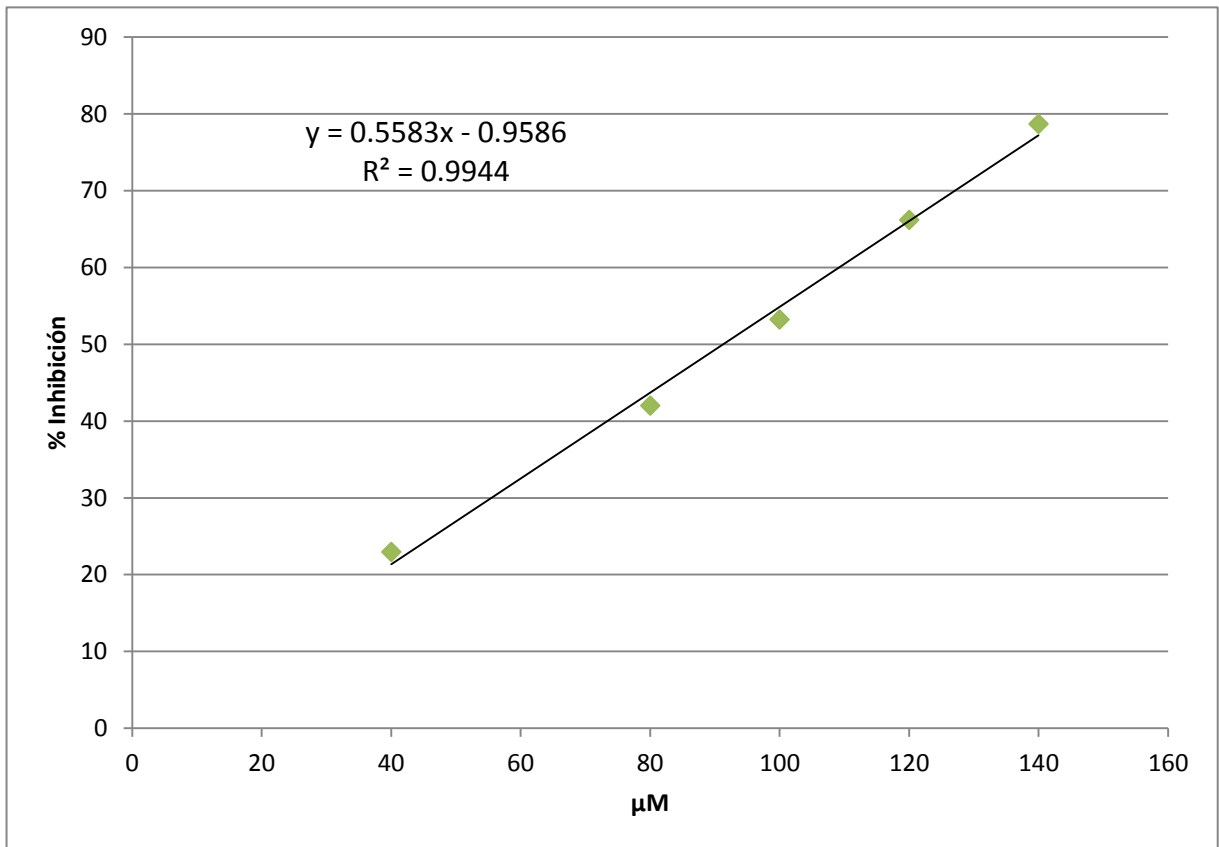
YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, H.; MATOBA, T.; TERAOKA, J. 1998. HPLC method for the evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 62 (6): 1201-1204.

YANISHLIEVA, N.; MARINOVA, E. 2001. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology* 103: 752-767.

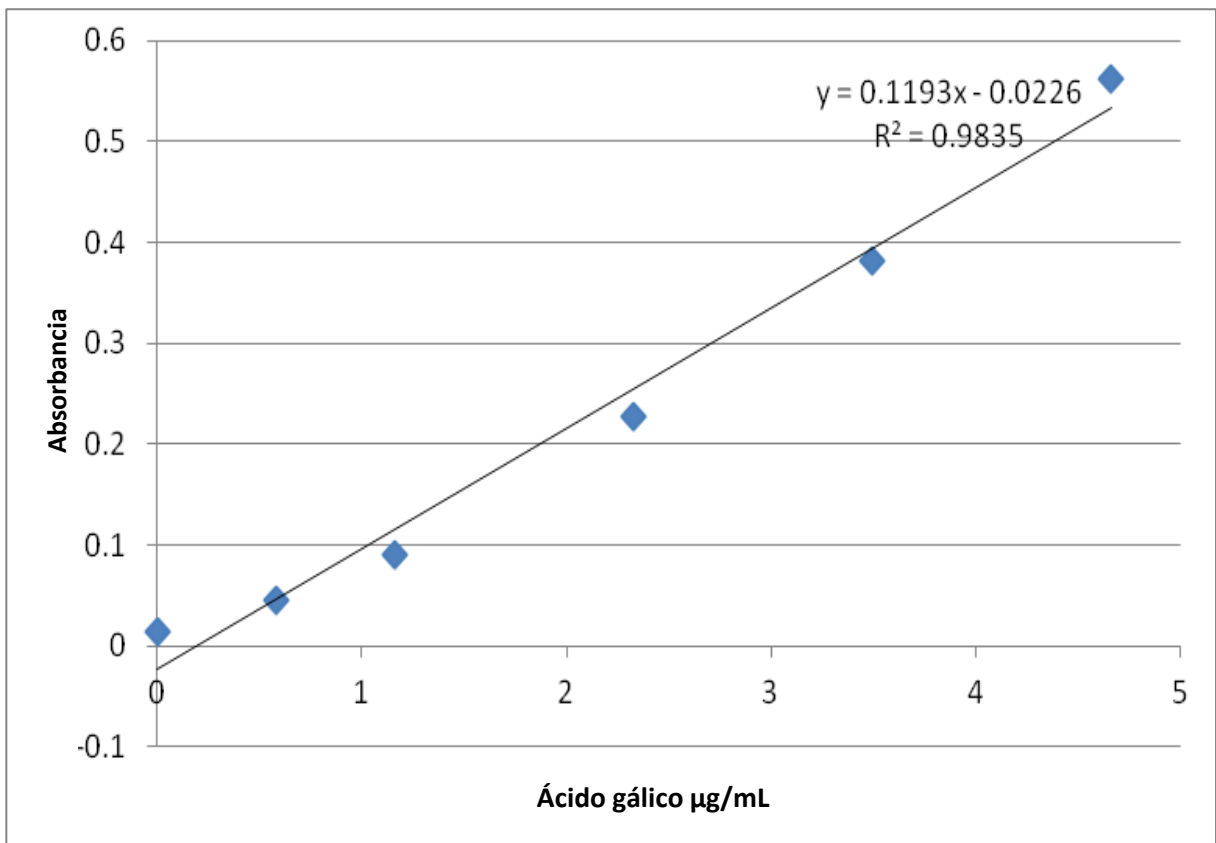
ZHENG, W.; WANG, S. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (11): 5165–5170.

VIII. ANEXOS

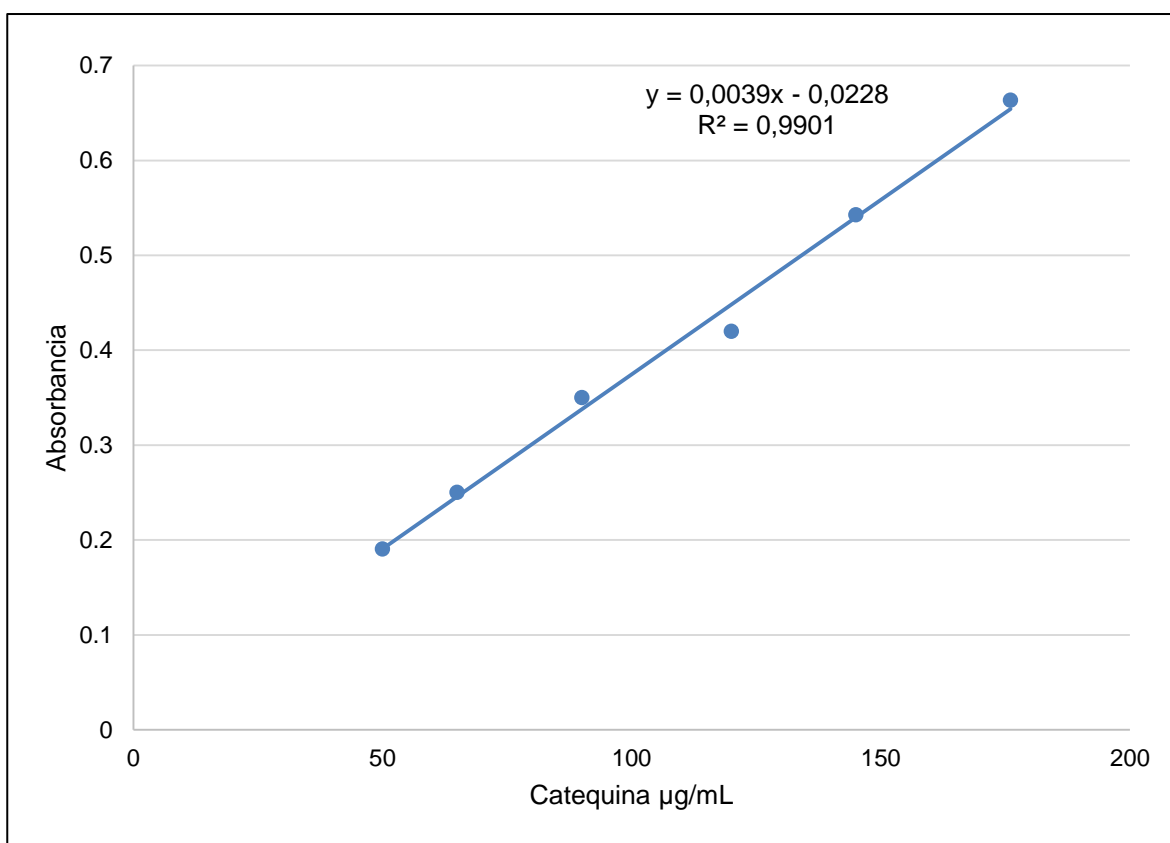
Anexo 1: Curva estándar Trolox (TEAC) para la determinación de la capacidad antioxidante a 517nm – método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)



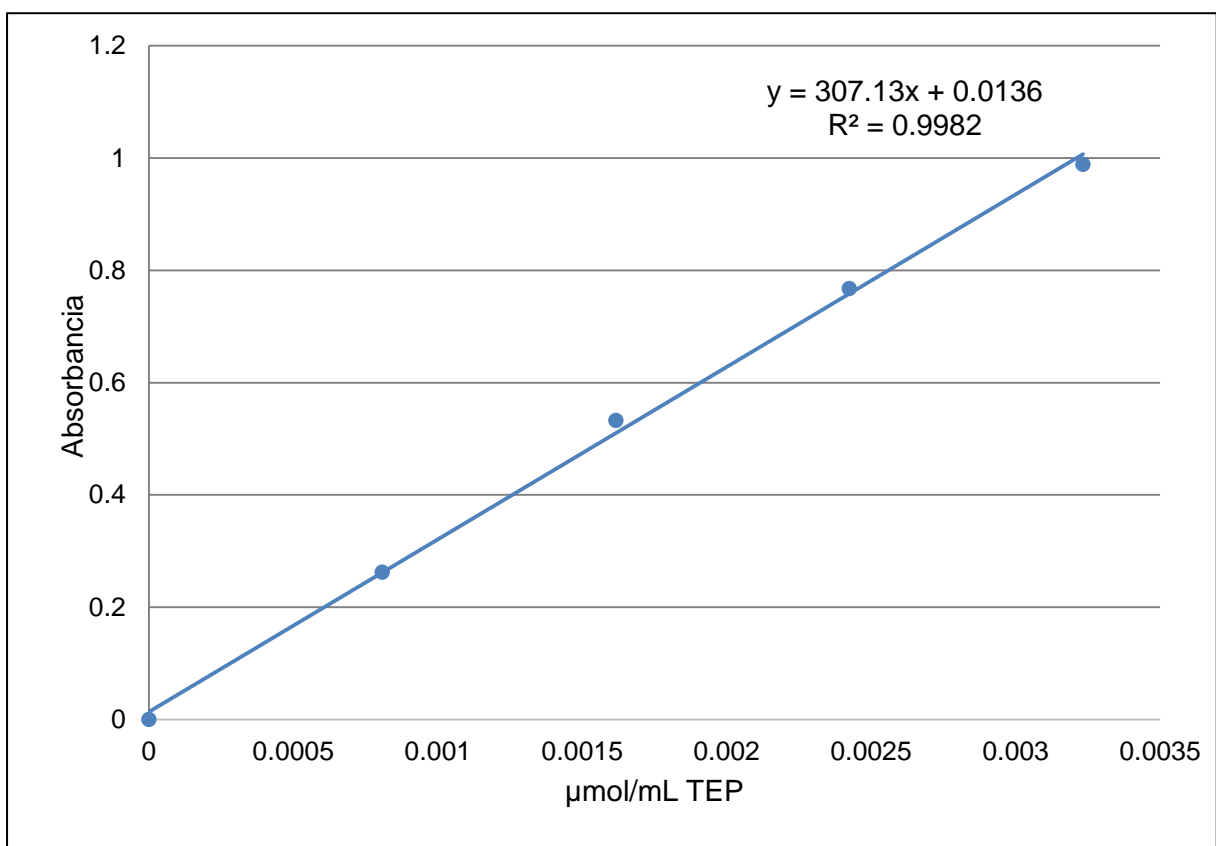
Anexo 2: Curva estándar de ácido gálico para la determinación de compuestos fenólicos a 760 nm



Anexo 3: Curva estándar de catequina para la determinación de flavonoides a 510 nm



Anexo 4: Curva estándar TEP para determinar la concentración de malonaldehído a 532 nm



Anexo 5: Análisis estadístico del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre el pH del embutido cocido de vísceras rojas de cuy

a. Resultados

DÍA	Ppm CFT	0 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm
	% EEHB	0%	0.10%	0.20%	0.30%
0	1	6.20	6.14	6.16	6.18
	2	6.20	6.16	6.18	6.16
	3	6.19	6.16	6.16	6.15
	PROMEDIO	6.20	6.15	6.17	6.16
	DESV.EST.	0.01	0.01	0.01	0.02
3	1	6.18	6.14	6.14	6.14
	2	6.16	6.14	6.17	6.16
	3	6.18	6.16	6.14	6.16
	PROMEDIO	6.17	6.15	6.15	6.15
	DESV.EST.	0.01	0.01	0.02	0.01
7	1	6.12	6.12	6.14	6.16
	2	6.12	6.10	6.14	6.15
	3	6.10	6.12	6.16	6.15
	PROMEDIO	6.11	6.11	6.15	6.15
	DESV.EST.	0.01	0.01	0.01	0.01
10	1	6.09	6.08	6.08	6.09
	2	6.06	6.10	6.08	6.10
	3	6.06	6.10	6.10	6.10
	PROMEDIO	6.07	6.09	6.09	6.10
	DESV.EST.	0.02	0.01	0.01	0.01
15	1	5.91	5.98	5.93	5.98
	2	5.90	5.97	5.93	6.01
	3	5.90	5.95	5.95	6.00
	PROMEDIO	5.90	5.97	5.94	6.00
	DESV.EST.	0.01	0.02	0.02	0.02

b. Análisis estadístico multifactorial del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre el pH del embutido cocido de vísceras rojas de cuy

ANOVA Multifactorial - pH

Variable dependiente: pH

Factores:

Días de almacenamiento

% Extracto hierba buena

Número de casos completos: 60

Análisis de Varianza para pH - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Días de almacenamiento	0.311473	4	0.0778683	26.26	0.0000
B:% Extracto hierba buena	0.0374983	3	0.0124994	4.22	0.0096
RESIDUOS	0.154193	52	0.00296526		
TOTAL (CORREGIDO)	0.503165	59			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Días de almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Días de almacenamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
15	12	5.95	0.0157196	X
10	12	6.08667	0.0157196	X
0	12	6.10833	0.0157196	XX
7	12	6.13167	0.0157196	XX
3	12	6.15583	0.0157196	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0 - 3		-0.0475	0.0628221
0 - 7		-0.0233333	0.0628221
0 - 10		0.0216667	0.0628221
0 - 15	*	0.158333	0.0628221
3 - 7		0.0241667	0.0628221
3 - 10	*	0.0691667	0.0628221
3 - 15	*	0.205833	0.0628221
7 - 10		0.045	0.0628221
7 - 15	*	0.181667	0.0628221
10 - 15	*	0.136667	0.0628221

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por % Extracto hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Extracto hierba buena</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.1%	15	6.04533	0.01406	X
0%	15	6.092	0.01406	XX
0.2%	15	6.096	0.01406	XX
0.3%	15	6.11267	0.01406	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% - 0.1%		0.0466667	0.0527766
0% - 0.2%		-0.004	0.0527766
0% - 0.3%		-0.0206667	0.0527766
0.1% - 0.2%		-0.0506667	0.0527766
0.1% - 0.3%	*	-0.0673333	0.0527766
0.2% - 0.3%		-0.0166667	0.0527766

* indica una diferencia significativa.

Anexo 6: Análisis estadístico del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre la actividad de agua del embutido cocido de vísceras rojas de cuy

a. Resultados

DÍA	Ppm CFT	0 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm
	% EEHB	0%	0.10%	0.20%	0.30%
1	1	0.984	0.989	0.974	0.968
	2	0.985	0.989	0.974	0.968
	3	0.983	0.987	0.974	0.969
	PROMEDIO	0.984	0.988	0.974	0.968
	DESV.EST.	0.001	0.001	0.000	0.001
3	1	0.985	0.989	0.976	0.968
	2	0.984	0.989	0.976	0.968
	3	0.984	0.988	0.977	0.969
	PROMEDIO	0.984	0.989	0.976	0.968
	DESV.EST.	0.001	0.001	0.001	0.001
7	1	0.982	0.989	0.972	0.966
	2	0.982	0.989	0.973	0.966
	3	0.981	0.990	0.972	0.966
	PROMEDIO	0.982	0.989	0.972	0.966
	DESV.EST.	0.001	0.001	0.001	0.000
10	1	0.980	0.990	0.972	0.963
	2	0.980	0.989	0.972	0.962
	3	0.980	0.989	0.972	0.962
	PROMEDIO	0.980	0.989	0.972	0.962
	DESV.EST.	0.000	0.001	0.000	0.001
15	1	0.979	0.986	0.973	0.964
	2	0.979	0.986	0.973	0.964
	3	0.980	0.987	0.972	0.965
	PROMEDIO	0.979	0.986	0.973	0.964
	DESV.EST.	0.001	0.001	0.001	0.001

b. Análisis estadístico multifactorial del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre la actividad de agua del embutido cocido de vísceras rojas de cuy

ANOVA Multifactorial - Aw

Variable dependiente: Aw

Factores:

% Extracto hierba buena

Días de almacenamiento

Número de casos completos: 60

Análisis de Varianza para Aw - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% Extracto hierba buena	0.0043416	3	0.0014472	915.13	0.0000
B:Días de almacenamiento	0.000130567	4	0.0000326417	20.64	0.0000
RESIDUOS	0.0000822333	52	0.00000158141		
TOTAL (CORREGIDO)	0.0045544	59			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para Aw por Días de almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Días de almacenamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
15	12	0.975667	0.000363021	X
10	12	0.975917	0.000363021	XX
7	12	0.977333	0.000363021	XX
0	12	0.978667	0.000363021	XX
3	12	0.979417	0.000363021	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0 - 3		-0.00075	0.00145079
0 - 7		0.00133333	0.00145079
0 - 10	*	0.00275	0.00145079
0 - 15	*	0.003	0.00145079
3 - 7	*	0.00208333	0.00145079
3 - 10	*	0.0035	0.00145079
3 - 15	*	0.00375	0.00145079
7 - 10		0.00141667	0.00145079
7 - 15	*	0.00166667	0.00145079
10 - 15		0.00025	0.00145079

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Aw por % Extracto hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Extracto hierba buena</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.3%	15	0.965867	0.000324696	X
0.2%	15	0.973467	0.000324696	X
0%	15	0.981867	0.000324696	X
0.1%	15	0.9884	0.000324696	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% - 0.1%	*	-0.00653333	0.0012188
0% - 0.2%	*	0.0084	0.0012188
0% - 0.3%	*	0.016	0.0012188
0.1% - 0.2%	*	0.0149333	0.0012188
0.1% - 0.3%	*	0.0225333	0.0012188
0.2% - 0.3%	*	0.0076	0.0012188

* indica una diferencia significativa.

Anexo 7: Análisis estadístico del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre la formación de malonaldehído en mg MDA / kg de muestra del embutido cocido de vísceras rojas de cuy

a. Resultados

- **Día 0 de almacenamiento**

% EEHB*	Ppm CFT**	Lote	Repetición	mg MDA/kg carne	Promedio ± Desv.est.
0%	0 ppm	T1-a	R1	0.6593	0.6812 ± 0.0364
0%	0 ppm	T1-a	R2	0.6219	
0%	0 ppm	T1-b	R1	0.6874	
0%	0 ppm	T1-b	R2	0.7249	
0%	0 ppm	T1-c	R1	0.7062	
0%	0 ppm	T1-c	R2	0.6874	
0.10%	50 ppm	T2-a	R1	0.7905	0.7530 ± 0.0319
0.10%	50 ppm	T2-a	R2	0.7343	
0.10%	50 ppm	T2-b	R1	0.7718	
0.10%	50 ppm	T2-b	R2	0.7249	
0.10%	50 ppm	T2-c	R1	0.7155	
0.10%	50 ppm	T2-c	R2	0.7811	
0.20%	100 ppm	T3-a	R1	0.7249	0.7296 ± 0.0301
0.20%	100 ppm	T3-a	R2	0.7155	
0.20%	100 ppm	T3-b	R1	0.7530	
0.20%	100 ppm	T3-b	R2	0.7530	
0.20%	100 ppm	T3-c	R1	0.6781	
0.20%	100 ppm	T3-c	R2	0.7530	
0.30%	150 ppm	T4-a	R1	0.6031	0.6250 ± 0.0306
0.30%	150 ppm	T4-a	R2	0.5844	
0.30%	150 ppm	T4-b	R1	0.6219	
0.30%	150 ppm	T4-b	R2	0.6500	
0.30%	150 ppm	T4-c	R1	0.6219	
0.30%	150 ppm	T4-c	R2	0.6687	

* %EEHB: Porcentaje de extracto etanólico de hierba buena

**ppm CFT: Concentración de compuestos fenólicos totales

- **Día 3 de almacenamiento**

% EEHB*	Ppm CFT**	Lote	Repetición	mg MDA/kg carne	Promedio ± Desv.est.
0%	0 ppm	T1-a	R1	1.0903	1.0403 ± 0.0790
0%	0 ppm	T1-a	R2	1.1277	
0%	0 ppm	T1-b	R1	1.0247	
0%	0 ppm	T1-b	R2	1.0903	
0%	0 ppm	T1-c	R1	0.9123	
0%	0 ppm	T1-c	R2	0.9966	
0.10%	50 ppm	T2-a	R1	0.7249	0.8155 ± 0.0718
0.10%	50 ppm	T2-a	R2	0.7343	
0.10%	50 ppm	T2-b	R1	0.9029	
0.10%	50 ppm	T2-b	R2	0.8561	
0.10%	50 ppm	T2-c	R1	0.8186	
0.10%	50 ppm	T2-c	R2	0.8561	
0.20%	100 ppm	T3-a	R1	0.8561	0.8233 ± 0.0484
0.20%	100 ppm	T3-a	R2	0.7999	
0.20%	100 ppm	T3-b	R1	0.8935	
0.20%	100 ppm	T3-b	R2	0.8280	
0.20%	100 ppm	T3-c	R1	0.7530	
0.20%	100 ppm	T3-c	R2	0.8092	
0.30%	150 ppm	T4-a	R1	0.9123	0.8670 ± 0.0416
0.30%	150 ppm	T4-a	R2	0.9216	
0.30%	150 ppm	T4-b	R1	0.8654	
0.30%	150 ppm	T4-b	R2	0.8373	
0.30%	150 ppm	T4-c	R1	0.8186	
0.30%	150 ppm	T4-c	R2	0.8467	

* %EEHB: Porcentaje de extracto etanólico de hierba buena

**ppm CFT: Concentración de compuestos fenólicos totales

- **Día 7 de almacenamiento**

% EEHB*	Ppm CFT**	Lote	Repetición	mg MDA/kg carne	Promedio ± Desv.est.
0%	0 ppm	T1-a	R1	2.0177	2.0910 ± 0.0461
0%	0 ppm	T1-a	R2	2.0551	
0%	0 ppm	T1-b	R1	2.1301	
0%	0 ppm	T1-b	R2	2.1207	
0%	0 ppm	T1-c	R1	2.0926	
0%	0 ppm	T1-c	R2	2.1301	
0.10%	50 ppm	T2-a	R1	1.3244	1.3073 ± 0.0209
0.10%	50 ppm	T2-a	R2	1.2870	
0.10%	50 ppm	T2-b	R1	1.3244	
0.10%	50 ppm	T2-b	R2	1.3057	
0.10%	50 ppm	T2-c	R1	1.2776	
0.10%	50 ppm	T2-c	R2	1.3244	
0.20%	100 ppm	T3-a	R1	1.4556	1.4821 ± 0.0412
0.20%	100 ppm	T3-a	R2	1.4181	
0.20%	100 ppm	T3-b	R1	1.5305	
0.20%	100 ppm	T3-b	R2	1.5118	
0.20%	100 ppm	T3-c	R1	1.5024	
0.20%	100 ppm	T3-c	R2	1.4743	
0.30%	150 ppm	T4-a	R1	1.3525	1.2995 ± 0.0612
0.30%	150 ppm	T4-a	R2	1.3525	
0.30%	150 ppm	T4-b	R1	1.2776	
0.30%	150 ppm	T4-b	R2	1.1933	
0.30%	150 ppm	T4-c	R1	1.2870	
0.30%	150 ppm	T4-c	R2	1.3338	

* %EEHB: Porcentaje de extracto etanólico de hierba buena

**ppm CFT: Concentración de compuestos fenólicos totales

- **Día 10 de almacenamiento**

% EEHB*	Ppm CFT**	Lote	Repetición	mg MDA/kg carne	Promedio ± Desv.est.
0%	0 ppm	T1-a	R1	2.7390	2.6796 ± 0.0864
0%	0 ppm	T1-a	R2	2.6921	
0%	0 ppm	T1-b	R1	2.5891	
0%	0 ppm	T1-b	R2	2.5703	
0%	0 ppm	T1-c	R1	2.7952	
0%	0 ppm	T1-c	R2	2.6921	
0.10%	50 ppm	T2-a	R1	1.8303	1.7319 ± 0.0586
0.10%	50 ppm	T2-a	R2	1.7179	
0.10%	50 ppm	T2-b	R1	1.6898	
0.10%	50 ppm	T2-b	R2	1.6617	
0.10%	50 ppm	T2-c	R1	1.7554	
0.10%	50 ppm	T2-c	R2	1.7366	
0.20%	100 ppm	T3-a	R1	1.5867	1.5664 ± 0.0381
0.20%	100 ppm	T3-a	R2	1.6148	
0.20%	100 ppm	T3-b	R1	1.5774	
0.20%	100 ppm	T3-b	R2	1.5680	
0.20%	100 ppm	T3-c	R1	1.5493	
0.20%	100 ppm	T3-c	R2	1.5024	
0.30%	150 ppm	T4-a	R1	1.6336	1.5789 ± 0.0597
0.30%	150 ppm	T4-a	R2	1.5680	
0.30%	150 ppm	T4-b	R1	1.6148	
0.30%	150 ppm	T4-b	R2	1.6242	
0.30%	150 ppm	T4-c	R1	1.5586	
0.30%	150 ppm	T4-c	R2	1.4743	

* %EEHB: Porcentaje de extracto etanólico de hierba buena

**ppm CFT: Concentración de compuestos fenólicos totales

- **Día 15 de almacenamiento**

% EEHB*	Ppm CFT**	Lote	Repetición	mg MDA/kg carne	Promedio ± Desv.est.
0%	0 ppm	T1-a	R1	3.1605	3.3151 ± 0.1132
0%	0 ppm	T1-a	R2	3.2448	
0%	0 ppm	T1-b	R1	3.4322	
0%	0 ppm	T1-b	R2	3.2542	
0%	0 ppm	T1-c	R1	3.4415	
0%	0 ppm	T1-c	R2	3.3572	
0.10%	50 ppm	T2-a	R1	1.8397	1.8849 ± 0.0642
0.10%	50 ppm	T2-a	R2	1.7928	
0.10%	50 ppm	T2-b	R1	1.9427	
0.10%	50 ppm	T2-b	R2	1.8584	
0.10%	50 ppm	T2-c	R1	1.9240	
0.10%	50 ppm	T2-c	R2	1.9521	
0.20%	100 ppm	T3-a	R1	2.0177	1.8147 ± 0.1259
0.20%	100 ppm	T3-a	R2	1.9240	
0.20%	100 ppm	T3-b	R1	1.7085	
0.20%	100 ppm	T3-b	R2	1.7647	
0.20%	100 ppm	T3-c	R1	1.7273	
0.20%	100 ppm	T3-c	R2	1.7460	
0.30%	150 ppm	T4-a	R1	1.6898	1.6414 ± 0.0722
0.30%	150 ppm	T4-a	R2	1.7460	
0.30%	150 ppm	T4-b	R1	1.5961	
0.30%	150 ppm	T4-b	R2	1.5867	
0.30%	150 ppm	T4-c	R1	1.6710	
0.30%	150 ppm	T4-c	R2	1.5586	

* %EEHB: Porcentaje de extracto etanólico de hierba buena

b. Análisis estadístico multifactorial de la oxidación lipídica por el método TBA

ANOVA Multifactorial - mg MDA / kg muestra

Variable dependiente: mg MDA / kg muestra

Factores:

% Extracto de hierba buena

Días de almacenamiento

Número de casos completos: 120

Análisis de Varianza para mg MDA / kg muestra - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% Extracto de hierba buena	11.1879	3	3.72931	49.89	0.0000
B:Días de almacenamiento	37.7871	4	9.44679	126.38	0.0000
RESIDUOS	8.37199	112	0.0747499		
TOTAL (CORREGIDO)	57.3471	119			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para mg MDA / kg muestra por % Extracto de hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Extracto de hierba buena</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.3%	30	1.21544	0.0502276	X
0.2%	30	1.29632	0.0502276	X
0.1%	30	1.31162	0.0502276	X
0%	30	1.97454	0.0502276	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% - 0.1%	*	0.66292	0.184101
0% - 0.2%	*	0.678227	0.184101
0% - 0.3%	*	0.759107	0.184101
0.1% - 0.2%		0.0153067	0.184101
0.1% - 0.3%		0.0961867	0.184101
0.2% - 0.3%		0.08088	0.184101

* indica una diferencia significativa.

c. Análisis de varianza para el contenido de malonaldehído en el día uno por concentración de extracto etanólico de hierba buena

Variable dependiente: TBARS DÍA UNO

Factor: % De extracto de hierba buena

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para TBARS DÍA UNO por % De extracto de hierba buena

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.0578013	3	0.0192671	18.44	0.0000
Intra grupos	0.0209002	20	0.00104501		
Total (Corr.)	0.0787015	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para TBARS DÍA UNO por % De extracto de hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.3% EHB	6	0.625	X
0% EHB	6	0.681183	X
0.2% EHB	6	0.729583	XX
0.1% EHB	6	0.753017	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% EHB - 0.1% EHB	*	-0.0718333	0.0522562
0% EHB - 0.2% EHB		-0.0484	0.0522562
0% EHB - 0.3% EHB	*	0.0561833	0.0522562
0.1% EHB - 0.2% EHB		0.0234333	0.0522562
0.1% EHB - 0.3% EHB	*	0.128017	0.0522562
0.2% EHB - 0.3% EHB	*	0.104583	0.0522562

* indica una diferencia significativa.

d. Análisis de varianza para el contenido de malonaldehído en el día tres por concentración de extracto etanólico de hierba buena

Variable dependiente: TBARS DÍA TRES

Factor: % De extracto de hierba buena

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para TBARS DÍA TRES por % De extracto de hierba buena

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.198481	3	0.0661604	17.12	0.0000
Intra grupos	0.0773097	20	0.00386548		
Total (Corr.)	0.275791	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para TBARS DÍA TRES por % De extracto de hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.1% EHB	6	0.815483	X
0.2% EHB	6	0.823283	X
0.3% EHB	6	0.866983	X
0% EHB	6	1.04032	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% EHB - 0.1% EHB	*	0.224833	0.100503
0% EHB - 0.2% EHB	*	0.217033	0.100503
0% EHB - 0.3% EHB	*	0.173333	0.100503
0.1% EHB - 0.2% EHB		-0.0078	0.100503
0.1% EHB - 0.3% EHB		-0.0515	0.100503
0.2% EHB - 0.3% EHB		-0.0437	0.100503

* indica una diferencia significativa.

e. Análisis de varianza para el contenido de malonaldehído en el día siete por concentración de extracto etanólico de hierba buena

Variable dependiente: TBARS DÍA SIETE

Factor: % De extracto de hierba buena

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para TBARS DÍA SIETE por % De extracto de hierba buena

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2.51367	3	0.83789	419.13	0.0000
Intra grupos	0.0399825	20	0.00199913		
Total (Corr.)	2.55365	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para TBARS DÍA SIETE por % De extracto de hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.3% EHB	6	1.29945	X
0.1% EHB	6	1.30725	X
0.2% EHB	6	1.48212	X
0% EHB	6	2.09105	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% EHB - 0.1% EHB	*	0.7838	0.0722766
0% EHB - 0.2% EHB	*	0.608933	0.0722766
0% EHB - 0.3% EHB	*	0.7916	0.0722766
0.1% EHB - 0.2% EHB	*	-0.174867	0.0722766
0.1% EHB - 0.3% EHB		0.0078	0.0722766
0.2% EHB - 0.3% EHB	*	0.182667	0.0722766

* indica una diferencia significativa.

f. Análisis de varianza para el contenido de malonaldehído en el día diez por concentración de extracto etanólico de hierba buena

Variable dependiente: TBARS DÍA DIEZ

Factor: % De extracto de hierba buena

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para TBARS DÍA DIEZ por % De extracto de hierba buena

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5.0998	3	1.69993	427.30	0.0000
Intra grupos	0.0795659	20	0.0039783		
Total (Corr.)	5.17936	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para TBARS DÍA DIEZ por % De extracto de hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.2% EHB	6	1.56643	X
0.3% EHB	6	1.57892	X
0.1% EHB	6	1.73195	X
0% EHB	6	2.67963	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% EHB - 0.1% EHB	*	0.947683	0.101959
0% EHB - 0.2% EHB	*	1.1132	0.101959
0% EHB - 0.3% EHB	*	1.10072	0.101959
0.1% EHB - 0.2% EHB	*	0.165517	0.101959
0.1% EHB - 0.3% EHB	*	0.153033	0.101959
0.2% EHB - 0.3% EHB		-0.0124833	0.101959

* indica una diferencia significativa.

g. Análisis de varianza para el contenido de malonaldehido en el día quince por concentración de extracto etanólico de hierba buena

Variable dependiente: TBARS DÍA QUINCE

Factor: % De extracto de hierba buena

Número de observaciones: 24

Número de niveles: 4

Tabla ANOVA para TBARS DÍA QUINCE por % De extracto de hierba buena

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	10.7879	3	3.59596	378.56	0.0000
Intra grupos	0.189979	20	0.00949896		
Total (Corr.)	10.9779	23			

Pruebas de Múltiple Rangos para TBARS DÍA QUINCE por % De extracto de hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.3% EHB	6	1.64137	X
0.2% EHB	6	1.8147	X
0.1% EHB	6	1.88495	X
0% EHB	6	3.31507	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% EHB - 0.1% EHB	*	1.43012	0.157549
0% EHB - 0.2% EHB	*	1.50037	0.157549
0% EHB - 0.3% EHB	*	1.6737	0.157549
0.1% EHB - 0.2% EHB		0.07025	0.157549
0.1% EHB - 0.3% EHB	*	0.243583	0.157549
0.2% EHB - 0.3% EHB	*	0.173333	0.157549

* indica una diferencia significativa.

Anexo 8: Análisis estadístico del efecto del extracto etanólico de hierba buena sobre la carga microbiana de mesófilos aerobios del embutido cocido de vísceras rojas de cuy

a. Resultados

DÍA	Ppm CFT	0 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm
	% EEHB	0%	0.10%	0.20%	0.30%
0	1	3.49	3.34	3.46	3.32
	2	3.56	3.34	3.45	3.40
	3	3.48	3.28	3.40	3.26
	PROMEDIO	3.51	3.32	3.44	3.33
	DESV.EST.	0.04	0.04	0.03	0.07
3	1	4.08	3.83	4.11	4.15
	2	4.16	3.93	4.14	3.91
	3	4.12	3.89	4.03	3.96
	PROMEDIO	4.12	3.88	4.09	4.01
	DESV.EST.	0.04	0.05	0.06	0.13
7	1	4.52	4.55	4.62	4.41
	2	4.41	4.53	4.54	4.32
	3	4.45	4.49	4.45	4.33
	PROMEDIO	4.46	4.52	4.54	4.36
	DESV.EST.	0.05	0.03	0.09	0.05
10	1	4.53	4.51	4.49	4.43
	2	4.60	4.46	4.59	4.42
	3	4.63	4.63	4.68	4.37
	PROMEDIO	4.59	4.53	4.59	4.41
	DESV.EST.	0.05	0.09	0.09	0.03
15	1	4.76	4.81	4.63	4.59
	2	4.83	4.74	4.79	4.62
	3	4.74	4.65	4.82	4.53
	PROMEDIO	4.78	4.73	4.75	4.58
	DESV.EST.	0.05	0.08	0.10	0.05

b. Análisis estadístico de la carga microbiana aerobia mesófila en el embutido cocido de vísceras rojas de cuy

ANOVA Multifactorial - Log UFC/g

Variable dependiente: Log UFC/g

Factores:

Días de almacenamiento

% Extracto de hierba buena

Número de casos completos: 60

Análisis de Varianza para Log UFC/g - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Días de almacenamiento	13.3042	4	3.32604	561.39	0.0000
B:% Extracto de hierba buena	0.2428	3	0.0809333	13.66	0.0000
RESIDUOS	0.308083	52	0.00592468		
TOTAL (CORREGIDO)	13.855	59			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para Log UFC/g por % Extracto de hierba buena

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>% Extracto de hierba buena</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0.3%	15	4.13467	0.0198741	X
0.1%	15	4.19867	0.0198741	X
0.2%	15	4.28	0.0198741	X
0%	15	4.29067	0.0198741	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0% - 0.1%	*	0.092	0.0746006
0% - 0.2%		0.0106667	0.0746006
0% - 0.3%	*	0.156	0.0746006
0.1% - 0.2%	*	-0.0813333	0.0746006
0.1% - 0.3%		0.064	0.0746006
0.2% - 0.3%	*	0.145333	0.0746006

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Log UFC/g por Días de almacenamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Días de almacenamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
0	12	3.39833	0.0222199	X
3	12	4.02583	0.0222199	X
7	12	4.46833	0.0222199	X
10	12	4.52833	0.0222199	X
15	12	4.70917	0.0222199	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
0 - 3	*	-0.6275	0.0888002
0 - 7	*	-1.07	0.0888002
0 - 10	*	-1.13	0.0888002
0 - 15	*	-1.31083	0.0888002
3 - 7	*	-0.4425	0.0888002
3 - 10	*	-0.5025	0.0888002
3 - 15	*	-0.683333	0.0888002
7 - 10		-0.06	0.0888002
7 - 15	*	-0.240833	0.0888002
10 - 15	*	-0.180833	0.0888002

* indica una diferencia significativa.