



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUIMICA Y FARMACIA**



**UNIDAD DE TITULACIÓN
PROYECTO DE TITULACIÓN
MODALIDAD: INVESTIGACIÓN**

TEMA:

“DESARROLLO DE HAMBURGUESA PRECOCIDA-CONGELADA,
A BASE DE CARNE DE GANADO CAPRINO, CON PEREJIL
(*Petroselinum crispum*) Y ALBAHACA (*Ocimum basilicum*)”

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PREVIO PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICA Y FARMACÉUTICA**

AUTORA:

CYNTHIA MERA MORALES

TUTOR:

Ing. RAÚL DÍAZ TORRES PhD.

CO-TUTORA:

Q.F LEILA PRIAS MOGRO, M.SC.

GUAYAQUIL - ECUADOR

2015

APROBACIÓN DEL TUTOR ACADÉMICO

En calidad de tutora del trabajo de titulación, Certifico: que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es “Desarrollo de Hamburguesa Precocida-Congelada, a Base de Carne de Ganado Caprino, con Perejil (*Petroselinum crispum*) y Albahaca (*Ocimum basilicum*)”, presentado por Cynthia Mera Morales, con cédula de ciudadanía N° 0921753224, previo a la obtención del título de Bioquímica y Farmacéutica.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND. Lo certifico.


FIRMA TUTOR DE TESIS
Ing. RAÚL DÍAZ TORRES PhD.


FIRMA CO-TUTORA DE TESIS
Q.F LEILA PRIAS MOGRO, M.SC.

Guayaquil, Noviembre del 2015

Urkund Analysis Result

Analysed Document: 1446697414_11__TESISCYNTHIA%252B.docx (D16030495)
Submitted: 2015-11-27 10:21:00
Submitted By: jenesmer@espol.edu.ec
Significance: 5 %

Sources included in the report:

1446521541_151%252BQUIMICA.docx (D15989911)

Instances where selected sources appear:

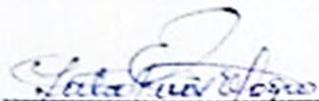
1



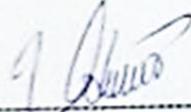
FIRMA TUTOR DE TESIS
Ing. RAÚL DÍAZ TORRES PhD.

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL
Acta de Registro de la Sustentación Oral

El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de la Sra. CYNTHIA ESTHER MERA MORALES, después de ser examinado en su presentación, memoria científica y de defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.

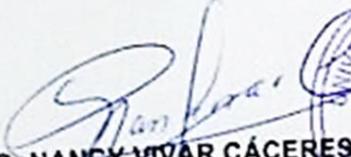

Q.F. LEILA PRIAS MOGRO, M.Sc.
DECANA-PRESIDENTE DEL TRIBUNAL




Q.F. NILDA CEDEÑO ALBAN, Mgs.
DOCENTE-OPONENTE
MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Dr. CARLOS SILVA HUILCAPI, M.Sc.
DOCENTE-OPONENTE
MIEMBRO DEL TRIBUNAL


Q.F. GIOMARA QUISHPE MONAR, M.Sc.
DOCENTE
MIEMBRO DEL TRIBUNAL


ING. NANCY VIVAR CÁCERES
SECRETARIA



Guayaquil, Noviembre del 2015

CARTA DE AUTORÍA DE TESIS

Yo, Cynthia Mera Morales, autor de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también, que todo el material escrito me pertenece, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además ratifico que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en la Universidad nacional, ni una extranjera.



Cynthia Esther Mera Morales

C.I. 0921753224

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
EL PROBLEMA	3
Planteamiento del problema.....	3
Formulación del problema.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	4
OBJETIVOS	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos.....	6
HIPÓTESIS.....	6
VARIABLES, CONCEPTUALIZACIÓN E INDICADORES.	7
CAPITULO I.....	8
1.1 ANTECEDENTES	8
1.2. ESTADO DEL ARTE	10
1.2.1 ESTUDIOS ACTUALES DE ELABORACIÓN DE HAMBURGUESA ..	10
1.3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	12
1.3.1. Definición de carne	12
1.3.2 Composición de la carne	12
1.3.3. Composición química de la carne.....	13
1.3.4. Valor nutricional de la carne.....	14
1.3.4.1. Proteínas	14
1.3.4.2 Grasa	14
1.3.4.3 Vitaminas.....	15
1.3.4.4. Minerales	15
1.4. GANADO CAPRINO	15
1.4.1 Razas caprinas	16
1.4.2. La ganadería caprina en Ecuador	16
1.5 HAMBURGUESA.....	17
1.5.1. Historia de la hamburguesa.....	17
1.5.2. Concepto.....	18
1.5.3. Composición química de la hamburguesa	18
1.5.4. Valor nutricional de la hamburguesa.....	19

1.5.4.1. Valor energético.....	19
1.5.4.2. Proteínas	19
1.5.4.3. Minerales	19
1.5.4.4. Vitaminas.....	19
1.5.5.5. Aminoácidos esenciales	20
1.6. ADITIVOS ALIMENTARIOS Y ESPECIAS	20
1.6.1. Definición	20
1.6.2. Huevo como ligante.....	20
1.6.3. Sal.....	21
1.6.4. Perejil (<i>Petroselinum crispum</i>)	21
1.6.4.1. Composición química del perejil	22
1.6.4.2. Usos.....	22
1.6.5. Albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>)	23
1.6.5.1. Historia	23
1.6.5.2. Usos.....	24
1.6.5.3. Composición química.....	24
1.6.5.4. Aplicaciones en los alimentos	25
1.7 PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA HAMBURGUESA	26
1.7.1. Recepción de la carne	26
1.7.2. Predesmenuzado	27
1.7.3. Picado.....	27
1.7.4. Amasado	27
1.7.5. Moldeo y extrusión	27
1.7.6. Envasado y etiquetado.....	27
1.8. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS.....	28
1.8.1. Microbiología aplicada en carnes y productos cárnicos	29
1.8.2. Marcadores de calidad microbiológica	29
1.9 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LOS ALIMENTOS	30
1.9.1. Determinación de humedad	30
1.9.2. Determinación de ceniza	31
1.9.3. Determinación de proteína.....	31
1.9.4. Extracto etéreo.....	31
1.9.5. Extracto libre de nitrógeno (ELN).....	32
1.10 ANÁLISIS SENSORIAL EN LOS ALIMENTOS	32

1.10.1. Percepción sensorial.....	32
1.10.2 Clasificación de los atributos sensoriales.....	33
1.10.3. Tipos de análisis sensorial	34
1.10.3.1 Análisis descriptivo.....	34
1.10.3.2 Análisis discriminativo	34
1.10.3.3. Test del consumidor	34
1.10.4. Requisitos para la ejecución de análisis sensorial	35
1.10.5. Requisitos del ensayo sensorial.....	35
1.11 PRUEBAS ESTADÍSTICAS.....	36
1.11.1. Anova.....	36
1.11.2. Prueba de rango múltiple	36
1.11.3 Alfa de Cronbach	37
1.12. GLOSARIO: DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	38
CAPÍTULO II.....	39
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	39
2.1 MÉTODOS CIENTÍFICOS EMPLEADOS EN LA INVESTIGACIÓN	39
2.1.1. Métodos teóricos	39
2.1.2. Métodos empíricos	39
2.1.3 Métodos matemáticos o estadísticos.....	39
2.2. METODOLOGÍA	40
2.3. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	41
2.3.1 Investigación experimental	41
2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA INVESTIGACIÓN	41
2.4.1. Elaboración del producto.....	41
2.4.2. Análisis sensoriales	42
2.4.2.1. Elaboración de diseño experimental	42
2.4.2.2. Diseño experimental y escala hedónica	43
2.4.2.3. Índice de calidad sensorial	44
2.4.2.4 Check-All-That-Apply (CATA).....	44
2.4.2.5 ANOVA	44
2.4.2.6. Test de jueces semi-entrenados	45
2.4.3 Análisis estadísticos	45
2.4.4. Análisis proximales realizados.....	45
2.4.4.1. Determinación del contenido de nitrógeno.....	45

2.4.4.2. Determinación del contenido total de grasa	46
2.4.4.3. Determinación de cenizas totales por calcinación seca	46
2.4.4.4. Determinación de contenido de humedad	47
2.4.5. Análisis microbiológicos realizados	47
2.4.5.1. Aerobios mesófilos.....	47
2.4.5.2. Escherichia coli	47
2.4.5.3. Staphilococcus áureus.....	47
2.4.5.4. Salmonella.....	48
2.5 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	48
CAPÍTULO III.....	49
RECOLECCION DE DATOS. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	49
3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESCALA HEDÓNICA	49
3.2. COEFICIENTE ALFA DE CRONBACH	52
3.3. CHECK-ALL-THAT-APPLY (CATA).....	52
3.4. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS.....	53
3.5. PRUEBA DE RANGOS MÚLTIPLES: DUNCAN	54
3.6 EVALUACIÓN DEL PRODUCTO FRENTE A 3 MUESTRAS DEL MERCADO POR JUECES ENTRENADOS.....	55
3.7. ANÁLISIS PROXIMALES REALIZADOS EN LA CARNE CAPRINA EMPLEADA.	57
3.8 RESULTADOS DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS.....	58
3.9 COSTO POR KG DE PRODUCTO ELABORADO.....	58
CONCLUSIONES	59
RECOMENDACIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS.....	66

INDICE DE TABLAS

TABLA I: VARIABLES.....	7
TABLA II: COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS CARNES Y OTRAS FUENTES DE ALIMENTO POR 100 G*	13
TABLA III. COMPARACIÓN DE LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS CARNES POR 100 G.....	17
TABLA IV. VALOR NUTRICIONAL ESTÁNDAR DE UNA HAMBURGUESA.....	18
TABLA V: DISEÑO EXPERIMENTAL.....	42
TABLA VI: DISEÑO EXPERIMENTAL CON VARIACIONES EN LOS PORCENTAJES DE ALBAHACA Y PEREJIL.	43
TABLA VII: ANÁLISIS PROXIMAL DE CARNE CAPRINA.....	57
TABLA VIII: REQUISITOS DE LA CARNE MOLIDA	57
TABLA IX: Σ VALOR ATRIBUTOS	49
TABLA X: FN ATRIBUTOS	50
TABLA XI: VALOR MEDIO DE CADA ATRIBUTO PARA CADA FORMULACIÓN	50
TABLA XII: VALOR DE ICS PARA CADA UNA DE LAS FÓRMULAS	51
TABLA XIII: DATOS DE EVALUACION CATA	53
TABLA XIV: VARIABLES SIGNIFICATIVAS	53
TABLA XV: RANGO DE MENCIÓN POR ATRIBUTO	54
TABLA XVI: TABLA DUNCAN	54
TABLA XVII: MEDIA DE LOS ATRIBUTOS POR CADA MUESTRA.....	55
TABLA XVIII: RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.....	58
TABLA XIX: COSTO POR CADA KG DE PRODUCTO ELABORADO.....	58

INDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO I: DISEÑO METODOLÓGICO.....	40
GRÁFICO II: COMPORTAMIENTO DE LOS ATRIBUTOS EN CADA FÓRMULA.....	52
GRÁFICO III: COMPARACION DEL COMPORTAMIENTO DE LOS ATRIBUTOS FRENTE A LAS MARCAS COMERCIALES.....	56
GRÁFICO IV: <i>INDICE DE CALIDAD SENSORIAL</i>	64
GRÁFICO V DIAGRAMA DE LA METODOLOGÍA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA HAMBURGUESA A BASE DE CARNE DE GANADO CAPRINO.....	67
GRÁFICO VI: DIAGRAMA ELABORACIÓN DE HAMBURGUESAS.....	67

RESUMEN EJECUTIVO

La investigación documentada a continuación propone una alternativa al uso y forma de comercialización de la carne caprina. El prototipo de hamburguesa desarrollado está fabricado con ingredientes del mercado local; los antioxidantes, preservantes, resaltadores de sabor y ligantes utilizados son naturales. Para este estudio, se emplearon métodos teóricos de deducción, inducción, síntesis, estadísticos; mediante entrevistas y encuestas se recopilaron datos importantes y se utilizaron técnicas de investigación experimental. Se utilizaron normativas Nacionales y/o Internacionales, utilizando los equipos básicos con los que cuenta el laboratorio de Análisis de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil. Como resultado se obtuvo un producto aceptable para el consumidor, inocuo para su salud y de alto valor nutricional. Se han propuesto varios prototipos bajo el concepto hamburguesa en el Ecuador, pero ninguno que posea proteína animal presenta colorantes preservantes y antioxidantes naturales; bajo el concepto de saludables solo se han elaborado hamburguesas con proteína vegetal. El producto hamburguesa precocida-congelada a base de carne de ganado caprino, con adición de Perejil (*Petroselinum crispum*) y Albahaca (*Ocimum Basilicum*), cuenta con un alto importe nutricional; a su vez estas dos especias que han sido estudiadas como alternativas a los preservantes, actúan como aditivos de sabor, conservación y antioxidación. Para su consumo se recomienda prepararla siguiendo parámetros saludables para que su valor alimenticio sea significativo.

Palabras claves: Coeficiente α Cronbach, *Petroselinum crispum*, *Ocimum Basilicum*, escala hedónica, CATA.

ABSTRACT

The following documented research proposes an alternative to the use and the way of goat's meat marketing. The hamburger's prototype developed is made with ingredients from the local market such as: antioxidants, preservatives, flavor enhancers and natural binders. For this study, theoretical methods of deduction, induction, synthesis, and statistics were used; through interviews and surveys they were collected important data and experimental research techniques were used. National standards were used and / or international, using basic equipment with which account the Food Analysis Laboratory of the Faculty of Chemistry of the University of Guayaquil. As a result acceptable to the consumer, harmless to your health and high nutritional value was obtained. Several prototypes have been proposed under the burger concept in the country, but no animal protein possessing presents preservatives and dyes natural antioxidants; under the concept of healthy only they have been made burgers with vegetable protein. The precooked-frozen hamburger meat goats, with the addition of parsley (*Petroselinum crispum*) and Basil (*Ocimum basilicum*), the product has a high nutritional value; in turn these two spices that have been studied as alternatives to preservatives, flavor additives act as conservation and oxidation. For consumption is recommended to prepare healthier following parameters for its nutritional value is significant.

Keywords: Coefficient α Cronbach, *Petroselinum crispum*, *Ocimum Basilicum*, hedonic scale, CATA, Duncan.

INTRODUCCIÓN

La carne caprina, según Corini (2013), es por naturaleza baja en grasa y posee grasa insaturada, lo que favorece al mantenimiento dentro de los límites saludables de colesterol en la sangre. Dentro de sus músculos no se observa cúmulos grasos, proponiéndola como una buena opción desde el punto de vista saludable.

Aparte de las propiedades beneficiosas que destaca la carne caprina, la adición de las hierbas aromáticas que figuran en el prototipo, según la Fundación española de nutrición (2014), actúan como conservantes, antimicrobianos, antioxidantes y saborizantes; buscando reemplazar los aditivos sintéticos por aditivos naturales, cuyas características han sido evaluadas experimentalmente proporcionando resultados satisfactorios y esperados.

Los análisis realizados al producto objeto de estudio avalan a la literatura encontrada, indicando que es una fuente potencial de proteínas, además posee un porcentaje muy bajo en grasa, calificando como TIPO I para las dos determinaciones (INEN, 2010), ubicándola en un opción más saludable de la que normalmente consumimos.

Por tal motivo hemos propuesto un producto de alto consumo aportando con un producto natural y nutritivo, la tesis presentada propone el desarrollo de hamburguesa precocida-congelada, a base de carne de ganado caprino, con perejil (*Petroselinum crispum*) y albahaca (*Ocimum basilicum*), sin ningún aporte de aditivos ya sean, estabilizantes, ligantes, antioxidantes y conservantes sintéticos.

Con el fin de alcanzar los objetivos expuestos, la metodología utilizada se fundamenta en la inducción - deducción; técnicas experimentales para valorar la calidad físico-química del producto terminado: grasas, cenizas, proteínas, humedad y calidad sanitaria: Recuento total en placas de *Aerobios mesófilos*, Contaje de *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y la proposición de una alternativa bajo un concepto atractivo de un producto alimenticio, con propiedades saludables y características organolépticas agradables para el consumidor. El ensayo presentado se basó en diferentes trabajos referidos correspondientemente; los datos que resultan de esta investigación se han tratado utilizando el análisis de varianza o estadística descriptiva.

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

El bajo nivel de aprendizaje de los escolares, desnutrición y riesgos de padecer enfermedades, en el Ecuador, son motivados no solo por la pobreza de una parte de la población sino también por el desconocimiento de los beneficios de consumir alimentos nutritivos y sus efectos positivos en la salud. (Hidalgo, 2012) Paralelamente, la población de adultos y adultos mayores, se ve también afectada por enfermedades más comunes; tales como: “osteoporosis (19%), diabetes (13%), problemas del corazón (13%), enfermedades pulmonares (8%)” (Fernández, Culque, & Martínez, 2014). En consecuencia, se refleja un deterioro de la salud, y desmejoramiento de la calidad de vida de un importante grupo de seres humanos.

Mundialmente se conoce que la carne de caprinos, es una elección acertada, “por su alto valor nutricional; es más saludable que la carne de vaca” (Corini, 2013), porque aporta menos cantidades de calorías, grasas, colesterol y constituye una alternativa más magra que la carne de ovino.

El presente proyecto de investigación formativa, referente al desarrollo de hamburguesa precocida-congelada a base de carne de ganado caprino, con Perejil y Albahaca, de características organolépticas aceptables, al igual de las hamburguesas tradicionales de ganado vacuno, será una oportunidad para difundir la importancia del consumo de carne de caprino, y desarrollar nuevas alternativas alimenticias.

Formulación del problema

¿Será posible desarrollar una formulación de hamburguesa a base de carne de ganado caprino con adición de Perejil (*Petroselinum crispum*) y Albahaca (*Ocimum basilicum*), aceptable para el consumidor?

JUSTIFICACIÓN

Según la OMS (2014), los índices de consumo de comidas rápidas como las hamburguesas se han incrementado a tal grado, que se ha llegado a relacionar este consumo con las altas tasas de enfermedades cardiovasculares. En el Ecuador, de acuerdo a la Secretaría Nacional de Comunicación (2014), la mortalidad por esta dolencia, representa al 23% de la población. Por esta razón, propone “gravar con un impuesto, a la comida chatarra”, con el fin de crear un cambio social, en los hábitos alimenticios de los ecuatorianos.

Las comidas rápidas tienen ventajas, pues son convenientes y baratas, resuelven situaciones de la vida agitada por el efecto del urbanismo, evitan el congestionamiento culinario de los hogares, permiten espacios de tiempo para insertarlos a la vida social y laboral y son de gran aceptación; sin embargo, son fritas, suelen contener altos niveles de sodio y producen en el organismo altas concentraciones de colesterol, grasas trans, colesterol LDL, disminución de colesterol HDL en la sangre; aparte de la presencia de carbohidratos y aporte de 555 a 650 Kcal de los 2 200 a 3 000 Kcal/ día que necesita una persona promedio (FAO, 2011).

De ahí la importancia de desarrollar un producto innovador como: hamburguesas precocidas-congeladas, a base de carne de ganado caprino, con adición de hierbas aromáticas naturales como perejil (*Petroselinum crispum*) y albahaca (*Ocimum basilicum*), ambos con propiedades antioxidantes, importantes en la protección de las células, de los efectos de los radicales libres y prevención del riesgo de padecer enfermedades del corazón, cáncer, entre otras. Estas hamburguesas serán proteicas, seguras, aceptable por el consumidor, 100% natural, con presencia de grasa insaturada (proveniente de la carne caprina) que contribuye al mantenimiento de los niveles normales de colesterol sanguíneo, libre de aditivos alimentarios (conservantes, neutralizantes, saborizantes); con el propósito de apoyar a cumplir el Art. 66, numeral 2 de la Constitución Ecuatoriana

2008, que establece “el derecho a una vida digna, que asegure la salud, alimentación y nutrición...”, además de contribuir a la producción de calidad y competitividad de productos ecuatorianos; y al cambio de la Matriz Productiva del Ecuador, acorde a lo que plantea el Plan Nacional del Buen Vivir (Art. 13). (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

OBJETIVOS

Objetivo general

Desarrollar una formulación de hamburguesa a base de carne de ganado caprino, con adición de Perejil (*Petroselinum crispum*) y Albahaca (*Ocimum Basilicum*).

Objetivos específicos

1. Determinar las características sensoriales de las formulaciones desarrolladas.
2. Comparar los indicadores de calidad de la formulación desarrollada con los requisitos establecidos en NTE.
3. Conocer el índice de costo de materias primas para la elaboración del producto terminado.

HIPÓTESIS

Es posible desarrollar una hamburguesa a base de carne de ganado caprino con adición de Perejil (*Petroselinum crispum*) y Albahaca (*Ocimum basilicum*), aceptable para el consumidor.

VARIABLES, CONCEPTUALIZACIÓN E INDICADORES.

TABLA I: VARIABLES

VARIABLES	CONCEPTUALIZACION	INDICADOR -MEDICIONES
INDEPENDIENTES		
Formulación	Cantidad porcentual de la formulación seleccionada.	<ul style="list-style-type: none"> • Contenido perejil (<i>Petroselinum crispum</i>) • Albahaca (<i>Ocimum basilicum</i>).
DEPENDIENTES		
Caracterización química de la fórmula de mayor aceptación	Detalle del análisis proximal del producto.	<ul style="list-style-type: none"> • % Proteínas • % Humedad • % Cenizas • % Grasa
Aceptación organoléptica	Medida o grado de consentimiento del producto desarrollado.	<ul style="list-style-type: none"> • Reconocimiento de atributos sensoriales • Índice de calidad sensorial.
Calidad higiénica del producto terminado	Análisis microbiológicos realizados al producto requerido por la norma.	<ul style="list-style-type: none"> • Recuento total en placas de <i>Aerobios mesófilos</i> • Contaje de <i>E. coli</i> • <i>Salmonella</i> • <i>Staphilococcus aureus</i>

Fuente: Elaboración propia

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES

En los países en desarrollo, el creciente poder adquisitivo, el aumento de la urbanización y el cambio en las preferencias de los consumidores, están generando una mayor demanda de carne; la FAO (2007), proyecta que el empleo por cada cabeza de carne en el mundo en desarrollo, crecerá en un 1,2% por año entre 1991 y 2030, que es un acrecentamiento de casi un 45%. La producción de carne aumentará más apresuradamente, en un 1,7% por año, duplicándose en 2030.

A nivel mundial la producción de carne caprina, está por encima de los 4,2 millones de toneladas, con un aumento del 10% por año. De la totalidad de la producción caprina, el 44% se faena, en cifras se traduce a un total de 346 millones de cabras (Ramos, 2010) y ocupa el primer lugar en importancia entre los productos caprinos comercializados. Las estadísticas internacionales de la Organización de los Estados Unidos para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y el Departamento de los Estados Unidos para la Agricultura (USDA), muestran que la carne de cabra es ampliamente consumida en el mundo y que representa alrededor de un 5% del consumo de carnes rojas. (FAO, El estado mundial de la agricultura y la alimentación, 2009)

Según Ramos (2010), los países europeos con mayor tradición en la producción caprina son Grecia, España, Albania, Suiza y Francia; en Asia son Arabia Saudita y el Líbano. En América Central el principal país productor de cabras es México, y en América del Sur se destacan Brasil, Venezuela, Argentina Colombia y Perú.

Argentina forma parte de un productor importante a nivel mundial (1,7%) y Brasil consta como uno de los principales países productores de carne caprina. España es el 2º productor de carne de cabra de la Unión Europea (U.E.), tras Grecia, con el 12% de la producción (15.000 ton. /año). (Strat, 2008).

Las razas, Negra Serrana y Blanca Andaluza, son el pilar para el desarrollo de nuevos métodos de producción cárnica. Existen razas (Negra Serrana y Blanca Andaluza), que son la base del desarrollo de nuevos sistemas extensivos de producción cárnica; por ser depredadoras y ramoneras, desempeñan un papel importante en el control y prevención del fuego en la vegetación mediterránea y hay adicionalmente pagos a los caprinocultores, mientras ellas se alimentan durante el pastoreo abierto. (Sánchez, 2010)

Por otro lado, en la actualidad, a nivel global, existe preocupación por los problemas de salud, relacionados con la ingesta de grasa y colesterol de las carnes vacunas, porcina o de pollo, además de la aparición de enfermedades en estos animales; por lo que en algunos lugares del mundo se ha logrado el reposicionamiento de la carne de cabra.

La carne de cabra es baja en calorías por naturaleza, la grasa insaturada que posee contribuye al mantenimiento de niveles normales de colesterol sanguíneo, no tiene la grasa dispersa en el interior del músculo, la grasa interna es extraída junto con los órganos y menudencias, por lo que la grasa no llega al consumidor, condiciones que la convierten en una excelente elección nutricional. (Corini, 2013)

1.2. ESTADO DEL ARTE

1.2.1 ESTUDIOS ACTUALES DE ELABORACIÓN DE LA HAMBURGUESA

Existen diferentes propuestas de comercialización y consumo de hamburguesas presentadas en el Ecuador, entre las propuestas más llamativas OROZCO (2013), plantea un lineamiento de producción, control de calidad y formulación de hamburguesas deshidratadas, la misma que proyecta una alternativa de consumir proteína animal extendiendo sus límites de perecibilidad al liofilizarlas manteniendo su calidad bromatológica y microbiológica dentro del rango de aceptación.

Otra formulación de hamburguesa con un tipo de carne no común en nuestro medio, es la de avestruz. HINOSTROZA (2009) presentó su idea enfocada hacia la parte de comercialización en un sector donde no existía un producto parecido en el mercado, así mismo asegura que este producto cárnico es más saludable que la carne vacuna.

Ninguno de estos estudios incluye conservantes naturales, con el fin de obtener un producto de mayor vida útil optan por conservantes y antioxidantes sintéticos; de igual manera en su formulación utilizan proteína de soya, disminuyendo el valor de origen animal.

El tema de aditivos sintéticos muy utilizados en este tipo de productos, ha sido últimamente muy estudiado por la OMS, esta organización ha establecido niveles máximos permitidos en los alimentos con la finalidad de salvaguardar la salud y el bienestar mundial.

En el estudio realizado por Armenteros, Ventanas, Morcuende, Estévez, & Ventanas (2012), se indica que los aceites esenciales provenientes de diversas fuentes vegetales, así como la vitamina C participan activamente en la conservación de forma natural en alimentos, el uso de ellos reduce las reacciones oxidativas en los productos cárnicos. Según la Fundación Española De Nutrición (2014), el perejil destaca en su cantidad de vitamina C, de igual manera contiene otras sustancias no nutritivas como los flavonoides. Este tipo de investigaciones afirma las propiedades de esta hierba aromática como aditivo natural.

Según Cardoso & Sosa (2012), los antioxidantes de la albahaca actúan retardando o disminuyendo el proceso de rancidez oxidativa en los productos ricos en lípidos; de igual manera el trabajo en mención indica que si bien es cierto que existen muchos antioxidantes sintéticos muy eficaces y altamente utilizados, tales como el butilhidroxitolueno (BHT) y el butilhidroxianisol (BHA), ellos se encuentran en observación continua, ya que se cree que puedan guardar relación con efectos cancerígenos. Por tal razón el estudio y el uso de los aditivos naturales están en crecimiento. En este mismo estudio se concluye que la albahaca posee propiedades antibacterianas y antifúngicas además de las propiedades antioxidantes.

Como conclusión final, según Cardoso & Sosa (2012), las propiedades antes mencionadas sobre los alimentos, cumplen con los resultados esperados sin aportar ningún cambio negativo en cuanto a su aspecto u otras características organolépticas, siendo una importante aportación a la industria alimenticia y a la salud en general.

1.3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.3.1. Definición de carne

Según la norma técnica INEN 1217:2012, se define como carne al tejido muscular estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica (post-rigor), comestible, sano, y limpio e inocuo de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para consumo humano.

Bromatológicamente, se considera carne al resultado de una serie de cambios fisicoquímicos y bioquímicos del tejido muscular consecuentes al sacrificio del animal de abasto. (Bello, 2010)

1.3.2 Composición de la carne

El tejido muscular posee muchas particularidades por lo que es bien diferenciado del resto de los tejidos, está compuesto por una serie de haces y conjunto de haces todos ellos envueltos en tejido conectivo, y en algunas ocasiones también se pueden observar infiltraciones grasas. (Bello, 2010)

En el tejido muscular se distinguen, la fibra muscular y el tejido conectivo; en cuanto a la primera son células alargadas que se disponen en forma de haces y cuentan con funciones específicas, el segundo constituye un almacén interno a la unión de las fibras musculares, su estructura varía según el tipo de músculo, a su vez también se une a distintas partes del cuerpo. (Bello, 2010)

1.3.3. Composición química de la carne

Se evidencia que de acuerdo a la especie del animal y a su edad, los porcentajes en su composición química suelen variar (Tabla II). De manera general se establecen los siguientes porcentajes (Bello, 2010):

- Agua entre 65-80% dependiendo de la edad de la canal.
- Los elementos grasos van en un intervalo de 5-30%, según cada variedad animal, encerrando también vitaminas liposolubles y colesterol.
- Porcentaje proteínico entre 20-30%, son numerosas y correspondientes a: diversas globinas, actina, colágeno, mioglobina, tropomiosina, miosina, elastina y troponinas, que en su constitución poseen aminoácidos esenciales.
- La escala de glúcidos es de 0,1-0,5%
- Vitaminas diversas y sales minerales.

TABLA II: COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS CARNES Y OTRAS FUENTES DE ALIMENTO POR 100 G*

Producto	Agua	Prot.**	Grasas	Cenizas	kJ***
Carne de vacuno (magra)	75.0	22.3	1.8	1.2	485
Canal de vacuno	54.7	16.5	28.0	0.8	1351
Carne de cerdo (magra)	75.1	22.8	1.2	1.0	469
Canal de cerdo	41.1	11.2	47.0	0.6	1975
Carne de ternera (magra)	76.4	21.3	0.8	1.2	410
Carne de pollo	75.0	22.8	0.9	1.2	439
Carne de venado (ciervo)	75.7	21.4	1.3	1.2	431
Grasa de vaca (subcutánea)	4.0	1.5	94.0	0.1	3573
Grasa de cerdo (tocino dorsal)	7.7	2.9	88.7	0.7	3397
Leche (pasteurizada)	87.6	3.2	3.5		264
Huevos (cocidos)	74.6	12.1	11.2		661
Pan (centeno)	38.5	6.4	1.0		1000
Patatas (cocidas)	78.0	1.9	0.1		301

*Meat processing technology for small- to medium-scale producers. (FAO 2007)

**Proteínas

***Kilojoules

Analizando la parte nutricional, el valor agregado de la carne procede de la alta calidad proteínica por tener presente todos los aminoácidos esenciales, de igual manera minerales y vitaminas necesarias de fácil asimilación. Además el contenido de hierro y tiamina la hace un recurso que no se encuentra en los hábitos alimenticios exclusivos de los vegetarianos. (FAO, 2015)

1.3.4. Valor nutricional de la carne

1.3.4.1. Proteínas

El ser humano es incapaz de sintetizar los aminoácidos esenciales por lo que es necesario que estén presente en la dieta diaria ya que a falta de calorías ellos serán el reemplazo inmediato que proporcionaran la energía necesaria para que se realicen los procesos metabólicos. (IICA, 2000)

Las proteínas de la carne se dividen en musculares y de tejido conectivo, la mioglobina de origen muscular, es la causante de su color y de mayor importancia ya que se encuentran los aminoácidos esenciales (treonina, isoleucina, fenilalanina, leucina, metionina, triptófano, valina y lisina); las del tejido conectivo son la elastina y el colágeno. (IICA, 2000)

1.3.4.2 Grasa

Este componente varía por muchos factores, por hacer mención las cantidades pueden fluctuar según la especie, la edad, sexo, corte y actividad física a la que se destine el músculo. Aunque aporta mayor cantidad de calorías disminuye las proporciones de vitaminas y minerales con respecto a la carne magra, la cual para que se considere como tal debe poseer de 0.5% - 10% de grasa. El lípido principal de la carne son los triglicéridos. (IICA, 2000)

1.3.4.3 Vitaminas

La cantidad vitamínica de la carne oscila sin importar el origen de la pieza, por lo que indistintamente sus valores serán equivalentes, se trate de un corte caro o económico. La carne magra adquiere importancia al aportar vitaminas del grupo B (B1, B2, B3, B6 y B12) en cambio la carne rica en grasa tendrá la presencia de ácidos grasos liposolubles. (IICA, 2000)

1.3.4.4. Minerales

Las carnes poseen la mayoría de los componentes minerales para el cuerpo humano, los más significativos son el hierro y el fósforo, pero la cantidad de ellos varía según el corte de la canal y el origen del animal de abasto. (IICA, 2000)

1.4. GANADO CAPRINO

Según indica el manual de caprinos, la cabra fue el primer rumiante en ser domesticado hace más de 7000 años entre la frontera de Irak e Irán, desde entonces ha sido de gran utilidad su carne y leche para alimentación; además de su piel para vestimenta. (Gómez, Pinos, & Aguirre, 2009)

Las necesidades de pastoreo por naturaleza del ganado caprino no son nada exigentes, por lo que se adaptan con facilidad a los cambios ambientales a los que pueden ser sometidos, e inclusive se los ha llegado a manejar en sistemas de producción nómadas aguantando algunas veces condiciones ambientales extremas. (Gómez et al., 2009)

1.4.1 Razas caprinas

Según Camiruaga (2015), existen numerosas razas de cabras en todo el mundo y se clasifican de forma variada, la más completa es según su capacidad de reproducción. Poseen distintivos físicos que ayudan a la diferenciación interracial:

- Color del cuerpo y en especial de la cara, orejas y extremidades.
- Tamaño e inclinación de las orejas.
- Pelaje.
- Presencia de cuernos.

Existen razas especialmente dedicadas a la producción de carne (Boer y Española); otras destinadas a la producción de leche (La mancha, Saanen, y Toggenburg); también hay las que se utilizan con doble propósito, utilizar su carne y leche (Anglo-nubian); por último están las productoras de fibra (Angora). (Camiruaga, 2015)

1.4.2. La ganadería caprina en Ecuador

La ganadería caprina en el Ecuador es un área en vías de desarrollo por lo que no está ampliamente documentada, se están implementando técnicas de crianza e instalaciones necesarias para incrementar y potenciar la producción de las cabras y sus derivados. (MAGAP, 2014)

Las razas preponderantes en Ecuador son Anglo-Nubian, Criolla, Boer y Saanen. En la Sierra se encuentran las cuatro razas caprinas, mientras que en La Costa únicamente existe la Anglo-Nubian y la Criolla. En la región Oriente e Insular se localiza la Criolla. (Hernández & Pesantes, 2014) Análisis realizados demuestran que la composición química de la carne caprina es más saludable que las que se consumen dentro del hábito alimenticio diario (TABLA III).

TABLA III. COMPARACIÓN DE LA COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS CARNES POR 100 G

Especie	Calorías	Total Grasas	Grasas Saturadas	Proteínas
Caprino	122	2.58	0.79	23
Vacuno	245	16.00	.80	23
Porcino	310	24.00	8.70	21
Ovino	235	16.00	7.30	22
Pollo	120	3.50	1.10	21

Fuente: INTA Chamental y EEA INTA San Luis *citado por* (Asociación Argentina Caprina, 2010)

1.5 HAMBURGUESA

1.5.1. Historia de la hamburguesa

Los mongoles en el siglo XIV picaban la carne para masticar con mayor facilidad, y llevaron esta costumbre a los países que conquistaban. Por medio de los Tártaros que es una mezcla entre Mongoles y Turcos llegó este platillo a Alemania y se presume que justo de ahí se origina su nombre, ya que en el puerto de Hamburgo habían más personas que lo degustaban asiduamente. (COHEN, 2008)

Si la carne es molida, amasada, condimentada y moldeada de forma circular y aplanada, luego frita y colocada en un pan de sal de forma circular y se le adiciona vegetales y salsas, resulta lo que se conoce actualmente como hamburguesa; según Cohen (2008), la creación de esta presentación, fue idea del adolescente Charlie Norgreen en 1885, de Seymour, Wisconsin.

En el año de 1967, McDonald's, se consolida como la mayor cadena de hamburguesas en el mundo. Puerto Rico es el primer país latinoamericano en

recibir esta franquicia, extendiéndose por Centroamérica y llegó al sur del continente; en 1986 ingresan al Ecuador las hamburguesas Burger King, provocando una corriente consumista. (Santillán, 2015)

1.5.2. Concepto

Según el Codex Alimentarius (2015), se denomina hamburguesas a la carne cruda y no tratada incluida la de aves de corral y caza, picada o deshuesada mecánicamente. (WHO & FAO, 2015)

En la Norma NTE INEN 1338:2012 (Anexo IX) se define: “Hamburguesa: es la carne molida (o picada) de animales de abastos homogenizada y preformada, cruda o precocida y con ingredientes y aditivos de uso permitidos”.

1.5.3. Composición química de la hamburguesa

Debido a la variedad de hamburguesas y a la forma de preparación es complicado determinar específicamente la composición química de una hamburguesa, en la Tabla IV se muestran porcentajes de manera estándar

TABLA IV. VALOR NUTRICIONAL ESTÁNDAR DE UNA HAMBURGUESA

Nutrientes	Cantidad
Proteínas	15 g
Grasas	20 g
Hidratos de carbono	5 g
Hierro	2.5 mg
Calorías	250 kcal

(Vilaplana, 2002)

1.5.4. Valor nutricional de la hamburguesa

1.5.4.1. Valor energético

El valor energético de las hamburguesas es tan alto que con una sola se llega a compensar y a pasar el valor recomendado. Una hamburguesa de elevado valor energético posee 410 kilocalorías, esta cantidad viene a suponer la séptima parte de las recomendaciones de la OMS para un adulto de actividad moderada. (García & Saenz, 2006)

1.5.4.2. Proteínas

Según García y Sanz (2006), el valor proteínico va ser reflejo de la cantidad de carne presente en la hamburguesa, el contenido de proteínas no llega a suplir la demanda saludable en el ser humano.

1.5.4.3. Minerales

Una hamburguesa no llega a cubrir las necesidades de potasio, magnesio, fósforo, cobre y zinc, necesarias para satisfacer la demanda corporal diaria, además la carne como tal no es fuente significativa de calcio, pero el conjunto hamburguesa aporta este elemento desde los otros ingredientes que la conforman. (García & Saenz, 2006)

1.5.4.4. Vitaminas

La hamburguesa no es una fuente vitamínica significativa, aporta a la dieta las vitaminas correspondientes al complejo B que provienen de la carne y puede aportar otras vitaminas debido a la combinación usual con vegetales. (García & Saenz, 2006)

1.5.5.5. Aminoácidos esenciales

La cantidad de aminoácidos esenciales para el requerimiento diario es perfectamente cubierta con una hamburguesa cárnica al 100% (García & Saenz, 2006)

1.6. ADITIVOS ALIMENTARIOS Y ESPECIAS

1.6.1. Definición

Según la Norma NTE INEN 1338:2012, se denominan aditivos a las sustancias de origen natural o artificial, de uso permitido que se agregan a los alimentos modificando directa o indirectamente sus características físicas, químicas y/o biológicas con el fin de preservarlos, estabilizarlos o mejorar sus características organolépticas sin alterar su naturaleza y valor nutritivo

Se define como especias al producto constituido por ciertas plantas o partes de ellas, que por tener sustancias saborizantes o aromatizantes se emplean para aderezar, aliñar o modificar el aroma y sabor de los alimentos (INEN, NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE 1338:2012, 2012)

1.6.2. Huevo como ligante

Por lo general se utilizan los ligantes en gastronomía, para añadir a la preparación alguna característica en especial; el huevo, es un ligante de origen animal, pertenece al grupo de ligas finas, aporta toques delicados y suaves a una serie de preparaciones; no son estables al calor por q tienden a desnaturalizarse. (Gómez T, 2015)

El huevo es un alimento incluido en el grupo de los proteicos, la clara está compuesta por ovomucina, conalbúmina, ovomucoide, lizosima, ovoglobulinas,

flavoproteínas, cistatina, ovoinhibidor, avidina y ovoalbúmina, esta última representa más de la mitad del contenido proteico del huevo; esta proteína es la que le da la característica muy marcada de inestabilidad al calor. (Ruiz, 2010)

Según Santos (2010), la presencia de la ovoalbúmina se encuentra tanto en la clara como en la yema, pero se encuentra indiscutiblemente en la clara en mayor proporción. (Santos, 2010)

1.6.3. Sal

Según el CODEX STAN 150 (2010), se entiende por sal de calidad alimentaria el producto cristalino que consiste predominantemente en cloruro de sodio. Se obtiene del mar, de depósitos subterráneos de sal mineral o de salmuera natural. (Alimentarius, 2012)

Se la utiliza como potenciador de sabor y también suele ser empleada como conservante de un gran número de alimentos. (López, 2007)

1.6.4. Perejil (*Petroselinum crispum*)

El perejil (*Petroselinum crispum*), pertenece a la familia Apiaceae o umbelíferas, esta hierba es originaria de la región mediterránea, se cultiva actualmente en todo el mundo. (Reyes, Zavala, & Alonso, 2012)

El perejil es una planta que alcanza una altura entre 30-80 cm, de tallo rígido, hojas onduladas y consistentes en volumen, cuyas raíces primarias que van de una coloración blanquecina a parda, tienen una forma cónica y alargada; su nombre *Petroselinum*, proviene del griego petroselino, especie que

antiguamente crecía sobre las rocas y el adjetivo *crispum*, hace referencia al perfil de sus hojas curvas. (Reyes et al., 2012).

1.6.4.1. Composición química del perejil

Por la presencia de importantes y diferentes compuestos químicos, se la ha utilizado desde tiempos muy antiguos, no solo como condimento sino también en la medicina tradicional; estas características se dan gracias a la presencia de aceites esenciales, apiol, cumarinas, flavonoides, fitol y ácido petroselinico, por nombrar algunos. También se afirma que el perejil además de contener las vitaminas C y E contienen algunas vitaminas del complejo B, calcio, hierro, fósforo y azufre. (Reyes et al., 2012),

Por otro lado, Mohammad (2010), reportó que el perejil tiene una alta concentración de ácido petroselinico (isómero del ácido oleico), furanocumarinas, oleorresinas, proteínas, carbohidratos y taninos. Otro compuesto presente en el perejil en cantidades moderadas es el ácido oxálico en forma de oxalatos.

1.6.4.2. Usos

Asignan a esta planta atributos antioxidantes y anticancerígenas, se le atribuye de igual manera la propiedad de disminuir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y degenerativas. (Reyes et al., 2012)

Fonnegra y Jiménez (2007), indica que es la fuente más rica de vitamina A; según la Fundación Española De Nutrición (2014), el perejil destaca en su cantidad de vitamina C, de igual manera contiene otras sustancias no nutritivas como los flavonoides (con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y diuréticas) y un aceite esencial rico en apiol.

Estos compuestos participan activamente en la conservación de forma natural en alimentos, el uso de ellos reducen las reacciones oxidativas en los productos cárnicos. (Armenteros, Ventanas, Morcuende, Estévez, & Ventanas, 2012)

1.6.5. Albahaca (*Ocimum basilicum*)

Tiene su origen al sur del continente asiático, de la familia de las *Lamiaceae*, al tener un sin número de beneficios tiene una gran variedad de usos. Por su alto contenido de aceites esenciales se la considera dentro de las especies medicinales, el eugenol es uno de los compuestos más utilizados en la preparación de fármacos.

1.6.5.1. Historia

La medicina medieval contaba con los beneficios de esta planta, se la consideraba mágica, debido a sus propiedades antiinflamatorias, antisépticas y a su contenido en saponinos, taninos, aceites esenciales y glucósidos, era infalible para el tratamiento de las enfermedades gástricas, enfermedades respiratorias y del tracto urinario. Sus usos fueron amplios en la alimentación y como esencia, hasta hoy se utiliza extensamente en la industria alimentaria. (Sam, Luz, & Barroso, 2002)

1.6.5.2. Usos

Actualmente se fija la atención en el uso de la vegetación de forma medicinal y al constante estudio de las plantas que brindan efectos curativos, los diversos argumentos que aborda este tema ya tiene en diferentes ámbitos un grupo significativo de conclusiones. (Sam et al., 2002)

Con mayor frecuencia se deriva la observación de plantas medicinales al estudio de las hojas, en menor asiduidad a las cortezas, raíces, flores, frutos y en menor periodicidad el tallo; esta selección se debe a la presencia de los principios activos en cada una de las partes nombradas. En las hojas se realiza por lo general las caracterizaciones, debido a su estructura y a la manera de adaptarse a los cambios ambientales. (Sam et al., 2002)

Del estudio de esta planta se reporta sus actividades antimicrobianas y antivirales, de las hojas la acción diurética caracterizada por sus propiedades estimulantes, se ha reportado que poseen propiedades tónicas, antisépticas, insecticidas, además, alivia malestares de la función digestiva, se lo utiliza también como agente carminativo. (Cardoso & Sosa, 2012)

Cardoso & Sosa (2012), aseguran que es una de las hierbas más manipuladas en calidad de condimento, en su trabajo también narra, que en gastronomía se lo ha utilizado desde la antigüedad, ya que particulariza el sabor de los alimentos.

1.6.5.3. Composición química

En general en el género *Ocimum spp.*, está presente un sin número de aceites esenciales con un alto contenido fenólico, entre los productos naturales figuran los polifenoles (flavonoides y antocianinas). (Cardoso & Sosa, 2012)

Las características y formas de uso de este aceite esencial, según Cardoso & Sosa (2012), se deben a sus componentes que están de manera mayor, estos son linalol, metilchavicol, eugenol, metilcinamato y alcanfor.

1.6.5.4. Aplicaciones en los alimentos

1.6.5.4.1 Capacidad antioxidante

Muchas especias se han utilizado desde hace mucho tiempo por su capacidad de aportar un sabor diferente y llamativo a los alimentos, se observó que algunas de estas sustancias ayudaban a la conservación como un plus adicional, disminuyen procesos de oxidación y además advierten de la propagación de enfermedades y envejecimiento al estar en estrecha relación con peroxidación de los lípidos. (Cardoso & Sosa, 2012)

De acuerdo a su clasificación orientada a su mecanismo de acción, el aceite esencial de albahaca se lo considera como antioxidante de primer orden, actúa como donador de hidrogeno y su fin es terminar la reacción en cadena provocada por los radicales libres. Según Cardoso Sosa (2012) se han realizado estudios in-vitro, para determinar la acción antioxidante de los aceites esenciales, utilizando diferentes métodos los cuales deben dar resultados similares indistintamente del ensayo empleado, monopolizar un tipo de método podría dar resultados erróneos y poco repetitivos.

1.6.5.4.2. Capacidad antibacterial y capacidad antifúngica

El deseo de preservar alimentos por más tiempo y darle mayor vida en la percha antes de que llegue a manos del consumidor, incrementa el interés de utilizar aditivos antimicrobianos, el uso de aceites esenciales es la opción más

acertada, ya que son aditivos naturales que impiden el crecimiento bacteriano. (Cardoso & Sosa, 2012)

A estos compuestos se le atribuyen diferentes mecanismos de acción, según Cardoso & Sosa (2012) la actividad microbiana de los aceites esenciales aún no está descrita a ciencia cierta, pero se cree que actúa de diferentes formas, como por ejemplo degradación a la pared celular, daño a membrana citoplasmática, coagulación del citoplasma y agotamiento de la fuerza motriz de los protones, otros aceites esenciales constituyentes de la albahaca no tienen poder antimicrobiano pero actúan como potenciador de esta función.

Como mecanismo de defensa algunas plantas fabrican también sus aceites en contra de microorganismos y plagas, el aceite esencial de la albahaca tiene mecanismos de defensa contra los hongos, esta acción antifúngica se ha estudiado precisamente para tener una alternativa natural de conservantes en alimentos. (Cardoso & Sosa, 2012)

1.7 PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA HAMBURGUESA

El proceso de elaboración (Anexo V) sigue por lo general un lineamiento que se amolda a las necesidades de cada productor, sin embargo los pasos generales según García & Olmo (2010) son los siguientes:

1.7.1. Recepción de la carne

La carne debe someterse a procesos térmicos de enfriamiento, estos pueden ser congelamiento o refrigeración.

1.7.2. Predesmenuzado

Utilizando algunos instrumentos de reducción se busca conseguir de forma manual o mecánica la primera reducción de la materia prima, de modo que esté apta para el posterior paso de producción.

1.7.3. Picado

De este proceso dependerá la textura final del producto, por lo que se considera de gran importancia. Se debe conseguir una textura fibrosa y desmenuzable en el picado. Con las piezas fibrosas se suelen utilizar maquinas separadoras que ayudan a retirar las fibras de la carne magra.

1.7.4. Amasado

En este proceso se incorpora de una manera uniforme los demás ingredientes a la carne, para este fin se utilizan amasadoras de diferentes formas; con la recomendación de que se trabaje al vacío para cuidar la asepsia del producto final.

1.7.5. Moldeo y extrusión

Se necesita de maquinaria especializada que da la forma, tamaño y textura deseada. Para este proceso se utilizan con más frecuencia maquinas llenadoras, en la cual la carne se moldea en forma esférica y al final puede haber rodillos para extenderla; también se utilizan son las máquinas extrusoras, la masa se comprime, se amasa y posteriormente se impulsa por un orificio de corte. Con este tipo de máquinas se deben controlar factores críticos que puedan afectar a la producción.

1.7.6. Envasado y etiquetado

Para evitar la adherencia de la forma final a comercializar de la hamburguesa, se utilizan bandejas de poliestireno y se colocan láminas plásticas entre ellas. Es obligación señalar la fecha del envasado y caducidad en la etiqueta, como consecuencia a este proceso, el producto está listo para la comercialización.

1.8. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS

La demanda de la calidad alimenticia crece a diario con la industrialización mundial, la unificación de métodos, estadísticas, técnicas para con los alimentos, tiende a seguir por la línea de producción de alimentos no solo nutritivos, también a que tengan una amplia cobertura en el concepto de lo seguro, saludable y apetitoso. (Prieto, Mouwen, Puente, & Sánchez, 2008)

Por predilección los alimentos han sido los medios de cultivos perfectos para el crecimiento de un sin número de microorganismos. Hay diferentes vías por las cuales un alimento puede contener una carga anormal de microorganismos producto de su multiplicación, la contaminación puede iniciar en cualquier parte del proceso e inclusive desde mucho antes de la recepción de la materia prima, por lo que es necesario tener un control de calidad completo. Como principio del análisis microbiológico de alimentos se delimita que esta no tiene un carácter preventivo ya que es un medio que permite valorar y cuantificar la carga microbiana. (Vela, 2010)

Según Vaca (2011), la naturaleza de los microorganismos puede ser; “patógeno” por causar enfermedades y “alterante” ya que modifica sus sabores, texturas o son diferentes al olfato. Según el mismo autor, la mayoría de los microorganismos perjudiciales se elimina al alcanzar los 70°C de temperatura, cada patógeno tiene su ritmo de crecimiento y multiplicación, se ha podido identificar que a los 5°C caen en un periodo de letargo y su fase de crecimiento

decae; también señala que para asegurar la muerte de algunos organismos la temperatura deberá descender a menos de 3°C por un estimado de 72 horas.

La temperatura ideal de multiplicación de los microorganismos es entre 5 °C y los 60 °C y la mayoría de los microorganismos patógenos se destruyen en temperaturas aproximadas de 65 °C y 100 °C. (Vaca, 2011)

1.8.1. Microbiología aplicada en carnes y productos cárnicos

Según los estudios realizados por Vaca (2011), para el desarrollo de los patógenos que crecen en los compuestos proteínicos de origen animal, son importantes factores como el pH, la humedad y la temperatura. Normalmente los productos y subproductos cárnicos cuentan con la presencia de agentes microbianos que por lo general se mantienen en cantidades bajas o aceptables al mantener temperaturas por debajo de 0°C. (Vaca, 2011)

1.8.2. Marcadores de calidad microbiológica

La calidad microbiológica es un punto crítico en la elaboración de un producto cárnico, de esta dependerá la salud del consumidor y también los aspectos básicos de conservación del mismo antes de que llegue a su destino. (Velásquez, 2012)

Según Velásquez (2012), la detección rutinaria de los microorganismos puede pasar por una serie de inconvenientes, que pueden estar regidos por diversos factores circunstanciales, en todo caso siempre la afinidad apunta a tener resultados preventivos.

Vaca (2011), simplifica esta temática proporcionando las siguientes conclusiones:

- El recuento de *Aerobios mesófilos*, cuenta de hongos y levaduras, cuenta de coliformes totales; puede mostrar problemas durante el almacenamiento, anomalías en la calidad de la materia prima, extralimitación en cuanto a la temperatura.
- *Escherichia coli*, Coliformes fecales; indicadores de higiene.
- *Staphylococcus aureus*, coagulasa positiva; contaminación por mala manipulación.
- La presencia irregular de coliformes, enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, coagulasa positiva, *estreptococos* fecales, puede ser marcador de contaminación.

1.9 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LOS ALIMENTOS

Los análisis que se realizan a los productos finales bajo este concepto, se utilizan para asegurar el seguimiento de control durante su fabricación. El análisis proximal proporciona valores sobre, el contenido de humedad, nitrógeno total, fibra cruda, lípidos crudos y ceniza (Olvera, Martínez, & Real, 2011)

1.9.1. Determinación de humedad

El método se basa en el secado de una muestra en un material sometido a una determinada temperatura y su valor es la diferencia de peso entre el producto seco y húmedo. (Olvera et al., 2011)

1.9.2. Determinación de ceniza

Lucero (2005), conceptualiza el término residuo de incineración, al restante inorgánico resultante tras una combustión completa, una vez eliminado los restos posibles que puedan ser producto de la incineración incompleta, se podrá identificar aquel como la cantidad de minerales existente en el producto.

La composición de este residuo inorgánico puede estar conformada de óxidos, fosfatos, sulfatos, sodio, calcio, magnesio, completando un gran número de aniones y cationes. (Lucero, 2005)

1.9.3. Determinación de proteína

Por su valor, la proteína es una sustancia clave en la dieta, por lo consiguiente será el nutrimento de mayor importancia comercialmente hablando; también se califica como marcador de calidad de la materia prima (Olvera et al., 2011)

El método más utilizado para cuantificar porcentualmente la cantidad total proteínico era la determinación de nitrógeno orgánico o el método Kjeldahl. Actualmente se utilizan varios métodos que resultan como alternativas automatizadas total o parcialmente. (Lucero, 2005)

1.9.4. Extracto etéreo

Todo material que se solubiliza en éter es considerado como lípido, a este concepto se incluyen los componentes de la grasa como tal así como a sustancias que tienen esta característica afín, se evalúan como la porción porcentual del peso luego que se volatiliza el solvente. (Olvera et al., 2011)

1.9.5. Extracto libre de nitrógeno (ELN)

El extracto libre no nitrogenado, se determina por medio de la sustracción de los porcentajes obtenidos de la humedad, ceniza, fibra, lípidos y proteína de 100. (Olvera et al., 2011) (Lucero, 2005)

$$\text{ELN} = 100 - \sum (\%H + \%C + \% \text{ExE} + \%F + \%P) \quad (\text{Lucero, 2005})$$

1.10 ANÁLISIS SENSORIAL EN LOS ALIMENTOS

Se puede conceptualizar a la evaluación sensorial de los alimentos expresando la función inicial del ser humano, por su selectividad desde la niñez primaria en cuanto a la acogida o rechazo que le da a estos. En base a lo expuesto antes, se emiten juicios estándares para la selección de los atributos de los alimentos, ejecutados bajo pautas científicas, donde la herramienta de medida es el ser humano. (Barcino, 2001)

1.10.1. Percepción sensorial

En el estudio publicado por Vaca (2011), indica que el ser humano es perceptivo con relación al medio físico que lo rodea, esta característica se le proporciona sus sentidos; el autor afirma que según Marks, el hombre como tal está dotado de ocho sentidos gusto, olfato, vista, oído, tacto, dolor, frío y calor; estos últimos cuatro se agrupan dentro de uno solo al ser somato sensoriales por lo que se llega a la conclusión de cinco sentidos.

Vaca (2011), también contempla que la primera relación entre el alimento y el hombre se da por el sentido de la vista, luego por el olfato, le sigue el oído, el tacto y gusto, pero estos tres últimos se podrían dar de manera simultánea.

1.10.2 Clasificación de los atributos sensoriales

Severiano (2015), indica que no se puede tomar en cuenta solo un atributo para cada alimento, ya que existen varias reacciones y sensaciones al momento de una degustación, la caracterización se realizará generando criterios en base a lo percibido a través de los órganos de los sentidos, por lo que se llega a clasificaciones de acuerdo a la tipificación que le den los órganos sensoriales:

- **Apariencia:** para llegar a una conclusión se utiliza la vista, encierra todo lo que se perciba con ella: la tonalidad, la forma y además puede dar una idea e como podría ser al tacto.
- **Gusto:** Se utiliza la cavidad oral, básicamente la lengua, donde se da la excitabilidad de las papilas gustativas y por consiguiente la percepción de los cuatros sabores básicos; salado, dulce, ácido y amargo.
- **Textura:** Se manifiesta mediante el sentido del tacto, ubicado en casi todo el cuerpo. Ayuda a descubrir las características morfológicas, mecánicas y de constitución de muchos materiales.
- **Aroma:** Caracterizado por el olfato, cuya entrada principal es la nariz, las células neurotransmisoras del lugar detectan los olores derivados por los compuestos aromáticos.
- **Sonido:** detectado por el órgano auditivo, y se lo registra por la intensidad, altura y timbre.

1.10.3. Tipos de análisis sensorial

Según BARDA (2015), se habla de una tipificación de 3 grupos de análisis sensoriales: análisis descriptivo, discriminativo y el test al consumidor. (Barda, 2015)

1.10.3.1 Análisis descriptivo

Se considera como el más completo, en primer lugar aquí se trabaja con la parte cualitativa de las partes sensoriales y su posterior cuantificación, se realiza una descripción utilizando de ocho a quince epítetos para describir el producto. (Barda, 2015)

Como segundo paso se entrena a las personas, para que, entre el conjunto de catadores se considere una escala de medición, con el fin de que manejen un criterio global de la intensidad de los sinónimos y califiquen de acuerdo al consenso establecido. Para este análisis se necesita un panel no mayor a 10 jueces. (Barda, 2015)

1.10.3.2 Análisis discriminativo

Se usa para tener evidencia de las diferencias que existieran entre muestras tratando de unificar los juicios entre productos sin consultar sus propiedades o atributos. Aquí se emplean como mínimo de 20 a 25 jueces. (Barda, 2015)

1.10.3.3. Test del consumidor

Se trata de la evaluación hedónica, se trabaja con estimadores no entrenados, aquí se indaga si tiene una aceptación o no el producto para su gusto personal, esta opinión marca la diferencia entre el presente y los dos tipos de análisis anteriores. (Barda, 2015)

Según Barda (2015), el evaluador no debe cumplir con ningún otro requisito más que el de consumir asiduamente el producto y para que el test sea significativo, se necesitan los criterios de mínimo 80 personas.

1.10.4. Requisitos para la ejecución de análisis sensorial

Según Vaca (2011), Lo que se necesita principalmente en el caso de análisis discriminativo y descriptivo es seleccionar a los evaluadores, se distinguen varios grupos de jueces; Panelista experto, además de su gran experiencia, tiene una fina sensibilidad para diferenciar, emitir criterios y valorar sobre particularidades de un alimento; panelista entrenado, esta persona ha sido adiestrada en base a conceptos y a ejecución de los mismos, además sabe a ciencia cierta lo que se desea evaluar en este tipo de pruebas; panelista semi entrenado, capacitados para diferenciar entre muestras pero aún no tienen habilidad para hacer mediciones con escalas; y consumidor, emiten criterios solo de aceptación y rechazo, siendo asiduos consumidores del producto evaluado.

1.10.5. Requisitos del ensayo sensorial

Para la realización de estas actividades de una forma valida se deben tener en cuenta aspectos que contribuyan a que la evaluación sea lo más veraz posible, para ello se necesita que el entorno sea adecuado con un ambiente físico óptimo acorde a la actividad a ejecutar, en lo posible deben ser compartimientos personales, exentos de cualquier distracción, adecuados a las necesidades de la actividad a realizar, con iluminación controlada y carencia de elementos de distracción como ruidos u olores. (Vaca, 2011)

1.11 PRUEBAS ESTADÍSTICAS

Un análisis de tipo estadístico se puede ejecutar por diferentes metodologías, al reportar un informe de los resultados obtenidos, se debe aclarar de forma referencial el método estadístico utilizado. (Hernández, 2005)

Las metodologías estadísticas empleadas son principalmente; visuales, estas permiten examinar el trabajo por simple inspección; las metodologías univariantes, califican cada una de las variables como si no tuvieran dependencia entre sí; las metodología multivariantes califican todos los atributos a la vez con la finalidad de averiguar si existe alguna discordancia entre las muestras; y también pueden usarse metodologías no paramétricas que proporcionan resultados menos exactos pero son más sólidos en cuanto a su metodología. (Hernandez, 2005)

1.11.1. Anova

Este método es apropiado para comparar medias de resultados obtenidos generalmente de estudios, control de procesos y control de métodos analíticos. (Gonzales, Rodeiro, Sanmartin, & Vila, 2014)

1.11.2. Prueba de rango múltiple

También se la conoce como prueba de Duncan, se la puede utilizar cuando los tamaños de las muestras tienen una proporción similar y los tratamientos presentan una relación ordinal; en otras palabras pueden colocarse de manera ascendente o descendente. (Wong, 2010)

1.11.3 Alfa de Cronbach

Este método califica o estima la fiabilidad del instrumento de medida, se lo realiza a través de un conjunto de ítems, de los que se espera calculen la misma herramienta.

Como criterios de medición obtenemos los siguientes resultados: ≤ 0.5 es inaceptable, ≥ 0.5 es pobre; ≥ 0.6 es cuestionable; ≥ 0.7 es aceptable; ≥ 0.8 es bueno; ≥ 0.9 es excelente. (Frías, 2014)

1.12. GLOSARIO: DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Liofilización.- Proceso por el cual un producto puede ser llevado a un estado de polvo y se puede reconstituir con el solvente apropiado.

Aditivo.- sustancia que aporta al alimento una propiedad, ya sea saborizante, conservante, estabilizante, etc.

Flavonoide.- Término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios producidos por las plantas.

Canal.- cuerpo entero de un animal de abasto, después del sangrado evisceración y ablación de las extremidades.

Magra.- Flaco, enjuto, carne sin grasa.

Liposoluble.- Afín a los compuestos grasos

Animal de abasto.- Animales utilizados para alimentación

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

2.1 MÉTODOS CIENTÍFICOS EMPLEADOS EN LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Métodos teóricos

El presente trabajo se apoyó en diferentes fuentes bibliográficas, citadas de manera correspondiente, los resultados obtenidos fueron analizados y explicados con bases investigativas de referencia; el contenido desarrollado fue el siguiente:

- Inductivo – deductivo
- Sintético
- Cuantitativo

2.1.2. Métodos científicos

Con la consecución de los procesos relacionados con este método, se aportaron hechos y datos que ayudaron a dar respuesta a la hipótesis planteada, estableciéndose las siguientes etapas: Observación, Experimentación, Estudio de documentación, Estudio de resultados de la investigación, Test o pruebas.

2.1.3 Métodos matemáticos o estadísticos

Del mismo modo se utilizó esta metodología, para analizar los resultados obtenidos en el presente estudio. Para ello se recurrió al uso de la estadística descriptiva con la que se ordenó, se dio una secuencia y clasificación adecuada a los datos recolectados, y al Análisis de Varianza para valorar la influencia de los diferentes factores estudiados sobre los resultados obtenidos

2.2. METODOLOGÍA

GRÁFICO I: DISEÑO METODOLÓGICO



2.3. TIPO DE INVESTIGACIÓN

2.3.1 Investigación experimental

Utilizando metodologías científicas se analizó el desarrollo de un producto cárnico, se emplearon métodos teóricos de deducción, inducción, síntesis, estadísticos; mediante entrevistas y encuestas se recopilaban datos importantes y se utilizaron técnicas de investigación experimental, teniendo como soporte la documentación científica existente del tema.

2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA INVESTIGACIÓN

El desarrollo del producto hamburguesa a base de ganado caprino con adición de perejil y albahaca, tuvo lugar en el laboratorio de Análisis Químico de Alimentos, de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil; En el mercado local se obtuvieron los ingredientes para las formulaciones: carne de cabra (hembra) o macho castrado, proveniente de los muslos; hierbas aromáticas *Petroselinum crispum* (perejil) y *Ocimum basilicum* (albahaca) y resaltador de sabor, todos naturales. Se realizó la recepción y codificación de las mismas siguiendo el protocolo de conservación de cada una: carne fresca (0°C y 4°C), productos vegetales frescos, huevos y sal.

2.4.1. Elaboración del producto

Durante la elaboración, se mezclaron los ingredientes y se amasaron en un recipiente de acero inoxidable, hasta dar la consistencia esperada y de manera uniforme se elaboraron formas circulares y planas, de aproximadamente 1 cm de altura x 8 cm de diámetro; éstas se escaldaron con vapor de agua (100°C) a 15 cm de altura, por espacio de 10 minutos y

se colocaron de forma separada en una bandeja plana de acero inoxidable; se dejaron enfriar a temperatura ambiente, acto seguido se empaquetaron en bandejas de poliestireno expandido y se recubrió cada bandeja con una lámina plástica flexible, ambos materiales utilizados en la industria alimenticia finalmente se llevó el producto a temperatura de congelación (-2 °C), por espacio de 3 meses. (Anexo IV: Diagrama de la metodología del proceso de elaboración de la hamburguesa) Se realizaron pruebas sensoriales por simple inspección de los lotes almacenados. Se ejecutaron valoraciones proximales, contempladas en la norma NTE INEN 1338:2012.

2.4.2. Análisis sensoriales

2.4.2.1. Elaboración de diseño experimental

Para los análisis sensoriales se estableció un diseño factorial 3², en el que los porcentajes de albahaca y perejil se manipularon como se muestra en la tabla V.

TABLA V: DISEÑO EXPERIMENTAL

ALBAHACA (%)	PEREJIL (%)		
		1.5	2.3
1.5	A1P1	A2P1	A3P1
2.5	A1P2	A2P2	A3P2
3.5	A1P3	A2P3	A3P3

Elaboración propia.

Se obtuvieron 9 formulaciones las cuales se evaluaron por dos metodologías; la escala hedónica y el test “marque todo lo que corresponda” o Check-All-That-Apply (CATA). (Anexo VII)

2.4.2.2. Diseño experimental y escala hedónica

Para este estudio se recolectaron datos por medio de test al consumidor (escala hedónica), análisis descriptivos y análisis discriminativos. Para la obtención de las formulaciones iniciales, se continuó de acuerdo al diseño experimental planteado, con variaciones en los porcentajes de albahaca y perejil (TABLA VI); se utilizaron utensilios de acero inoxidable, (recipientes de grado alimenticio), estufa, materiales de limpieza pertinentes; se consideraron los criterios sensoriales de alumnos que cursan la asignatura de Análisis Químico de Alimentos práctico 2015-2016.

TABLA VI: DISEÑO EXPERIMENTAL CON VARIACIONES EN LOS

FORMULA	PEREJIL (%)	ALBAHACA (%)	CARNE (%)	HUEVO (%)	SAL (%)
F1	1.50	1.50	88.9	6	2.10
F2	1.50	2.50	87.9	6	2.10
F3	1.50	3.50	89.9	6	2.10
F4	2.30	1.50	88.1	6	2.10
F5	2.30	2.50	87.1	6	2.10
F6	2.30	3.50	86.1	6	2.10
F7	3.50	1.50	86.9	6	2.10
F8	3.50	2.50	85.9	6	2.10
F9	3.50	3.50	84.9	6	2.10

Tabla que especifica la cantidad porcentual de los ingredientes utilizados en cada una de las formulaciones.

PORCENTAJES DE ALBAHACA Y PEREJIL.

Elaboración propia.

En el test hedónico los 80 participantes recibieron las nueve formulaciones y evaluaron los atributos que se pusieron en consideración utilizando una escala de cinco puntos según se muestra en la boleta de evaluación (Anexo II), otorgando el valor 5 a la calificación Me gusta mucho y el valor 1 a la calificación Me disgusta mucho.

2.4.2.3. Índice de calidad sensorial

Los 80 panelistas ordenaron los mismos atributos antes evaluados según el criterio de importancia de cada uno, con este resultado se relacionó la escala hedónica proporcionando un índice de calidad sensorial para cada atributo y finalmente seleccionar la fórmula de mayor ICS.

$$\text{ICS} = \text{Fn}(\text{Aspecto}) + \text{Fn}(\text{consistencia}) + \text{Fn}(\text{Color}) + \text{Fn}(\text{Olor}) + \text{Fn}(\text{Sabor}) + \text{Fn}(\text{Jugosidad})$$

Una vez encontrado el valor en función de cada uno de los atributos (TABLA VIX), se procede a tabular datos de la escala hedónica, en la que se evaluó cada una de las formulaciones según una escala de cinco puntos que va desde me disgusta mucho (mínima puntuación), hasta me gusta mucho (máxima puntuación) (Anexo VII) . Para encontrar el Índice de Calidad Sensorial (ICS) de cada una de las formulaciones, aplicamos la siguiente ecuación:

Una vez establecida la fórmula del ICS se realizó la prueba hedónica donde se evaluó el grado de aceptación para cada atributo sensorial estudiado.

2.4.2.4 Check-All-That-Apply (CATA)

A los jueces antes mencionados, se les entregó otra boleta para realizar el test CATA; en el que escogían de una lista de atributos, los que a ellos les parecía adecuados para describir cada una de las nueve formulaciones.

2.4.2.5 ANOVA

Con los datos obtenidos se calculó el valor del alfa de Cronbach, se realiza para saber qué tan fiables son los recursos humanos utilizados como instrumentos de medida, luego se realizó el análisis de varianza (ANOVA).

2.4.2.6. Test de jueces semi-entrenados

A la fórmula con el índice de calidad sensorial más elevada, se la comparó frente a tres marcas de hamburguesas del mercado local, para esto se utilizaron nueve jueces semi-entrenados quienes primero definieron los atributos a evaluar y posteriormente los evaluaron utilizando una escala grafica no estructurada (Anexo VIII).

2.4.3 Análisis estadísticos

Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 22. Los datos obtenidos mediante la prueba hedónica fueron transformados a valores numéricos y se utilizó la estadística descriptiva para hallar los valores medios. A los datos obtenidos mediante la prueba CATA se les evaluó la confiabilidad mediante el valor alfa de Crombach y se les realizó un análisis de varianza para determinar las diferencias entre fórmulas y atributos. En caso de ser necesario se realizó la prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

2.4.4. Análisis proximales realizados

2.4.4.1. Determinación del contenido de nitrógeno

Se determinó por el método Kjeldahl, esta evaluación consta de tres partes: Digestión de la porción de ensayo con ácido sulfúrico concentrado, utilizando sulfato de cobre (II) como catalizador, para convertir el nitrógeno orgánico a iones amonio; Destilación del amoníaco liberado en una solución en exceso de ácido bórico, titulación con ácido clorhídrico para determinar el amoníaco ligado al ácido bórico, y cálculo del contenido de nitrógeno de la muestra cárnica de la cantidad de amoníaco producido. Para expresar el resultado en % proteínico se utilizó el

factor de conversión para alimentos de origen animal 6.25. Para las determinaciones realizadas se utilizó el equipo kjeldahl laboratory company, modelo 3390. (NTE INEN-ISO 937:2013-09)

2.4.4.2. Determinación del contenido total de grasa

Método gravimétrico (Método Soxhlet): Describe la extracción de sustancias de carácter lipídico con éter dietílico o éter de petróleo, seguida por la evaporación del mismo, se utilizó el equipo de extracción de Soxhlet (Del fabricante precision scientific inc, modelo 10-T-2), que consta de un refrigerante que se comunica con un tubo Soxhlet este posee un sifón, en su interior se encuentra un cartucho de albúmina, en la parte inferior del tubo Soxhlet se localiza un matraz de fondo plano el que se comunica con la fuente de calor. La diferencia del peso del balón con la grasa que se extrajo, menos la tara del balón (Balanza: Boeco Germany), dio como resultado los gramos que contiene la muestra (N) este se multiplicó por 100 y se dividió para el peso de la muestra (P), finalmente se obtuvo el % de grasa en la muestra cárnica:

$$\% \text{ de grasa} = N \times 100 / P$$

2.4.4.3. Determinación de cenizas totales por calcinación seca

Esta determinación se realizó por medio de la cuantificación porcentual de las cenizas de la muestra cárnica, al someterla a temperaturas de 600 °C aproximadamente, utilizando una mufla (Veb Elektro, Bad Frankenhausen) y crisol de porcelana. El resultado se obtuvo por la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas Totales} = N \times 100 / P$$

Donde N: g de cenizas la muestra

P: g de muestra

2.4.4.4. Determinación de contenido de humedad

En la determinación de humedad se utilizó el principio de secado por radiación infrarroja, esta evaluación se realizó escogiendo el escalón 4 en la balanza infrarroja (Mettler Toledo LP11-P160N), el tiempo de secado fue de 11 minutos a una temperatura de 115 °C.

2.4.5. Análisis microbiológicos realizados

Siguiendo los requisitos microbiológicos para productos cárnicos precocidos congelados contemplados en la NTE INEN 1338:2012 (Anexo VI):

2.4.5.1. Aerobios mesófilos

Determinación de la cantidad de microorganismos. Control microbiológico de los alimentos; utilizando el agar para recuento en placa (Plate Count Agar) y agua peptonada al 1% como diluyente, como se contempla en la norma INEN 1529-5:2006 (Anexo XII).

2.4.5.2. Escherichia coli

Mediante el recuento de placas Petri Film, siguiendo el protocolo de dilución de la muestra. Inoculación, incubación y conteo de las unidades formadoras de colonia; método establecido según el ensayo de la AOAC 991.14 (Anexo XIII).

2.4.5.3. Staphilococcus áureus

La determinación se hace finalmente con la prueba de la termonucleasa utilizando el agar azul de toluidina O-ácido desoxirribonucleico (DNA). Recuento

de placa de siembra por extensión de superficie según la NTE INEN 1529-14 (Anexo X).

2.4.5.4. *Salmonella*

Utilizando agua de peptona tamponada como diluyente y de agar selectivo; siguiendo protocolos de preenriquecimiento, enriquecimiento selectivo, aislamiento, purificación, selección, identificación bioquímica, confirmación serológica. Se la realiza de acuerdo a la norma NTE INEN 1529-15 del control microbiológico de alimentos, método de detección (Anexo XI).

2.5 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población estuvo conformada por estudiantes que cursan la carrera de Química y Farmacia, de la Facultad de Ciencias Químicas, periodo lectivo 2015-2016, de la Universidad de Guayaquil.

La muestra poblacional para este grupo de individuos, fue obtenida por medio del uso de las pruebas de evaluación sensorial; descriptiva, discriminativa, y el test al consumidor, que establecen un número de; menor a 10, de 20-25 y 80 jueces respectivamente. (BARDA, 2015)

CAPÍTULO III

RECOLECCION DE DATOS. ANÁLISIS E

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESCALA HEDÓNICA

Se evaluaron las nueve formulaciones establecidas (TABLA V), la selección de la fórmula de mayor ICS, fue realizada a partir de los criterios emitidos por jueces que a su vez son consumidores asiduos de este tipo de productos. Primero ordenaron de mayor a menor, de acuerdo a su criterio, la importancia de las propiedades sensoriales a evaluar (Aspecto, Color, Olor, Sabor, Consistencia y Jugosidad), esta información se utilizó para obtener un valor en función de cada uno de los atributos, el cual se calculó de la siguiente manera:

$$T = (80)21 = 1680$$

Donde T representa el valor total de la suma de los seis atributos: $6+5+4+3+2+1= 21$ y 80 el número de personas participantes en el estudio (Tabla IX).

TABLA VII: Σ VALOR ATRIBUTOS

	Aspecto	Color	Olor	Sabor	Consistencia	Jugosidad
Σ 80 Jueces	449	350	327	249	195	110

Elaboración propia.

Aplicamos la siguiente ecuación para hallar el valor en función de cada atributo (Tabla X): $\Sigma \text{ valor (atributo)}/1680 = F_n$ (número para cada atributo)

TABLA VIII: FN ATRIBUTOS

ATRIBUTOS	Fn
Aspecto	0,27
Color	0,21
Olor	0,19
Sabor	0,15
Consistencia	0,12
Jugosidad	0,07

Elaboración propia.

Los resultados se muestran a continuación (Tabla XI):

TABLA IX: VALOR MEDIO DE CADA ATRIBUTO PARA CADA FORMULACIÓN

ATRIBUTOS	FÓRMULA								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Aspecto	4,2	4,3	4,4	4,1	4,0	4,1	3,9	3,8	4,4
Consistencia	4,0	4,4	4,1	4,4	3,9	4,0	4,2	4,1	4,0
Color	4,1	4,1	4,1	4,2	3,9	3,9	4,1	4,1	4,1
Sabor	4,3	4,4	4,2	4,0	3,8	4,2	4,1	4,3	4,0
Jugosidad	3,4	4,1	3,7	3,5	3,6	4,0	4,0	4,0	3,7
Olor	4,5	4,5	3,8	3,5	3,8	4,2	4,2	4,0	4,1

Elaboración propia

*Los valores medios son el resultado de 80 consumidores potenciales

La mayoría de las formulaciones según los términos para los consumidores calificaron como “Me gusta” según la prueba hedónica. Los que fueron valorados como “Me es indiferente” fueron los siguientes: en la F1 y F9 el atributo jugosidad, F3 y F4 en los atributos jugosidad y olor, el aspecto de la F7 y F8, el color de la F6, y todos los atributos a excepción del aspecto en la F5.

Los resultados obtenidos para ICS para cada una de las formulas fueron los siguientes (TABLA XII) y el correspondiente gráfico (Anexo IV)

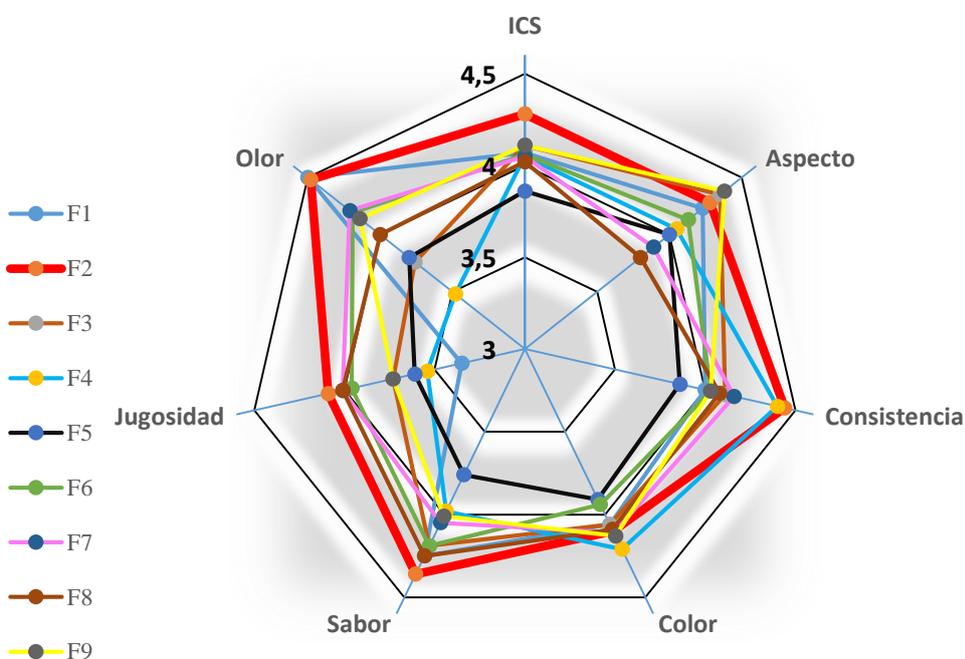
TABLA X: VALOR DE ICS PARA CADA UNA DE LAS FÓRMULAS

FÓRMULA	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ICS	4,07	4,28	4,11	4,05	3,86	4,06	4,05	4,08	4,11

Elaboración propia.

Todas las fórmulas presentan un ICS equivalente a “Me gusta”, aunque se puede notar por simple inspección, que la formula con más aceptación fue la F2 (Tabla VII), a continuación se observa el grafico radial que ilustra el comportamiento de los atributos en cada formula detallado en la tabla anterior, fácilmente se observa que la F5 posee menor puntuación alejándose un poco del valor máximo y de igual modo de F2 que es la formulación que presenta las mayores puntuaciones como lo indica el GRÁFICO II. De hecho, el espacio sensorial de la fórmula F2, abarca prácticamente el espacio sensorial de todas las formulaciones.

GRÁFICO II: Comportamiento de los atributos en cada fórmula



Elaboración propia.

3.2. COEFICIENTE ALFA DE CRONBACH

El coeficiente Alfa de Cronbach se lo utiliza para medir el buen funcionamiento de un material de medida utilizando un conjunto referente, que se estima tengan la misma dimensión numérica. La eficacia que posee un instrumento describe a la eficacia con la que un instrumento calcula lo que debe medir.

Esta estimación se realiza con el alfa de Cronbach. Frías (2014), expone que como guías de fiabilidad según Cronbach tenemos las siguientes referencias: ≤ 0.5 es inaceptable, ≥ 0.5 es pobre; ≥ 0.6 es cuestionable; ≥ 0.7 es aceptable; ≥ 0.8 es bueno; ≥ 0.9 es excelente.

En este trabajo se obtuvo un valor de **0.81**, lo que representa que en este caso el reporte de los datos posee un grado de coherencia interna elevado, como expone Frías (2014).

3.3. CHECK-ALL-THAT-APPLY (CATA)

Este tipo de encuesta se utiliza cuando hay la necesidad de tomar en cuenta ciertos ítems que puedan evaluar algunas características de un producto. Los resultados se muestran a continuación en la tabla XIII:

TABLA XI: DATOS DE EVALUACION CATA

ATRIBUTOS	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Dureza*	71	70	65	69	52	55	56	69	70
Salado	68	65	62	67	72	61	65	67	66
Ácido	1		1	1	1	1	1	1	2
Sabor intenso*	64	30	6	9	9	12	11	14	12
Rancio			1					1	
Jugosidad*	60	59	75	32	75	62	63	77	69
Amargo							1		
Regusto*	46	60	60	69	50	54	61	58	57
Consistencia*	65	63	75	72	73	74	74	77	75
Picante*	10	11	2	1	3	1	2	4	4
Agrio	2					1	2		3
Olor característico	75	76	74	75	73	76	72	73	75

Elaboración propia.

Los atributos marcados con asteriscos mostraron valores significativos en el análisis de varianza, siendo los que establecen las diferencias entre las fórmulas Tabla (XIV).

3.4. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS

TABLA XII: VARIABLES SIGNIFICATIVAS

Variable	Dureza	Sabor intenso	Jugosidad	Regusto	Consistencia	Picante
F	4,668	31,739	16,9118	2,974	13,234	3,582
SIGN	0,000	0,000	0,000	0,005	0,001	0,000

Elaboración propia.

De los 12 atributos evaluados solo los que se muestran tuvieron un valor significativo.

TABLA XIII: RANGO DE MENCIÓN POR ATRIBUTO

ATRIBUTO	Dureza	Sabor intenso	Jugosidad	Regusto	Consistencia	Picante
RANGO	52-71	6-64	32-77	46-69	63-77	1-11

Elaboración propia.

En la Tabla XV se describe el rango numérico de jueces que identificaron el atributo en mención dentro de las nueve fórmulas. Como se puede observar, en los atributos; sabor intenso, dureza, jugosidad, regusto y consistencia, la percepción fue significativamente notable. A diferencia del atributo picante, que fue importante para muy pocos jueces.

3.5. PRUEBA DE RANGOS MÚLTIPLES: DUNCAN

TABLA XIV: TABLA DUNCAN

FÓRMULA	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
ALBAHACA %	1.50	2.50	3.50	1.50	2.50	3.50	1.50	2.50	3.50
PEREJIL %	1.50	1.50	1.50	2.30	2.30	2.30	3.50	3.50	3.50
DUREZA	71 b	70 b	65 b	69 b	52 a	55 a	56 a	69 b	70 b
SABOR INTENSO	64 c	30 b	6 a	9 a	9 a	12 a	11 a	14 a	12 a
JUGOSIDAD	60 b	59 b	75 c	32 a	75 c	62 b	63 b	77 c	69 bc
REGUSTO	46 a	60 bc	60 bc	69 c	50 ab	54 ab	61 bc	58 abc	57 abc
CONSISTENCIA	65 ab	63 a	75 c	72 bc	73 c	74 c	74 c	77 c	75 c
PICANTE	10 b	11 b	2 a	1 a	3 a	1 a	2 a	4 a	4 a

Elaboración propia.

Cantidades con letras diferentes en una misma fila, difieren significativamente entre sí ($p < 0,05$).

Al analizar los valores encontrados (Tabla XVI) se observa que la detección de sabor intenso y sabor picante fue mayor para las fórmulas F1 y F2, asociado a la menor presencia de perejil y relativamente baja presencia de albahaca. Esto puede indicar que los consumidores en realidad detectaban el sabor característico de la carne caprina, el cual en el resto de las fórmulas se enmascara parcialmente por la acción de los condimentos empleados. En todas las formulaciones, los jueces declararon la presencia de regusto, lo cual también puede asociarse a ese sabor característico. En general los jueces consideraron que los atributos dureza, consistencia y jugosidad, eran detectables en todas las formulaciones.

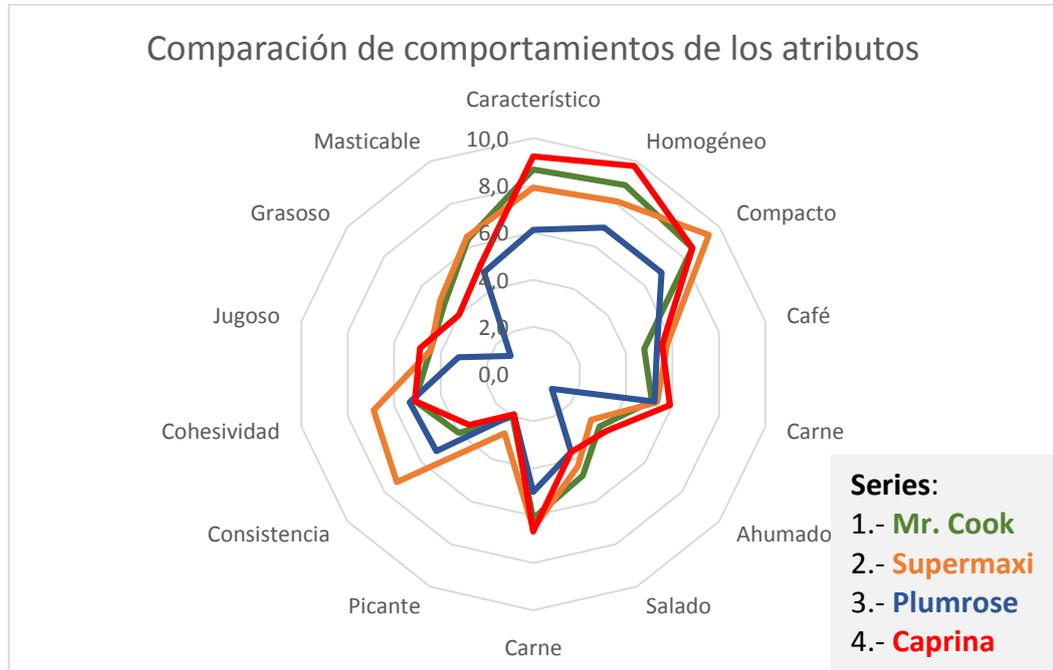
3.6 EVALUACIÓN DEL PRODUCTO FRENTE A 3 MUESTRAS DEL MERCADO POR JUECES ENTRENADOS

TABLA XV: MEDIA DE LOS ATRIBUTOS POR CADA MUESTRA

Muestras	1	2	3	4
Característico	8,7	7,9	6,1	9,2
Homogéneo	8,9	8,1	6,9	9,8
Compacto	8,6	9,4	6,9	8,6
Café	4,8	5,8	5,3	5,6
Carne	5,1	5,3	5,2	5,9
Ahumado	3,6	3,1	1	3,9
Salado	4,8	4,3	3,7	3,7
Carne	6,1	6,6	5	6,7
Picante	2	2,8	1,9	1,9
Consistencia	4	7,3	5,2	3,4
Cohesividad	5,1	6,9	5,3	5,1
Jugoso	4,4	4,4	3,2	4,9
Grasoso	4,8	5	1,2	4
Masticable	6,3	6,4	4,8	5,1

Elaboración propia.

GRÁFICO III: COMPARACION DEL COMPORTAMIENTO DE LOS ATRIBUTOS FRENTE A LAS MARCAS COMERCIALES.



Los atributos de la hamburguesa desarrollada se comportan en términos generales de forma similar a los de las hamburguesas comerciales. Sin embargo, es fácil observar que la hamburguesa SUPERMAXI presenta mayor cohesividad y consistencia que el resto, probablemente debido a su mayor contenido de harina. Esto concuerda con que el mayor sabor a carne se presenta en la hamburguesa caprina, elaborada 100 % con carne, sin empleo de harina de cereal y en la hamburguesa Mr. Cook, aunque de esta última no se evaluó su composición. En cuanto a la hamburguesa Plumrose, es la que presenta mayores diferencias en sus atributos, pero debe señalarse que este producto está diseñado para ser cocido de forma diferente al resto.

3.7. ANÁLISIS PROXIMALES REALIZADOS EN LA CARNE CAPRINA EMPLEADA.

Los resultados de los análisis físico-químicos de la carne empleada se muestran en la tabla VII (Anexo III):

TABLA XVI: ANÁLISIS PROXIMAL DE CARNE CAPRINA

DETERMINACIÓN	CANTIDAD
PROTEÍNAS	26.51% ± 0.57
GRASAS	3.4 % ± 0.41
HUMEDAD	47.46 % ± 0.48
CENIZAS	0.97 % ± 0.02

Los valores son la media de 3 determinaciones.

Elaboración propia.

Estos resultados demuestran que la carne empleada cumple con los requisitos físico-químicos establecidos por el Servicio Ecuatoriano de Normalización, y según la norma NTE INEN 1 346:2010 por su contenido en grasa se cataloga como TIPO I o magra. (INEN, 2010) En la Tabla VIII se muestran los valores de referencia:

TABLA XVII: REQUISITOS DE LA CARNE MOLIDA

GRASA TOTAL	UNIDAD	M I N.	M A X.	METODO DE ENSAYO
TIPO I	%	-	15	NTE INEN 778
TIPOII	%	>15	30	
TIPOIII	%	>30	40	

Fuente: INEN, 2010

3.8 RESULTADOS DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS

TABLA XVIII: RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

PARÀMETROS	UNIDAD	RESULTADOS	*REQUISITOS
<i>Aerobios mesófilos</i>	UFC/g	1x10 ¹	m= 1x 10 ⁶ - M= 1x 10 ⁷
<i>Contaje de E.Coli</i>	UFC/g	<1x10 ¹	m= 1x 10 ² - M= 1x 10 ³
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	<1x10 ¹	m= 1x 10 ³ - M= 5x 10 ⁴
<i>Salmonella</i>	Spp/25g	No detectado	No detectado

Las muestras fueron realizadas por triplicado

*El informe realizado por Laboratorios AVVE se encuentra anexado en el presente trabajo.

Como se observa, el producto desarrollado CUMPLE con los Requisitos Microbiológicos establecidos según Norma INEN 1338:2012.

3.9 COSTO POR Kg DE PRODUCTO ELABORADO

TABLA XIX: COSTO POR CADA KG DE PRODUCTO ELABORADO

Materia prima	Valor en dólares	Peso en gramos	Peso de materia prima/kg producto crudo	Costo en dólares/kg
Carne	10,25	1000	871	8,93
Huevo	0,30	100	61,4	0,18
Perejil	0,75	100	25,6	0,19
Albahaca	0,75	100	23,6	0,18
Sal	0,35	500	18,4	0,02
Total			1000	9,50

Elaboración propia.

Como se observa, el costo es mayor que el de las hamburguesas convencionales, pero esto es debido a que se trata de producto elaborado íntegramente a base de carne caprina, sin la adición de extensores que si bien aminoran su costo, también reducen su valor nutricional.

CONCLUSIONES

La caracterización sensorial de las formulaciones desarrolladas, muestra que estas son aceptadas por los consumidores y que la formulación F2 posee el mayor valor del índice de calidad sensorial (4,28).

Los atributos dureza, sabor intenso, jugosidad, regusto, consistencia y picante son los que los consumidores detectan como diferenciadores entre las formulaciones.

La formulación seleccionada presenta características sensoriales similares a las promedio de sus homólogos comerciales.

Se desarrolló una formulación de hamburguesa a base de carne de ganado caprino con adición de Perejil (*Petroselinum crispum*) y Albahaca (*Ocimum basilicum*), aceptable e inocua para el consumidor, que además cumple con los estándares microbiológicos requeridos de la NTE INEN PARA CARNES Y PRODUCTOS CÁRNICOS.

El índice de costos de materias primas muestra un valor relativamente elevado, pero acorde a la calidad intrínseca del producto.

RECOMENDACIONES

Según los resultados obtenidos, se pueden realizar las siguientes recomendaciones:

- Elaborar hamburguesas a base de carne de cabra, con adición de otros ingredientes que aporten nutrientes al producto.
- Utilizar aditivos naturales diferentes y realizar las respectivas pruebas de estabilidad al producto hamburguesa a base de carne de ganado caprino.
- Establecer un análisis para indicar el valor nutricional que aporta el consumo de una porción (120 g) del producto.

BIBLIOGRAFÍA

- Alimentarios, C. (2012). Norma para la Sal de Calidad Alimentaria. *CODEX STAN 150*, 1-5.
- Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez, M., & Ventanas, J. (2012). Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne*, 63-73.
- Asociación Argentina Caprina. (2010). *Beneficios y Calidad de la Carne de Cabra*. Palermo: Asociación Argentina Caprina.
- Barcino, Y. (2001). Análisis sensorial en los alimentos. En F. Ibáñez, & Y. Barcino, *Análisis sensorial de alimentos: métodos y aplicaciones* (págs. 1-14). Barcelona: Springer.
- Barda, N. (2015). Análisis sensorial de los alimentos. *Fruticultura y diversificación*, 34-37.
- Bello, J. (2010). Carnes y derivados. En A. Gil, *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los alimentos* (págs. 29-53). Madrid: Médica Panamericana.
- Bernardi, D., Teixeira, E., & Queiroz, M. (13 de enero de 2014). *Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria*. Obtenido de SENASA : http://viejaweb.senasa.gov.ar/Archivos/File/File7243-metodo_traduccion.pdf
- Camiruaga, M. (12 de 06 de 2015). *Pontificia Universidad Católica de Chile*. Obtenido de Pontificia Universidad Católica de Chile: http://www7.uc.cl/sw_educ/prodanim/mamif/siii14.htm
- Cardoso, G., & Sosa, M. (2012). Propiedades del aceite esencial de albahaca blanca (*ocimum basilicum* L.) y sus aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 54-65.
- Cohen, A. (2008). Hamburguesa. En A. COHEN, *La asombrosa historia de las palabras* (págs. 39-40). Mexico: Libros en red.
- Corini, M. (8 de abril de 2013). *Scribd*. Obtenido de Scribd: <http://es.scribd.com/doc/134693154/CALIDAD-DE-LA-CARNE-DE-CABRA-doc#scribd>

- FAO. (2007). *La Situación de los Recursos Zoogenéticos Mundiales para la Alimentación y la Agricultura-resumen*. ROMA: Editado por Dafydd Pilling & Barbara Rischkowsky.
- FAO. (27 de 1 de 2011). *Food and Agriculture Organization*. Obtenido de Food and Agriculture Organization: <http://www.fao.org/docrep/014/am401s/am401s03.pdf>
- FAO. (4 de 07 de 2015). Obtenido de <http://www.fao.org/ag/ags/gestion-poscosecha/carne-y-productos-carnicos/antecedentes-y-consumo-de-carne/composicion-de-la-carne/es/>
- Fonnegra, R., & Jiménez, S. (2007). Perejil. En R. Fonnegra, & S. Jiménez, *Plantas medicinales aprobadas en Colombia* (págs. 208-210). Medellín: Universidad de Antioquía.
- Francois, L. (2012). *Método científico*. México: UNAM.
- Frías, D. (2014). Análisis de la fiabilidad de las puntuaciones de un instrumento de medida. Alfa de Cronbach, un coeficiente de calidad. *Apuntes de SPSS*, 1-10.
- García, G., & Saenz, B. (2006). Las hamburguesas en la alimentación. *Fundacion Española de la Nutrición*, 19-36.
- García, L., & Olmo, V. (18 de Noviembre de 2010). *Universidad politecnica de Cataluña*. Obtenido de Universidad politecnica de Cataluña: <http://ben.upc.es/documents/eso/aliments/HTML/carnico-6.html>
- Gómez, A., Pinos, J., & Aguirre, J. (2009). *Manual de producción caprina*. Mexico: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Gómez, T. (29 de Enero de 2015). *El Mundo*. Obtenido de elmundo.com Web site: http://www.elmundo.com/porta/vida/gastronomia/ligantes_en_la_cocina.php#.VhoO327aRdg
- González, V., Rodeiro, C., San Martín, C., & Vila, S. (2014). ANOVA. En V. González, C. Rodeiro, C. San Martín, & S. Vila, *Introducción al análisis sensorial* (págs. 18-20). A. Coruña: SGAPEIO- IES de Mugarzos.
- Hernández, A., & Pesántes, M. (2014). Producción lechera de cabras Criollas y Anglo-Nubian en Loja, Ecuador. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 105-108.

- Hernandez, E. (2005). Métodos estadísticos empleados en la evaluación sensorial de alimento. En E. Hernandez, *Evaluacion sensorial* (págs. 46-56). Bogotá: Universidad Nacional Abierta y a Distancia. UNAD.
- Hidalgo, O. (2012). *Factores escolares y extra-escolares que inciden en el fracaso escolar de los/as estudiantes de la "Unidad Educativa Experimental Manuela Cañizares" de la ciudad de Quito*. Quito: Universidad Central del Ecuador. Facultad de Filosofía Letras y Ciencias de la Educación.
- Hinostroza, G. (2009). *Plan de negocios para la elaboración y comercialización de hamburguesas de avestruz empacada al vacío en la ciudad de Quito*. Quito: Universidad de las Américas, Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas.
- IICA. (2000). Productos Pecuarios. En IICA, *Política Agropecuaria: La Demanda* (págs. 23-27). Santiago: Publicado por IICA.
- INEN. (2010). *NTE INEN 1346:2010. Carne y productos cárnicos. Carne molida. REQUISITOS*. Quito: INEN.
- INEN. (2012). *INEN NTE 1338:2012. Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados-madurados y productos cárnicos precocidos-cocidos. Requisitos*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INEN. (18 de Julio de 2012). *NTE INEN 1217:2012. Carne y productos cárnicos. Definiciones*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- López, F. (2007). Condimentos y especias. En F. López, *Preelaboracion y Conservacion de Alimentos* (pág. 78). LibrosEnRed.
- Lucero, O. (2005). Analisis Proximal. En O. Lucero, *Técnicas de Laboratorio de Bromatología y Análisis de alimentos* (págs. 6-74). Riobamba: Xerox.
- MAGAP. (14 de Septiembre de 2014). *Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca*. Obtenido de Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca: <http://www.agricultura.gob.ec/magap-presenta-proyecto-nacional-del-manejo-y-comercializacion-de-ovinos-caprinos-y-camelidos/>
- Mohammad, H. (2010). investigation of cultivated *Petroselinum hortense* Hoffm. fruit volatile oil from Northwest Iran. *chemija*, 123-126.

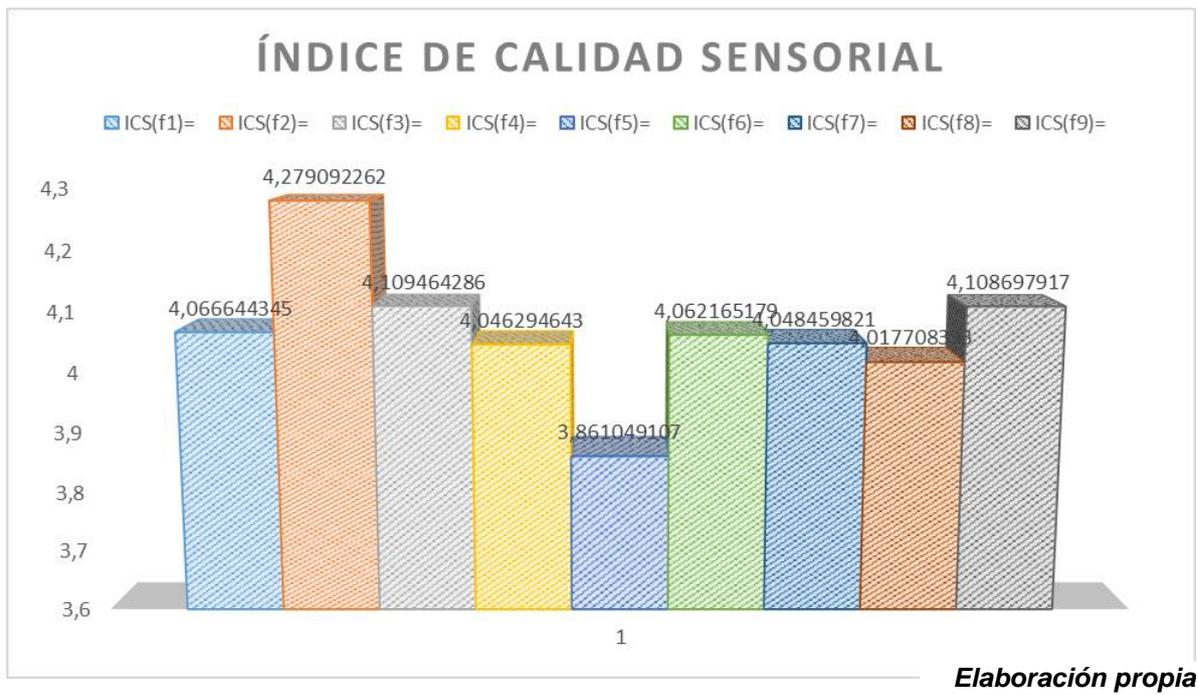
- Olvera, M., Martínez, C., & Real, E. (2011). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos*. México: Departamento de Pesca y Acuicultura. FAO.
- Orozco, H. (2013). *Formulación, elaboración y control de calidad de hamburguesa con carne de res y cerdo deshidratada y determinación de las instrucciones para su rehidratación y uso*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias; Escuela de Bioquímica y Farmacia.
- Prieto, M., Mouwen, J. M., Puente, S. L., & Sánchez, A. (2008). Concepto de calidad en la industria agroalimentaria. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 258-264.
- Ramos, O. (12 de 2010). *Repositorio Digital*. Obtenido de Repositorio digital: <https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=11&cad=rja&uact=8&ved=0CFEQFjAK&url=http%3A%2F%2Frepositorio.upe.edu.ec%3A8080%2Fbitstream%2F123456789%2F885%2F1%2FRAMOS%2520TOCTO%2520OSCAR.%25202011.pdf&ei=2MrnVP7FBIGGNsyigMgE&usg=AFQjCN>
- Reyes, A., Zavala, D., & Alonso, A. (2012). *Perejil (Petroselinum crispum). Compuestos químicos y aplicaciones*. Málaga: Eumed.net. Obtenido de <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/11/perejil-compuestos-quimicos-aplicaciones.pdf>
- Ruiz, M. (2010). Huevos y ovoproductos. En A. Gil, *Tratado de nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos, Volumen 2* (págs. 77-95). Madrid: Ed. Médica Panamericana.
- Sam, O., Luz, M. d., & Barroso, L. (2002). Caracterización anatómica de la albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L). *Cultivos Tropicales*, 39-42.
- Sanchez, M. (3 de 2010). *Universidad de Córdoba*. Obtenido de Universidad de Córdoba: http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/22_12_18_MASTER_CORDOBA_5.pdf
- Santillán, G. (10 de Abril de 2015). *Ecuafraquicias*. Obtenido de Ecuafraquicias: <http://www.ecuafraquicias.com>
- Severiano, P. (26 de 05 de 2015). *Manual de evaluación sensorial*. Mexico: UNAM. Obtenido de DEPARTAMENTO DE PROGRAMAS AUDIOVISUALES WEB SITE: <http://depa.fquim.unam.mx/sensorial/clasificacion.html>

- Strat. (10 de Octubre de 2008). *COFECYT*. Obtenido de COFECYT:
http://www.cofecyt.mincyt.gov.ar/pcias_pdfs/neuquen/UIA_carne_caprina_08.pdf
- Vaca, G. (2011). Validación de la Preparación y Usos Previstos de Productos Cárnicos. En G. Vaca, *Validación de la Preparación y Usos Previstos de Productos Cárnicos* (págs. 38-40). Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia.
- Vela, G. (2010). *Métodos generales del análisis microbiológico de alimentos*. Tuxtla Gutiérrez: UNICACH.
- Velásquez, O. (9 de Mayo de 2012). *Laboratorio de microbiología de alimentos*. Mexico: UNAM. Obtenido de Departamento de Programas Audiovisuales:
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores_6422.pdf
- Vilaplana, M. (2002). Comida rápida: ¿una alternativa a la alimentación convencional? *OFFARM*, 112-118.
- WHO, & FAO. (11 de 08 de 2015). *Codex Alimentarius* . Obtenido de Codex Alimentarius :
<http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/foods/details.html?id=130&lang=es>
- Wong, E. (2010). Prueba de Duncan. *Agronomía mesoamericana*, 350-356.

ANEXOS

Anexo I

GRÁFICO IV: ÍNDICE DE CALIDAD SENSORIAL





UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Facultad de Ciencias Químicas
Programa de investigación "Cabras", alimento funcional, apoyando al Buen Vivir



Anexo II.

BOLETA DE EVALUACIÓN

Nombre _____ Fecha _____

INSTRUCCIONES:

El documento que se presenta es un instrumento para un trabajo de titulación de una egresada de la facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil. Con este documento se recolectará datos para evaluar un producto alimenticio con alto contenido proteico, direccionado al público en general.

Se solicita que Ud., ordene de acuerdo a su criterio, la importancia de los atributos sensoriales: aspecto, consistencia, color, olor, sabor y jugosidad para la selección de una hamburguesa.



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Facultad de Ciencias Químicas
Laboratorio de Análisis Químico de alimentos

Anexo III.

INFORME DE ANÁLISIS PROXIMAL

FECHA	
-------	--

INFORMACIÓN DEL CLIENTE:			
NOMBRE:	CYNTHIA MERA MORALES		
DIRECCION:	KM 11 ½ VIA A DAULE		
TELEFONO:	0997020942	E.MAIL:	mercyn2186@hotmail.com

Tipo de muestra: Carnes y Derivados	
Nombre:	HAMBURGUESA PRECOCIDA CONGELADA A BASE DE CARNE DE GANADO CAPRINO
Descripción :	Hamburguesa

Resultados					
ANÁLISIS PROXIMAL					
Fecha de análisis:					
Condiciones ambientales:		Temperatura:	Humedad relativa:		
Parámetros	Unidad	Resultados	*Requisitos		Método de referencia
			MIN	MAX	
Grasa total:	%	26.51% ± 0.57	*---	15	
Proteínas total % (N x 6,25):	%	3.4 % ± 0.41	*14	---	
Humedad:	%	47.46 % ± 0.48			
Cenizas:	%	0.97 % ± 0.02			

Elaboración propia.

** Requisitos Bromatológicos establecidos según La Norma INEN 1338:2012 para Carnes y Productos Cárnicos: Productos Cárnicos precocidos Congelados. TIPO I
Los valores son la media de 3 determinaciones.*

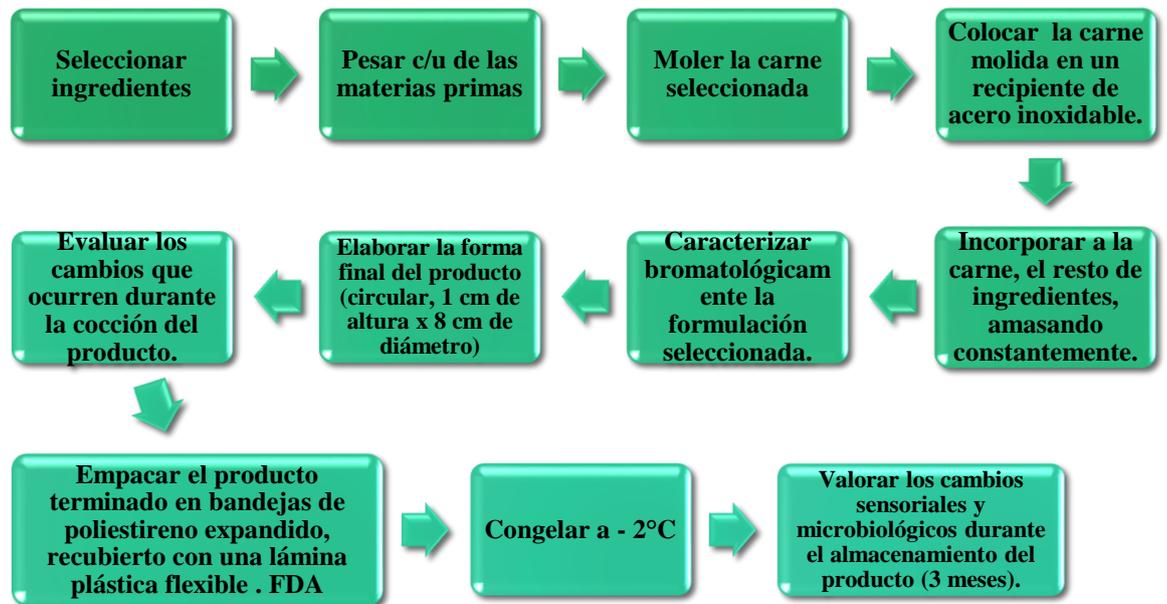
Los parámetros analizados están dentro de la Norma: NTE INEN 1338: 2012. Carnes y Productos Cárnicos: Productos Cárnicos precocidos Congelados.

DATOS DE CONTACTO:
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
LABORATORIO DE ANALISIS QUIMICO
DE ALIMENTOS
Dirección: Dr. Fortunato Safadi Emen,
Guayaquil 090514
Teléfono: (04) 229-3680

Q.F. Leila Prias Mogro M.Sc.
Docente Lab. Análisis Químico de Alimentos

ANEXO IV.

GRAFICO V: DIAGRAMA DE LA METODOLOGÍA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA HAMBURGUESA A BASE DE CARNE DE GANADO CAPRINO.



Elaboración propia.

Anexo V

GRÁFICO VI: DIAGRAMA ELABORACIÓN DE HAMBURGUESAS



Anexo VI: INFORME DE ENSAYO MICROBIOLÓGICO



INFORME DE ENSAYOS

Fecha de Informe:	12/10/2015	Orden:	8594	N° de Informe:	7587-15	Página:	1/1
-------------------	------------	--------	------	----------------	---------	---------	-----

INFORMACION DEL CLIENTE:							
Nombre:	LEONARDO MONTERO ANDRADE						
Dirección:	KM 11 1/2 VIA A DAULE						
Teléfono:	2586051	Fax:	--	E. Mail:	--		

Tipo de Muestra:	Carnes y Derivados						
Nombre:	HAMBURGUESA PRECOCIDA CONGELADA A BASE DE GANADO CAPRINO						
Descripción:	Chorizo						
Lote:	--	Fecha de Elab.	--	Fecha de Exp.	--		
Contenido Declarado:	--	Cantidad Recibida:	1 de 312 g	Condición:	Normales, funda plástica		
Fecha de Recepción:	05/10/2015	Cód. Laboratorio:	CC-C-138-05-10-15	Forma de conservación:	Congelación - 18°C		
				Muestreo:	Realizado por el cliente		

RESULTADOS					
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO					
Fecha de Análisis	05/10/2015		Libro / Página R	37-5.10: 215/4100	
Condiciones ambientales:	Temperatura:		18°C - 25°C	Humedad Relativa:	40% - 55%
Parámetros	Unidad	Resultados	**Requisitos	Método de Referencia	
Aerobios Mesófilos	UFC/g	1×10^1	$m = 1 \times 10^6 - M = 1 \times 10^7$	MME M01 AOAC 19th 966.23	
Contaje de E. Coli	UFC/g	$< 1 \times 10^1$	$m = 1 \times 10^2 - M = 1 \times 10^3$	MME M03 AOAC 19th 991.14	
Staphylococcus aureus	UFC/g	$< 1 \times 10^1$	$m = 1 \times 10^3 - M = 5 \times 10^4$	MME M04 AOAC 19th 975.55	
Salmonella	spp/25g	No Detectado	No Detectado	DETECCION MOLECULAR AOAC 031208	

** Requisitos Microbiológicos establecidos según Norma INEN 1338:2012 para Carne y Productos Cárnicos: Productos Cárnicos precocidos Congelados.

CONCLUSION	
La muestra analizada CUMPLE con los Requisitos Microbiológicos establecidos según Norma INEN 1338:2012 para Carne y Productos Cárnicos: Productos Cárnicos precocidos Congelados.	

OBSERVACIONES

Se podrán realizar modificaciones a este documento, hasta 6 meses después de su emisión, las mismas que deberán ser respaldadas, por un requerimiento de las autoridades de salud o por un sustento técnico válido, de acuerdo al criterio del laboratorio.
 Estos resultados corresponden exclusivamente a la muestra analizada.
 La contra muestra se almacena en el laboratorio por 1 mes
 Prohibida su reproducción total o parcial, sin previa autorización de LABORATORIOS AVE S.A.
 Las observaciones y opiniones no se encuentran dentro del Alcance de Acreditación
 Los registros generados por el análisis de la(s) muestra(s) son mantenidas en los archivos del laboratorio por 5 años
 Válido solo el Informe Original

Dra. Margot Vélez de Avilés
 Gerente Técnico & Calidad

Datos de Contacto:
 Dirección Laboratorio Matriz: Parque Industrial California 1, Calle Arq. Modesto Luque Rivadeneira, Edificio Comercial 3 Local 4 A Km.11 1/2 vía a Daule.
 PBX. Matriz: (5934) 2103206. Teléfonos Parque California 1: 2103017 / 2103026 ext. 235 Cel.: 0998078518
 Dirección Laboratorio de Microbiología: Parque Industrial California 2, Bodega D44 Km.11 1/2 vía a Daule.
 Teléfono: (5934) 2 103365 ext. 101. Teléfonos Parque California 2: 2 103199 ext. 443
 E-mail: margot.aviles@laboratoriosave.com
 cotizaciones.compras@laboratoriosave.com
 paula.aviles@laboratoriosave.com
 lorena.aviles@laboratoriosave.com
 www.laboratoriosave.com

Anexo VII: BOLETA DE EVALUACIÓN


UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
 Facultad de Ciencias Químicas
 Programa de Investigación "Cabras", alimento funcional, apoyando al Buen Vivir



BOLETA DE EVALUACIÓN

Nombre _____ Fecha _____

INSTRUCCIONES:

El documento que se presenta es un instrumento para un trabajo de titulación de la facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, con la cual se recolectara datos para evaluar un producto alimenticio con alto contenido proteico, direccionado al público en general.

Ud. recibirá nueve muestras de HAMBURGUESAS, las cuales deberá evaluar, marcando CUÁNTO LE GUSTAN colocando una calificación del 1 al 5 de acuerdo a la siguiente escala valorativa:

Me gusta mucho: 1
 Me gusta: 2
 Me es indiferente: 3
 Me disgusta: 4
 Me disgusta mucho: 5

Por favor, pruebe las muestras en el orden en que se presentan y responda cada una de las preguntas utilizando las escalas que se le facilitan.
 Enjuáguese la boca con un poco de agua entre muestra y muestra.

TEST DE ESCALA HEDÓNICA									
ATRIBUTOS	FORMULACIONES								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Aspecto									
Consistencia									
Color									
Sabor									
Jugosidad									
Olor									

*Esta información es de carácter confidencial, de uso exclusivo para la investigación en mención.
 Agradecemos su colaboración al presente documento, de evaluación sensorial.

CHECK-ALL-THAT-APPLY

Marque todas las palabras que considere adecuadas para describir este producto

Jugosidad	___	Regusto	___	Sabor intenso	___
Salado	___	Consistencia	___	Olor característico	___
Ácido	___	Dureza	___	Olor no característico	___
Amargo	___	Picante	___		
Rancio	___	Agrio	___		

Anexo VIII: BOLETIN DE EVALUACIÓN (JUECES SEMIENTRENADOS)

Usted ha recibido una muestra de hamburguesa. Por favor pruébela e indique la intensidad del atributo percibido, marcando con una **X** sobre la escala correspondiente.

<u>Atributo</u>	<u>Evaluación</u>
•Aspecto:	
Característico	No característico ----- característico
Homogéneo	No homogéneo ----- homogéneo
Compacto	No compacto ----- compacto
•Color:	
Café	Claro ----- oscuro
•Olor:	
Carne	Débil ----- intenso
Ahumado	Débil ----- intenso
•Sabor:	
Salado	Poco ----- mucho
Carne	Débil ----- intenso
Picante	Ausente ----- intenso
•Textura:	
Consistencia	Suave ----- duro
Cohesividad	Poco ----- mucho
Jugoso	Poco ----- mucho
Grasoso	Poco ----- mucho
Masticable	Poco ----- muy masticable

Anexo IX



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1338:2012

Tercera revisión

**CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS. PRODUCTOS CÁRNICOS
CRUDOS, PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS - MADURADOS Y
PRODUCTOS CÁRNICOS PRECOCIDOS - COCIDOS.
REQUISITOS.**

Primera Edición

**MEAT AND MEAT PRODUCTS. RAW MEAT PRODUCTS, CURED
MEAT PRODUCTS AND PARTIALLY COOKED - COOKED MEAT
PRODUCTS. REQUIREMENTS.**

First Edition

3.1.12 Productos cárnicos recubiertos. Productos cárnicos a los que se les cubre con uno o más ingredientes permitidos. Por ejemplo: apanados, enharinados y otros.

3.1.13 Jamón. Producto cárnico, curado-madurado ó cocido ahumado o no, embutido, moldeado o prensado, elaborado con músculo sea este entero o troceado, con la adición de ingredientes y aditivos de uso permitido.

3.1.14 Pasta de carne (paté). Es el embutido cocido, de consistencia pastosa, ahumado o no, elaborado a base de carne emulsionada y/o vísceras, de animales de abasto mezclada o no y otros tejidos comestibles de estas especies, con ingredientes y aditivos permitidos.

3.1.15 Tocineta (tocino o panceta). Es el producto obtenido de la pared costo – abdominal o del tejido adiposo subcutáneo de porcinos, curado o no, cocido o no, ahumado o no.

3.1.16 Salami o salame. Es el embutido seco, curado, madurado o cocido, elaborado a base de carne y grasa de porcino y/o bovino, con ingredientes y aditivos permitidos.

3.1.17 Salchichón. Es el embutido seco, curado y/o madurado, elaborado a base de carne y grasa de porcino o con mezclas de animales de abasto con ingredientes y aditivos permitidos.

3.1.18 Queso de cerdo (queso de choncho). Es el producto cocido elaborado por una mezcla de carnes, orejas, hocico, cachetes de porcino, porciones gelatinosas de la cabeza y patas, con ingredientes y aditivos de uso permitido, prensado y/o embutido.

3.1.19 Chorizo. Es el producto elaborado con carne de animales de abasto, solas o en mezcla, con ingredientes y aditivos de uso permitido y embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, puede ser fresco (crudo), cocido, madurado, ahumado o no.

3.1.20 Salchicha. Es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos; embutido en tripas naturales o artificiales de uso permitido, crudas, cocidas, maduradas, ahumadas o no.

3.1.21 Morcillas de sangre. Es el producto cocido, elaborado a base de sangre de porcino y/o bovino, obtenida en condiciones higiénicas, desfibrada y filtrada con o sin grasa y carne de animales de abasto, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos; embutido en tripas naturales o artificiales de uso permitido, ahumadas o no.

3.1.22 Mortadela. Es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingredientes y

aditivos alimentarios permitidos; embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, cocidas, ahumadas o no.

3.1.23 Pastel de carne. Es el producto elaborado a base de una masa emulsificada preparada con carne seleccionada y grasa de animales de abasto, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos; moldeados o embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, cocidas, ahumadas o no.

3.1.24 Fiambre. Producto cárnico procesado, cocido, embutido, moldeado o prensado elaborado con carne de animales de abasto, picada u homogeneizada o ambas, con la adición de sustancias de uso permitido.

3.1.25 Hamburguesa. Es la carne molida (o picada) de animales de abasto homogeneizada y preformada, cruda o precocida y con ingredientes y aditivos de uso permitido.

3.1.26 Aditivo alimentario. Son sustancias o mezcla de sustancias de origen natural o artificial, de uso permitido que se agregan a los alimentos modificando directa o indirectamente sus características físicas, químicas y/o biológicas con el fin de preservarlos, estabilizarlos o mejorar sus características organolépticas sin alterar su naturaleza y valor nutritivo.

3.1.27 Especies. Producto constituido por ciertas plantas o partes de ellas que por tener sustancias saborizantes o aromatizantes se emplean para aderezar, aliñar o modificar el aroma y sabor de los alimentos.

3.1.28 Fermentación. Conjunto de procesos bioquímicos y físicos inducidos por acción microbiana nativa o acción controlada de cultivos iniciadores basados en el descenso del pH, que tienen lugar en la fabricación de algunos productos cárnicos como método de conservación o para conferir características particulares al producto, en los cuales se controla la temperatura, humedad y ventilación, desarrollando el aroma, sabor, color y consistencia característicos.

3.1.29 Maduración. Conjunto de procesos bioquímicos y físicos que tienen lugar en la fabricación de algunos productos cárnicos crudos en los cuales se controla la temperatura, humedad y ventilación, desarrollando el aroma, sabor, consistencia y conservación característicos de estos productos.

3.1.30 Cadena de frío. Es una cadena de suministro de temperatura controlada. Una cadena de frío que se mantiene intacta garantiza a un consumidor que el producto de consumo que recibe durante la producción, transporte, almacenamiento y venta no se ha salido de un rango de temperaturas dada.

3.1.31 Productos marinados neutros. Productos cárnicos en su estado natural que han sido mejorados en sus características funcionales por el uso de una solución considerada como coadyuvante y que mantienen su condición natural para su uso previsto.

3.1.32 Productos adobados. Productos cárnicos en su estado natural a los que se les ha adicionado condimentos con el objeto de proporcionar o modificar

características sensoriales para su uso previsto. Por adobado se entiende: condimentado, aliñado, saborizado, aderezado o con especias.

3.1.33 Cortes enteros. Son los cortes primarios y secundarios.

3.1.34 Cortes primarios. Los cortes primarios son los brazos, piernas, chuletero y costillar.

3.1.35 Cortes secundarios. Son los cortes con o sin hueso, obtenidos a partir de los cortes primarios, tales como: pulpas, salón, lomos, chuleta, etc.

3.1.36 Carne. Tejido muscular estriado en fase posterior a su rigidez cadavérica (post rigor), comestible, sano y limpio, de animales de abasto que mediante la inspección veterinaria oficial antes y después del faenamiento son declarados aptos para consumo humano. Además se considera carne el diafragma y músculos maceteros de cerdo, no así los demás subproductos de origen animal.

3.1.37 Triming. Es el producto obtenido del despiece del animal de abasto que contienen carne y grasa en diferente proporción y se utiliza en la elaboración de productos cárnicos

4. CLASIFICACIÓN

4.1 De acuerdo al contenido de proteína, estos productos se clasifican en:

4.1.1 TIPO I

4.1.2 TIPO II

4.1.3 TIPO III

5. DISPOSICIONES GENERALES

5.1 La materia prima refrigerada, que va a utilizarse en la manufactura, no debe tener una temperatura superior a los 7°C y la temperatura en la sala de despiece no debe ser mayor de 14°C.

5.2 El agua empleada en la elaboración de los productos cárnicos (salmuera, hielo), en el enfriamiento de envases o productos, en los procesos de limpieza, debe cumplir con los requisitos de la NTE INEN 1108.

5.3 El proceso de fabricación de estos productos debe cumplir con el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud.

5.4 Las envolturas que pueden usarse son: tripas naturales sanas, debidamente higienizadas o envolturas artificiales autorizadas por la autoridad competente, las mismas que pueden ser o no retiradas antes del empaque final.

5.5 Si se usa madera para realizar el ahumado, esta debe provenir de aserrín o vegetales leñosos que no sean resinosos, ni pigmentados, sin conservantes de madera o pintura.

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos específicos

6.1.1 Los requisitos organolépticos deben ser característicos y estables para cada tipo de producto durante su vida útil.

6.1.2 El producto no debe presentar alteraciones o deterioros causados por microorganismos o cualquier agente biológico, físico o químico, además debe estar exento de materias extrañas.

6.1.3 Este producto debe elaborarse con carnes en perfecto estado de conservación (ver NTE INEN 2346).

6.1.4 Se permite el uso de sal, especias, humo líquido, humo en polvo o humo natural y sabores o aromas obtenidos natural o artificialmente aprobados para su uso en alimentos.

6.1.5 En la fabricación del producto no se empleará grasas vegetales en sustitución de la grasa de animales de abasto.

6.1.6 El producto no debe contener residuos de plaguicidas CAC/LMR 1, contaminantes Codex Stan 193 y residuos de medicamentos veterinarios CAC/LMR 2, en cantidades superiores a los límites máximos establecidos por el Codex Alimentarius.

6.1.7 Los aditivos no deben emplearse para cubrir deficiencias sanitarias de materia prima, producto o malas prácticas de manufactura. Pueden añadirse los establecidos en la NTE INEN 2074.

6.1.8 Todos los aditivos deben cumplir las normas de identidad, de pureza y de evaluación de su toxicidad de acuerdo a las indicaciones del Codex Alimentarius de FAO/OMS. Debe ser factible su evaluación cualitativa y cuantitativa y su metodología analítica debe ser suministrada por el fabricante, importador o distribuidor.

6.1.9 Los productos deben cumplir con los requisitos bromatológicos establecidos en la tabla 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 según corresponda. Los resultados de análisis deben expresarse como un valor acompañado de su incertidumbre analítica por medio de cálculos estadísticamente aceptables.

7. TABLA 1. Requisitos bromatológicos para los productos cárnicos crudos

REQUISITO	TIPO I		TIPO II		TIPO III		MÉTODO DE ENSAYO
	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	
Proteína total % (% N x 6,25)	14	-	12	-	10	-	NTE INEN 781
Proteína no cárnica %	Ausencia		-	2	-	4	No existe método de diferenciación; se verifica por la formulación declarada por el fabricante.

TABLA 2. Requisitos bromatológicos para productos cárnicos cocidos

REQUISITO	TIPO I		TIPO II		TIPO III		MÉTODO DE ENSAYO
	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	
Proteína total, % (% N x 6,25)	12	-	10	-	8	-	NTE INEN 781
Proteína no cárnica %	-	2	-	4	-	6	No existe método de diferenciación; se verifica por la formulación declarada por el fabricante.

TABLA 3. Requisitos bromatológicos para jamones cocidos

REQUISITO	TIPO I		TIPO II		TIPO III		MÉTODO DE ENSAYO
	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	MÍN	MÁX	
Proteína total % (% N x 6,25)	13	-	12	-	11	-	NTE INEN 781
Proteína no cárnica %	-	2	-	3	-	4	No existe método de diferenciación; se verifica por la formulación declarada por el fabricante.

TABLA 4. Requisitos bromatológicos para cortes cárnicos ahumados al natural o con adición de humo líquido (considerando únicamente la fracción comestible); se exceptúan la costilla y la tocineta

REQUISITO	MÍN	MÁX	MÉTODO DE ENSAYO
Proteína total % (% N x 6,25)	14	-	NTE INEN 781

TABLA 5. Requisitos bromatológicos para el tocino y las costillas (considerando únicamente la fracción comestible)

REQUISITO	MÍN	MÁX	METODO DE ENSAYO
Proteína total % (% N x 6,25)	10		NTE INEN 781

TABLA 6. Requisitos bromatológicos para los productos cárnicos curados-madurados, (considerando únicamente la fracción comestible)

REQUISITO	MÍN	MÁX	MÉTODO DE ENSAYO
Proteína total % (% N x 6,25) - Productos cárnicos curadosmadurados en cortes enteros	25	-	NTE INEN 781
- Productos cárnicos curadosmadurados en base a carne picada embutida	14	-	

TABLA 7. Requisitos bromatológicos para el paté.

REQUISITO	MÍN	MÁX	MÉTODO DE ENSAYO
Proteína total % N x 6,25) (%)	8	-	NTE INEN 781

TABLA 8. Requisitos bromatológicos para los productos cárnicos preformados pre cocidos o crudos. En estos productos la cobertura no será mayor al 30 % del producto.

REQUISITO	MÍN	MÁX	MÉTODO DE ENSAYO
-----------	-----	-----	------------------

Proteína total % * sin tomar en cuenta la cobertura del producto.	12	-	NTE INEN 781
--	----	---	--------------

6.1.10 Los productos cárnicos deben cumplir con los requisitos microbiológicos establecidos en las Tablas 9, 10, 11 ó 12 según corresponda.

TABLA 9. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos crudos

Requisito	n	c	m	M	MÉTODO DE ENSAYO
Aerobios mesófilos ufc/g *	5	3	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	NTE INEN 1529-5 AOAC 991.14
Escherichia coli ufc/g *	5	2	$2,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^4$	NTE INEN 1529- 14
Staphilococcus aureus ufc/g *	5	2	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	NTE INEN 1529- 15
Salmonella ^{1/} 25 g **	5	0	Ausencia	---	
<p>1 Especies sero tipificadas como peligrosas para humanos</p> <p>* Requisitos para determinar término de vida útil</p> <p>** Requisitos para determinar inocuidad del producto</p>					

Donde:

n = número de unidades de la muestra

c = número de unidades defectuosas que se acepta m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

TABLA 10. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos cocidos

REQUISITOS	n	c	m	M	METODO DE ENSAYO
Aerobios mesófilos,* ufc/g	5	1	$5,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$	NTE INEN 1529-5 AOAC 991.14
Escherichia coli ufc/g*	5	0	10	-	NTE INEN 1529- 14
Staphylococcus* aureus, ufc/g	5	1	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	NTE INEN 1529- 15
Salmonella ^{1/} 25 g**	10	0	Ausencia		

<p>1 especies cero tipificadas como peligrosas para humanos</p> <p>* Requisitos para determinar término de vida útil</p> <p>** Requisitos para determinar inocuidad del producto</p>
--

Donde:

n = número de unidades de la muestra

c = número de unidades defectuosas que se acepta m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

TABLA 11. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos curados - madurados

REQUISITOS	n	c	m	M	METODO DE ENSAYO
Staphylococcus aureus ufc/g *	5	1	1,0x10 ²	1,0x10 ³	NTE INEN 1529-14
Clostridium perfringens ufc/g *	5	1	1,0x10 ³	1,0x10 ⁴	NTE INEN 1529-18
Salmonella ¹ /25g **	10	0	Ausencia	-	NTE INEN 1529-15
1					
<p>Especies sero tipificadas como peligrosas para humanos</p> <p>* Requisitos para determinar término de vida útil</p> <p>** Requisitos para determinar inocuidad del producto</p>					

Donde:

n = número de unidades de la muestra

c = número de unidades defectuosas que se acepta m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

TABLA 12. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos precocidos congelados

REQUISITO	n	c	m	M	MÉTODO DE ENSAYO
-----------	---	---	---	---	------------------

Aerobios mesófilos ufc/g *	5	3	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	NTE INEN 1529-5 AOAC 991.14
Escherichia coli ufc/g *	5	2	2×10^3	3×10^3	NTE INEN 1529- 14
Staphilococcus aureus ufc/g *	5	2	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	NTE INEN 1529- 15
Salmonella ¹ / 25 g **	5	0	Ausencia	---	
<p>1 especies cero tipificadas como peligrosas para humanos * Requisitos para determinar término de vida útil ** Requisitos para determinar inocuidad del producto</p>					

Donde:

n = número de unidades de la muestra

c = número de unidades defectuosas que se acepta m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo

6.2 Requisitos complementarios

6.2.1 Las unidades de comercialización de este producto deben cumplir con lo dispuesto en la Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

6.2.2 La temperatura de almacenamiento de los productos terminados en los lugares de expendio debe estar entre 0°C y 4°C (refrigeración).

6.2.3 Los materiales empleados para envasar los productos deben ser grado alimentario aprobados para uso en este tipo de alimentos.

Anexo X



NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1529-14:2013

Primera revisión

**CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. STAPHYLOCOCCUS
AUREUS. RECUENTO EN PLACA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN
SUPERFICIE**

Primera edición

**MICROBIOLOGICAL CONTROL OF FOODS. STAPHYLOCOCCUS
AUREUS. SEED PLATE COUNT BY SURFACE EXTENSION**

First edition

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece el método de recuento en placa de siembra por extensión en superficie para determinar el número de células viables de *S aureus* coagulase positivos, presentes en un gramo o centímetro cubico de muestra de alimento.

2. ALCANCE

2.1 Este método es indicado para productos de consumo humano y de alimentación animal que contengan una alta carga de estafilococos coagulasa positivos.

3. DEFINICIONES

3.1 Para efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

3.1.1 *Staphylococcus aureus*: Especie bacteriana perteneciente a la familia Micrococcaceae y al género Staphylococcus, cuyos miembros tienen la forma de cocos que generalmente se agrupan formando racimos, inmóviles, Gram positivos, aerobios y anaerobios facultativos, temperatura óptima 37°C. producen un pigmento amarillo dorado, son halotolerantes. Poseen las enzimas coagulasa, fosfatasa y desoxirribonucleasa que le distinguen de otros estafilococos. Producen exotoxinas: hemolisina y enterotoxina.

3.1.2 *Recuento de Staphylococcus aureus*: Es la determinación del número de células viables de *Staphylococcus aureus* presentes en un gramo o centímetro cubico de muestra, utilizando medios selectivos.

3.1.3 *Coagulasa*: Enzima que coagula el plasma sanguíneo de conejo o humano.

3.1.4 *Termonucleasa*: Enzima termoestable que degrada al ácido desoxirribonucleico hasta nucleótido.

4. METODO DE ENSAYO

4.1 Fundamento

4.1.1 Para el objeto de esta norma se utiliza el agar Baird-Parker. Este método se basa en el acentuado paralelismo que existe entre la producción de coagulasa por parte del *S.aureus* y su capacidad de utilizar la lipoproteína de la yema de huevo y de reducir el telurito a telurio. Las capas que presenten una reacción negativa de la coagulasa, o débilmente positiva, pueden ser distinguidas de otras bacterias mediante un ensayo adicional, por ejemplo, la detección de termonucleasa.

4.2 Equipos

4.2.1 Microscopio

4.2.2 Estufa de secado, con regulador de temperatura.

4.2.3 Incubadoras, con regulador de temperatura, para cultivos a 37°C y 43°C.

4.3.1 *Requisitos básicos:* Para que haya uniformidad en los resultados, es necesario que los componentes de los medios sean de una calidad uniforme y de grado analítico o, a su vez se debe utilizar medios completos deshidratados, reconstituir y utilizarlos según las instrucciones del fabricante

4.3.2.1 *Composición y preparación de los medios de cultivo y reactivos,* ver NTE INEN 1 529-1.

4.3.2.2 Agar azul de O-toluidina-DNA (ácido desoxirribonucleico)

4.3.2.3 Agar Baird Parker

4.3.2.3 Caldo infusión cerebro corazón (ICC) o caldo triptona soya (TSB).

4.3.2.4 Agua peptona al 0,1 %

4.3.2.5 Plasma de conejo con heparina o EDTA

4.3.2.6 Caldo modificado Giolitti y Cantoni

4.3.3 *Materiales*

4.3.3.1 Pipetas Pasteur.

4.3.3.2 Pipetas bacteriológicas de boca ancha graduadas en 1/10 de cm³.

4.3.3.3 Placas Petri de vidrio o desechables de 90 mm x 10 mm y de 140 mm x 10 mm.

4.3.3.4 Tubos de ensayo de 120 mm x 12 mm.

4.3.3.5 Tubos de 75 mm x 7 mm.

4.3.3.6 Tubos capilares de 3 mm de diámetro.

4.3.3.7 Varillas de vidrio en forma de L.

4.3.3.8 Aguja de inoculación, hecha preferiblemente de alambre de nicron o de platino-iridico.

4.4 Preparación de la muestra

4.4.1 La unidad analítica debe provenir de una unidad de muestra de por lo menos 100 g, según la NTE INEN 1529-2 y ser preparada según esta norma.

4.4.2 Las unidades de muestras perecederas que llegan al laboratorio deben mantenerse en refrigeración de 0°C a 5°C, por no más de 24 h. En general, las muestras deben mantenerse en las condiciones adecuadas al producto, hasta el momento del examen.

4.5 Procedimiento

4.5.1. *Siembra*

4.5.1.1 Transferir, por medio de una pipeta estéril, 0,1 ml de la muestra, si es líquido, o 0,1 ml de la suspensión inicial (10^{-1} dilución) en el caso de otros productos, a cada una de las dos placas de agar. Repita el procedimiento para la dilución 10^{-2} y para otras diluciones decimales si es necesario.

4.5.1.2 Si, se conoce que el producto, puede poseer un bajo conteo de estafilococos coagulasa positivos, de los límites de detección; se puede inocular 1,0 ml de la muestra, si es líquido, o 1,0 ml de la suspensión inicial para otros productos, ya sea en la superficie de una placa de agar grandes (140 mm) o en la superficie de tres pequeñas placas de agar (90 mm). En ambos casos, preparar duplicados mediante el uso de dos.

4.5.1.3 Abra cuidadosamente el inóculo lo más rápidamente posible sobre la superficie de la placa de agar, tratando de no tocar los lados del plato, con el separador o varilla en L. Dejar que las placas se sequen con sus tapas durante alrededor de 15 min en el laboratorio temperatura.

4.5.1.4 Invertir de las e incubar entre 35°C y 37°C durante 24 h \pm 2 h. las placas de productos fermentados o maduros en los que, los micrococos son mucho más abundantes que los estafilococos, es mejor que sean incubadas a 42°C durante 18 a 40 h.

4.5.2. *Recuento de las colonias de S. aureus presuntivos*

4.5.2.1 Elegir las placas de dos diluciones consecutivas que contengan entre 15 y 150 colonias típicas y/o atípicas. Las primeras se caracterizan por ser de forma regular, negras u oscuras intensas, brillantes, convexas, con un estrecho borde blanco, rodeadas por un halo de medio transparente. Las colonias atípicas de *S. aureus* yema de huevo negativas son sin halo transparente.

4.5.2.2 En cada una de las placas, contar las colonias sospechosas típicas o atípicas y, sin una misma placa hay desarrollo de estos dos tipos, contarlas separadamente.

4.5.2.3 Desechar las placas que en más de la mitad de la superficie presentan crecimiento invasivo. Si menos de la mitad de la superficie está cubierta, contar

las colonias en la parte clara y extrapolar de tal manera que, el número corresponda a la superficie total de la placa.

4.5.2.4 Si las placas de todas las diluciones contienen más de 150 colonias, contar en las placas inoculadas con la menor cantidad de muestra.

4.5.3 Selección y purificación de colonias: Los ensayos confirmatorios deben realizarse a partir de colonias previamente seleccionadas y purificadas.

4.5.3.1 De cada una de las placas seleccionadas (4.5.2), escoger al azar, las bien aisladas, en un número equivalente a la raíz cuadrada del número de colonias contadas en la placa, con un mínimo de cinco. Si en una misma placa hay desarrollo de colonias con y sin halo transparente, tomar por separado la raíz cuadrada del número total de cada tipo de colonias contadas en la placa, mínimo cinco de cada tipo.

4.5.3.2 Evitando cualquier roce, tocar en el centro de cada una de estas colonias elegidas e inocularlas individualmente, en tubos que contengan aproximadamente 5 cm³ de caldo infusión cerebro corazón (ICC) o caldo soya triptona (TSB).

4.5.3.3 Incubar los tubos a 43°C ± 1°C durante (6 a 18) h.

4.5.3.4 De los tubos que presenten crecimiento, hacer un frotis y teñirlo por el método de Gram. Verificar la presencia de solo cocos Gram positivos agrupados en racimo.

4.5.2.5 Con cada uno de estos cultivos, realizar la prueba de la coagulasa y termonucleasa, numeral 7.4.

4.5.4 Pruebas confirmatorias

4.5.4.1 Prueba de la coagulasa, ver Anexo A.

- a) En tubos de 75 mm x 7 mm que contengan 0,5 cm³ de plasma –EDTA de conejo, inocular individualmente 0,1 cm³ de cada uno de los cultivos de presuntos *S. aureus* (7.3.4) y, en el tubo control, pipetear 0,1 cm³ de ICC y 0,5 cm³ de plasma.
- b) Incubar los tubos en un baño de agua de (35 a 37)°C por (4 a 6)h.
- c) A cada hora, inclinar delicadamente los tubos y observar la presencia de coágulos.
- d) Si al iniciar el tubo, casi horizontalmente, sobresale un coagulo, considerar que la prueba es positiva 2 +.
- e) La formación de un coagulo bien diferenciado que ocupe más de los $\frac{3}{4}$ del volumen original del líquido, constituye una prueba de la coagulasa positiva 3 +.

- f) Se tiene una prueba de la coagulasa positiva 4 +, cuando la coagulación es total y el coagulo no se disloca al invertir el tubo, siendo necesario agitar el tubo delicadamente.
- g) Diferenciar los coágulos verdaderos de los falsos, agitando suavemente el tubo para que los seudocoagulos se deshagan.
- h) En el tubo control, el plasma debe permanecer inalterado.
- i) Considerar como *S. aureus* coagulasa positivos a aquellos que han producido una coagulación de 3 + o 4 +.

4.5.4.2 Prueba de la termonucleasa

- a) Distribuir en portaobjetos aproximadamente 3 cm³ de agar azul de toluidina O-acido desoxirribonucleico (DNA) fundido o volúmenes de 10 cm³ en placas Petri de 9 cm de diámetro. Dejar solidificar el agar.
- b) Con un capilar estéril, hacer orificios de 3 mm de diámetro; (en cada portaobjetos puede haber 10 a 12 orificios).
- c) Calentar los cultivos en ICC en baño de agua hirviente durante 15 minutos.
- d) Utilizando pipetas Pasteur o tubos capilares, depositar pequeñas alícuotas de estos cultivos en cada orificio.
- e) Incubar las placas o los portaobjetos entre 35 y 37°C, en ambiente húmedo, durante 4 h.
- f) La reacción es positiva, cuando alrededor de los pocitos aparece un halo rosa brillante fuerte de al menos 1 mm de ancho

4.6 Cálculos

4.6.1 Cálculos del número de colonias de *S. aureus* por placas

4.6.1.1 En cada placa, calcular el número de *S.aureus* relacionando el número de colonias típicas sometidas a confirmación que dieron coagulasa positiva con el total de las colonias típicas contadas.

4.6.1.2 Si en las placas seleccionadas para el recuento se han desarrollado colonias típicas y atípicas (7.2 y 7.3.1), realizar los cálculos por separado, luego, sumar estos dos valores para obtener el número de *S. aureus* por placa.
(Continúa)

4.6.1.3 Cuando por lo menos el 80% de las colonias típicas y atípicas sometidas a confirmación son coagulasa positiva, tomar el número de *S. aureus* presuntivos contados en 7.2 como el número de *S.aereus* por placa.

4.6.2 Cálculo del número, (N) de unidades formadoras de colonias (UFC), de *S. aereus* por centímetro cubico o gramo de muestra.

4.6.2.1 Placas que contienen entre 15 y 150 colonias. El número N de UFC de S. aureus se calcula mediante la siguiente ecuación:

En donde:

$\sum C$ = suma de las colonias de S. aureus calculadas en todas las placas elegidas;
 n_1 = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada;
 n_2 = número de placas contadas de la segunda dilución seleccionada;
 d = dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos, por ejemplo 10^{-2} ;
 V = volumen del inoculo sembrado en cada placa.

$$N = \frac{\text{Número total de colonias calculadas}}{\text{Cantidad total de muestras sembradas}} \quad (1)$$

Ejemplo:

Volumen sembrado: $0,1 \text{ cm}^3$;

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0,1n_2)d} \quad (2)$$

Dilución 10^{-2} : Placa a) 120 colonias típicas y 20 atípicas;
 : Placa b) 100 colonias típicas y 30 atípicas;
 Dilución 10^{-3} : Placa a) 20 colonias típicas y cero atípicas;
 : Placa b) 15 colonias típicas y cero atípicas;

Cálculo:

a) Dilución 10^{-2} :

a.1) Placa a: 120 típicas y 20 atípicas:

- Siete de las 11 colonias típicas seleccionadas, fueron coagulasa positiva, por tanto, 76 colonias son consideradas de S. aureus.
- Dos de las cinco colonias atípicas seleccionadas fueron coagulasa positiva, luego, ocho de las 20 colonias típicas son consideradas S. aureus.
- Total de colonias, típicas y atípicas: $76 + 8=84$

a.2) Placa b: 100 típicas y 30 atípicas

- Seis de las 10 colonias típicas seleccionadas fueron coagulasa positiva, luego 60 de las 100 son consideradas de S. aureus.
- Dos de las cinco colonias atípicas fueron coagulasa positiva, por tanto, 12 de las 30 atípicas son de S. aureus.
- Total de colonias, típicas y atípicas: $60 + 12 = 72$

b) Dilución 10^{-3} :

b.1) Placa a: 20 colonias típicas y cero atípicas:

- Tres de las cinco colonias seleccionadas fueron coagulasa positiva, luego, 12 de las 20 colonias son consideradas de S. aureus.
- Total de colonias típicas: 12

b.2) Placa b: 15 colonias típicas y cero atípicas:

- Cuatro de las cinco colonias (80%) fueron coagulasa positiva, luego, las 15 son consideradas de S. aureus.
- Total de colonias típicas: 15

$$\begin{aligned} N &= \frac{84 + 72 + 12 + 15}{0,1(2 + 0,1 \times 2)10^{-2}} \\ &= \frac{183}{0,002} \\ &= 83\ 181,1 \text{ expresar como } 8,3 \times 10^4 \end{aligned}$$

Anexo XI



Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS SALMONELLA MÉTODO DE DETECCIÓN	NTE INEN 1529-15:2013 Primera revisión 2013-09
--	--	---

1. OBJETO

1.1 Esta norma describe los métodos de análisis para detectar Salmonella en alimentos

2. ALCANCE

2.1 Este método no es cuantitativo y solo es aplicable para determinar la presencia o ausencia de Salmonella en los alimentos, en general.

3. DEFINICIONES

3.1 Para efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

3.1.1 *Salmonella*: Genero perteneciente a la familia Enterobacteriaceae. Está integrado por microorganismos que forman colonias típicas sobre medios sólidos y poseen características bioquímicas y serológicas definidas. Generalmente son móviles, Gram negativas, fermentan la glucosa con formación de gas y no fermentan la lactosa.

3.1.2 *Detección de Salmonella*: Es la determinación de la presencia o ausencia de estos microorganismos en una determinada masa, cuando el ensayo es realizado según el método prescrito.

3.1.3 *Presuntivo de Salmonella spp.* Bacterias que crecen en el medio de enriquecimiento selectivo específico, y forman colonias típicas o atípicas en medios selectivos sólidos.

3.1.4 *Confirmación de Salmonella spp.* Bacterias que crecen en el medio de enriquecimiento selectivo especificado, y forman colonias típicas y sospechosas en los medios sólidos selectivos, y que muestran características bioquímicas y serológicas específicas.

4. DISPOSICIONES GENERALES

4.1 El pre-enriquecimiento debe ser utilizado para alimentos que han sido sometidos a tratamientos de conservación: físicos (térmicos, desecación, irradiación); químicos (sal común, curado, ahumado, ácidos y sustancias conservadoras). Los alimentos que no han sido sometidos a tratamiento alguno,

o que son altamente contaminados, homogeneizarlos en los medios de enriquecimiento selectivo.

5. MÉTODOS DE ENSAYO

5.1 Fundamento

5.1.1 Las salmonelas, cuando presentes en los alimentos, generalmente lo están en pequeños números, algunas veces debilitadas y frecuentemente acompañadas de un gran número de otros miembros de Enterobacteriaceae, por tanto, en este método se considera las siguientes etapas:

5.1.2 *Pre-enriquecimiento.* Cultivo de la naturales 37 °C en medios mínimos sencillos, exentos de agentes químicos selectivos a fin de lograr la revitalización de las salmonelas lesionadas.

5.1.3 *Enriquecimiento selectivo.* Subcultivo a 37°C y entre 42 a 43°C, en medios líquidos selectivos del cultivo pre-enriquecido, para inhibir o restringir el crecimiento de la flora competitiva y favorecer la multiplicación de las salmonelas.

5.1.5 *Siembra en placa de medios selectivos sólidos.* Inoculación de los cultivos de enriquecimiento selectivo en la superficie de agar selectivos y diferenciales, para visualizar las colonias que por su aspecto característico se las considera como se Salmonela presuntiva.

5.1.6 *Identificación:* Subcultivo de las colonias de Salmonella presuntiva y determinación de sus características bioquímicas y serológicas para identificarlas como miembros del género Salmonella.

5.2 Equipos

5.2.1 Molino de carne para laboratorio, provisto de placas crivadas, cuyos agujeros no excedan de 4mm de diámetro

5.2.2 Licuadora de 8000 a 45000 rpm, con vasos de metal o vidrio autoclavables, de capacidad adecuada.

5.2.3 Equipo para esterilizar medios de cultivo y material: autoclave, almogadillas de asbesto, membranas filtrantes, bujías de porosidad adecuada.

5.2.4 Estufa de secado, con regulador de temperatura

5.2.5 Incubadora, con regulador de temperatura, para cultivos a 37° C

5.2.6 Baño de agua, con regulador de temperatura

5.2.7 Incubadora o baño de agua para cultivos entre 42°C y 43° C

5.2.8 Microscopio

5.2.9 Refrigeradora

5.2.10 Balanza de 0,1 g de sensibilidad

5.3 Reactivos y materiales

5.3.1 *Medios de cultivo y reactivos*

5.3.1.1 Requisitos básicos. Para que haya uniformidad en los resultados, es necesario que los componentes de los medios sean de una calidad uniforme y de grado analítico, a su vez, utilizar medios completos deshidratados, que se los reconstituye según las instrucciones del envase.

5.3.2 Composición y preparación de los medios de cultivo y reactivos. Ver NTE INEN 1529-1

5.3.2.1 Agar bismuto –sulfito (BS)

5.3.2.2 Agar citrato de Simmon

5.3.2.3 Agar cristal-violeta rojo-neutro bilis lactosa

5.3.2.4 Agar fenilamina

5.3.2.5 Agar hierro lisina (LIA)

5.3.2.6 Agar hierro triple-azúcar (TSI)

5.3.2.7 Agar nutritivo semisólido

5.3.2.8 Agar SS

5.3.2.9 Agar urea o caldo urea

5.3.2.10 Agar verde-brillante rojo-fenol (BG)

5.3.2.11 Agua peptona tamponada

5.3.2.12 Caldo base con purpura de bromocresol

5.3.2.13 Caldo lisina-descarboxilase

5.3.2.14 Caldo MR-VP

5.3.2.15 Caldo selenito cistina

5.3.2.16 Caldo tetrionato (Muller Kauffmann)

5.3.2.17 Caldo Triptona (Ljutov)

- 5.3.2.18 Caldo de soya triptica (TSB)
- 5.3.2.19 Caldo nutritivo
- 5.3.2.20 Leche descremada en polvo
- 5.3.2.21 Solución de gelatinasa al 5%
- 5.3.2.22 Solución de hidróxido de sodio 1N
- 5.3.2.23 Solución alcohólica de α naftol al 6%
- 5.3.2.24 Solución de ácido clorhídrico 1N
- 5.3.2.25 Solución de KOH al 40%
- 5.3.2.26 Solución fisiológica
- 5.3.2.27 Solución de creatina al 0,5%
- 5.3.2.28 Solución fisiológica formalizada
- 5.3.2.29 Solución de ONPG (O-nitrofenil β – D- galactopiranosida)
- 5.3.2.30 Solución verde brillante al 1%
- 5.3.2.31 Reactivo de Kovacs
- 5.3.2.32 Sulfito de potasio en polvo
- 5.3.2.33 Rojo de metilo
- 5.3.2.34 Tergitol aniónico 7
- 5.3.2.5 Tritón X-100
- 5.3.2.36 Antisueros “Vi” y polivalentes “O” y “H”
- 5.3.2.37 Reactivo de Voges-Proskauer (VP)

5.3.3 *Materiales*

5.3.3.1 *Requisitos básicos.* Toda la vidriería y utensilios que se utilicen en los ensayos deben ser de material inerte y resistente a esterilizaciones repetidas, además, deben estar perfectamente limpios y estériles

- a) Mechero de Bunsen
- b) Gradillas o tuberas

- c) Asas y agujas para cultivos
- d) Materiales varios: cucharas, cuchillos, pinzas, tenedores, espátulas, tijeras, saca-bocadís, etc.
- e) Tubos de ensayo: de 150mm x 20mm; 160mm x 16mm; 120mm x 12mm; 100mm x 12 mm
- f) Probetas graduadas
- g) Pipetas bacteriológicas de punta ancha graduadas en 1/10 de cm³
- h) Placas Petri de vidrio o desechable de 100mm x 15mm
- i) Erlenmeyer
- j) Frascos para muestreo con tapas de rosca
- k) Pipetas Pasteur

5.4 Preparación de la muestra

5.4.1 La unidad analítica debe provenir de una unidad de muestra de por lo menos 100g, y se la tomara según la NTE INEN 1529-2. Si el alimento está congelado, a la cantidad necesaria descongelarla durante la noche entre 2 a 5°C ó, a una temperatura menor de 45°C por aproximadamente 15 minutos, de preferencia, en un baño de agua con agitación.

5.4.2 Las unidades de muestras perecederas que llegan al laboratorio deben mantenerse en refrigeración (2 a 5°C), por no menos de 24h. En general, las muestras se deben mantener en las condiciones adecuadas al producto, hasta el momento del examen.

5.5 Procedimiento

5.5.1 *Diluyentes*. Los líquidos de dilución empleados para el objeto de esta norma son:

5.5.1.1 Agua peptona tamponada. Para colorantes alimentarios de ph > 6; productos del mar : crustáceos (camarones, cangrejos, etc), moluscos (bivalvos, caracoles), pescados; carnes y productos cárnicos; huevos pasteurizados, líquido o en polvo, productos con huevo; gelatinas y postres de gelatina; frutas y vegetales desecados; productos de panadería; pastas alimenticias; quesos.

5.5.1.2 Caldo de soya triptica con 0,5% de K₂SO₃ Para ajos y cebollas en polvo. El sulfito de potasio se añade al caldo antes de esterilizarlo.

5.5.1.3 Caldo de soya triptica. Para especias como; comino, pimienta, páprika, apio, perejil, tomillo, etc, vegetales en hojuelas, levadura seca.

5.5.1.4 Agua destilada estéril. Para productos desecados con alto contenido en sólidos solubles tales como, leche en polvo, productos desecados para bebés, etc.

5.5.1.5 Caldo nutritivo. Para productos de repostería.

5.5.1.6 Leche desnatada en polvo reconstituida. Para caramelos, chocolates y productos de confitería.

5.5.2 Pre-enriquecimiento. Preparar el homogeneizado con 25g de muestra y 225 cm³ de diluyente, y si es necesario, ajustar el pH a $6,8 \pm 0,2$ con una solución estéril de hidróxido de sodio 1N, ó de ácido clorhídrico 1N, ó de fosfato tripotásico al 8% (K₃PO₄·7H₂O).

5.5.2.1 Productos procesados en general

- a) Asépticamente, pesar 25g de la muestra en un frasco de boca ancha con tapa de rosca (500cm³), adicionar 225 cm³ de diluyente, homogeneizar a alta velocidad durante 2 minutos. Si la muestra es pequeña, hacer la dilución proporcionalmente y proceder según el método (informar el resultado en base a la cantidad de muestra realmente analizada).
- b) Tapar el frasco y dejar a temperatura ambiente por 60 minutos
- c) Mezclar bien y ajustar el pH. Si la muestra es rica en grasa, después de ajustar el pH, adicionar hasta el 2,2 cm³ de Tergitol Aniónico-7 ó, dos a tres gotas DE Tritón X-100, esterilizados a vapor por 15 minutos. Utilizar estos surfactantes en la cantidad mínima necesaria para iniciar la formación de espuma.
- d) Con la tapa aflojada $\frac{1}{4}$ de vuelta, incubar a 37°C durante no menos 16 horas y no más de 20 horas
- e) Continuar con 5.5.3.6

5.6 Cálculos

5.6.1 Si en ninguna de las placas de agar selectivo sembradas con el cultivo de enriquecimiento selectivo, se desarrolla colonia alguna de *Salmonella*, reportar: "No se aisló *Salmonella* en 25g (u otra cantidad) de muestra examinada; el medio sólido selectivo secundario fue (SS, bismuto sulfito...)".

5.6.2 Si a partir de uno, o de ambos medios de enriquecimiento selectivo, se aísla *Salmonella* en las placas de agar selectivo, reportar: "Se aisló *Salmonella* en 25g (u otra cantidad) de muestra examinada, el medio(s) de enriquecimiento selectivo fue...; el medio(s) sólido selectivo secundario fue...; las pruebas bioquímicas realizadas fueron...; los antisueros con que se aglutinó fueron:..., la marca..."

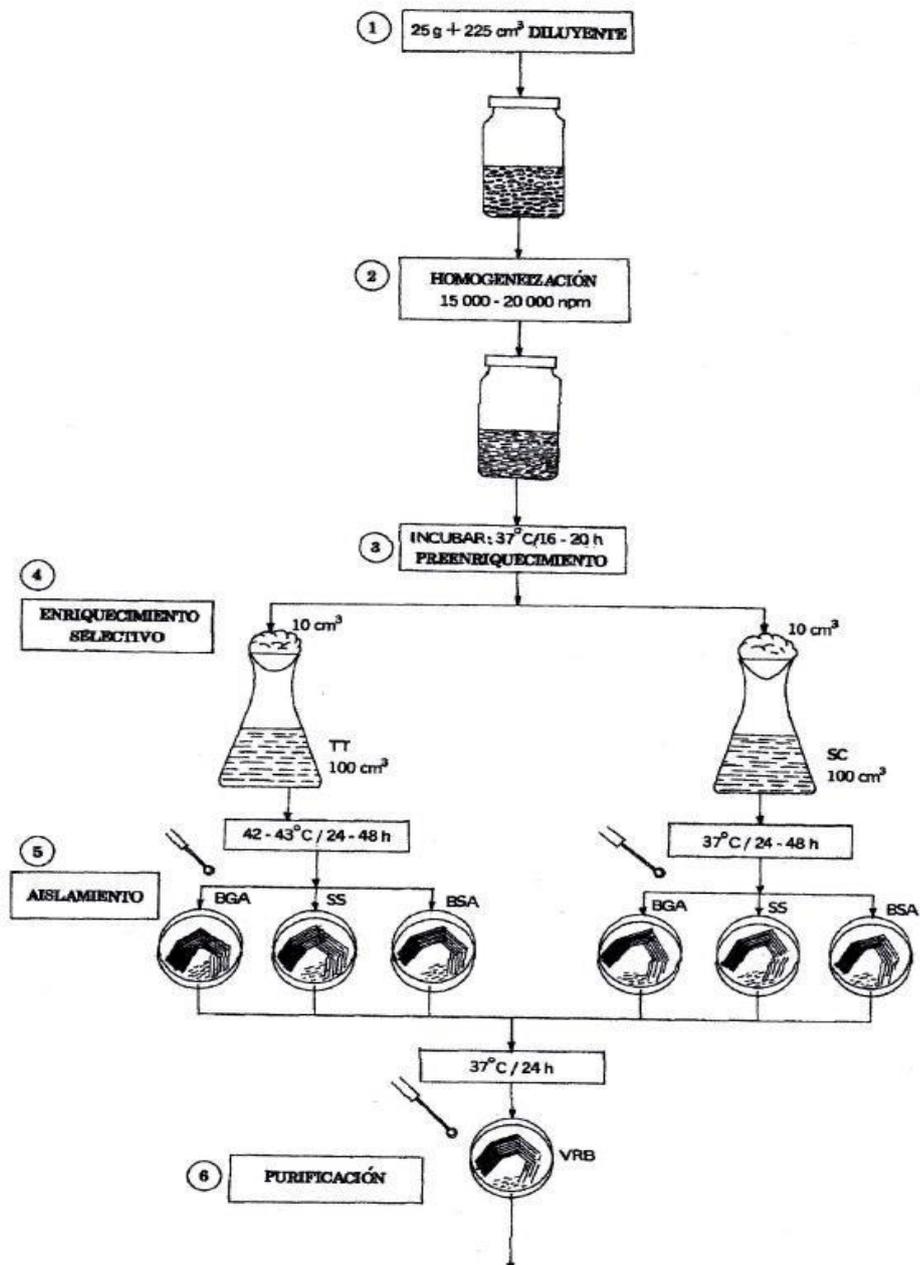
6. INFORME DE RESULTADOS

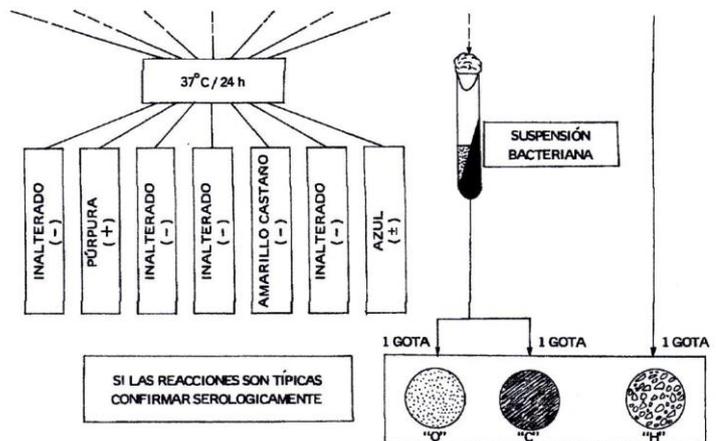
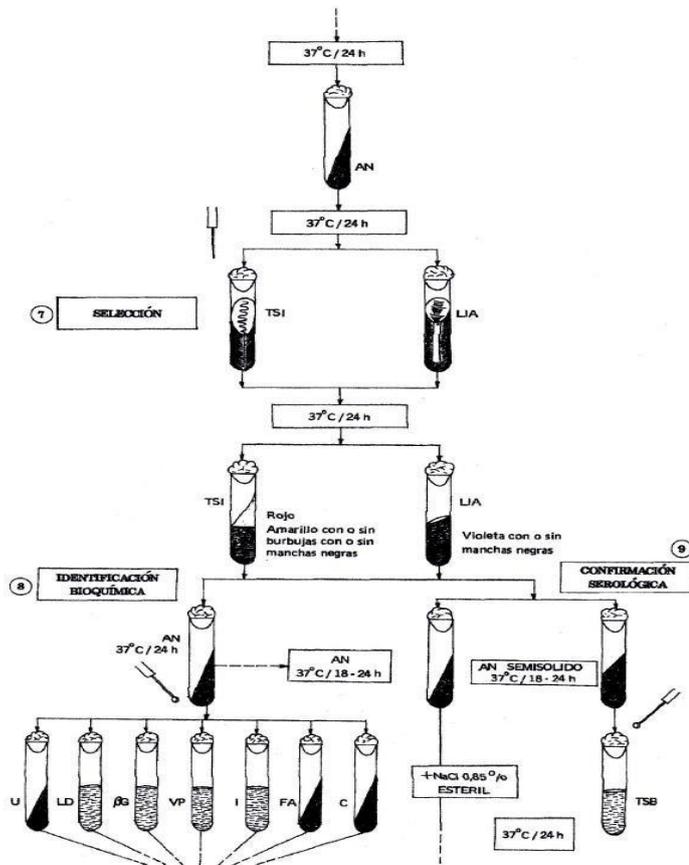
6.1 En el informe del ensayo reportar el resultado como se indica en el numeral 9. Además, indicar la norma de referencia y el nombre exacto del Centro donde se identificó la cepa.

6.2 Indicar cualquier condición no especificada en esta norma o considerada como opcional. El reporte debe incluir todos los detalles necesarios para la completa identificación de la muestra.

ANEXO A

DETECCIÓN DE SALMONELLA





"O" = 1 gota suspensión bacteriana + 1 gota anti poly "O" = +
 "C" = 1 gota suspensión bacteriana + 1 gota solución NaCl 0,85% = -
 "H" = 1 gota suspensión bacteriana + 1 gota anti poly "H" = +

CONTINUAR CON:
 - Anti "V" - Anti "H" de grupo
 - Anti "O" de grupo - Etc.

Anexo XII

NTE INEN 1 529-5:2006. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos. REP

1. OBJETIVO

1.1 Esta norma establece el método para cuantificar la carga de microorganismos aerobios mesófilos en una muestra de alimento destinado al consumo humano o animal.

2. ALCANCE

2.1 Este método de ensayo solo permitirá cuantificar la presencia de grupos de microorganismos aerobios mesófilos.

3. DEFINICIONES

3.1 Microorganismos aerobios mesófilos son aquellos microorganismos que se desarrollan en presencia de oxígeno libre y a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una zona óptima entre 30°C y 40°C.

3.2 REP es el recuento de microorganismos aerobios mesófilos por gramo o centímetro cúbico de muestra de alimento.

4. RESUMEN

4.1 Este método se basa en la certeza de que un microorganismo vital presente en una muestra de alimento, al ser inoculado en un medio nutritivo sólido se reproducirá formando una colonia individual visible. Para que el conteo de las colonias sea posible se hacen diluciones decimales de la suspensión inicial de la muestra y se inocula el medio nutritivo de cultivo. Se incuba el inóculo a 30°C por 72 horas y luego se cuenta el número de colonias formadas. El conteo sirve para calcular la cantidad de microorganismos por gramo o por centímetro cúbico de alimento.

4.2 Limitaciones del método. Se debe considerar que el valor numérico obtenido puede no reflejar el número real de microorganismos vitales (viables) en la muestra debido a las siguientes condiciones:

4.2.1 Las células microbianas suelen agruparse formando cadenas, grumos, racimos o pares y no separarse a pesar de la homogeneización y dilución de la muestra, por tanto, una colonia puede provenir de una célula individual o de un agrupamiento bacteriano.

4.2.2 Las células microbianas que han sufrido graves lesiones son incapaces de multiplicarse;

4.2.3 Las condiciones inadecuadas de aerobiosis, nutrición y temperatura; la presencia de inhibidores y el uso incorrecto.

5. DISPOSICIONES GENERALES

5.1 Todo el material a utilizarse en la determinación debe estar perfectamente limpio y estéril.

5.2 El área de trabajo debe estar constituida por una mesa nivelada, de superficie amplia, limpia, desinfectada, bien iluminada, situada en una sala de aire limpio , libre de polvo y corrientes de aire.

5.3 La carga microbiana del aire debe ser controlada durante el ensayo y, para una exposición del medio de cultivo a él por 15 min, no debe exceder de 15ufc/placa; de superarse este valor los ensayos deben ser anulados.

5.4 Todas las demás áreas del laboratorio deben estar libres de polvo, de insectos y guardar protegidos el material y suministros.

6. MATERIALES Y MEDIOS DE CULTIVO

6.1 Materiales

6.1.1 Pipetas serológicas de punta ancha de 1, 5 cm³ y 10 cm³ graduadas en 1/10 de unidad.

6.1.2 Cajas Petri de 90 mm x 15 mm,.

6.1.3 Erlenmeyer y/o frasco de boca ancha de 100 cm³, 250 cm³, 500 cm³ y 1 000 cm³ con tapa de rosca autoclavable.

6.1.4 Tubos de 150 mm x 16 mm

6.1.5 Gradillas

6.1.6 Contador de colonias

6.1.7 Balanza de capacidad no superior a 2 500 g y de 0,1 g de sensibilidad.

6.1.8 Baño de agua regulado a 45°C ± 1°C.

6.1.9 Incubador regulable (25°C - 60°C)

6.1.10 Autoclave.

6.1.11 Refrigeradora para mantener las muestras y medios de cultivo

6.1.12 Congelador para mantener las muestras a temperatura de -15°C a -20°C

6.2 Medios de cultivo

6.2.1 Agar para recuento en placa (Plate Count Agar). Preparación (ver Agares en la NTE INEN 1529-1)

6.2.2 Agua peptonada al 0,1 % (diluyente). Preparación (ver diluyentes en la NTE INEN 1 529-1)

7. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

7.1 Preparar la muestra según uno de los procedimientos indicados en la NTE INEN 1 529-2

8. PROCEDIMIENTO

8.1 Para cada dilución el ensayo se hará por duplicado. En cada una de las cajas Petri bien identificadas se depositará 1 cm³ de cada dilución. Para cada depósito se usará una pipeta distinta y esterilizada.

8.2 Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas aproximadamente 20 cm³ de agar para recuento en placa-PCA, fundido y templado a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. La adición del medio no debe pasar de más de 45 minutos a partir de la preparación de la primera dilución.

8.3 Cuidadosamente, mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a la placa movimientos de vaivén: 5 veces en el sentido de las agujas del reloj y 5 veces en el contrario.

8.4 Como prueba de esterilidad verter agar en una caja que contenga el diluyente sin inocular. No debe haber desarrollo de colonias.

8.5 Dejar reposar las placas para que se solidifique el agar.

8.6 Invertir las cajas e incubarlas a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 a 75 horas.

8.7 No apilar más de 6 placas. Las pilas de placas deben estar separadas entre sí, de las paredes y del techo de la incubadora.

8.8 Pasado el tiempo de incubación seleccionar las placas de dos diluciones consecutivas que presenten entre 15 y 300 colonias y utilizando un contador de colonias, contar todas las colonias que hayan crecido en el medio, incluso las

pequeñas, pero, se debe tener cuidado para no confundirlas con partículas de alimentos o precipitados, para esto, utilizar lupas de mayor aumento.

8.9 Las colonias de crecimiento difuso deben considerarse como una sola colonia si el crecimiento de este tipo de colonias cubre menos de un cuarto de la placa; si cubre más la caja no será tomada en cuenta en el ensayo.

8.10 Anotar el número de colonias y la respectiva dilución.

9. CALCULOS

9.1 Caso general (placas que contienen entre 15 y 300 colonias).

9.1.1 Calcular el número N de microorganismo por gramo o cm³ de producto como la media ponderada de dos diluciones sucesivas utilizando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0,1n_2)d}$$

En donde:

□c = Suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas:

V = Volumen inoculado en cada caja Petri;

n1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada:

n2 = Número de placas de la segunda dilución seleccionada:

d = Factor de dilución de la primera dilución seleccionada (d = 1 cuando se ha inoculado muestra líquida sin diluir).

9.1.2 Redondear los resultados obtenidos a dos cifras significativas. Cuando la tercera cifra comenzando por la izquierda es menor que 5, mantener inalterada la segunda cifra. Si la tercera cifra es mayor o igual a cinco, incrementar en una unidad la segunda cifra. Expresar como un número entre 1,0 y 9,9 multiplicado por 10^x, donde x es la correspondiente potencia de 10.

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Informar como número N de microorganismos por gramo o cm³ de muestra utilizando solo dos cifras significativas, según lo indicado en el numeral 9.1.

10.1.1 El resultado obtenido en el ejemplo indicado en 9.1.2 se expresaría de la siguiente manera:

- *N de microorganismos/g o cm³ = 2,0 x 10⁴*

10.1.2 El resultado obtenido en el ejemplo indicado en 9.2.1, se expresaría de la siguiente manera:

- *NE de microorganismos/g ó cm³ = 1,3 x 10³*

10.1.3 El resultado obtenido en el ejemplo indicado en 9.2.2 se expresaría de la siguiente manera:

- *NE de microorganismos/g ó cm³ ≤ 1,0/d*

ANEXO XIII

INEN 1 529-8 1990-02. DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES Y E. COLI.

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece la técnica del número más probable para la determinación de coliformes fecales y las pruebas confirmatorias de *Escherichia coli* e identificación de las especies del grupo coliforme fecal.

2. TERMINOLOGIA

2.1 Coliformes fecales. Es un grupo de coliformes que en presencia de sales biliares u otros agentes selectivos equivalentes fermenta la lactosa con producción de ácido y gas a temperatura entre 44 y 45,5°C. Este grupo contiene una alta proporción de *E. coli*, tipo I y II y que en general puede considerarse como equivalente a *E. coli*, siendo por ello útiles como indicadores de contaminación fecal en los alimentos.

2.2 *E. coli*. Es una especie bacteriana que además de presentar las características del grupo coliforme fecal, produce indol a partir del triptófano; es positivo a la prueba del rojo de metilo y negativo a la de Voges Proskauer; no utiliza el citrato como única fuente de carbono. Las cepas indol positivas se llaman *E. coli* Tipo I y se supone que su hábitat natural primario es el intestino.

2.3 Recuento de coliformes fecales. Es la determinación del número de coliformes fecales por gramo ó cm³ de muestra de alimento.

2.4 Diferenciación de las especies del grupo coliforme fecal. Es el proceso realizado para confirmar la presencia de *E. coli* y diferenciar las especies y variedades del grupo coliforme fecal mediante el conjunto de pruebas bioquímicas conocidas como "IMVEC".

2.5 IMVEC. Es una designación mnemónica de un grupo de cinco pruebas bioquímicas que consiste en:

I = Verificación de la producción de indol a partir del triptófano

M = Reacción del RM (rojo de metilo) para comprobar el descenso del pH del caldo glucosa tamponado

V = Reacción de VP (Voges-Proskauer); para comprobar la producción de acetoina a partir de glucosa.

E = Prueba de Eijkman, para comprobar la termotolerancia o crecimiento a $44 - 45,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

C = Utilización del citrato como fuente de carbono.

3. RESUMEN

3.1 Este método se basa en la prueba de Eijkman modificada para detectar la fermentación de la lactosa con producción de gas a $44 - 45,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ y complementada con la prueba de indol a esta temperatura, estos ensayos se realizan en caldo brillante-bilis lactosa y en caldo triptona partiendo de un inóculo tomado de cada tubo gas positivo del cultivo para coliformes totales, (ver INEN 1 529-6) e incubados a $45,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. La confirmación de E. coli y la diferenciación de las especies y variedades del grupo coliforme fecal, se realizan mediante los ensayos para indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato sódico.

4. EQUIPO Y MATERIALES DE VIDRIO

4.1 Equipo usual en un laboratorio microbiológico en particular.

4.1.1 Citados en numeral 4 de la Norma INEN 1 529-6.

4.1.2 Placas porta objetos.

4.1.3 Baño de agua regulable a $44 - 45,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$.

5. MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS

5.1 Caldo verde brillante bilis-lactosa (BGBL) o similar, ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.

5.2 Caldo triptona; ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.

5.3 Agar eosina azul metileno (EMB); ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.

5.4 Agar de contage en placa (PCA); ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.

5.5 Caldo MR-VP; ver preparación caldos de cultivo en la Norma INEN 1 529-1.

5.6 Reactivos de Kovacs; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

5.7 Solución de Rojo de metilo; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

5.8 Solución de Creatina al 0,5%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

5.9 Solución alcohólica de α -naftol al 6%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

5.10 Solución de hidróxido de Potasio al 40%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

5.11 Agar citrato de Simons; ver preparación agares en la Norma INEN 1 529-1.

5.12 Solución alcohol-acetona; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1 529-1.

5.13 Solución fenicada de cristal violeta al 1%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.

5.14 Solución fenicada de fucsina básica al 1%; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.

5.15 Solución de lugol; ver preparación reactivos en la Norma INEN 1529-1.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 Coliformes fecales

6.1.1 Simultáneamente con el ensayo confirmatorio de la Norma INEN 1 529-6 inocular dos o tres asas de cada uno de los tubos presuntamente positivos en un tubo conteniendo 10 cm³ de caldo

BGBL (5.1) y en otro que contenga aproximadamente 3 cm³ de caldo triptona (5.2) (ver esquema 1).

6.1.2 Incubar estos tubos a $45,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ (baño María) por 48 horas.

6.1.3 al cabo de este tiempo anotar la presencia de gas en los tubos de BGBL y añadir dos o tres gotas del reactivo de Kovacs a los tubos de agua triptona. La reacción es positiva para el indol si en cinco minutos se forma un anillo rojo en la superficie de la capa de alcohol amílico; en la prueba negativa el reactivo de Kovacs conserva el color original.

6.1.4 Los cultivos gas positivos en caldo verde brillante bilis-lactosa incubados a 30 ó 35°C y a 45,5°C y que producen indol a 45,5°C son considerados coliformes fecales positivos.

6.2 Confirmación de *E. coli* y diferenciación de las especies del grupo mediante las pruebas IMViC. En situaciones que justifiquen el esfuerzo y sean necesarias la conformación de

E. coli y la diferenciación de las especies del grupo coliforme fecal, realizar los ensayos para indol, rojo de metilo, Voges Praskauer y citrato sódico (Pruebas IMViC), de la siguiente forma:

6.2.1 De cada tubo de caldo BGBL que sea positivo para coliformes fecales (6.1), sembrar por estría un asa en una placa individual de agar eosina azul de metilo o agar VRB previamente seca e identificada.

6.2.2 Incubar las placas invertidas a 35 - 37°C por 24 horas.

6.2.3 Para confirmar la presencia de *E. coli*, de cada placa escoger 2 - 3 colonias bien aisladas y típicas (negra o nucleada con brillo verde metálico de 2 - 3 mm de diámetro) y sembrar en estría en tubos de agar PCA o agar nutritivo inclinado e incubar los cultivos a 35 - 37° por 24 horas.

6.2.4 Hacer extensiones a partir de los cultivos en agar PCA o nutritivo inclinado y teñirlos por el método de Gram, si se comprueba la pureza de los cultivos de sólo bacilos Gram. negativos no esporulados, utilizar éstos para la prueba IMViC.

6.2.5 *Prueba para indol* Sembrar en un tubo de agua triptona un asa de cultivo puro (6.2.4), incubar 24 horas a 35 - 37°C. Añadir al tubo 0,5 cm³ del reactivo de Kovacs. La aparición de un color rojo oscuro en la superficie del reactivo, indica una prueba positiva. En la prueba negativa el reactivo conserva el color original.

6.2.6 *Prueba del rojo de metilo (RM)*. Sembrar en un tubo de caldo MR-VP un asa de cultivo puro

(6.2.4) incubar 24 horas a 35 - 37°C, añadir a cada tubo aproximadamente 3 gotas de la solución de rojo de metilo, agitar; si el cultivo se torna rojo la prueba es positiva y negativa si hay viraje a amarillo.

6.2.7 *Prueba de Voges-Proskauer (VP)*. Sembrar en un tubo de caldo MR-VP un asa de cultivo puro (6.2.4) e incubar 24 horas a 35 - 37°C.

6.2.7.1 Luego de este período, añadir los siguientes reactivos cuidando de agitar el tubo después de cada adición:

- solución de creatina al 0,5%. 2 gotas
- solución alcohólica de α -naftol al 6% 3 gotas
- solución de hidróxido de potasio al 40%: 2 gotas.

6.2.7.2 Observar dentro de 15 minutos. La aparición de un color rosado o rojo brillante, generalmente al cabo de cinco minutos el resultado es positivo.

6.2.8 *Prueba para la utilización del citrato.* Un asa del cultivo puro (6.2.4) sembrar por estría en la superficie de la lengüeta de agar citrato inclinado e incubar 24 horas a 35 - 37°C. La reacción es positiva si hay crecimiento visible que se manifiesta por lo general en el cambio de color del medio, de verde a azul.

6.2.9 Considerar como E. cóli a los microorganismos que presentan las siguientes características: bacilos Gram. negativos no esporulados que producen gas de la lactosa y reacción IMVEC ver Tabla 1.

7. CALCULOS

7.1 Coliformes fecales

7.1.1 Calcular la densidad de coliformes fecales sólo en base del número de tubos que a 45,5°C presentan gas en el caldo BEGL e indol en el caldo triptona, seguir las instrucciones de los numerales 8, 9 y 10 de la Norma INEN 1 529-6

7.2 E. coli. Para determinar el NMP de E. coli proceder según las instrucciones de los numerales 8, 9 y 10 de la Norma INEN 1 529-6 basándose únicamente en todos los tubos que presentan bacilos con las características indicadas en el numeral 6.2.9.

8. INFORME DE RESULTADOS

8.1 Coliformes fecales. Reportar NMP de coliformes fecales/g ó cm³ de muestra.

8.2 E. coli.

8.2.1 Reportar NMP de E. coli/g ó cm³ de muestra

ANEXO XIV



DIGESTIÓ-N-DETERMINACION DEL CONTENIDO DE N-EQUIPO KJELDAHL

ANEXO XV



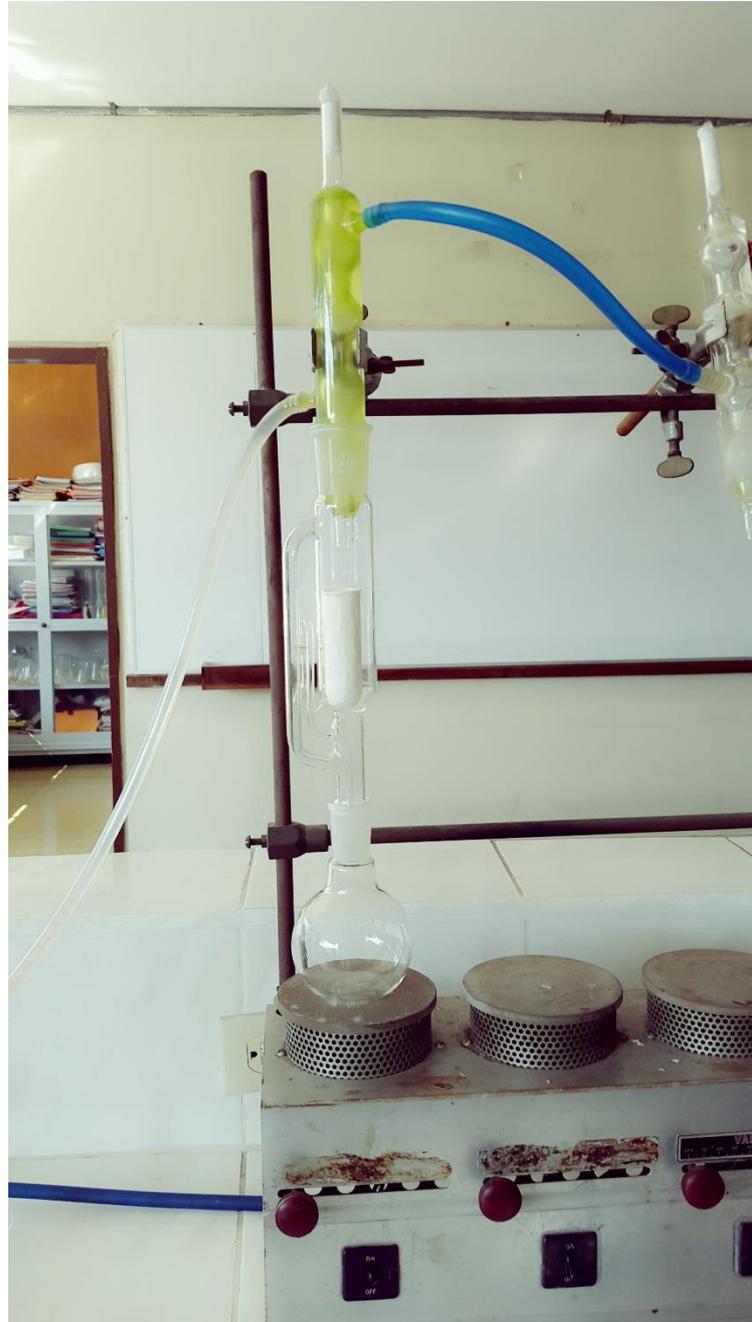
DESTILACIÓN-DETERMINACION DEL CONTENIDO DE N- EQUIPO KJELDAHL

ANEXO XVI



TITULACIÓN-DETERMINACION DEL CONTENIDO DE N- EQUIPO KJELDAHL

ANEXO XVII



DETERMINACION DE PORCENTAJE DE GRASA- EQUIPO SOXHLET

ANEXO XVIII



DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE HUMEDAD – BALANZA DE RAYOS INFRAROJOS

ANEXO XIX



DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES POR CALCINACIÓN SECA

ANEXO XX



ELABORACION DEL PRODUCTO

ANEXO XXI



ANALISIS SENSORIAL-EVALUACION DEL PRODUCTO