



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ALBAHACA (*OCIMUM BASILICUM*),  
CILANDRO (*CORIANDRUM SATIVUM*), Y GUAYABA (*PSIDIUM GUAJAVA*)  
COMO ANTIOXIDANTE EN SALCHICHAS DE POLLO TIPO FRANKFURT.

AUTOR

María Belén Muquincho Minango

AÑO

2017



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

APLICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE ALBAHACA (OCIMUM  
BASILICUM), CILANDRO (CORIANDRUM SATIVUM), Y GUAYABA (PSIDIUM  
GUAJAVA) COMO ANTIOXIDANTE EN SALCHICHAS DE POLLO TIPO  
FRANKFURT.

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar por el título de Ingeniera Agroindustrial y Alimentos

Profesor Guía

MSc. Janeth Fabiola Proaño Bastidas.

Autora

María Belén Muquincho Minango

Año

2017

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con la estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

-----  
Janeth Fabiola Proaño Bastidas.

Master en Gerencia y Liderazgo Educativo

CC: 1706515564

## **DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR**

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

---

Bolívar Edmundo Silva López

Master en Gestión de la Producción

CC: 1706480694

## DECLARACION DE AUTORIA ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

---

María Belén Muquincho

CC: 1726512401

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios quien me ha proporcionado sabiduría y a guía mi camino al trayecto de mi formación profesional.

A mi padre, hermanos, cuñado y Alcívar por apoyarme incondicionalmente a cumplir mis metas, a tener un crecimiento personal y profesional.

A mi tutora Janeth Proaño por ayudarme y apoyarme incondicionalmente en el desarrollo de la tesis.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mi hermano y mi familia que los amo por el estar junto a mí y apoyarme en cumplir su sueño y mi sueño de ser una profesional.

## RESUMEN

En la actualidad los alimentos contienen mayor cantidad de conservantes sintéticos, que pueden causar efectos nocivos a futuro por una acumulación de cantidades residuales en el organismo del consumidor, por este motivo en este estudio se utilizó antioxidantes naturales en alimentos. La investigación comprobó el efecto antioxidante de las soluciones de aceite esencial de albahaca, cilantro, guayaba como preservantes naturales. Se realizó 9 tratamientos que se aplicaron en las salchichas de pollo para evaluar el crecimiento microbiológico y los cambios físico-químicos en este embutido. Después del análisis microbiológico se comprobó que los tratamientos óptimos son: T8 (800 ppm aceite esencial de albahaca+ 800 ppm aceite esencial de cilantro+ 800 ppm aceite esencial de guayaba) y T6 (1000 ppm aceite esencial de cilantro). El estudio de vida útil se realizó durante un periodo de 30 días, la humedad se mantuvo en 70% y un pH final de 4,13. Se determinó que las soluciones antioxidantes permiten la estabilidad de las salchichas de pollo mediante la disminución de unidades formadoras de colonias y control físico químico. Los tratamientos aplicados actuaron efectivamente sobre *Aerobios totales*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* y *Echerichia coli* disminuyendo la presencia de unidades formadores de colonias, manteniendo las UFC en los rangos según la norma INEN 1338. Para verificar la efectividad del estudio, se realizó la evaluación del efecto antioxidante a los aceites esenciales de albahaca, cilantro y guayaba mediante el método de decoloración DPPH (1,1-difenil- 1-picrilhidrazil). Este método determino la capacidad antioxidante de los aceites esenciales con un porcentaje: albahaca 82%, cilantro 93%, guayaba 98%.

## ABSTRACT

Food has more synthetic preservatives that could cause future effects in health, because of residual accumulation of it in the consumer's body. For this reason, this study proposes the use of natural antioxidants as a preservative in food obtained basil, cilantro, and guava in a different solution of each one. This project researched 9 treatments which were used in chicken sausages to evaluate the microbiological growth and the changes in physical-chemical properties. After the analysis, the results show as optimal treatments T8 (800 ppm essential oil of basil + 800 ppm essential oil of cilantro + 800 ppm essential oil of guava) and T6 (1000 ppm essential oil of cilantro), which shelf-life study was analyzed during 30 days, the sausage's moisture maintained in 70% and a final pH of 4,13. The antioxidant solutions allow the stability of the chicken sausages by reducing colony forming units and chemical physical control. The treatments were effective on total *aerobes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and *Escherichia coli*, which were according of the ranges of food code INEN 1338. The effectiveness of the project was verified of the results obtained in the antioxidant analysis of each essential oils using the method DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl). This method determined the antioxidant capacity of essential oils: basil 82%, cilantro 93% and guava 98%.

# INDICE

1. CAPITULO I. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Problemática.....	2
1.3 OBJETIVOS.....	2
1.3.1 Objetivo General.....	2
1.3.2 Objetivos Específicos.....	2
2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	3
2.1 Aditivos alimentarios.....	3
2.1.1 PRESERVANTES Y ANTIOXIDANTES.....	4
2.1.1.1 Preservantes.....	4
2.1.1.1.1 Preservantes Inorgánicos .....	5
2.1.1.1.1.1 Nitritos y Nitratos.....	5
2.1.1.2 Antioxidantes .....	7
2.1.1.2.1 Antioxidantes Naturales .....	9
2.1.1.2.1.1 Ascorbatos:.....	9
2.1.1.2.1.1.1 Acido L ascórbico o vitamina C:.....	9
2.1.1.2.2 Antioxidantes sintéticos .....	11
2.1.1.2.2.1 Butilhidroxitolueno (BHT) .....	11
2.1.1.2.3 Bioantioxidantes.....	11
2.1.1.2.3.1 Aceites Esenciales.....	11
2.1.1.2.3.1.1 Aceite esencial de Albahaca .....	13
2.1.1.2.3.1.1.1 Aceite esencial de Cilantro.....	14
2.1.1.2.3.1.1.1.1 Aceite esencial de guayaba .....	15

2.2 Embutidos.....	17
2.2.1 Norma INEN para productos Cárnicos Pre cocidos- Cocidos.....	18
2.2.1.1 Análisis Microbiológicos.....	19
2.2.1.1.1 <i>Aerobios totales</i> .....	20
2.2.1.1.2 <i>Echerichia Coli</i> .....	21
2.2.1.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
2.2.1.1.4 <i>Salmonella</i> .....	22
3. CAPÍTULO III.METODOLOGÍA .....	23
3.1 Obtención de los aceites esenciales de Albahaca, Cilantro y Guayaba .....	24
3.2 Elaboración de salchichas de pollo tipo Frankfurt .....	26
3.2.1 Procedimiento para la elaboración de salchichas de pollo .....	27
3.3 Variables de Estudio .....	29
3.3.1 Análisis microbiológico.....	29
3.3.2 Materiales .....	30
3.3.3 Reactivos .....	30
3.3.1.1 Procedimiento para siembra de muestras .....	30
3.3.1.1.1 Reconocimiento de <i>Aerobios mesofilos</i> .....	35
3.3.1.1.2 Reconocimiento de <i>Echerichia coli</i> .....	36
3.3.1.1.3 Reconocimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	37
3.3.1.1.4 Reconocimiento de <i>Salmonella</i> .....	38
3.3.2 Análisis físicos químicos .....	39
3.3.2.1 pH .....	39
3.3.2.2 Determinación de peróxidos .....	40
3.3.3 Medición del efecto antioxidante de aceites esenciales.....	42

3.3.3.1 Materiales: .....	42
3.3.3.2 Reactivos .....	43
3.3.3.3 Procedimiento para la medición del efecto antioxidante de las soluciones .....	43
3.3.3.3.1 Recta de calibración .....	43
3.3.3.3.2 Capacidad antioxidante de las soluciones .....	43
<b>4. CAPÍTULO IV. Resultados y Discusión .....</b>	<b>44</b>
4.1 Variables de estudio .....	44
4.1.1 Análisis Microbiológicos .....	44
4.1.1.1 <i>Aerobios Mesofilos</i> .....	44
4.1.1.3 <i>Staphylococcus</i> .....	49
4.1.1.4 <i>Echerichia coli</i> .....	54
4.1.1.5 <i>Salmonella</i> .....	54
4.1.2 Análisis Físico Químico.....	55
4.1.2.1 PH.....	55
4.1.2.2 Humedad .....	59
3.1.1.8 Peróxidos.....	63
4.1.2.4 Efecto antioxidante .....	64
<b>5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>68</b>
5.1 Conclusiones .....	68
5.2. Recomendaciones .....	69
Referencias .....	70
Anexos .....	80

## Índice de Figuras

Figura 1. estructura del ácido ascórbico.....	10
Figura 2. Donación de electrones.....	10
Figura 3. Estructura BHT.....	11
Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de obtención de aceite esencial de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> ), cilantro ( <i>Coriandrum sativum</i> ) y guayaba ( <i>Psidium guajava</i> ).....	25
Figura 5 Obtención de aceites esenciales de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> ), cilantro ( <i>Coriandrum sativum</i> ) y guayaba ( <i>Psidium guajava</i> ) .....	26
Figura 6 Proceso de pesaje de los ingredientes según la formulación.....	27
Figura 7 Proceso de reducción de carne a 2,5 mm.....	28
Figura 8 Proceso de Homogenización de la emulsión de pollo en el cúter HOBART.....	28
Figura 9 Proceso de escaldado de salchichas de pollo tipo Frankfurt temperatura interna de salchichas 65°C.....	29
Figura 10 Proceso de enfriamiento de salchichas de pollo empacadas al vacío.....	29
Figura 11 Desinfección de muestras con alcohol antiséptico .....	31
Figura 12 Pesado de la muestra para la dilución .....	31
Figura 13 Agitación de los tubos de ensayo en dilución de las muestra de pollo.....	32
Figura 14 Extracción de 33µl de la dilución de la muestra .....	32
Figura 15 Inoculación de la muestra en cajas tripetri con medios solidos.....	32
Figura 16 Se esparció la muestra con aza <i>Drigalski triangular</i> .....	33
Figura 17 Caja Petri en incubación a 37°C.....	33
Figura 18 Contabilización de bacterias en caja tripetri .....	34
Figura 19 Diagrama de flujo de procesamiento de muestras de salchichas de pollo para siembra.....	35
Figura 20 Cajas Petri con Agar Plate Count para <i>aerobios mesófilos</i> .....	36
Figura 21 Cajas petri con Agar EMB para <i>Echerichia coli</i> .....	37

Figura 22 Cajas petri con Agar Manitol Salado para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	38
Figura 23 Cajas petri con Agar SS ( <i>Salmonella- Shigella</i> ) para <i>Salmonella</i> .....	38
Figura 24 Determinación del pH en la muestra de salchicha de pollo.....	40
Figura 25 Test de peróxidos Mquant en la muestra de salchicha de pollo.....	41
Figura 26 Tiras de peróxido sumergidas en la solución acuosa de salchicha de pollo.....	41
Figura 27 Determinación de peróxidos mediante escala de colores. ....	42
Figura 28 Crecimiento de <i>Aerobios mesófilos</i> día 30.....	49
Figura 29 Crecimiento de <i>Staphylococcus</i> día 30.....	53
Figura 30 PH de las salchichas día 30.....	59
Figura 31 humedad día 30.....	63
Figura 32 Recta de calibración DPPH, absorbancia 517nm. ....	64
Figura 33 <i>Absorbancia del aceite esencial de cilantro en 30 minutos.</i> ....	66
Figura 34 <i>Absorbancia del aceite esencial de albahaca en 30 minutos.</i> ....	66
Figura 35 <i>Absorbancia del aceite esencial de guayaba en 30 minutos.</i> .....	67

## Índice de tablas

Tabla 1 Clasificación general de los preservantes utilizados en las industrias de alimentos.....	5
Tabla 2 Códigos de identificación de los aditivos alimentarios de nitritos y nitratos. ....	6
Tabla 3 Clasificación de los antioxidantes en el uso de las industrias alimentarias.....	8
Tabla 4 Clasificación de conservantes.....	8
Tabla 5 Compuestos del aceite esencial de albahaca.....	13
Tabla 6 Compuestos del aceite esencial de las hojas de cilantro.....	14
Tabla 7 Composición de las hojas de Guayaba.....	16

Tabla 8 Requisitos microbiológicos para productos cárnicos cocidos.....	20
Tabla 9 Descripción de las Formulaciones de aceites esenciales aplicadas en salchichas de pollo. ....	23
Tabla 10 Formulación para la elaboración de salchichas de pollo .....	27
Tabla 11 Análisis de varianza para <i>Aerobios mesofilos</i> día 0 .....	44
Tabla 12 Análisis de la desviación estándar y el rango del día 0 .....	45
Tabla 13 Análisis de varianza para <i>Aerobios mesofilos</i> día 10 .....	45
Tabla 14 Análisis de la desviación estándar y el rango del día 10 .....	46
Tabla 15 Análisis de varianza para <i>Aerobios mesófilos</i> día 20 .....	46
Tabla 16 Análisis de varianza estándar para <i>Aerobios mesofilos</i> día 20 .....	47
Tabla 17 Análisis para <i>Aerobios mesofilos</i> día 30.....	48
Tabla 18 Análisis de varianza estándar para <i>Aerobio mesofilos</i> día 30 .....	48
Tabla 19 Análisis de varianza para <i>Staphylococcus</i> día 0 .....	50
Tabla 20 Análisis de desviación estándar para <i>Staphylococcus</i> día 0 .....	50
Tabla 21 Análisis de varianza para <i>Staphylococcus</i> día 10 .....	50
Tabla 22 Análisis de desviación estándar para <i>Staphylococcus</i> día 10 .....	51
Tabla 23 Análisis de varianza para <i>Staphylococcus</i> día 20 .....	51
Tabla 24 Análisis de desviación estándar para <i>Staphylococcus</i> día 20 .....	51
Tabla 25 Análisis de varianza para <i>Staphylococcus</i> día 30 .....	52
Tabla 26 Análisis de desviación estándar para <i>Staphylococcus</i> día 30 .....	52
Tabla 27 Análisis de varianza del pH día 0 .....	56
Tabla 28 Análisis de la desviación estándar día 0.....	56
Tabla 29 Análisis de la varianza de pH día 10 .....	56
Tabla 30 Análisis de la desviación estándar día 10.....	57
Tabla 31 Análisis de varianza del pH día 20 .....	57
Tabla 32 Análisis de la desviación estándar día 20.....	57
Tabla 33 Análisis de varianza del pH día 30 .....	58
Tabla 34 Análisis de la desviación estándar día 30.....	58
Tabla 35 Análisis de varianza de la humedad día 0 .....	60

Tabla 36 Análisis de la desviación estándar día 0.....	60
Tabla 37 Análisis de varianza de la humedad día 10 .....	60
Tabla 38 Análisis de la desviación estándar día 10.....	61
Tabla 39 Análisis de varianza de a humedad día 20 .....	61
Tabla 40 Análisis de la desviación estándar día 20.....	61
Tabla 41 Análisis de la varianza de la humedad día 30 .....	62
Tabla 42 Análisis de la desviación estándar día 30.....	62
Tabla 43 Concentración de DPPH, determinación de la absorbancia en espectrofotómetro UV para recta de calibración. ....	64

# 1. CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Antecedentes

Desde épocas antiguas se han utilizado preservantes en los alimentos como la sal, humo, vinagre o especias. En la actualidad, las industrias utilizan en la mayoría de sus productos preservantes químicos o sintéticos(Castillo, 2007). El problema es la incorrecta manipulación de las dosis y concentraciones altas que se aplica a un producto alimenticio(Longo, 2013). Las industrias alimenticias emplean en sus productos conservantes comerciales como propionatos, sorbato y benzoatos(Hernandez A. , 2010). La tendencia del consumidor es la disminución de conservantes en productos alimenticios, debido a que éstos pueden provocar alergias, asma, diarrea. Algunas personas buscan consumir productos naturales para evitar que la residualidad de los preservantes químicos causen daño a la salud(Reyes, 2012).

Una opción es el uso de sustancias antimicrobianas como agentes antiparadeamiento y antioxidantes naturales. Los antioxidantes cumplen funciones importantes como: retardar los procesos de oxidación provocados por los rayos de luz, contacto con metales, etc. Entre los antioxidantes naturales tenemos el ácido ascórbico, especies con compuestos antimicrobianos(Anderson & Calderón, 1999).

Los aceites esenciales son productos constituidos principalmente por compuestos volátiles, contienen compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, cetonas), monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanos y flavonoides. Los aceites esenciales y sus compuestos volátiles son aplicados en los alimentos como antimicrobianos (Martínez A. , 2011). Además se puede identificar los compuestos volátiles de aceites esenciales de especias y plantas como cilantro rico en Linalol, E-2-Decanal (70%), Tomillo rico en Timol (10-64%), Carvacrol (2-11%), y- Terpineno (2-31%)(Reyes, 2012), Albahaca rica en eugenol y estragol. Se debe identificar el efecto antioxidante de cada aceite

esencial (Pino A, 2015). Investigar el compuesto activo del aceite esencial que asigna el efecto antioxidante y no permite el desarrollo de microorganismos.

## **1.2 Problemática**

Las industrias cárnicas son ejemplo de industrias que utilizan un alto contenido de conservantes en la elaboración de subproductos cárnicos. Las salchichas en su formulación contienen ingredientes como carne, fosfatos, nitratos, preservantes químicos, grasa, sodio y condimentos. El problema en la salchicha son los nitritos y nitratos por las dosis y concentraciones. Sin embargo éstos ayudan a conservar el color a los productos cárnicos, y actúan como conservantes y antioxidantes (Andrée S, 2010). Para reemplazar o disminuir el uso de preservantes químicos existen alternativas como son los aceites esenciales que poseen un efecto antioxidante que inhibe el crecimiento de microorganismos. El desarrollo de los microorganismos en los alimentos es el riesgo que más se debe controlar para evitar una contaminación en el mismo y es la razón por la que se investiga el poder antioxidante de los aceites esenciales contra microorganismos patógenos. Los microorganismos más comunes son *Staphylococcus*, *Aerobios totales*, *Salmonella* y *Escherichia coli*, la aplicación del aceite esencial en salchichas de pollo tipo Frankfurt actuará como antioxidante y no permitirá el desarrollo de microorganismos.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar el efecto antioxidante del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y guayaba (*Psidium guajava*) en salchichas de pollo tipo Frankfurt

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Identificar el poder antioxidante de los aceites de albahaca (*Ocimum basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y guayaba (*Psidium guajava*).

- Determinar el efecto antimicrobiano *en salchichas tipo Frankfurt que han sido tratadas con aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y guayaba (*Psidium guajava*).*
- Determinar el deterioro de la grasa en salchichas de pollos tipo Frankfurt que han sido tratadas con aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum*, cilantro (*Coriandrum sativum*) y guayaba (*Psidium guajava*).

## 2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Aditivos alimentarios

Los aditivos forman parte de nuestra vida cotidiana y se asocian a los tiempos modernos. Una de las grandes preocupaciones del hombre a lo largo de la historia consiste en alargar el período de conservación de los alimentos para una época de escasez, por tal razón se desarrollaron diferentes técnicas de conservación. Según establece el real Decreto 3177/1983, los aditivos alimentarios son sustancias que no se consumen como un alimento, sino se añaden intencionalmente a los alimentos con fines tecnológicos en la fase de su fabricación, transformación, preparación, tratamiento, envasado, transporte o almacenamiento (Jiménez, 2008). Las industrias alimentarias deben facilitar la disponibilidad de alimentos acorde al incremento de la población, para cubrir las necesidades de la sociedad, se deben mejorar e innovar los procesos tecnológicos, incluyendo aditivos alimentarios en la elaboración de productos. Los beneficios del uso de aditivos alimentarios son: alimentos sanos, precios asequibles, variabilidad de productos (Rodríguez, 1999). El uso general de aditivos alimentarios en las industrias alimentarias, han obligado a establecer controles que regulen su correcta utilización, para que una sustancia sea admitida como aditivo debe estar bien caracterizada químicamente y superar los controles toxicológicos establecidos por parte de los correspondientes organismos sanitarios. El Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos (CCFAC) elaboró el sistema Internacional de Numeración de Aditivos Alimentarios (SIN) para establecer un sistema numérico

internacional acordado de identificación de los aditivos alimentarios en las listas de ingredientes(Codex Alimentarius, 2000). En Ecuador la entidad encargada de la regulación de los aditivos es el Instituto Nacional Ecuatoriano de Regulación (INEN). La Norma establecida por la entidad es la NTE INEN 2074 (Aditivos Alimentarios permitidos para consumo Humano) adoptado de la norma general del Codex, la norma indica los requisitos y la lista de productos que se identifican como aditivos(INEN, 2012).

La ingesta diaria (IDA) es el contenido máximo de un aditivo que puede autorizarse en un alimento (Hernandez A. , 2010).A partir del IDA se establece el nivel de uso o nivel de tratamiento. Por ejemplo el Maltol potenciador que se absorbe en el intestino y se elimina en la orina, el IDA es 1 mg/kg de peso, para una persona de 80 kg podrá ingerir 80 mg de Maltol(FAO, 1995). Además la ingesta diaria admisible no especifica (NE) es una expresión aplicada a sustancias alimentarias de muy baja toxicidad cuya ingesta alimentaria no represente un riesgo en la salud(INEN, 2013).

Los aditivos alimentarios se clasifican según el código Alimentario Español, en 4 grandes grupos de aditivos alimentarios según la función que desempeñen (Hernández, 2010).

**Antioxidantes y Conservantes o Preservantes:** Sustancias que evitan alteraciones químicas y biológicas.

**Edulcorantes artificiales, potenciadores de sabor, colorantes:** Sustancias que modifican las características organolépticas.

**Emulgentes, espesantes, gelificantes, reguladores de PH:** Estabilizadores del aspecto y sus características físicas.

**Mejoradores de la panificación, correctores de la vinificación:** Sustancias correctoras de los alimentos.

## **2.1.1 PRESERVANTES Y ANTIOXIDANTES**

### **2.1.1.1 Preservantes**

Los preservantes son sustancias capaces de inhibir, retardar y detener los procesos de fermentación y otras alteraciones biológicas de los alimentos. Las

funciones principales de los preservantes son: retrasar el deterioro de los alimentos, prevenir alteraciones en su sabor, color, olor y aspecto(Quiminet, 2006).

Algunos preservantes presentan la misma capacidad antioxidante frente a mohos levaduras y bacterias. La mayoría de conservantes actúan en levaduras y mohos, pocos son los que actúan en bacterias. Los factores que influyen en la acción son: pH óptimo de acción (zona acida), y el pH óptimo para el incremento de las bacterias es la zona neutral. Además existen parámetros que influyen en la actividad de los conservantes: pH del alimento, división de componentes del alimento y la semejanza del preservante, actividad del agua, potencial redox, otros componentes naturales del alimento como azúcar y vitaminas.

Existen preservantes orgánicos e inorgánicos, en la siguiente tabla se observa la clasificación de los preservantes(Serrano M, 2012).

Tabla 1. Clasificación general de los preservantes utilizados en las industrias de alimentos.

<b>Conservantes orgánicos</b>	<b>Conservantes Inorgánicos</b>
<b>Ácido sorbico y sorbatos</b>	Dióxido de azufre
<b>Acido benzoico y benzoatos</b>	Nitritos y Nitratos
<b>Esteres del ácido p-hidroxibenzoico</b>	
<b>Ácido láctico, Acido propionico y acético</b>	

Tomado de (Serrano M, 2012)

### **2.1.1.1.1 Preservantes Inorgánicos**

#### **2.1.1.1.1.1 Nitritos y Nitratos**

Los nitritos y nitratos son preservantes inorgánicos empleados principalmente en cárnicos o productos derivados. El uso de nitritos en dosis elevadas tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de algunos microorganismos *aerobios*: *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus carnosus*. Las concentraciones deben

presentar más de 50 ppm(Bozkurt). En algunas bacterias se requiere concentraciones mayores de nitritos y nitratos para retrasar la velocidad de crecimiento un ejemplo es: *Clostridium botulinum* y esporas de *Bacillus*, las concentraciones van desde 300 ppm de nitritos para provocar la muerte por lisis celular, las concentraciones de 150 – 200 ppm de nitritos solo retrasa el crecimiento celular(Sofos, 1979).

El nitrito de sodio y el nitrato de sodio son empleados en gran cantidad de productos cárnicos como son salchichas, jamón, tocino y embutidos. El ingrediente activo es el nitrito de sodio que reacciona a partir del nitrato de sodio, debido a la reacción del nitrato( $\text{NO}_3$ )<sup>-1</sup>, que es catalizado por enzimas bacterianas las cuales son productos de la maduración y se obtiene ( $\text{NO}_2$ ). Los microorganismos utilizan el nitrato como sustituto del oxígeno en condiciones anaerobias. El nitrito cumple 2 funciones principales: mantener el color rojo de la carne al reaccionar con los componentes de la sangre y prevenir la germinación o desarrollo de las esporas botulínicas(Tortora F. C., 2007).

Existen diferentes códigos en aditivos, en la siguiente tabla se observa los códigos de identificación de los nitritos y nitratos como aditivos alimentarios.

Tabla 2. Códigos de identificación de los aditivos alimentarios de nitritos y nitratos.

<b>Aditivo</b>	<b>Código</b>
<b>Nitrito potásico</b>	E-249
<b>Nitrito sódico</b>	E-250
<b>Nitrato sódico</b>	E-251
<b>Nitrato potásico</b>	E-252

Tomada de(González C, 2013)

Aparecen riesgos en el uso de nitritos y nitratos, formación de nitrosaminas, sustancias que son agentes cancerígenos, existen 2 formas de nitrosaminas: en alimentos o en el propio organismo, el primer caso se limita a los alimentos que se encuentran en cocción por mucho tiempo o ricos en aminas, el segundo caso se forma nitrosaminas en el estómago(Vázquez, 2001). La ingesta de nitratos oscila entre 2-10mg/día en un 33 a 42% (IDA) (Rodríguez M, 1999).

### 2.1.1.2 Antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, reducen el grado final de enranciamiento, prolongan el periodo de inducción de una manera acelerada proporcional a su concentración (Coulter, 2002). Las características más importantes son: previenen el deterioro químico por la oxidación, se incrementa el tiempo de consumo del producto alimenticio, retardan la rancidez de los aceites, evitan la acción de las enzimas oxidantes o la producción de olores desagradables (Barros C., 2009). Existen antioxidantes externos o exógenos que se adquieren a través de la alimentación, la dieta diaria y antioxidantes endógenos que son sintetizados por la célula (Márquez C, 2016).

Existe una reacción donde interviene una sustancia antioxidante (AH), sustancia que impide o retrasa la oxidación.



La inhibición del proceso de auto oxidación a partir del radical libre por medio de los agentes antioxidantes resulta de gran importancia para preservar a los alimentos que contienen ácidos grasos insaturados.

Los antioxidantes según el mecanismo de acción se clasifican en: Preventivos y secundarios (Cadena, 1996).

**Antioxidantes Preventivos:** Funcionan al inicio de una cadena de oxidación, son reductores de peróxidos orgánicos e inorgánicos, por ejemplo la catalasa, glutatión peroxidasa y etilendiaminotetraacetato (EDTA) inhiben la producción inicial de los radicales libres. Además existen radicales que rompen las cadenas, actúan en la inhibición en la fase de propagación los que actúan son: ácido úrico, vitamina E.

**Antioxidantes secundarios:** son sustancia que no presentan actividad antioxidante por sí solos, el mecanismo de acción es la regeneración de los antioxidantes originales. La función de los antioxidantes secundarios es atrapar a los radicales libres formados, impidiendo la iniciación de una cadena oxidativa. Por ejemplo son: vitamina C, ácido úrico, bilirrubina y albumina.

Tabla 3. Clasificación de los antioxidantes en el uso de las industrias alimentarias

<b>Antioxidantes Naturales</b>	<b>Antioxidantes Misceláneos</b>	<b>Antioxidantes artificiales</b>
<b>Tocoferoles</b>	BHT	BHA
<b>Ascorbatos</b>	GALATOS	4-hexilresorcinol

Tomada de (Astiasarán, 2003)

Tabla 4. Clasificación de conservantes

<b>Conservantes</b>	<b>Ácido ascórbico y sorbatos</b>
<b>E200-E203</b>	Acido benzoico y sales
<b>E210-E213</b>	Parabenes
<b>E214-E219</b>	Sulfitos, bisulfitos
<b>E220-E228</b>	Bifenilo y sales
<b>E230-E232</b>	Nisina
<b>E234</b>	Natamicina
<b>E235</b>	Hexametilentetramina
<b>E239</b>	Dimetildicarbonato
<b>E242</b>	Ácido bórico y bórax
<b>E284-E285</b>	Nitritos y nitratos
<b>E249-E252</b>	Ácido propiónico y sales
<b>ANTIOXIDANTES</b>	
<b>E300-E304</b>	Ácido ascórbico y sales
<b>E306-E309</b>	Tocoferoles
<b>E310-E312</b>	Galatos
<b>E315-E316</b>	Ácido etitorbico y sales
<b>E320-E321</b>	Butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno(BHT)
<b>E325-E327</b>	Lactatos
<b>E330-E333</b>	Ácido cítrico y citratos

---

**E338-E343****Fosfatos**

---

Tomada de (Astiasarán, 2003).

**2.1.1.2.1 Antioxidantes Naturales**

La tendencia mundial es evitar el uso de antioxidantes sintéticos y la atención se centra en el uso de sustancias antioxidantes de origen natural. Para la elaboración de productos alimenticios los antioxidantes deben proporcionar un compuesto activo para que puedan ser usados a concentraciones inferiores al 0,02%, con el fin de evitar sus niveles de toxicidad (Gutiérrez, 2000).

**2.1.1.2.1.1 Ascorbatos:**

Son sales minerales o ésteres de la vitamina C, son menos ácidos que el ácido ascórbico, además facilita la absorción de la vitamina C y los minerales (Balch F, 2000). En la norma del Codex se registran los antioxidantes derivados de los ascorbatos (Codex Alimentarius, 2000).

E300 Ácido ascórbico L

E301 Ascorbato de sodio

E302 Ascorbato de calcio

E303 Ascorbato de potasio

**2.1.1.2.1.1.1 Acido L ascórbico o vitamina C:**

Es una vitamina hidrosoluble, no participa en las conversiones catalizadas por enzimas en la que un sustrato se transforma en un producto, modifica los iones de los minerales de las enzimas y los activa. La principal función consiste en sintetizar el colágeno necesario para la formación y mantenimiento del tejido conjuntivo (Williams, 2002). La vitamina C se encuentra en una forma natural y su fórmula molecular se muestra en la figura 1. La vitamina C presenta un alto poder antioxidante en el plasma, previene la formación de hidroxiperoxidos lipídicos. Además la vitamina C reduce el tránsito de iones metálicos como el hierro y cobre, estos metales en presencia de peróxidos de hidrogeno generan radicales hidroxilo (Chovert, 2013).

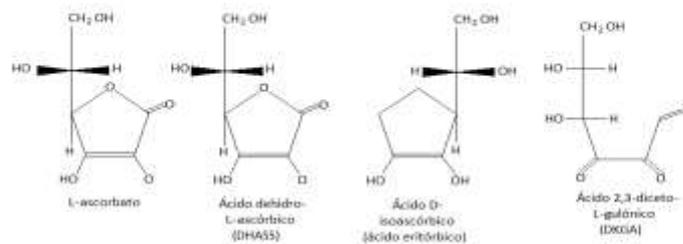


Figura 1. Estructura del ácido ascórbico

Tomado de (Chovert, 2013)

El ácido ascórbico es una lactona de 6 átomos de carbono que dona fácilmente electrones convirtiéndose en ácido dehidroascórbico (DHA), esta propiedad le confiere funciones fisiológicas y antioxidantes. Como agente antioxidante o reductor dona 2 electrones de doble enlace  $C_2-C_3$  formando un radical libre denominado radical escorbuto inestable pero poco reactivo con otros compuestos que proveen radicales libres dañinos, esta propiedad le hace un donante ideal de electrones (figura 2) (MinisteriodeEducacion, 2004).

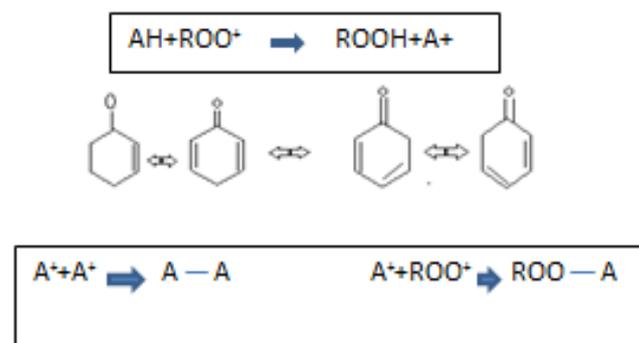


Figura 2. Donación de electrones a los radicales libres.

Tomada de (Chovert, 2013)

### 2.1.1.2.2 Antioxidantes sintéticos

#### 2.1.1.2.2.1 Butilhidroxitolueno (BHT)

El butilhidroxitolueno es una sustancia liposoluble, sintética, la fórmula es  $C_{15}H_{24}O$  (Figura 3), es utilizada para retrasar el deterioro o enranciamiento de un alimento. La industria alimentaria utiliza antioxidantes sintéticos por el bajo costo, como butihidroianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT)(Ege, 1998). La dosis recomendada de consumo es 0,125 mg/kg(Rodríguez E, 2000).

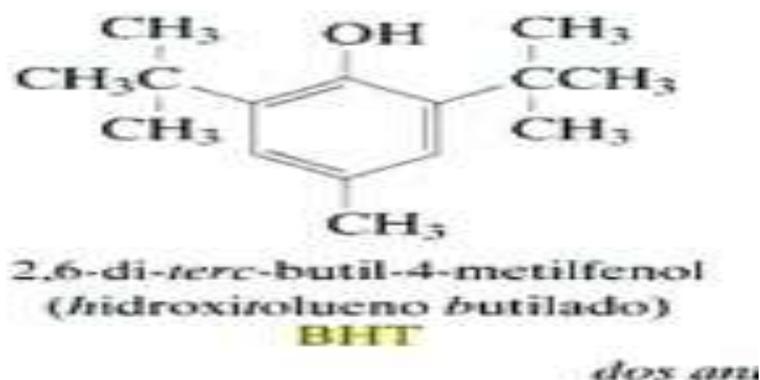


Figura 3. Estructura del BHT (butilhidroxitolueno).

Tomada de (Ege, 1998)

El efecto antioxidante del BHT con la combinación del BHA, muestran un efecto sinérgico y pueden presentar mayor efectividad. Además pueden dosificarse en cantidades menores, cuando actúan independientemente su dosificación es mayor (Barros C. , 2009). La acción es mediante el origen de radicales fenoxil muy impedidos, los cuales son inertes y provocan la terminación de las reacciones en la cadena de los radicales libres(Ege, 1998).

### 2.1.1.2.3 Bioantioxidantes

#### 2.1.1.2.3.1 Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son compuestos obtenidos de las plantas, lo más sobresaliente de sus propiedades en su composición química y su

aroma(Sanchez, 2006). Los aceites esenciales son usados por su atractivo sabor como especias y agentes saborizantes en alimentos, son valorados por su acción antibacteriana y fungicida. Los compuestos se encuentran en glándulas, espacios intracelulares de tejido, semillas flores, hojas y frutos. Los aceites esenciales presentan una mezcla compleja contienen 20 a 60componentes a diferentes concentraciones, la característica de su efecto antioxidante es dado por 2 o 3 componentes mayoritarios(Guarnizo A).

La industria alimentaria busca antimicrobianos naturales como extractos de plantas para el control de microorganismos. Los aceites esenciales contienen altas concentraciones de compuestos fenólicos con propiedades antimicrobianas (Gamazo C, 2013).

La extracción de aceites esenciales se realiza en hojas, flores, frutos, raíces de las plantas, se obtienen esencias producidas por diferentes compuestos orgánicos. Los aceites esenciales pueden obtenerse por distintos métodos: prensando, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles(Ryman, 1995).Los métodos más utilizados son:

**Destilación con Arrastre de vapor:** La obtención de aceites esenciales se realiza en un alambique, este método aprovecha las propiedades del agua en estado de vapor al asociarse con moléculas de aceite. La extracción se realiza cuando entra en contacto el vapor por presión rompiendo las células que se encuentran en las paredes de las plantas, se libera la esencia y las gotas de agua de vapor (Flórez J, 2003).

**Destilación con vapor de agua:** Este sistema se emplea un vapor húmedo, proveniente del agua en ebullición, el vapor de agua provoca que los aceites esenciales se difundan desde la membrana de las células hacia fuera, los vapores y aceite esencial que se enfrían salen hasta regresar a la fase líquida y se separan en un decantador (SENA, 2012).

**Hidrodestilación:** Se coloca la materia vegetal en un balón , se somete a calentamiento, la mezcla de aceite esencial con agua presentan un punto de ebullición inferior y por tal motivo pueden ser destilados al pasar por el condensador , los vapores se enfrían, condensan y se transforman en líquidos, forman dos fases inmiscibles: fase orgánica(aceite esencial) y fase

acuosa(esencia). La fase orgánica se separa de la fase acuosa por diferencia de densidades y se obtiene el aceite esencial debido a la diferencia de fases(Sanchez, 2006).

#### 2.1.1.2.3.1.1 Aceite esencial de Albahaca

Existen más de 50 especies de albahaca, es una planta aromática de cultivo anual y tamaño medio, pertenece a la familia de las labiadas. Es una planta nativa de África y Asia, se cultiva actualmente en todo el mundo. Las propiedades se centran en sus hojas, utilizan en infusiones y sus flores para aceites esenciales(Hughes, 1994).La albahaca es utilizada en alimentos y productos de higiene bucal, presenta actividades antivirales y antimicrobianas(Ebrahim, 2006).La composición del aceite de albahaca se observa en la siguiente tabla. Los principales compuestos son: benzaldehído, terpina, cineole, linalool, eugenol y zingibireno(Romero C, 2004).

Tabla 5. Compuestos del aceite esencial de albahaca

<b>Compuesto</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>α-pineno</b>	0,63
<b>α-terpineno</b>	4,4
<b>Benzaldehído</b>	6,29
<b>Cineole</b>	0,66
<b>Linalool</b>	33,3
<b>Eugenol</b>	35,22
<b>Zingibireno</b>	5,03
<b>Compuestos no identificados</b>	14,7

Tomada de Romero, (2004)

Además se identifica que contiene Flavonoides: quercitrosido, kenferol, esculosido, acidocafeico. El componente antibacterial es el estragol (Fonnegra R, 2007).

Según la investigación realizada por Montoya R, MSc Ortiz A, Dr. Verbel J, en el 2013 demuestran que la composición química tuvo una gran influencia en la

actividad antioxidante del aceite esencial, el eugenol es uno de los compuesto del aceite esencial de albahaca que mejora la actividad antioxidante y se encuentra en mayor cantidad, sirve como antioxidante natural en la industria farmacéutica y de alimentos (Ramirez Montoya, Angulo Ortiz, & Olivero Verbe, 2013). Estudios han demostrado que no todos los compuestos que se encuentran en un aceite esencial presentan propiedades antimicrobianas, cumplen funciones secundarias proporcionando un soporte a los otros compuestos que deben aumentar el poder microbiano (Phumkhachorn, 2010).

#### **2.1.1.2.3.1.1.1 Aceite esencial de Cilantro**

El cilantro es originario de Latinoamérica y el Caribe. El cilantro es un cultivo aromático y oleaginoso. Las hojas son pecioladas, pinnadas, flores pequeñas blancas o ligeramente rosadas, fruto diaquenio, globoso, presenta un olor suave, sabor fuerte. Las plantas florecen en el mes de Mayo y sus frutos maduran en Junio o Julio. Las propiedades del cilantro son: estimulante, antiséptico, antiespasmódico. Se usa en alimentación como condimento, aromatizante de bebidas, conservante. El rendimiento obtenido del cultivo es 1000 a 1500 Kg/ha semillas. El rendimiento de las hojas es 1200 a 1500 kg/ha (Muñoz, 1996).

El cilantro contiene aceite esencial, aceite graso, trazas de glucósido, taninos oxalato cálcico. La esencia es incolora o ligeramente amarilla, está compuesta de d-linalol 70-90%, pineno, dipenteno, geraniol, felandreno, borneol, limoneno.

Los compuestos del aceite esencial de cilantro varía según las partes de la planta de la cual se extrae el aceite esencial, los compuestos volátiles presentan el efecto antimicrobiano (Burt, 2004).

Tabla 6. Compuestos del aceite esencial de las hojas de cilantro

<b>Compuesto</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>β-pineno</b>	2.06%
<b>Canfeno</b>	5.34%
<b>careno</b>	30.03%
<b>d-limoneno</b>	2.23%
<b>Benzaldehído</b>	51.45%

<b>Alcanfor</b>	5.98%
<b>Linalipropana</b>	1.01%
<b>Tujone</b>	1.91%
<b>d-linalol</b>	16,33%

Tomada de Torres,(2013)

Las propiedades bactericidas del cilantro se utilizan por su acción bacteriana(Jean-Paul Curtay, 2016). La extracción de aceite esencial de las hojas tiene un rendimiento del 0,01% y semillas 0,25%. Según Burdock y Carabin las cantidades de aceite esencial de cilantro son: 0,30% a 0,10% (Bhuiyan).

Según los investigadores Mohammad, Kiaee, realizaron los análisis del cilantro proporcionando la siguiente información, se identificaron 27 compuestos mediante hidrodestilacion el 90 al 95% de la composición total. La composición del aceite está dominado por monoterpenoides tales como: linalol, gamma-terpineno, alpha- pineno y p- cimeno. El aceite esencial presentó mayor actividad microbiana contra *S aureus* y *Ecoli* con CMI (concentraciones mínimas inhibitorias) = 0,781 y 6,25 µl (Mohammad H, 2015).

#### **2.1.1.2.3.1.1.1.1 Aceite esencial de guayaba**

El *Psidium* es originario de América tropical y abarca más de 100 especies, *Psidium guajava* presenta mayor comercialización. Las raíces de esta planta tiene un efecto alelopático, las hojas son lanceoladas, coriáceas, color verde(Geilfus, 1994) .

Las hojas de guayaba contienen aceite esencial como pineno, limoneno, menol, terpenilacetto, cariofileno, selineo(Zakara M, 1984, págs. 129-132). Los extractos fenólicos presentes en el aceite esencial de guayaba son: guaverina, ácido psidiolico, quercetina, estos fenoles se encuentran en las hojas y flores, presentan una actividad antibiótica contra *Echerichia coli* y *Shigella*(Plantarum, 2015).Además las hojas contienen ácido telúrico, este componente promueve la actividad antioxidante(Chen, 2006).

Tabla 7. Composición de las hojas de Guayaba

<b>Compuesto</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Limoneno</b>	2,1
<b>1,8-Cineol</b>	0,4
<b><math>\alpha</math>-Copaeno</b>	6,5
<b><math>\alpha</math>-Santaleno</b>	0,3
<b>trans-Cariofileno</b>	12,8
<b>trans-Bergamoteno</b>	6,4
<b>Aromadendreno + (Z)- farneseno</b>	1
<b>Dauca-5,8,-dieno</b>	0,4
<b><math>\alpha</math>-Humuleno</b>	1,4
<b>9-<i>epi</i>-(E) -Cariofileno</b>	0,7
<b><math>\alpha</math>-Muroleno</b>	1
<b>Valenceno</b>	1,3
<b><math>\alpha</math>-Selineno</b>	6,9
<b><math>\beta</math>-Selineno</b>	7
<b>Amorfeno</b>	1
<b><math>\gamma</math>-Cadineno</b>	0,2
<b><math>\delta</math>-Cadineno</b>	1,2
<b>trans-Calameno</b>	2,7
<b>Trans-1,4-Cadinadieno</b>	1,8
<b><math>\alpha</math>- Calacoreno</b>	0,2
<b>Óxido de cariofileno</b>	1,6
<b>Neointermedeol</b>	2,1

Tomada de Dra. C. Luciana de Souza Prestes,(2011)

Existen diferentes beneficios de la guayaba evitando la aparición de la diabetes, ayuda al funcionamiento del sistema digestivo. Las guayabas y hojas son ricas en flavonoides y ácidos fenólicos que ayudan a proteger los riñones (Grotto, 2014). Además en las industrias alimenticias se utiliza las guayabas para realizar subproducto como jugos, jaleas y en farmacéutica mediante la investigación de la actividad antibacteriana invitro contra *Shigella*, *Echerichia coli*. Además la inhibición del crecimiento in vitro a *Plasmodium* (Marmolejo, 2009).

## 2.2 Embutidos

Según la Norma INEN 1217. Los embutidos son productos elaborados con carne, grasa y despojos comestibles de animales, además contiene condimentos, pueden ser curados (productos sometidos a la acción de sales curantes como cloruro de sodio y nitritos) o productos no curados, embutidos en envoltura natural o artificial de uso permitido (INEN, 2006).

Los embutidos son identificados como una emulsión, sistema de dos fases, formada por una dispersión de un líquido sobre otro líquido inmiscible. Las emulsiones cárnicas se dan cuando las proteínas de la carne se han solubilizado en soluciones salinas, formando una matriz que encapsula los glóbulos de la grasa, las proteínas de la carne actúan como emulsionantes de la grasa. El pH óptimo se encuentra entre 5.3- 6.0, la temperatura de la carne 0°C a 7 °C, emulsión final a una temperatura 10°C a 16°C, para alcanzar la temperatura establecida se añade hielo que reduce la viscosidad y mantiene la inocuidad. (Bolaños N, 2003). Además la cocción de los embutidos es para proporcionar una consistencia firme, por la coagulación de las proteínas y deshidratación, desnaturalización de la mioglobina y formación del nitrosil hemocromo que forma el color del embutido y la pasteurización para prolongar su vida útil. Los siguientes aditivos son empleados en la elaboración de embutidos como:

Azúcar: proporciona 1% de la acidificación produciendo ácido láctico e impide el desarrollo de microorganismos.

Sal: influye en el sabor y en procesos físicos-químicos y microbianos de la maduración, al perder agua descende el contenido de proteína soluble lo cual influye en la consistencia.

Ácido ascórbico: son sustancias coadyuvantes, reductoras, evita la pérdida de la tonalidad roja.

Nitratos de sodio y potasio: son productos necesarios para el enrojecimiento y formación del color rojo cuya cantidad máxima está limitada por la legislación(Pineda, 2003).

Los embutidos se dividen en tres clases, dependiendo el tratamiento y la manera de elaboración(Martínez A. , 2010). La clasificación es la siguiente:

- a) Embutidos crudos
- b) Embutidos cocidos
- c) Embutidos madurados

### **2.2.1 Norma INEN para productos Cárnicos Pre cocidos- Cocidos**

La norma INEN 1338 define a los productos cárnicos precocidos como productos sometidos a un tratamiento térmico superficial, previo a su consumo requiere tratamiento térmico o escaldado. Además entre los productos cárnicos precocidos se encuentra la salchicha que es producto desarrollado a base de una masa emulsificante preparada con pollo y grasa animal, ingredientes y aditivos alimentarios permitidos, embutido en una tripa(INEN, 2010).

El proceso de escaldado es el tratamiento de calor aplicado para disminuir el contenido de microorganismos, favorece la conservación y coagulación de las proteínas para formar una masa consistente(Monge, 2005). La temperatura interna del embutido debe alcanzar 68°C y 72°C(Bolaños N, 2003). La carne de pollo constituye una fuente de proteína, poca en grasa, fácil digestión, es la materia prima para elaborar salchichas pero debe pasar una serie de procesos hasta alcanzar una emulsión embutida en una tripa(Martínez A. , 2010).

**Productos Cárnicos crudos:** son los productos que no se someten a ningún proceso tecnológico, tratamiento térmico en la elaboración.

**Productos cárnicos madurados:** Son productos sometidos a la acción de sales para obtener una fermentación o acidificación, después pueden ser cocidos, ahumados(INEN, 2010).

### 2.2.1.1 Análisis Microbiológicos

El análisis microbiológico forma parte de la bromatología, ciencia que integra el análisis toxicológico y análisis químico. El análisis se realiza por medio de aplicación de pruebas microbiológicas a través de cultivos elaborados. El empleo de métodos normalizados, sirve para la realización de análisis microbiológicos, los métodos normalizados son herramientas utilizadas en la elaboración de ensayos para obtener resultados comparables. Tradicionalmente las agencias gubernamentales y las industrias alimenticias utilizan análisis microbiológicos para el control de microorganismos en los alimentos, inspección de las instalaciones y elaboración de ensayos microbiológicos(FAO, 1999).

La toma de muestra aséptica, es un método empleado para obtener una muestra susceptible a contaminación microbiológica, evitando que se produzca contaminación, tanto del lote como la muestra(FAO, 1989).Además existen requerimientos en el crecimiento microbiológico. Los requerimientos para el crecimiento microbiano se divide en 2 categorías: físicos y químicos. Los aspectos físicos son pH, temperatura, presión osmótica. Los aspectos químicos son: fuentes de carbono, nitrógeno, azufre, fosforo. Los microorganismos crecen a temperatura de 30°C(Tortora B. R., 2007).Se utiliza el método de conteo en medio de cultivo, mediante el volumen o pesos de una muestra, se centrifuga la muestra y se realiza una dilución en una solución salina o agua de peptona. El conteo se realiza después de 24 a 72 horas con el propósito de determinar la concentración de microorganismo en un alimento(Alarcón, 2001)

La Norma INEN 1338 indica que en los productos cocidos el desarrollo microbiológico es: *Aerobios mesofilos*, *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*(INEN1338, 2015).

Tabla 8. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos cocidos.

Requisito	N	c	M	M	Método de ensayo
<b>Aerobios mesofilos ufc/g</b>	5	1	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^7$	NTE INEN 1529-5
<b>Escherichia coli ufc/g</b>	5	0	<10	-	AOAC991.14
<b>Staphylococcus aureus ufc/g</b>	5	1	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	NTE INEN 1529-14
<b>Salmonella 1/25 g</b>	10	-	Ausencia	--	NTE INEN 1526-15

Tomado de INEN, (2015)

**n**: número de unidades de muestra

**c**: número de unidades defectuosas que se aceptan

**m**: nivel de aceptación

**M**: nivel de rechazo

#### 2.2.1.1.1 **Aerobios totales**

Las bacterias aerobias son microorganismos que necesitan la presencia de oxígeno para desarrollarse y sobrevivir. Existe una clasificación de bacterias aerobias que son: bacterias obligadas que necesitan oxígeno, bacterias Facultativas que producen oxígeno y bacterias microaerofilos que necesitan pequeñas cantidades de oxígeno. Las bacterias aerobias totales proporcionan información sobre la contaminación en alimentos o instalaciones (Escalante, 2008). Estos microorganismos se desarrollan a 25 °C en superficies del medio sólido, además en la lectura de resultados forma colonias de color mate en el medio de enriquecimiento (Vandevenne, 2002).

En el conteo de *Aerobios mesofilos* se considera la flora total. El análisis indica la calidad de los productos, indicando las condiciones de la higiene de la materia prima, manipulación en el proceso de elaboración de productos (Anderson & Calderón, 1999). Además es un análisis primordial que se realiza en el proceso y corregir alguna contaminación debido a que las bacterias *Aerobias totales* se desarrollan con facilidad por el ambiente.

#### **2.2.1.1.2 *Echerichia Coli***

Es una bacteria Gram-negativa porque no puede captar determinados colorantes, pertenece a la familia *Entero bacteria*. Forma cilíndrica y se encuentra entre los bacilos, longitud 2µm y se encuentra en las heces (Müller-Esterl, 2008). Existen 4 tipos de *Echerichia coli*: entero patógeno, entero invasor, entero toxigenico y entero hemorrágica, su temperatura óptima de crecimiento es 35-40°C (Gómez, 2014).

Esta forma parte de la población microbiana del tracto intestinal de los humanos. La mayoría de cepas son inofensivas, pero algunas cepas son patógenas y causan patología diarreica. Se han definido 167 antígenos O, 53 antígenos H y 74 antígenos K. La *E. Coli* O157:H7 son tolerantes a ambientes ácidos, el pH mínimo de crecimiento es de 4 a 4,5 (Matthews, 2005-2008).

Para identificar las colonias de *Echerichia coli* se puede utilizar diferentes medios selectivos. Un agar empleado es EMB (EOSINA Azul de Metileno) es un medio selectivo de aislamiento que se emplea para la diferenciación de bacterias que fermentan lactosa y no fermentadores de lactosa de la familia entero bacterias. La incubación de los agares después de la siembra la temperatura es 37°C por 18 a 24 horas. La interpretación del agar EMB es la siguiente: fermentadores de lactosa se observan con un brillo verde (Durán, 1998).

#### **2.2.1.1.3 *Staphylococcus aureus***

Los humanos son el principal reservorio de *S. aureus*, debido a que son portadores naturales que propagan a otros individuos y alimentos. Los *Staphylococcus* se encuentran presente en el interior de la nariz, piel y

superficies. La mayoría de intoxicaciones son producidas por alimentos contaminados por humanos durante la manipulación, preparación y uso de maquinaria. Los factores intrínsecos y extrínsecos determinan la inocuidad de los alimentos(Matthews, 2005-2008).

La temperatura de desarrollo óptimo de crecimiento es 35-37°C con un máximo de 48°C, la destrucción de los microorganismos se obtiene con una cocción correcta. El pH óptimo es de 6-7, puede crecer en alimentos de una concentración salina 0.5-4(Gómez, 2014).

Para la siembra de *Staphylococcus* se utiliza el agar Manitol sal medio de cultivo selectivo, alta concentración de cloruro de sodio, el medio contiene manitol como carbohidrato. La lectura de las cajas Petri con el medio de cultivo presentan una interpretación de las bacterias existentes mediante la identificación de la colonias de bacterias que toman colores específicos: colonias rodeadas de un halo amarillo, el medio no cambia de color o se acentúa el medio rojo cuando las bacterias no fermentan el manitol(Cavallini, Coronado, & Hidalgo, 2005).

#### **2.2.1.1.4 Salmonella**

Las especies de *Salmonella* son bacterias baciliformes Gram-negativas facultativamente anaerobias, pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, crecen en citratos. Se utiliza lactosa y sacarosa para los aislados. El agar bismuto sulfito sigue siendo un medio escogido para aislar *Salmonella* porque presenta una elevada selectividad, produce bajas cantidades de gas sulfuro de hidrogeno. La *salmonella* se encuentra en el trato intestinal y heces fecales de animales, suelo y vegetales. La trasmisión de *salmonella* es mediante productos alimenticios como huevos crudos, aves, carnes, lácteos. Presenta enfermedades que causan la muerte por síntomas de dolor de estómago, diarrea(Agriculture, 2013).

### 3. CAPÍTULO III.METODOLOGÍA

#### Lugar de investigación

La investigación experimental del proyecto se desarrolló en los laboratorios de la Universidad de las Américas. En el Laboratorio de química se ejecutó la extracción de aceites esenciales, en el laboratorio de microbiología se realizó pruebas microbiológicas y en el laboratorio de procesamientos se elaboró las salchichas.

#### Descripción de la metodología

La investigación es experimental, el diseño aplicado es bloques completamente al azar con 3 repeticiones, se determinó el efecto antioxidante de los aceites esenciales de albahaca, cilantro y guayaba mediante la determinación del método DPPH, el grado de rancidez mediante el uso de tiras que determinan peróxidos y el efecto antimicrobiano por pruebas microbiológicas en salchichas de pollo.

Tabla 9. Descripción de las Formulaciones de aceites esenciales aplicadas en salchichas de pollo.

<b>No. de Formulaciones Antioxidantes Tratamientos</b>				
	<b>Aceite esencial de Albahaca (ppm)</b>	<b>Aceite esencial de Cilantro (ppm)</b>	<b>Aceite esencial de Guayaba (ppm)</b>	<b>BHT-Nitritos (ppm)</b>
<b>Tratamiento 1</b>	-	-	-	1000-1000
<b>Tratamiento 2</b>	-	-	800	-
<b>Tratamiento 3</b>	-	-	1000	-
<b>Tratamiento 4</b>	800	-	-	-
<b>Tratamiento 5</b>	1000	-	-	-
<b>Tratamiento 6</b>	-	800	-	-

<b>Tratamiento 7</b>	-	1000	-	-
<b>Tratamiento 8</b>	800	800	800	-
<b>Tratamiento 9</b>	1000	1000	1000	-

Se elaboró salchichas de 3cm de largo, cada muestra se empacó al vacío individualmente y se rotuló cada salchicha con el respectivo tratamiento. Se almacenó en refrigeración de 0-4°C, las muestras de salchicha se analizaron cada 10 días durante un mes.

Las variables de estudio son: los análisis microbiológicos y análisis físico-químicos.

Mediante el programa Infostat, se realizó el análisis de varianza para determinar la diferencia significativa entre tratamientos, se comparó los tratamientos en tiempos determinados aplicando el método Tukey, calculando los puntos críticos con el 95% de confiabilidad.

### **3.1 Obtención de los aceites esenciales de Albahaca, Cilantro y Guayaba.**

Los aceites esenciales se extrajeron mediante el método hidrodestilación o destilación por arrastre de vapor, esta obtención se realizó a partir de las hojas de albahaca (*Ocimum basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y guayaba (*Psidium guajava*). El método de hidrodestilación se realizó mediante el siguiente diagrama de flujo.

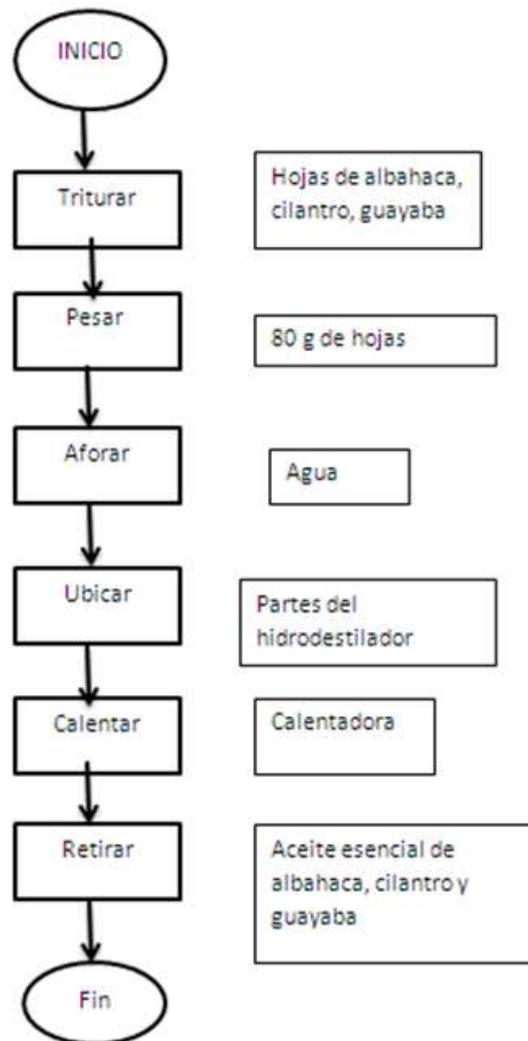


Figura 4. Diagrama de flujo del proceso de obtención de aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y guayaba (*Psidium guajava*)



Figura 5. Obtención de aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum*), cilantro (*Coriandrum sativum*) y guayaba (*Psidium guajava*)

La hidrodestilación se describe de la siguiente manera. Las hojas de guayaba, cilantro y albahaca son picadas e ingresan en el balón en forma de lecho, el agua es suministrada por un distribuidor interno con una presión que vence la resistencia. La materia prima se calienta libera esencia y aceite. Al ser soluble en el vapor es arrastrado corriente arriba hacia el tope de hidrodestilador (Muñoz, 1996). Para calcular el rendimiento del aceite esencial se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{ml de aceite esencia}}{\text{gr materia vegetal}} \times 100$$

### 3.2 Elaboración de salchichas de pollo tipo Frankfurt

Las salchichas de pollo se elaboraron en el laboratorio de alimentos. Se almacenaron durante 30 días, en la siguiente tabla se representa la formulación utilizada para elaborar salchichas de pollo.

Tabla 10. Formulación para la elaboración de salchichas de pollo

Ingrediente	Porcentaje %
Carne de Pollo	40
Grasa de pollo	15
Proteína de Soya	13
Almidones y féculas	7
Sal	3
Especias	3
Azúcares y especias	2
Carrageninas	1
Agua 0-C	15

Tomado de la Guía de prácticas para laboratorio, (2015)

### 3.2.1 Procedimiento para la elaboración de salchichas de pollo

- 1) **Recepción de la Materia Prima:** Se obtiene la materia prima como carne de pollo, grasa de pollo e ingredientes requeridos para la elaboración de las salchichas de pollo tipo Frankfurt.
- 2) **Pesado:** Es el proceso en el que se establece los porcentajes de materia prima e ingredientes para la elaboración de salchichas de pollo.



Figura 6. Proceso de pesaje de los ingredientes según la formulación

- 3) Molienda:** proceso que consiste en disminuir una materia sólida en partículas más pequeñas o de menor tamaño.



Figura 7. Proceso de reducción de carne a 2,5 mm

- 4) Mezclado y Amasado;** Proceso donde se emulsiona la carne de pollo e ingredientes de la formulación, la mezcla se realizó en un cutter manteniendo la temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$ .

Para agregar los aceites esenciales se dividió la mezcla en 9 porciones y se agregó en cada porción los tratamientos establecidos en la tabla 10.



Figura 8. Proceso de Homogenización de la emulsión de pollo en el cutter HOBART.

- 5) Embutido:** Llenar una tripa de colágeno con la emulsión de una forma apretada hasta formar un embutido.
- 6) Escaldado:** Tratamiento térmico que coagula la emulsión de pollo, la temperatura interna debe alcanzar hasta  $65^{\circ}\text{C}$ .



Figura 9. Proceso de escaldado de salchichas de pollo tipo Frankfurt  
temperatura interna de salchichas 65°C

- 7) Enfriado y almacenado:** Proceso posterior al escaldado, el producto final debe sumergirse en agua fría para reducir su temperatura, se empaca en bolsas herméticas al vacío y se almacena en refrigeración de 0-4°C durante 30 días.



Figura 10. Proceso de enfriamiento de salchichas de pollo empacadas al vacío

### 3.3 Variables de Estudio

#### 3.3.1 Análisis microbiológico

Se realizó análisis microbiológicos de: *Aerobios mesofilos*, *Staphylococcus aureus*, *Echerichia coli* y *Salmonella*, según se establece en la Norma INEN 1338:210. Para los análisis microbiológicos, se determinaron los medios sólidos con un agar específico para cada microorganismo, siembra en triplicado. Las diferentes áreas utilizadas fueron esterilizadas para realizar la siembra de microorganismos, además el adecuado uso buenas prácticas de laboratorio.

### 3.3.2 Materiales

- Equipo Hidrodestilador
- Espectrofotómetro UV- Visible Thermo Scientific
- Balanza
- Estufa
- Agitador
- Matraces 10 ml
- Probeta 100 ml
- Pipetas 1 a 10 ml
- Embudidora
- Frigorífico
- Carne de pollo
- Grasa
- Tripa
- Cajas Petri

### 3.3.3 Reactivos

- 2,2-difenil- 1- picril hidrazil (DPPH) (sólido)
- Metanol
- Agua destilada
- Aceites esenciales

#### 3.3.1.1 Procedimiento para siembra de muestras

Las diferentes muestras de salchicha de pollo, empacadas al vacío son desinfectadas con alcohol 99% para evitar una contaminación de la muestra.

#### Procesos para la inoculación de microorganismos

- El procedimiento de siembra de muestras se realizó en la cámara de flujo Laminas ThermoScientific1300. En esta se esterilizó bisturí, asa de Drigalski, medios selectivos y puntas de micro pipeta.

- Las cajas tripetri utilizadas contienen una área dividida en 3 secciones, que permiten cumplir con las 3 repeticiones de cada microorganismo y evitar el uso excesivo de cajas Petri.



Figura 11. Desinfección de muestras con alcohol antiséptico

- 1) **Dilución:** Se tomó 1 g de la salchicha de pollo que contiene aceites esenciales y se procedió a colocar en un tubo de ensayo que contiene 9 g de agua peptonada.

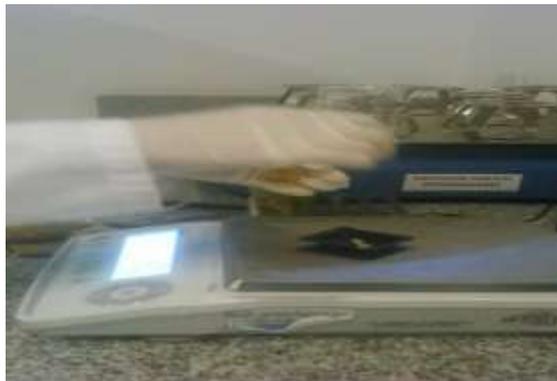


Figura 12. Pesado de la muestra para la dilución

- 2) **Agitación:** En vasos de precipitación se colocan los tubos de ensayo con las muestras diluidas, se deja que la máquina agite a los tubos de ensayo durante 10 minutos.



Figura 13. Agitación de los tubos de ensayo en dilución de las muestra de pollo.

- 3) **Extracción:** Con la micropipeta Ecopiéttecapp de 20-200  $\mu\text{l}$ , se sustrajo del tubo de ensayo 33  $\mu\text{l}$  de la dilución.

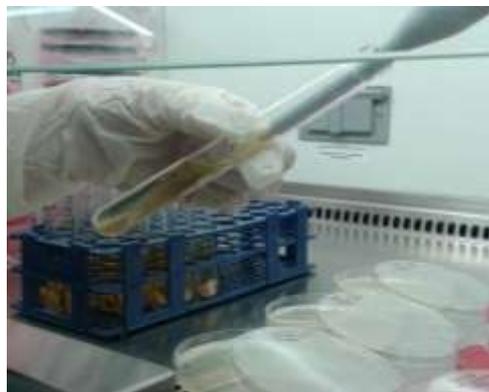


Figura 14. Extracción de 33 $\mu\text{l}$  de la dilución de la muestra

- 4) **Inoculación:** Las cajas tripetri con sus respectivos agares fueron sembradas con la dilución para el desarrollo de microorganismos.



Figura 15. Inoculación de la muestra en cajas tripetri con medios solidos

- 5) **Esparcimiento y secado:** Con la micropipeta se coloca 33  $\mu$ l de la disolución en 1/3 de la caja Petri, se esparció homogéneamente la disolución con el asa de Drigalski triangular. Finalmente se espera 1 min para obtener un medio seco.



Figura 16. Se esparció la muestra con aza *Drigalski triangular*

- 6) **Incubación:** Las cajas tripetri después de la siembra son almacenadas en la incubadora Incubell a 37°C, el tiempo de incubación depende de cada microorganismo una duración de 24-48 horas.



Figura 17. Cajas Petri en incubación a 37°C

- 7) **Interpretación:** Después de transcurrido el tiempo determinado se comprobó la existencia de los 4 microorganismos estudiados en los agares nutritivos específicos. La interpretación se realizó según las características de las colonias formadas en los agares específicos de cada microorganismo.
- 8) **Contabilización:** Se identificó los microorganismos y se procedió a realizar un recuento de las unidades formadoras de colonias. Las cajas Petri fueron llevadas a un contador de colonias BOEGO germany CC-1 ahí se contabilizó el crecimiento de colonias en las 3 partes de la caja tripetri. Los resultados son expresados en ufc/g del alimento.

$$\text{Formula UFC} = N. \text{Colonias} \times \frac{1}{\text{Factor de Dilucion}} \times \frac{1}{v(\text{ml})}$$



Figura 18. Contabilización de bacterias en caja tripetri

- 9) **Autoclavar:** Al finalizar la lectura de las cajas tripetri, se procede a realizar un auto clavado de las cajas contaminadas para evitar alguna contaminación cruzada.

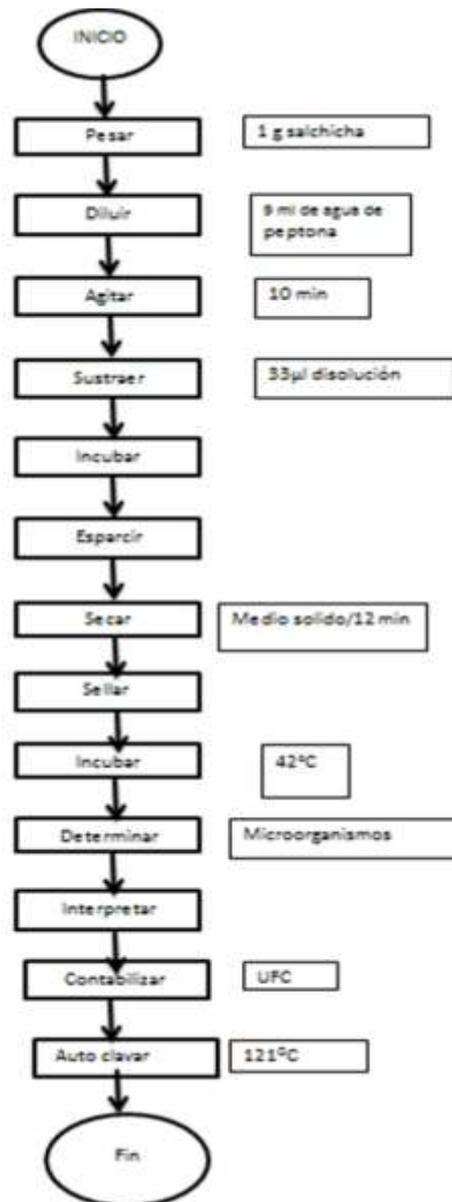


Figura 19. Diagrama de flujo de procesamiento de muestras de salchichas de pollo para siembra.

### 3.3.1.1.1 Reconocimiento de *Aerobios mesófilos*

Los *Aerobios mesófilos* son microorganismos que se desarrollan en alimentos congelados y en refrigeración, estos microorganismos requieren de un agar nutritivo específico para su desarrollo y crecimiento. Para el reconocimiento se hizo la preparación del agar nutritivo PCA (Plate Count Agar) en cajas tripetri, luego se realizó la siembra de cada tratamiento con el propósito de inocular la

disolución de cada salchicha que contiene el tratamiento específico para cada una, para finalizar se incubó a 37°C durante 24 horas.



Figura 20. Cajas Petri con Agar Plate Count para *aerobios mesófilos*

Las características del agar PCA (Plate Count Agar) en preparación, el medio presenta un color ámbar claro y ligeramente opalescente. Los componentes específicos que se encuentran en el agar específico PCA presenta características en colonias de *Aerobios mesofilos*: Color amarillo blanquecino, formas circulares de diferentes tamaños.

#### **3.3.1.1.2 Reconocimiento de *Echerichia coli***

*Echerichia coli* es un bacilo Gram negativo, causa problemas en el intestino, esta bacteria necesita un medio selectivo para su desarrollo. Para el aislamiento de la bacteria *E. coli* se utilizó un agar nutritivo EMB (Eosina-Azul de metileno), Se realizó la inoculación de la disolución de cada muestra de salchicha de pollo en el agar EMB y se dejó incubar a 37°C durante 48 horas.



Figura 21. Cajas Petri con Agar EMB para *Echerichia coli*

El agar Eosina-Azul de metileno, presenta color morado por la presencia de colorantes indicadores e inhibidores los cuales son: Eosina y Azul de metileno. En el reconocimiento de las colonias de *Echerichia coli* en agar EMB presentan 2 a 4mm de diámetro, un centro grande de tonalidad oscura e incluso negro, un brillo verde metálico y cada colonia desarrollada en forma circular.

#### **3.3.1.1.3 Reconocimiento de *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* son microorganismos que requieren de un medio selectivo para su desarrollo crecimiento. La selección del Agar Manitol Salado es un medio de cultivo selectivo y diferencial para el aislamiento y diferenciación de *Staphylococcus*. Se preparó agar nutritivo Manitol Salado en cajas tripetri, se realizó la siembra con las disoluciones de las diferentes muestras de salchichas de pollo y se dejó en incubación con una temperatura de 35-37°C durante 48 horas.

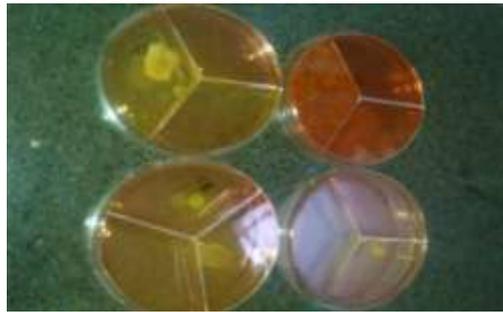


Figura 22. Cajas Petri con Agar Manitol Salado para *Staphylococcus aureus*

El Agar Manitol Salado presenta un medio sólido de color rojo para el crecimiento de microorganismos patógenos. Es adecuado para el desarrollo de bacterias que crecen en un medio con alta concentración de sal y fermentan el manitol. El reconocimiento de *Staphylococcus* se obtiene mediante la formación de colonias con colores especificados, existen bacterias de coagulasa positiva es decir fermentan el manitol. Las colonias desarrolladas son amarillas rodeadas de una zona del mismo color, los *Staphylococcus* que no fermentan el manitol presentan colonias de color rojo y rodeados de un borde púrpura.

#### 3.3.1.1.4 Reconocimiento de *Salmonella*

La *Salmonella* es una bacteria de la familia *entero bacteria*, es un bacilo Gram negativo. Este microorganismo necesita un medio selectivo para el crecimiento específico y diferencial para distinguir entre varios géneros y especies. Se utilizó el agar *Salmonella-Shigella* para la siembra de la disolución de las diferentes muestras de salchichas de pollo y se incubó a 35-37°C durante 48 horas.



Figura 23. Cajas Petri con Agar SS (*Salmonella- Shigella*) para *Salmonella*

El Agar SS (*Salmonella- Shigella*) presenta un medio de color rojo-naranja. En el reconocimiento de *Salmonella*, las bacterias no fermentadoras de lactosa presenta colonias transparentes, colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro y las bacterias de *Salmonella* fermentadoras de lactosa presentan colonias rosadas o rojas sobre un fondo rojizo.

Para realizar la siembra de la muestra de salchicha de pollo, se debe realizar diferentes procesos en el enriquecimiento de la misma los cuales son:

- **Pre enriquecimiento:** 25 g del alimento en una bolsa de plástico estéril, añadir 225 ml de agua peptonada buffer, homogenizar la bolsa e incubarla de 16-18 horas a 37°C
- **Enriquecimiento:** Añadir 1ml de la muestra pre enriquecida a 10 ml de caldo mullerk, auffman tetrionato, e incubar a 37°C durante 24 horas. Por separado, añadir 0.1 ml de la muestra pre enriquecida de rappaport-vassiliadis soja, e incubar a 42°C durante 24 horas.
- **Aislamiento:** Agitar los caldos de enriquecimiento y a partir de cada uno de ellos, realizar un agotamiento por estrías en medio selectivo XLD (Xylose-Lysine-Desoxycholate), BGA (Brillante Green Agar), SS (*Salmonella-Shigella*) para *Salmonella* incubar las placas a 37°C Durante 24-48 horas.
- **Reportar *Salmonella*:** En XLD (Xylose-Lysine-Desoxycolate) presenta colonias rosas con centro negro, en BGA (Brilliant Green Agar) forma colonias rosas transparentes a rojas intensas y en SS (*Salmonella-Shigella*) se desarrolla colonias cremas o beige con centro blanco.

### 3.3.2 Análisis físicos químicos

#### 3.3.2.1 pH

El pH es la medida utilizada para identificar la alcalinidad o acidez de un alimento, mediante la concentración de iones de hidrogeno en la muestra. El pH es un proceso diariamente utilizado en la industria alimenticia mediante procesos estandarizados:

Se realizó una disolución de la muestra al 10% con agua destilada

Se homogenizo la muestra y se dejó reposar durante 30 minutos.

Se realizó la calibración del pH metro previo a su uso.

Se introdujo el pH metro dentro de la solución y se determinó el valor del pH en la muestra.



Figura 24. Determinación del pH en la muestra de salchicha de pollo

### 3.3.2.2 Determinación de peróxidos

El índice de peróxidos mide el estado de oxidación inicial de un aceite, este método proporciona una estimación del contenido de sustancias que oxidan yoduro potásico. Se expresa en mili equivalentes de oxígeno activo por kg de grasa.

Los peróxidos son analizados mediante el test de peróxidos Mquant, se realiza mediante la utilización de tiras colorimétricas. Los resultados de las tiras se obtienen por medio de comparación visual de la zona reactiva de la tira con el área de tonalidad. (Merck, 2015).

#### **Procedimiento para la determinación de peróxidos**

Se realizó una disolución 1:1 de la muestra y agua destilada o éter libre de peróxidos en vaso de precipitación a una temperatura de 15-30°C. Merck menciona que la muestra a evaluar debe tener un pH 2-12 para una correcta determinación.



Figura 25. Test de peróxidos Mquant en la muestra de salchicha de pollo

- a) Introducir la tira en la muestra acuosa preparada durante 1 segundo (Figura 26).



Figura 26. Tiras de peróxido sumergidas en la solución acuosa de salchicha de pollo.

- b) Se escurrió el incremento de líquido en el largo de la tira sobre un papel absorbente.
- c) Después de 10 segundos, se identificó el área coloreada de la etiqueta más próxima al color de la zona de reacción. La escala de colores permite determinar la presencia de peróxidos mediante la comparación de tonalidad (Figura 27).



Figura 27. Determinación de peróxidos mediante escala de colores.

d) La lectura se determinó de acuerdo al correspondiente valor mg/l de  $H_2O_2$

En la medición, cualquier coloración azul que ocurre después de 3 minutos se interpreta como resultado positivo.

### 3.3.3 Medición del efecto antioxidante de aceites esenciales

El efecto antioxidante se determinó mediante el compuesto 1,1 difenil-picril hidrazil o DPPH. La evaluación del efecto antioxidante se realizó mediante un procedimiento estandarizado para todos los aceites esenciales, en el cual se utilizaron los siguientes materiales y reactivos.

#### 3.3.3.1 Materiales:

- Espectrofotómetro UV- Thermo Scientific
- Refrigerador Hardman
- Balanza
- Agitador
- Estufa
- Matraz de 10 ml
- Probeta 100 ml
- Pipetas de 1 a 10 ml
- Papel filtro
- Embudo

### 3.3.3.2 Reactivos

- Agua destilada
- Metanol
- 1,1- difenil-1- picril hidrazil o DPPH (sólido)
- Soluciones antioxidantes (albahaca, guayaba, cilantro)

### 3.3.3.3 Procedimiento para la medición del efecto antioxidante de las soluciones

#### 3.3.3.3.1 Recta de calibración

- Se preparó 10 ml de una solución 0,1 mM de DPPH en metanol, que es nuestro testigo blanco.
- A partir de la solución anterior se preparó 5 disoluciones de 10 ml cada una en concentraciones de 0.01; 0.02; 0.04; 0.05 y 0.1mM.
- Se midió la absorbancia de las disoluciones a 517nm (longitud de onda), durante 30 minutos.
- Se procedió a la lectura de la absorbancia de la solución testigo a 517 nm en el espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific y se realizó la recta de calibración mediante la aplicación de una regresión lineal.

#### 3.3.3.3.2 Capacidad antioxidante de las soluciones

- Se mezcló la solución testigo (DPPH 0,01Mm) con 25µl de aceite esencial de albahaca, cilantro, guayaba en tubos separados.
- Se introdujo la mezcla de cada antioxidante en el espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scient y se midió la absorbancia durante 30 minutos.
- Se procedió a la lectura de la absorbancia a 517nm de las soluciones antioxidantes.
- Se determinó el porcentaje de capacidad antioxidante mediante la siguiente Ecuación:

$$\% \text{ Capacidad Antioxidante} = \frac{\text{Abs muestra} - \text{Abs Blanco}}{\text{Abs DPPH}} \quad \text{Ecuación 1}$$

Abs muestra= Absorbancia de la solución antioxidante

Abs Blanco= Absorbancia del metanol

Abs DPPH= Absorbancia de 1,1- difenil-1- picril hidrazil.

## 4. CAPÍTULO IV. Resultados y Discusión

### 4.1 Variables de estudio

Los resultados obtenidos de las muestras de salchichas de pollo Frankfurt con aceites esenciales de albahaca, guayaba y cilantro, son significativas entre tratamientos, al aplicar el análisis de varianza. La diferencia es en el poder antioxidante de cada aceite esencial que estabiliza el crecimiento de microorganismos y cambios físico-químicos. Se realizó el análisis estadístico ANOVA, y de acuerdo a sus resultados se comparó la efectividad de los tratamientos con las soluciones antioxidantes para salchichas de pollo.

#### 4.1.1 Análisis Microbiológicos

##### 4.1.1.1 *Aerobios Mesofilos*

El análisis de las muestras permite la cuantificación de colonias de *Aerobios mesofilos* en cada tratamiento durante 30 días. En las siguientes tablas de análisis de varianza de *Aerobios mesofilos* desde el día 0 hasta el día 30, se observa el crecimiento de *aerobios mesofilos*. La comparación se realizó con el método Tukey con el 95% de confiabilidad y 5% error, valor  $p= 0,05$ . Los *Aerobios mesofilos* indican la existencia de contaminación de materia prima, métodos de manipulación, alteración de producto (Anderson & Calderón, 1999).

Tabla 11. Análisis de varianza para *Aerobios mesofilos* día 0

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	49172,22	10	4917,22	0,84	0,6036
Repetición	272,22	2	136,11	0,02	0,9772
Tratamiento	48900	8	6112,5	1,04	0,4486
Error	94177,78	16	5886,11		

Tabla 12. Análisis de la desviación estándar y el rango del día 0

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	125	105	A
<b>T2</b>	95	15	A
<b>T3</b>	200	170	A
<b>T4</b>	90	10	A
<b>T5</b>	70	50	A
<b>T6</b>	125	45	A
<b>T7</b>	85	45	A
<b>T8</b>	85	5	A
<b>T9</b>	40	20	A

Tabla 13. Análisis de varianza para *Aerobios mesofilos* día 10

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	27016,67	10	2701,67	1,3	0,3078
<b>Repetición</b>	1250	2	625	0,3	0,744
<b>Tratamiento</b>	25766,67	8	3220,83	1,55	0,2159
<b>Error</b>	33200	16	2075		

Tabla 14. Análisis de la desviación estándar y el rango del día 10

Tratamientos	Promedio	Desviación estándar	Rango
T1	80	20	A
T2	40	0	A
T3	65	25	A
T4	120	100	A
T5	85	55	A
T6	55	15	A
T7	80	50	A
T8	105	15	A
T9	145	15	A

Tabla 15. Análisis de varianza para *Aerobios mesófilos* día 20

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	39355,56	10	3935,56	2,94	0,0268
Repetición	11755,66	2	5877,78	4,39	0,0303
Tratamiento	27600	8	3450	2,57	0,0512
Error	21444,44	16	1340,28		

No existe un cambio significativo en el día 0 hasta al día 20, debido a que el p-valor es mayor a 0,05 como se observa en las tablas 11, 13,15. En el día 30 (tabla 18), si existe diferencia significativa entre los tratamientos, los mejores tratamientos aplicados son el tratamiento T8 (800 ppm aceite esencial

albahaca+ 800 ppm aceite esencial cilantro + 800 ppm aceite esencial guayaba), T6 (800 ppm aceite esencial de cilantro).

El T8 (800 ppm aceite esencial albahaca+ 800 ppm aceite esencial cilantro + 800 ppm aceite esencial guayaba) con un promedio de 85 unidades formadoras de colonias y desviación estándar 45, es el mejor. El tratamiento T6 (800 ppm aceite esencial de cilantro) con 70 ufc y desviación estándar 70 es el que le sigue. Valores que están por debajo de lo establecido por la norma INEN 1338 de productos cocidos, donde los *Aerobios totales* se encuentran en un rango inferior a  $1,0 \times 10^5$  ufc.

El análisis de *aerobios totales* es importante para las industrias alimenticias debido a que deben realizar una revisión general del funcionamiento de la instalaciones y utensilios para que no presenten contaminación cruzada, se debe utilizar normas BPM para el manejo en el proceso (Moltó R, 2010). En la elaboración de salchichas se controló el proceso.

Tabla 16. Análisis de varianza estándar para *Aerobios mesofilos* día 20

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	60	30	A
<b>T2</b>	125	45	A
<b>T3</b>	70	30	A
<b>T4</b>	35	5	A
<b>T5</b>	75	25	A
<b>T6</b>	40	0	A
<b>T7</b>	75	45	A
<b>T8</b>	50	10	A
<b>T9</b>	130	100	A

Tabla 17. Análisis para *Aerobios mesofilos* día 30

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	114238,89	10	11423,89	6,88	0,0004
<b>Repetición</b>	3472	2	1736,11	1,05	0,3744
<b>Tratamiento</b>	110766,67	8	13845,83	8,34	0,0002
<b>Error</b>	26577,78	16	1661,11		

Tabla 18. Análisis de varianza estándar para *Aerobio mesofilos* día 30

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	40	40	A
<b>T2</b>	140	10	BC
<b>T3</b>	160	100	C
<b>T4</b>	130	20	AB
<b>T5</b>	100	10	ABC
<b>T6</b>	70	30	AB
<b>T7</b>	125	15	C
<b>T8</b>	85	45	AB
<b>T9</b>	70	30	ABC

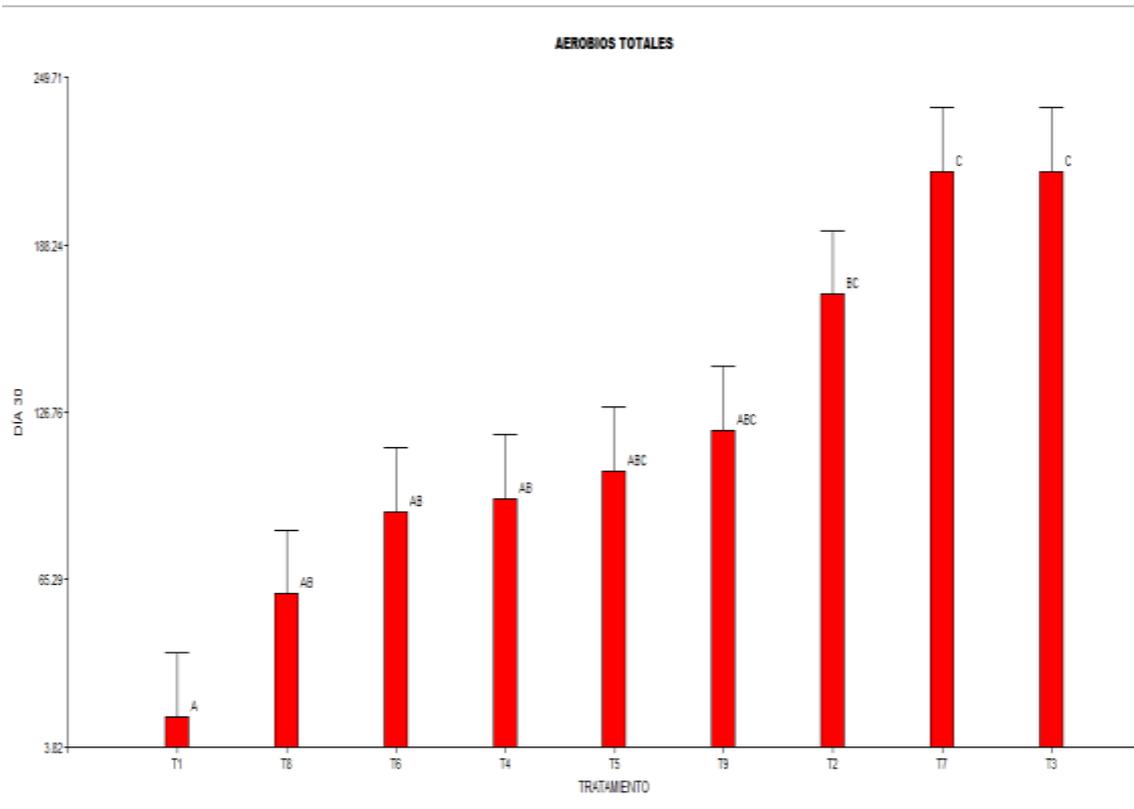


Figura 28. Crecimiento de *Aerobios mesófilos* día 30.

#### 4.1.1.3 *Staphylococcus*

El estudio permitió una cuantificación de colonias de *Staphylococcus aureus* en cada tratamiento durante 30 días. No existe una diferencia significativa entre los tratamientos como se observa en las tablas 19, 21, 23 ya que presentan un valor  $p > 0.05$ . Según el análisis de ANOVA el mejor tratamiento en *Staphylococcus* es T8 (800 ppm aceite esencial albahaca+ 800 ppm aceite esencial cilantro + 800 ppm aceite esencial guayaba) con un promedio de 85 ufc y desviación estándar 45. En segundo lugar tenemos T9 (1000 ppm aceite esencial albahaca+ 1000 ppm aceite esencial cilantro + 1000 ppm aceite esencial guayaba) y en tercer lugar T6 (800 ppm de aceite esencial de cilantro).

Tabla 19. Análisis de varianza para *Staphylococcus* día 0

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	19283,58	10	1928,36	2,26	0,0705
<b>Repetición</b>	7506,54	2	3753,27	4,4	0,03
<b>Tratamiento</b>	11777,03	8	1472,13	1,73	0,168
<b>Error</b>	13652,35	16	853,27		

Tabla 20. Análisis de desviación estándar para *Staphylococcus* día 0

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	90	80	A
<b>T2</b>	10	10	A
<b>T3</b>	25	5	A
<b>T4</b>	50	10	A
<b>T5</b>	35	5	A
<b>T6</b>	55	5	A
<b>T7</b>	50	20	A
<b>T8</b>	50	10	A
<b>T9</b>	60	50	A

Tabla 21. Análisis de varianza para *Staphylococcus* día 10

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	19780,24	10	1978,02	1,54	0,2128
<b>Repetición</b>	493,85	2	246,92	0,19	0,827
<b>Tratamiento</b>	19286,39	8	2410,8	1,88	0,1351
<b>Error</b>	20550,78	16	1284,42		

Tabla 22. Análisis de desviación estándar para *Staphylococcus* día 10

Tratamientos	Promedio	Desviación estándar	Rango
T1	180	0	A
T2	30	0	A
T3	0	0	A
T4	0	0	A
T5	90	0	A
T6	20	0	A
T7	40	0	A
T8	40	0	A
T9	0	0	A

Tabla 23. Análisis de varianza para *Staphylococcus* día 20

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	19048,46	10	1904,85	1,47	0,2386
Repetición	8710,31	2	4355,15	3,35	0,0608
Tratamiento	10338,15	8	1292,27	0,99	0,4758
Error	20782,44	16	1298,9		

Tabla 24 .Análisis de desviación estándar para *Staphylococcus* día 20

Tratamientos	Promedio	Desviación estándar	Rango
T1	65	65	A
T2	30	0	A
T3	40	20	A
T4	20	10	A
T5	30	0	A
T6	50	20	A

<b>T7</b>	95	85	A
<b>T8</b>	50	20	A
<b>T9</b>	60	30	A

Tabla 25. Análisis de varianza para *Staphylococcus* día 30

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	58176,26	10	5817,63	1,72	0,1614
<b>Repetición</b>	12798,63	2	6399,31	1,89	0,1834
<b>Tratamiento</b>	45377,63	8	5672,2	1,67	0,1808
<b>Error</b>	54189,03	16	3386,81		

El tratamiento T6 (800 ppm de aceite esencial de cilantro) como se observa en las tablas 21, 23, 25 de varianza presentan un promedio de 20 hasta 50 ufc y desviación estándar desde 5 hasta 50 ufc en 0, 10 hasta 20 días. Los *Staphylococcus aureus* son una especie bacteriana Gram positiva, sensible al calor y desinfectantes. La presencia de toxinas en los alimentos indica falta de higiene por mala manipulación (Rodríguez M, 1999).

Tabla 26. Análisis de desviación estándar para *Staphylococcus* día 30

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	100	70	A
<b>T2</b>	100	90	A
<b>T3</b>	115	55	A
<b>T4</b>	70	10	A
<b>T5</b>	120	0	A
<b>T6</b>	60	20	A
<b>T7</b>	185	135	A
<b>T8</b>	65	15	A

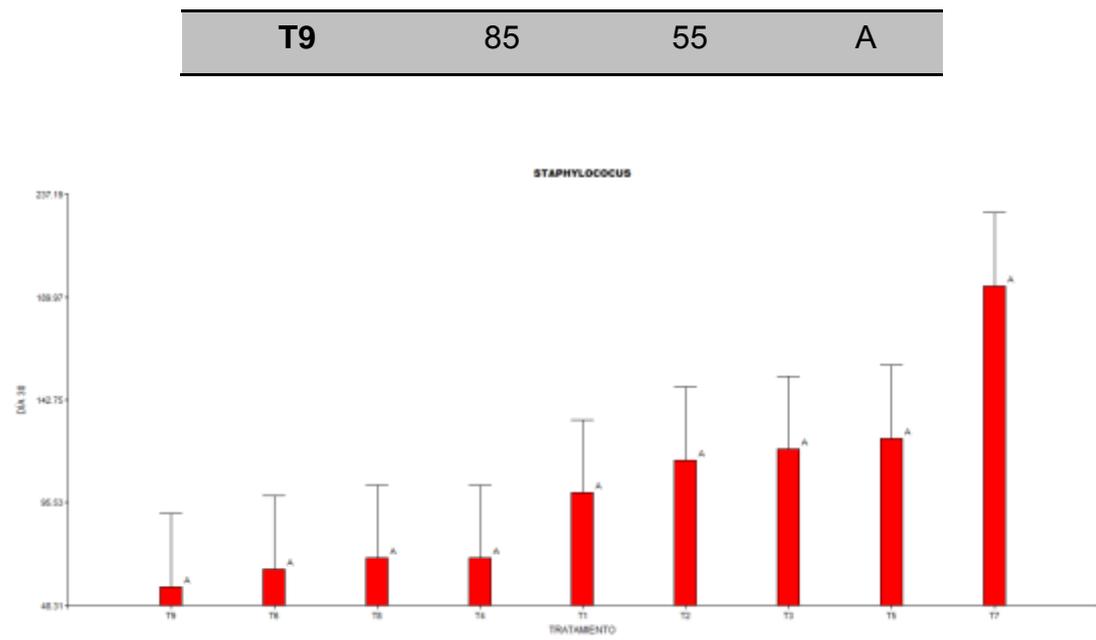


Figura 29. Crecimiento de *Staphylococcus* día 30.

Realizado un estudio farmacognóstico de *Ocimum basilicum* de Sánchez *et al* (2000) demuestra las propiedades antisépticas. La composición de la albahaca indica que contiene tritepeno, esteroides y aceites esenciales. El poder antibacteriano de aceite esencial de albahaca ha sido probado en bacterias Gram positivas de *Staphylococcus*.

En otro estudio realizado por Sosa Morales *et al* (2012) reporta la inhibición de bacterias de *Staphylococcus* con una concentración mínima de inhibición que es 400 ppm, la inhibición de bacterias se debe por la presencia de eugenol y metilchavicol. En esta investigación se demuestra que los compuestos de la albahaca cumple la función antioxidante como en otras investigaciones. Como se observa en la figura 27. Los resultados obtenidos se encuentran en los rangos de la Norma INEN 1338 como un mínimo de  $1,0 \times 10^3$ , máximo  $1,0 \times 10^4$  (INEN1338, 2015). Además se puede identificar que se utilizó un adecuado uso de las normas BPM.

Los tratamientos aplicados en combinación (aceite de albahaca, cilantro y guayaba) presentan mayor efecto antioxidante con los microorganismos hasta el día 30.

#### **4.1.1.4 *Echerichia coli***

El estudio realizado para *Echerichia coli* no presentó resultados positivos, durante el periodo de 30 día, por lo cual no se cuantificó las unidades formadoras de colonias de microorganismos.

La investigación realizada por Yaima Sánchez et al (2009). Dice que los compuestos fenólicos producen efectos a dos niveles, sobre la integración de la pared celular y la membrana citoplasmática, además pueden desnaturalizar las enzimas de inicio de germinación de esporas. Se demostró que el carvacol y el eugenol causan desintegración de la membrana de *E. coli* y *S. typhiurium*, el eugenol se encuentra como compuesto mayoritario en el aceite del clavo de olor, además se relaciona con el aceite esencial de albahaca que se utilizó para realizar las salchichas de pollo. Los resultados obtenidos no positivos de *E. coli* son por que el aceite esencial de albahaca que contiene eugenol 35%, provocó la desnaturalización de la membrana e inhibe el desarrollo de unidades de colonias de E. Coli.(Sánchez Y, 2009).

Los resultados obtenidos comprueban la efectividad de los aceites esenciales como se menciona en la investigación realizada por Sánchez, (2009). Además indica que las bacterias analizadas en las salchichas de pollo, se encuentran en los rangos establecidos según la Norma INEN 1338, máximo de 10ufc. Debido a que este microorganismo se encuentra en el suelo, agua, vegetación y forma parte de la flora intestinal de los humanos(Durán, 1998).

#### **4.1.1.5 *Salmonella***

El estudio realizado para *Salmonella* los resultados fueron negativos, durante el periodo de 30 días, no se cuantificó las unidades formadoras de colonias de microorganismos debido a la inexistencia o no existe el desarrollo de la misma.

La salmonella se encuentra presente en el tracto digestivo de las aves, se presenta enfermedades como la salmonelosis que ocasiona alta mortalidad(Varga L, 1984). La salmonelosis es una intoxicación alimentaria, producida por la multiplicación de las bacterias en el intestino. Para evitar la *Salmonella* se debe cocinar la carne, lavar las manos con frecuencia (Ingraham J, 1998). Los embutidos deben ser escaldados antes de su comercialización

con el fin de disminuir la población microbiana, el escaldado consiste en aplicar un tratamiento de agua caliente a 75 °C, también se puede realizar ahumado a altas temperaturas (Amerling, 2001). Los análisis realizados durante 30 días demostraron resultados negativos en el crecimiento de *Salmonella* y cumplieron las Normas INEN de la ausencia de *salmonella*. Las salchichas de pollo tipo Frankfurt llegaron a temperatura de escaldado y la aplicación de aceites esenciales inhibió el desarrollo de cepas de *Salmonella* durante los 30 días de monitoreo, con una evaluación constante desde el día 0 hasta el día 30.

#### **4.1.2 Análisis Físico Químico**

##### **4.1.2.1 PH**

El pH en las carnes frescas está entre 5,1-5,2 para evitar el desarrollo de microorganismos, además son los rangos en que se disminuye la velocidad de crecimiento de microorganismos (Amerling, 2001). Según Larrosa (2013) el pH en los embutidos presenta influencia en el producto, con un pH mayor a 6,2 existe la probabilidad de crecimiento de bacterias y un pH menor a 4,5 provoca cambios en las cualidades organolépticas causando sabores ácidos.

La calidad del producto depende de los ingredientes como; carne, aditivos, condimentos. Un factor que influye sobre las características fisiológicas del animal y las condiciones de sacrificio es la velocidad de descenso del pH, este factor es analizado en las carnes después de un proceso de faenamiento para identificar la calidad de la carne e inocuidad. En un estudio realizado sobre la evaluación de los aceites esenciales como antioxidante aplicada en las salchichas de pollo, la pechuga de pollo es la materia prima la cual debe presentar parámetros en pH desde 5 a 5,8. El pH establecido indica que la carne se encuentra en los rangos de aceptabilidad (Campoverde, 2011). Después del análisis ANOVA los resultados obtenidos se encuentran en los rangos establecidos por las Normas INEN con un pH menor de 6,2.

Tabla 27. Análisis de varianza del pH día 0

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0,19	10	0,02	1,32	0,3181
<b>Repetición</b>	0,07	2	0,04	2,5	0,124
<b>Tratamiento</b>	0,12	8	0,01	1,03	0,4643
<b>Error</b>	0,17	12	0,01		

Tabla 28. Análisis de la desviación estándar día 0

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	5,425	0,625	A
<b>T2</b>	5,54	0,05	A
<b>T3</b>	5,615	0,075	A
<b>T4</b>	5,63	0,02	A
<b>T5</b>	5,6	0,01	A
<b>T6</b>	5,545	0,035	A
<b>T7</b>	5,565	0,045	A
<b>T8</b>	5,505	0,075	A
<b>T9</b>	5,44	0,05	A

Tabla 29. Análisis de la varianza de pH día 10

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0,43	10	0,04	5,19	0,0046
<b>Repetición</b>	0,28	2	0,14	16,52	0,0004
<b>Tratamiento</b>	0,16	8	0,02	2,36	0,0877
<b>Error</b>	0,1	12	0,01		

Tabla 30. Análisis de la desviación estándar día 10

Tratamientos	Promedio	Desviación estándar	Rango
T1	5,775	0,275	B
T2	5,695	0,105	AB
T3	5,78	0,09	A
T4	5,73	0,12	AB
T5	5,735	0,125	AB
T6	5,74	0,23	AB
T7	5,685	0,075	AB
T8	5,715	0,135	AB
T9	5,67	0,18	B

Tabla 31. Análisis de varianza del pH día 20

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	2,96	10	0,3	15,6	<0,0001
Repetición	0,99	2	0,49	26,04	<0,0001
Tratamiento	1,97	8	0,25	12,99	0,0001
Error	0,23	12	0,02		

Tabla 32. Análisis de la desviación estándar día 20

Tratamientos	Promedio	Desviación estándar	Rango
T1	5,73	0,25	C
T2	4,63	0,04	A
T3	4,885	0,095	AB

<b>T4</b>	5,015	0,035	AB
<b>T5</b>	5,145	0,285	B
<b>T6</b>	5	0,4	AB
<b>T7</b>	4,985	0,445	AB
<b>T8</b>	4,73	0,11	AB
<b>T9</b>	5,005	0,315	AB

Tabla 33. Análisis de varianza del pH día 30

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	11,47	10	1,15	14,71	<0,0001
<b>Repetición</b>	6,81	2	3,4	43,66	<0,0001
<b>Tratamiento</b>	4,66	8	0,58	7,47	0,0012
<b>Error</b>	0,94	12	0,08		

Tabla 34. Análisis de la desviación estándar día 30

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	4,64	1,31	C
<b>T2</b>	4,14	0,62	BC
<b>T3</b>	3,69	0,31	AB
<b>T4</b>	3,98	0,72	B
<b>T5</b>	3,915	0,825	AB
<b>T6</b>	4,035	0,875	AB
<b>T7</b>	4,05	0,72	AB
<b>T8</b>	3,185	0,155	A
<b>T9</b>	4,325	0,685	B

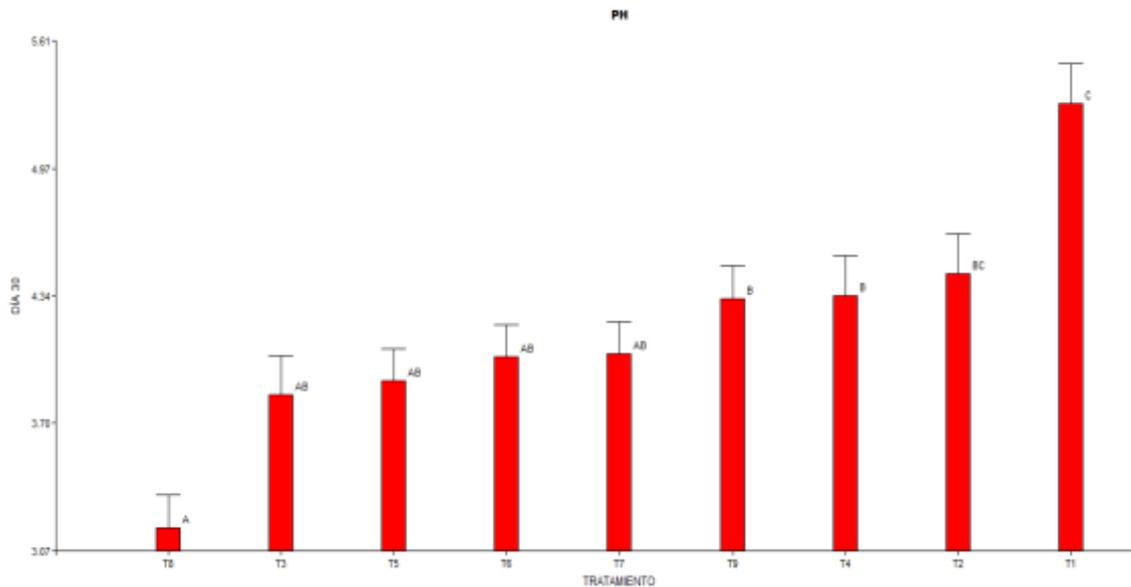


Figura 30. pH de las salchichas día 30

#### 4.1.2.2 Humedad

La humedad es el contenido de vapor de agua en un alimento, la cantidad de humedad del alimento es un factor que afecta el crecimiento de microorganismos. Las bacterias requieren más humedad para poder crecer, debido a que la humedad se encuentra relacionada con la actividad de agua (Mendez J, 1994).

Según las Normas Mexicanas elaboradas por Iberomex, S.A. Zwanenberg de México, S.A *et al* (1984). La humedad se encuentra entre 60-70% en salchichas en donde se aplicó aceites esenciales. En la tabla 38 se observa que el tratamiento t5 alcanza en el día 10 una humedad de 60%, el tratamiento t9 66% de humedad, a diferencia del día 20 los tratamientos mencionados alcanzan una humedad 64% y 71%, se tomaron en cuenta estos tratamientos debido a que presentan un incremento de humedad después de 10 días. Al finalizar el monitoreo alcanzaron una humedad constante.

Tabla 35. Análisis de varianza de la humedad día 0

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0,01	10	7,80E-04	7,01	0,0003
<b>Repetición</b>	1,30E-03	2	6,30E-04	5,65	0,0132
<b>Tratamiento</b>	0,01	8	8,20E-04	7,34	0,0003
<b>Error</b>	1,90E-03	17	1,10E-04		

Tabla 36. Análisis de la desviación estándar día 0

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	0,63730519	0,00230519	A
<b>T2</b>	0,64772727	0,01136364	AB
<b>T3</b>	0,69669032	0,03545254	C
<b>T4</b>	0,65453251	0,00669198	AB
<b>T5</b>	0,65200052	0,00748224	AB
<b>T6</b>	0,66769027	0,00227673	BC
<b>T7</b>	0,6662069	0,0062069	AB
<b>T8</b>	0,66325761	0,00762847	AB
<b>T9</b>	0,66568075	0,00568075	ABC

Tabla 37. Análisis de varianza de la humedad día 10

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0,02	10	1,90E-03	4,79	0,0023
<b>Repetición</b>	4,10E-03	2	2,00E-03	5,22	0,0171
<b>Tratamiento</b>	0,01	8	1,80E-03	4,69	0,0036
<b>Error</b>	1,00E-02	17	3,90E-04		

Tabla 38. Análisis de la desviación estándar día 10

Tratamientos	Promedio	Desviación estándar	Rango
T1	0,64236937	0,01303604	ABC
T2	0,61328556	0,04795223	ABC
T3	0,63333333	0,03333333	ABC
T4	0,651366	0,00562609	ABC
T5	0,6084889	0,02025361	AB
T6	0,60442947	0,03428021	A
T7	0,66033012	0,01287249	BC
T8	0,65905775	0,00477204	ABC
T9	0,66717496	0,00425361	C

Los tratamientos T1, T2, T3, T4, presentan que la humedad está en rangos de 61- 65%, a diferencia del tratamiento T6 en 60%, este tratamiento presenta una humedad inferior a los rangos normales.

Tabla 39. Análisis de varianza de a humedad día 20

FV	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	0,04	10	7,80E-03	33,72	<0,0001
Repetición	1,00E-02	2	1,00E-02	52,51	<0,0001
Tratamiento	0,03	8	3,20E-03	28,6	<0,0001
Error	1,90E-03	17	1,10E-04		

Tabla 40. Análisis de la desviación estándar día 20

Tratamientos	Promedio	Desviación estándar	Rango
T1	0,6730321	0,03741566	C
T2	0,63588414	0,03802891	A

<b>T3</b>	0,63719869	0,01844869	AB
<b>T4</b>	0,63688551	0,03283926	A
<b>T5</b>	0,64654003	0,01017639	ABC
<b>T6</b>	0,61977226	0,03440641	A
<b>T7</b>	0,67006435	0,00860601	BC
<b>T8</b>	0,63567621	0,03269114	A
<b>T9</b>	0,71659619	0,02105813	D

Tabla 41. Análisis de la varianza de la humedad día 30

<b>FV</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
<b>Modelo</b>	0,05	10	4,50E-03	21,9	<0,0001
<b>Repetición</b>	4,00E-02	2	2,00E-02	106,48	<0,0001
<b>Tratamiento</b>	1,20E-03	8	1,50E-04	0,74	0,6585
<b>Error</b>	3,50E-03	17	2,10E-04		

Tabla 42. Análisis de la desviación estándar día 30

<b>Tratamientos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Rango</b>
<b>T1</b>	0,72462238	0,04720302	A
<b>T2</b>	0,71375091	0,05118933	A
<b>T3</b>	0,70742243	0,04511306	A
<b>T4</b>	0,72208422	0,06787861	A
<b>T5</b>	0,71321699	0,06386634	A
<b>T6</b>	0,7100705	0,04266473	A
<b>T7</b>	0,7081147	0,03849164	A
<b>T8</b>	0,70479875	0,06903717	A
<b>T9</b>	0,70172548	0,02372095	A

Se observa en la tabla 40 que la humedad va incrementando, está en rangos del 63-71% de la humedad cada tratamiento presenta variación, en la tabla 42 no existe cambios significativos de los tratamientos durante todo el periodo, la humedad se mantiene en un rango constante de 70% humedad, en el día 30.

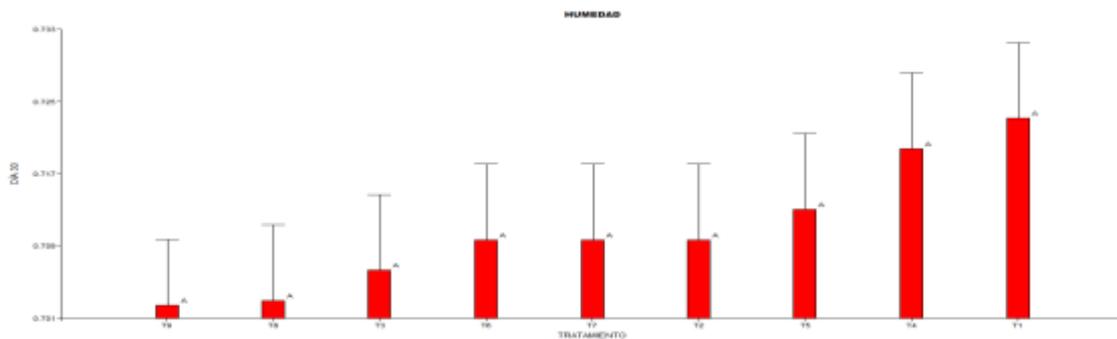


Figura 31. Humedad del día 30 en las salchichas de pollo

En la figura 31 se observa que el tratamiento T8 se encuentra con un promedio de 70% de humedad y desviación estándar 0,06.

### 3.1.1.8 Peróxidos

Se realizó análisis de peróxidos, los resultados fueron negativos durante los 30 días, las pruebas se realizaban cada 10 días y no presentaron cambios. Los peróxidos son sustancias inestables, que pueden sufrir una descomposición acelerada ( Naciones Unidas, 2006). Con los resultados obtenidos como negativo se identifica que no permite que los radicales libres sean sustituidos. Durante 1 mes no se desarrolló ningún cambio en las salchichas. Se analiza que los diferentes tratamientos tuvieron efectividad sobre el embutido.

Los resultados de la investigación de Cantos (2009) señala que el aceite de albahaca, arrayan, orégano y romero son los más promisorios en su capacidad de influenciar en el índice de peróxidos (Cantos, 2009). Con la investigación realizada se observa que el aceite esencial de albahaca inhibe el índice de peróxidos. Además la combinación con los aceites de guayaba, cilantro proporcionan mayor efectividad en la inhibición.

#### 4.1.2.4 Efecto antioxidante

##### Recta de calibración

La recta de calibración obtuvo valores de absorbancia para las disoluciones de DPPH.

Tabla 43. Concentración de DPPH, determinación de la absorbancia en espectrofotómetro UV para recta de calibración.

	Concentración	Absorbancia
a	Blanco	0,000
b	0,01	0,082
c	0,02	0,155
d	0,04	0,343
e	0,05	0,438
f	0,10	0,901

Se desarrolló la recta de calibración DPPH, se utilizó la fórmula de regresión lineal y se determina el coeficiente de correlación. En la figura 32 se observa a recta de calibración de DPPH.

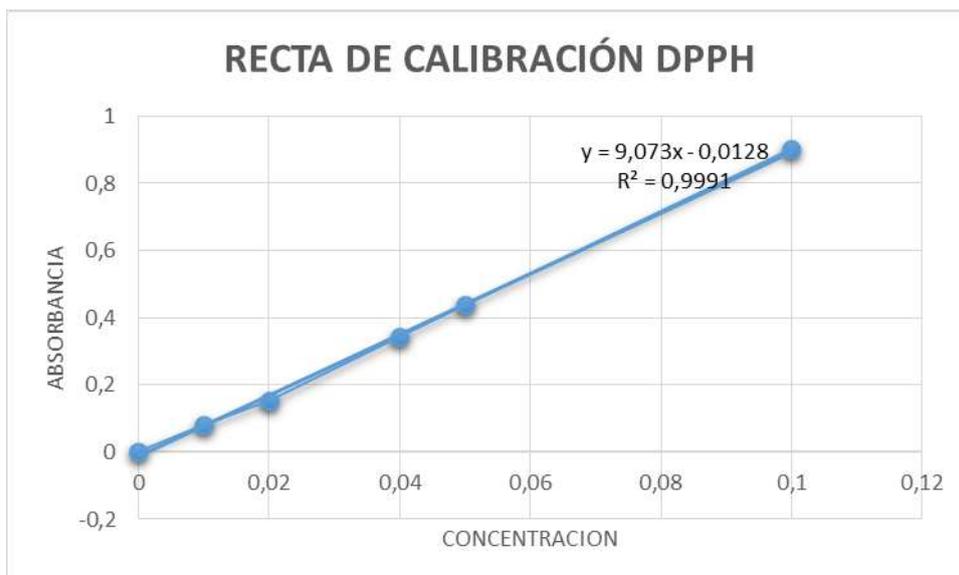


Figura 32. Recta de calibración DPPH, absorbancia 517nm.

El método DPPH o de decoloración mediante 1,1-difenil-1-picrilhidrazil permite la determinación de la capacidad antioxidante de las soluciones utilizadas en los tratamientos. Consiste que el DPPH presenta un radical que tiene un electrón desapareado y es de color azul- violeta. El antioxidante actúa como anti radical donando átomos de hidrogeno y como resultados se obtiene radicales con estructuras moleculares estables que detienen la reacción en la cadena.

La recta de calibración se realizó con el compuesto DPPH como se observa en la figura 32. El compuesto utilizado en la investigación presenta sensibilidad a la luz, debido a la reacción rápida que sucede al momento de añadir las soluciones antioxidantes se produce la reacción. A partir de la medición de la recta se determina la absorbancia del compuesto a 517nm.

Neira en el 2009 establece que la actividad antioxidante depende del tipo de flavonoides como el número de monómeros que forman la estructura, la capacidad de neutralización de radicales libres depende de la reactividad de los sustituyentes hidroxilo.

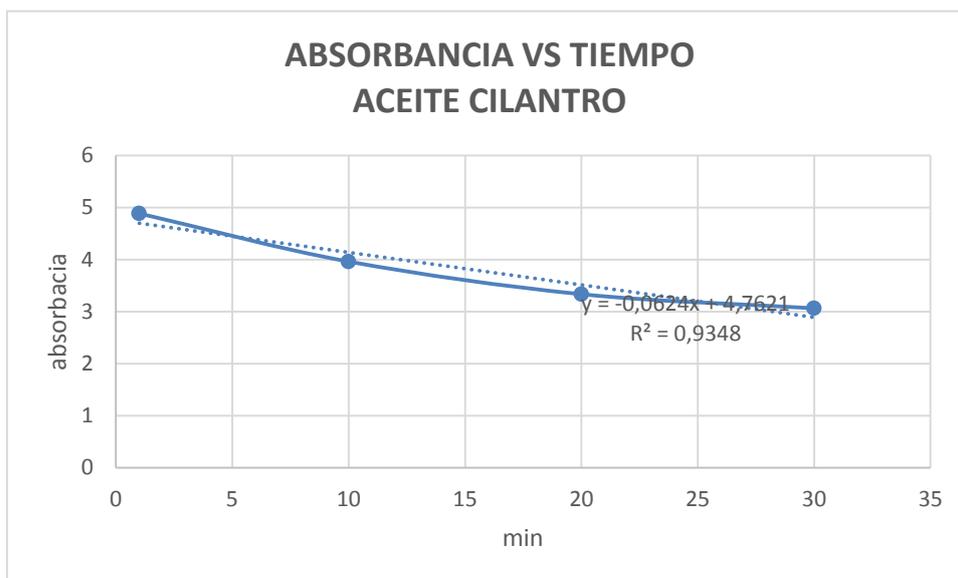


Figura 33. Absorbancia del aceite esencial de cilantro en 30 minutos. Se realizó la evaluación de la absorbancia y el tiempo en que los aceites esenciales de cilantro, albahaca, guayaba van perdiendo su capacidad antioxidante, la diferencia de absorbancia establece la inhibición de radicales libres. En la figura 33 se observa  $r^2$  del aceite de cilantro presenta un 93%, de variabilidad de la variable Y, es decir mayor relación además indica mayor estabilidad de su efecto antioxidante

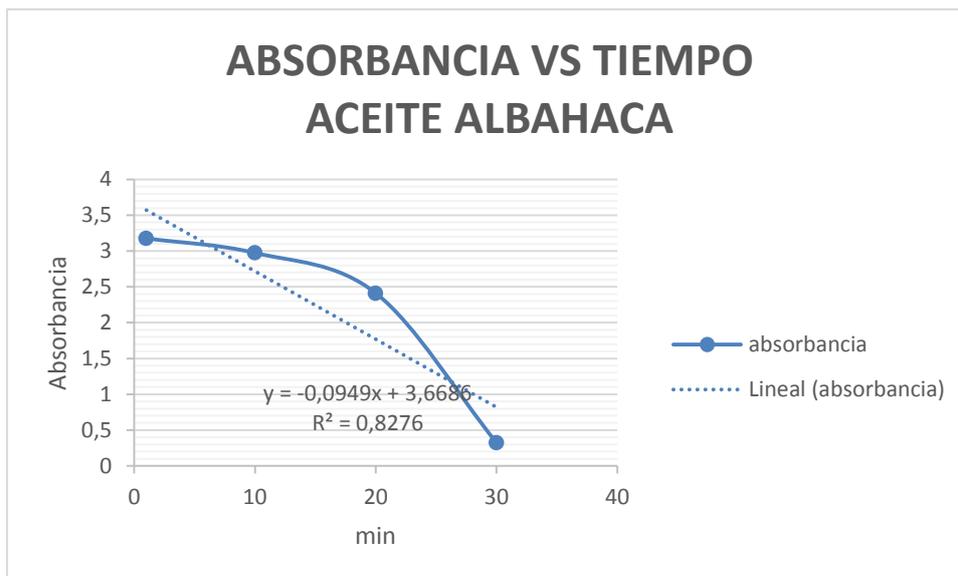


Figura 34. Absorbancia del aceite esencial de albahaca en 30 minutos. El aceite de albahaca con 82% de variabilidad, presenta mayor desviación en relación a la línea de absorbancia, dando menor estabilidad en relación a su efecto antioxidante, además la reacción del DDPH con el aceite esencial de albahaca fue con gran velocidad como se indica en el anexo 6

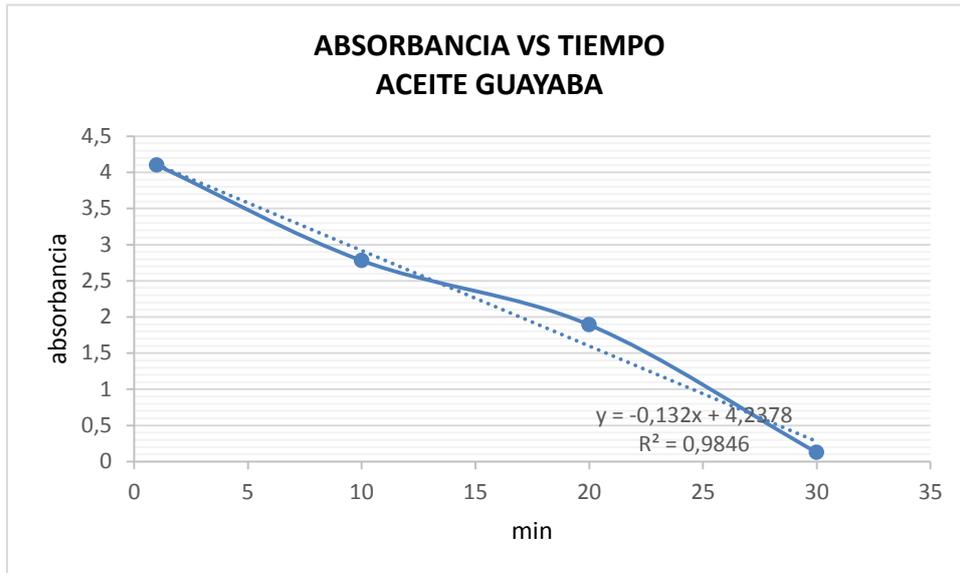


Figura 35. Absorbancia del aceite esencial de guayaba en 30 minutos. El aceite de guayaba presenta 98% con una mínima desviación de su línea de absorbancia, indica una mejor estabilidad en su efecto antioxidante.

El aceite que demuestra mayor efecto es el aceite de guayaba, aunque en la investigación se realizó la combinación de los 3 aceites esenciales, cuyo resultado fue el mejor ya que alcanzaron su máximo efecto antioxidante sobre las salchichas de pollo tipo Frankfurt.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

Gracias a la aplicación del método DPPH, se pudo identificar la diferencia en el poder antioxidante de los 3 aceites, el aceite esencial de guayaba 98% de efectividad seguido del cilantro con 93% de efecto antioxidante y al final el de albahaca con el 82% de efecto antioxidante.

Mediante la realización de pruebas microbiológicas se pudo identificar cuál fue el mejor tratamiento para inhibir el crecimiento de microorganismos como: *Aerobios mesofilos*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Echerichia coli* dando los siguientes resultados:

El mejor tratamiento utilizado para el control de *aerobios totales* es el tratamiento T8 (800 ppm aceite esencial albahaca+ 800 ppm aceite esencial cilantro + 800 ppm aceite esencial guayaba), la formación de colonias fue 85 ufc.

El tratamiento que presento mayor crecimiento de *aerobios totales* fue T3 (100 ppm aceite esencial de guayaba) con un resultado 160 ufc, es el que presenta menor efectividad.

El tratamiento óptimo para *Staphylococcus* es el tratamiento T8 (800 ppm aceite esencial albahaca+ 800 ppm aceite esencial cilantro + 800 ppm aceite esencial guayaba) con un resultado de 85 ufc.

El tratamiento que presenta menos efectividad en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* es el tratamiento T7 (1000 ppm de aceite esencial de cilantro con 115 ufc).

Todos los tratamientos inhiben *Salmonella* y *Echerichia coli* no se obtuvo resultados positivos de estos microorganismos.

Las variables como el pH, humedad, peróxidos fueron controlados durante 30 días y se mantuvieron el pH 3,18 a 4,3. La humedad se mantuvo en un 70% y no se presenta resultados positivos de peróxidos.

## **5.2. Recomendaciones**

Realizar un análisis sensorial de las salchichas porque los aceites esenciales pueden cambiar el sabor.

Dejar las salchichas de pollo al ambiente y luego evaluar el crecimiento bacteriano, además se debe evaluar el efecto antioxidante.

Para realizar la siembra se debe realizar sin guantes y con una adecuada desinfección de las manos para evitar una contaminación y obtener resultados alterados de microorganismos.

## Referencias

- A. L., López, F. V., & Taípe, G. M. (2011). Evaluación de la actividad antioxidante del pisco peruano mediante voltametría cíclica. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 124-137.
- Agriculture. Enfermedades por alimentos. Recuperado el 13 de Enero de 2017, de <https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/informational/en-espanol/hojasinformativas/enfermedades-por-alimentos/enfermedades-transmitidas-alimentos>
- Alarcón, L. R. (2001). *Manual de practicas de Microbiología básica y Microbiología de alimentos. Programa de Nutrición*. reprint.
- Amerling, C. (2001). *Tecnología de la carne: antología*. EUNED.
- Anderson, M. d., & Calderón, V. (1999). *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. Díaz de Santos.
- Andrée S, J. W. (2010). *Pubmed*. Chemical safety of meat and meat products. Recuperado el 06 de Junio de 2016 de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20510527>
- Astiasarán, I. (2003). *Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria*. Díaz de Santos.
- Balch F, P. A. (2000). *Recetas Nutritivas Que Curan*. Penguin.
- Bandoniene D, M. M. (2002-2014). Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and online HPLC-DPPH. *Food Research Technology*, 143-146.
- Barrera-Arellano, D. (1998). Estabilidad y utilización de nitrógeno en aceites y grasas. 55-63.
- Barros, C. (2009). *Los aditivos en la alimentación de los españoles y la legislación que regula su autorización y uso, 2a Edición*. Visión Libros.
- Barros, D. C. (2007). *Los aditivos en la alimentación de los españoles y la legislación que regula su autorización y uso*. Visión Libros.

- Bernal, G. C. (2004). *Introducción a la Tecnología de Alimentos*. Mexico: Lumisa.
- Bolaños N, G. L. (2003). *Química de Alimentos: Manual de laboratorio*. Universidad de Costa Rica.
- Bruce Bowler, A. D. (1994). *Characterizacio of the Guanidine Hydrochloide-Deatues state of ISO*. Recuperado el 05 de Junio de 2016 de <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/bi00175a008>
- Burt. (08 de 2004). *Pubmed*. Recuperado el 05 de Junio de 2016, de Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review.: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15246235>
- Cadena, E. (1996). *Patologia Clinica*. FEMPAC.
- Campoverde, P. (2011). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites*. Recuperado el 03 de Diciembre de 2016 de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1992/1/56T00300.pdf>
- Cantos, F. J. (2009). *Evaluación del efecto de aceites esenciales como inhibidores del enranciamiento en aceites comestibles*. Obtenido de [http://biblioteca.uazuay.edu.ec/opac\\_css/index.php?lvl=author\\_see&id=7559](http://biblioteca.uazuay.edu.ec/opac_css/index.php?lvl=author_see&id=7559)
- Carlos Gaviria Montoya, C. O. (2009). Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium*). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 8, 519-528.
- Castillo, J. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Díaz de Santos.
- CATIE, O. I. (s.f.). *Manual de Procedimientos Para El Control Microbiológico de Alimentos*. Orton IICA / CATIE.
- Cavallini, E., Coronado, M., & Hidalgo, J. (2005). *Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio*. Universidad de Costa Rica.
- Cerón, M. T. (2011). *Elaboración de salchicha tipo FRANKFURT*. Ibarra.
- Chacon, M. (13 de 10 de 2013). *No+ Aditivos*. Recuperado el 06 de Junio de 2016 de <http://www.nomasaditivos.com/2013/10/las-salchichas-cocidas-son-uno-de-los-html/>

- Chen, Y. (2006). *Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava*. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016 de [www.researchgate.net/publication/222429570\\_Antioxidant\\_activity\\_and\\_free\\_radical-scavenging\\_capacity\\_of\\_extract\\_from\\_guava\\_Psidium\\_guajava\\_L\\_leaves](http://www.researchgate.net/publication/222429570_Antioxidant_activity_and_free_radical-scavenging_capacity_of_extract_from_guava_Psidium_guajava_L_leaves)
- Chovert, A. M. (2013). *Medicina Ortomolecular*. Club Universitario,.
- Coultate, T. (2002). *Manual de Química y Bioquímica de los Alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Codex Alimentarius*. (2000). Food & Agriculture Org.
- Doyle. (2001 de 2001). *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Dra. C. Luciana de Souza Prestes, D. L. (2011). *Evaluación de la actividad bactericida de aceites esenciales de hojas de guayabo, pitango y arazá*. Recuperado el 15 de Noviembre de 2016 de [http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol16\\_4\\_11/pla03411.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol16_4_11/pla03411.htm)
- Durán, M. d. (1998). *Manual: microbiología médica : 9o semestre*. UNAM.
- E Sánchez, I. I. (12 de 2000). *Estudio farmacognóstico de ocimum basilicum l. (albahaca blanca)*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152000000300006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152000000300006)
- Ebrahim. (2006). Analisis of the essential of the two cultivated basil ( *Ocinium basilicum*). *Daru Journal pharmaceutical Sciencens*, 128-130.
- Eduardo Frank, M. A. (2008). *South American Camelids Research*. Wageningen Academic Pub.
- Ege, S. (1998). *Química orgánica: estructura y reactividad, Volume 2*. Reverte.
- Escalante, E. F. (2008). *La calidad de las aguas en función de su uso. Estudio de la Industria Agroalimentaria en Honduras*. (s.f.). Orton IICA / CATIE.
- EUFIC. (2008). *Alimentación saludable todos los días*. Recuperado el 18 de Abril de 2016 de <http://www.eufic.org/article/es/expid/review-aditivos-alimentarios/>

- FAO. (1989). *Manuales para el control de calidad de los alimentos: introducción a la toma de muestras de alimentos*. Food & Agriculture Org.
- FAO. (1995). Obtenido de [http://www.fao.org/gsaonline/docs/CXS\\_192s.pdf](http://www.fao.org/gsaonline/docs/CXS_192s.pdf)
- FAO. (1999). *Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros*. Food & Agriculture.
- FAO. (2012). *FAO*. Recuperado el 12 de Abril de 2016 de <http://www.fao.org/ag/ags/consumo-y-produccion-de-alimentos-sostenibles/es/>
- Fao-Roma. (1982). *Especies frutales forestales* . Recuperado el 05 de Junio de 2016, de 978-92-530-1218-3
- Flórez J, M. J. (2003). *Guía de plantas y productos medicinales*. Andrés Bello.
- Fonnegra R, J. S. (04 de 2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Antioquia: Universidad de Antioquia.
- Fritzsche, D. (2011). Tabla de aditivos. Los números E. Hispano Europea.
- Gamazo C, S. G. (2013). *Microbiología basada en la experimentación+Student consult en español*. Elsevier Health Sciences.
- Garcia, J. (2007). *Espicias. Delicias exóticas*. Intermón Oxfam.
- Geilfus, F. (1994). *El árbol al servicio del agricultor: Guía de especies*. Orton IICA / CATIE.
- Gómez, R. R. (2014). *Aplicación de normas y condiciones higiénico-sanitarias en restauración: Manipulación, higiene y seguridad alimentaria en un servicio de restaurante y bar*. Ideaspropias .
- González C, R. P. (2013). *La química en la vida cotidiana*. UNED.
- Green, A. (2007). *El Libro de Las Especies: Hierbas Aromáticas Y Especies*. Robinbook.
- Green, A. (2007). *El Libro de Las Especies: Hierbas Aromáticas Y Especies*. Robinbook.
- Grotto, D. (2014). *Lo mejor que puedes comer (Colección Vital): De la A a la Z, la guía nutricional definitiva para llenarte de energía, de salu*. Mexico: Penguin Random House.

- Guarnizo A, M. P. (s.f.). *La tendencia mundial es evitar el uso de antioxidantes sintéticos y la atención se centra en el uso de sustancias antioxidantes de origen natural. Para la elaboración de alimentos, los antioxidantes deben ser suficientemente activos para que puedan ser us.* Armenia : Elizcom.
- Gutiérrez, B. (2000). *Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos.* Díaz de Santos.
- Hernandez, A. (2010). *Tratado de nutrición / Nutrition Treatise: Composición Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos.* Médica Panamericana.
- Hernández, A. (2010). *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos, Volumen 2.* Médica Panamericana.
- Hughes, C. (1994). *Guía de aditivos.* Zaragoza(España): Acribia.
- Iberomex, S.A.;Zwanenberg de Mexico; Parma Industrial; Cámara de la industria de transformación. (1984). Recuperado el 20 de Enero de 2017 de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-065-1984.PDF>
- INEN. (2006). Recuperado el 16 de Noviembre de 2016 de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1217.2006.pdf>
- INEN. (2010). Recuperado el 16 de Noviembre de 2016 de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.1338.2012.pdf>
- INEN. (2012). Recuperado el 03 de Octubre de 2016 de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.2074.2012.pdf>
- INEN. (09 de 2013). Recuperado el 18 de Abril de 2016 de [http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/NORMAS\\_2014/ACO/17122014/nte\\_in\\_en\\_iso\\_5519\\_ext.pdf](http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/NORMAS_2014/ACO/17122014/nte_in_en_iso_5519_ext.pdf)
- INEN1338. (2015). Recuperado el 17 de Noviembre de 2016 de [http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/02/nte\\_inen\\_1338.pdf](http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/02/nte_inen_1338.pdf)
- Ingraham J, C. A. (1998). *Introducción a la microbiología, Volumen 2.* Reverte.

- Isaza Maya, Y. L. (2013). *Oxidación lipídica y antioxidantes naturales en derivados cárnicos*. Recuperado el 01 de Junio de 2016 de Journal of Engineering and Technology; Vol.2 N.2: 2256-3903
- J Ingraham, C. A. (1998). *Introducción a la microbiología, Volume 2*. Reverte.
- J. Tortora, B. R. (2007). *Introducción a la microbiología*. Médica Panamericana.
- J. Tortora, B. R. (2007). *Introducción a la microbiología*. Médica Panamericana.
- Jean-Paul Curtay, R. R. (2016). *Nutriterapia. Guía familiar de los alimentos que nos cuidan*. Parkstone International.
- Jiménez, M. A. (11 de 2008). *MERCASA*. Recuperado el 03 de Septiembre de 2016 de Aditivos Alimentarios (Los grandes desconocidos): [http://www.mercasa.es/files/multimedios/pag\\_080-086\\_aditivos.pdf](http://www.mercasa.es/files/multimedios/pag_080-086_aditivos.pdf)
- Larrosa, J. K. (2013). *Efecto de los condimentos naturales en la estabilidad*.
- Longo, N. (21 de 05 de 2013). *Waking times*. Recuperado el 19 de Abril de 2016, de <http://www.wakingtimes.com/2013/05/21/still-eat-conventional-meat-or-poultry-preservatives-antimicrobials-antifungals-and-viral-sprays-saturate-factory-farmed-sources/>
- Luck, P. M. (2000 de 2000). *Conservación química de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Luiz, A. H. (15 de 10 de 2010). *Antioxidante natural vs antioxidante sintético*. Recuperado el 23 de Junio de 2016 de <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/17845-antioxidante-natural-vs-antioxidante-sintetico>
- Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. (2006). Aiyana. (2007-2008). *Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos*.
- Marmolejo, M. A. (2009). *Biblioteca de la medicina tradicional Mexicana*. Recuperado el 16 de Noviembre de 2016 de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=guayaba&id=7651>
- Márquez C, V. J. (2016). *Stop radicales libres: 150 recetas antioxidantes*. EDAF.
- Martínez, A. (2010). *Preelaboración y conservación de alimentos*. AKAL,.



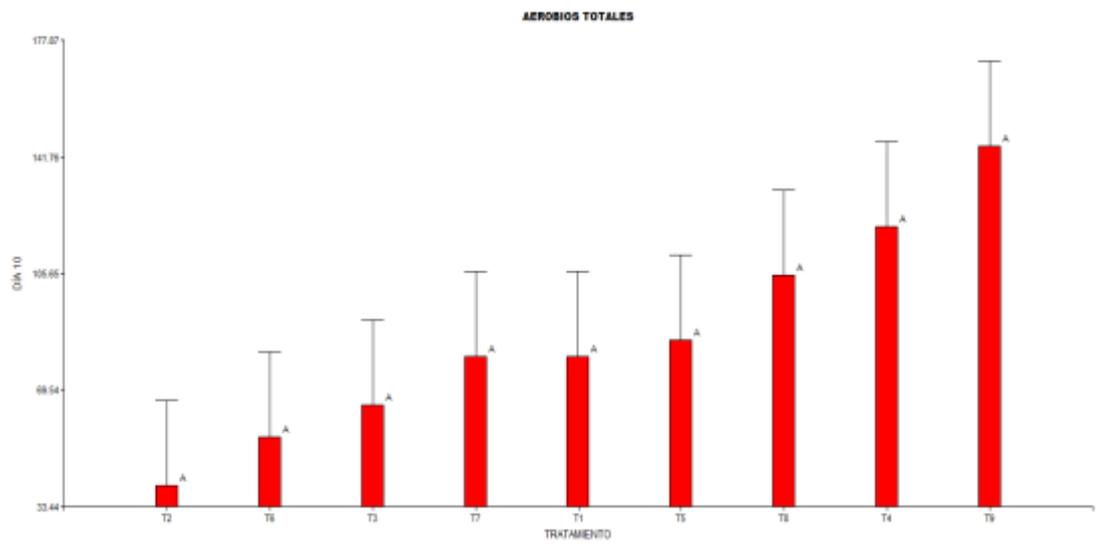
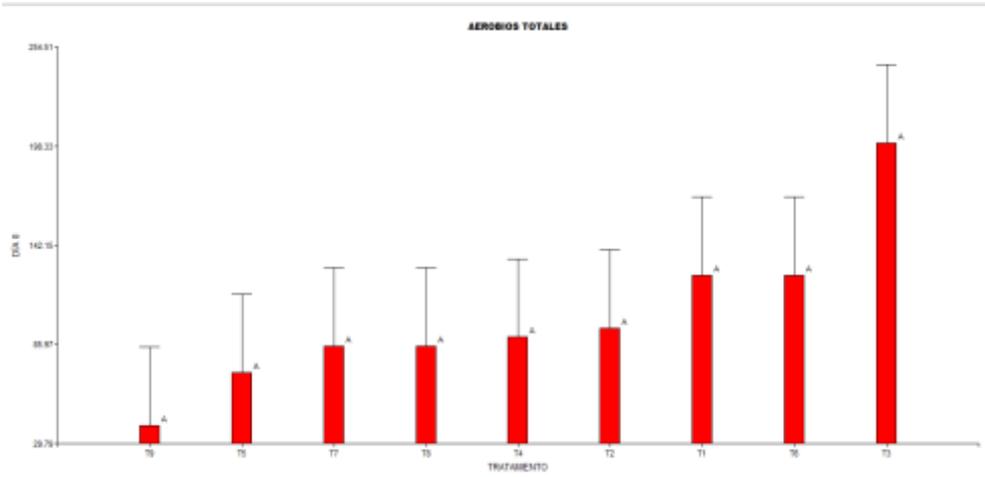
- Müller-Esterl, W. (2008). *Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida*. Reverte.
- Muñoz, F. (1996). *Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado*. Reprint.
- Naciones Unidas. (2006). *Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA)*. United Nations Publications.
- Neira, J. (2009). *Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca*. Univ Santiago de Compostela.
- Nutriología, A. m. (s.f.). *En Forma180*. Recuperado el 19 de Abril de 2016 de <http://enforma.salud180.com/nutricion-y-ejercicio/7-habitos-para-consumir-menos-conservadores>
- Olivas, E. (2001). *Prácticas de microbiología y parasitología*. Juárez: UACJ.
- OMS. (2011). Recuperado el 06 de Junio de 2016 de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
- Perez, C. (2008-2015). *Natursan*. Recuperado el 18 de Abril de 2016 de <http://www.natursan.net/efectos-secundarios-de-los-aditivos-alimentarios/>
- Phumkhachorn, R. y. (2010). Antimicrobial activity of basil oil against *Salmonella enteritidis* in vitro and in food. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 1200-1204.
- Pineda, T. S. (2003). *Procesos de elaboración de alimentos y bebidas*. Mundi-Prensa.
- Pino A. (2015). *Aceites esenciales: química, bioquímica, producción y usos*. Universitaria.
- Pons, X. M. (2006). *Hierbas que curan. Recetas naturales y efectivas, catálogo de hierbas medicinales y curas para cada enfermedad*. Lea.
- Procesos de elaboración de alimentos y bebidas*. (s.f.).
- Quiminet. (2006). *Quiminet*. Recuperado el 13 de Octubre de 2016 de <https://www.quiminet.com/articulos/tipos-de-conservadores-para-alimentos-10412.htm>

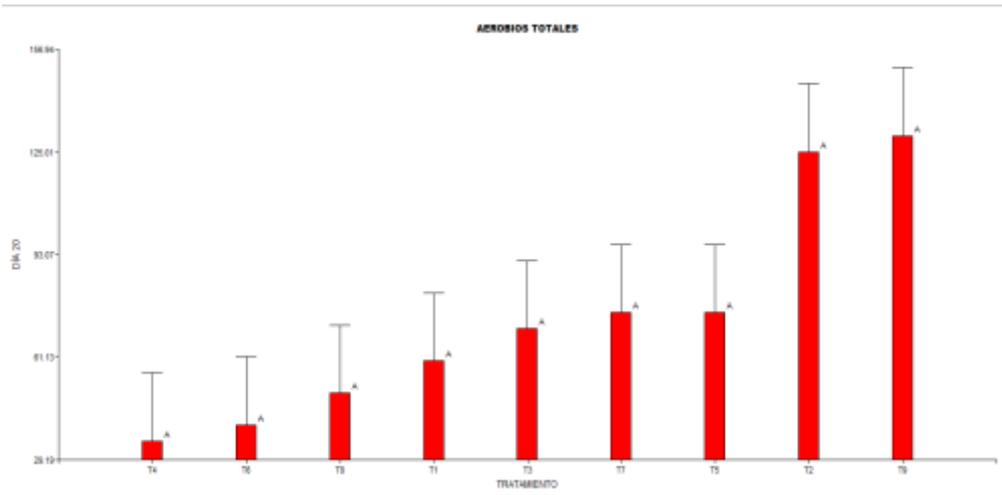
- Ramirez Montoya, R., Angulo Ortiz, A., & Olivero Verbe, J. (2013). Relación entre la composición química y la actividad antioxidante del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. cultivado bajo diferentes tratamientos de fertilizante. *Cubana Plant Med*, 47-56.
- RE Patterson, E. W. (1997). *Vitamin supplements and cancer risk: the epidemiologic evidence*. Recuperado el 24 de Junio de 2016 de Pubmed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9328202>
- Region de Murcia Digital*. (s.f.). Recuperado el 30 de Mayo de 2016, de [http://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,543,m,2719&r=ReP-19967-DETALLE\\_REPORTAJESPADRE](http://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,543,m,2719&r=ReP-19967-DETALLE_REPORTAJESPADRE)
- Reyes, F. (2012). *Vapores de aceites esenciales alternativa d antimicrobianos*. Recuperado el 19 de Abril de 2016 de [http://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6\(1\)-Reyes-Jurado-et-al-2012.pdf](http://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6(1)-Reyes-Jurado-et-al-2012.pdf)
- Rio, J. T. (2013). *Determinación de la actividad antioxidante por DPPH Y ABTS*.
- Robledo, C. (2010). *InfoStat*. Recuperado el 01 de Junio de 2016, de UNC: <http://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=34>
- Rodríguez E, L. F. (2000). *Manual de toxicología básica*. Díaz de Santos.
- Rodríguez M, A. G. (1999). *Tratado de nutrición*. Díaz de Santos.
- Rojas N, C. E. (2006). *Bacteriología Diagnóstica*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica, .
- Romero C, Y. B. (22 de 03 de 2004). *Seviluz*. Recuperado el 30 de Mayo de 2016 de <http://www.produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/ciencia/article/view/9231/9220>
- Ryman, D. (1995). *Aromaterapia: enciclopedia de las plantas aromáticas y de sus aceites esenciales*. Kairós.
- Sánchez Y, O. P. (2009). *Estudio Químico y Microbiológico del aceite de clavo de olor*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv06109.pdf>
- Sánchez, J. A. (2009). *Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino*. Díaz de Santos.

- Sanchez, M. (2006). *Manual practico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Aiyana.
- SENA. (2012). *Introducción a la industria de los aceites esenciales extraídos de las plantas medicinales y aromaticas*.
- Serrano M, M. M. (2012). *Aspectos bromatológicos de conservantes y colorantes: Toxicología alimentaria*. Reprint.
- Sofos. (1979).
- Torres, A. L. (2013). *Extracción, composición y caracterización de los aceites esenciales de semilla de cilantro*. Recuperado el 12 de Enero de 2017, de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-71-Leal-Torres-et-al-2013.pdf>
- Tortora, B. R. (2007). *Introducción a la microbiología*. Medica Panamericana.
- Vandevenne, M. E. (2002). *Métodos de análisis microbiológicos de alimentos*. Diaz de Santos.
- Varga L, L. M. (1984). *Enfermedades infecciosas de los animales domesticos en Centroamerica*. EUNED.
- Vázquez, M. (2001). *Avances en seguridad alimentaria*. Altaga.
- Williams, M. H. (2002). *Nutrición para la salud ,condición fisica y deportiva (Bicolor)*. Paidotribo.
- Wolke, R. L. (2005). *Lo que Einstein le contó a su cocinero 2*. Robinbook.
- Zakara M, M. (1984). *Traditonal Malay Medicinal plants*. Penerbit.

## **Anexos**

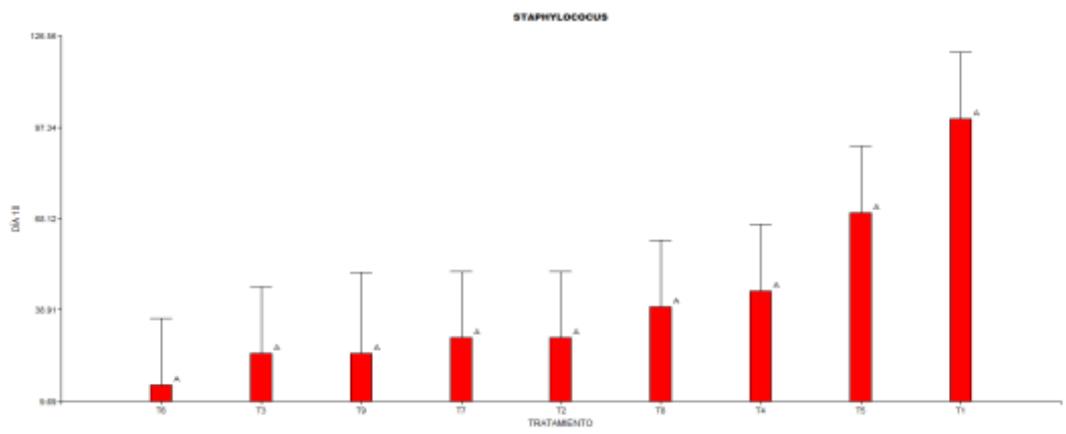
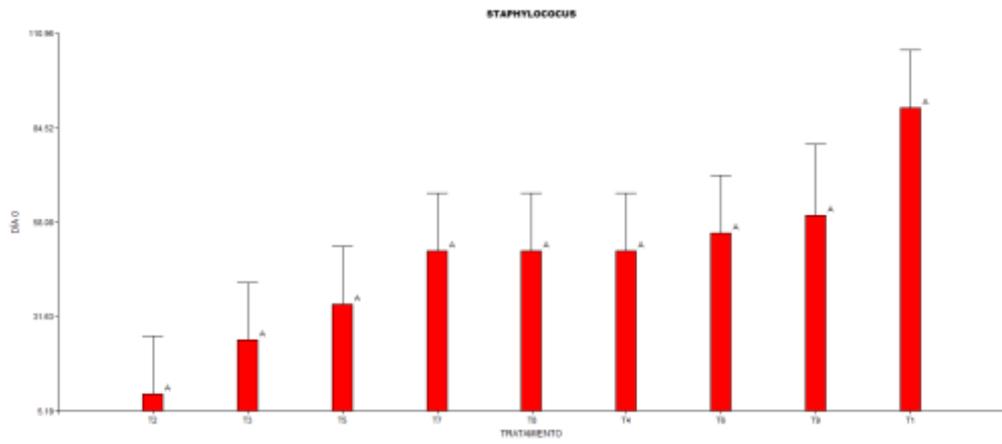
Anexo 1. Graficas de las estadísticas de los tratamientos vs día  
Aerobios Totales

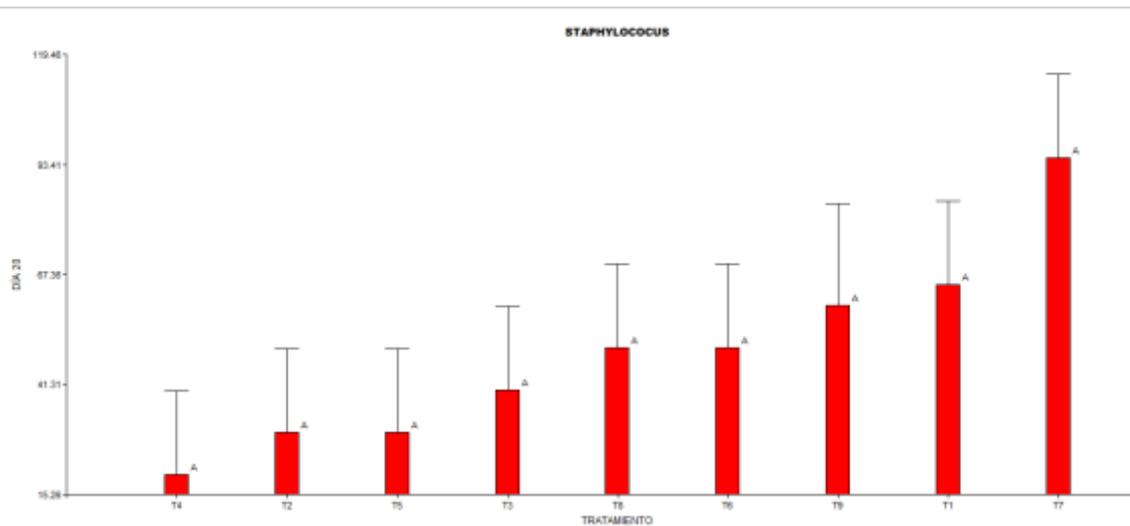




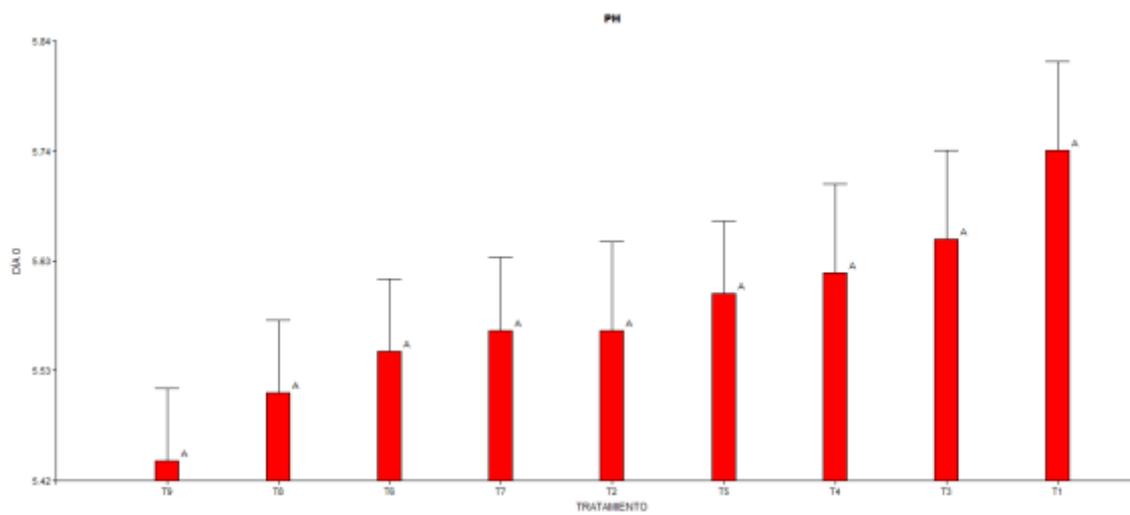
Graficas Crecimiento de aerobios mesofilos de los días 0,10,20

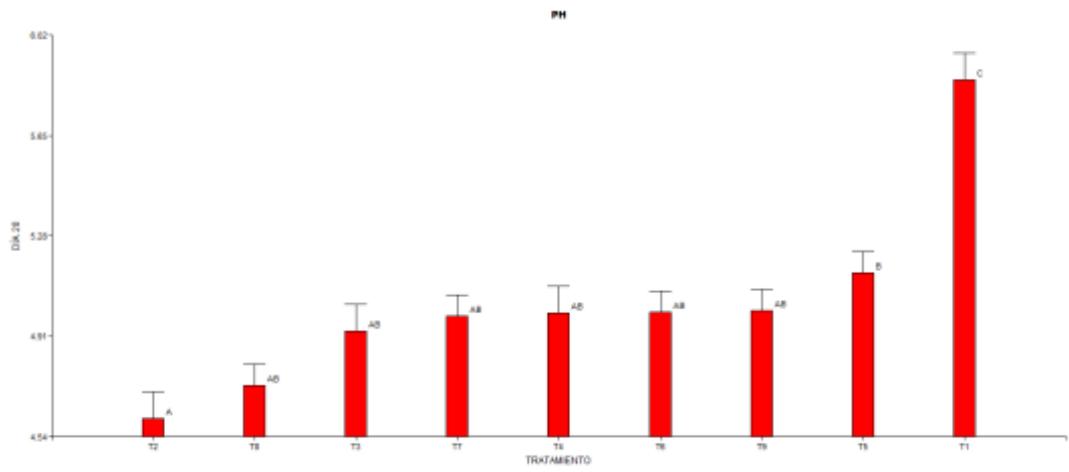
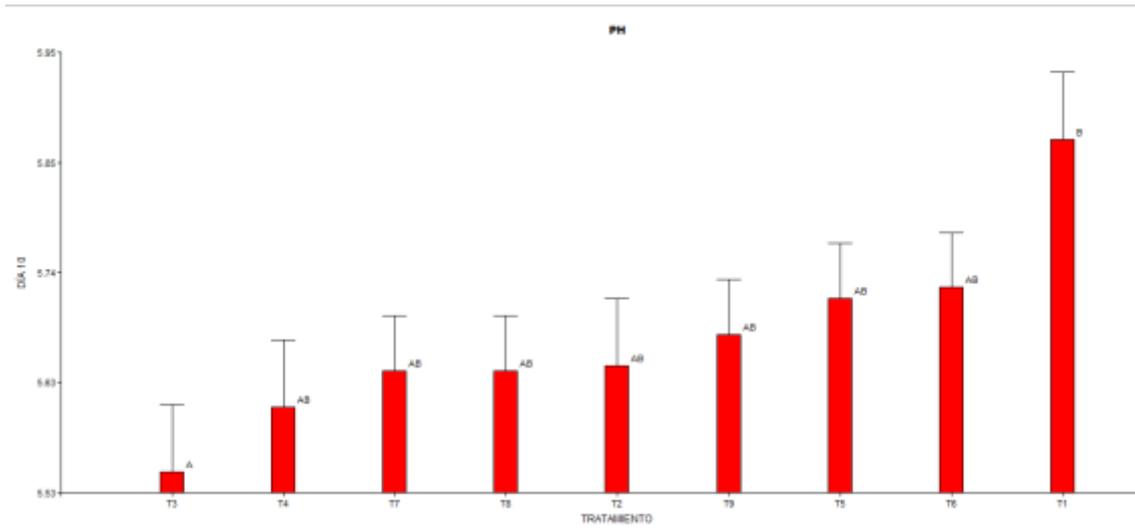
### Staphylococcus



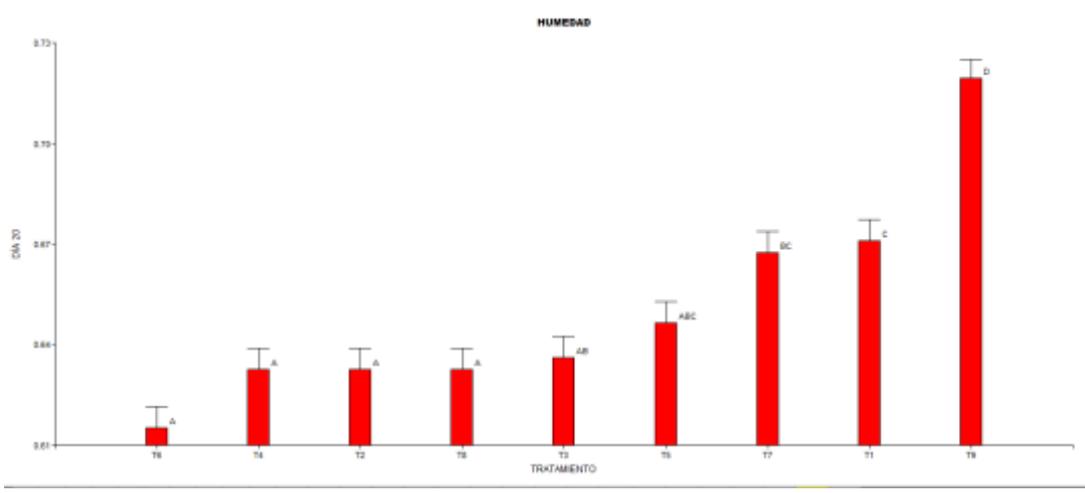
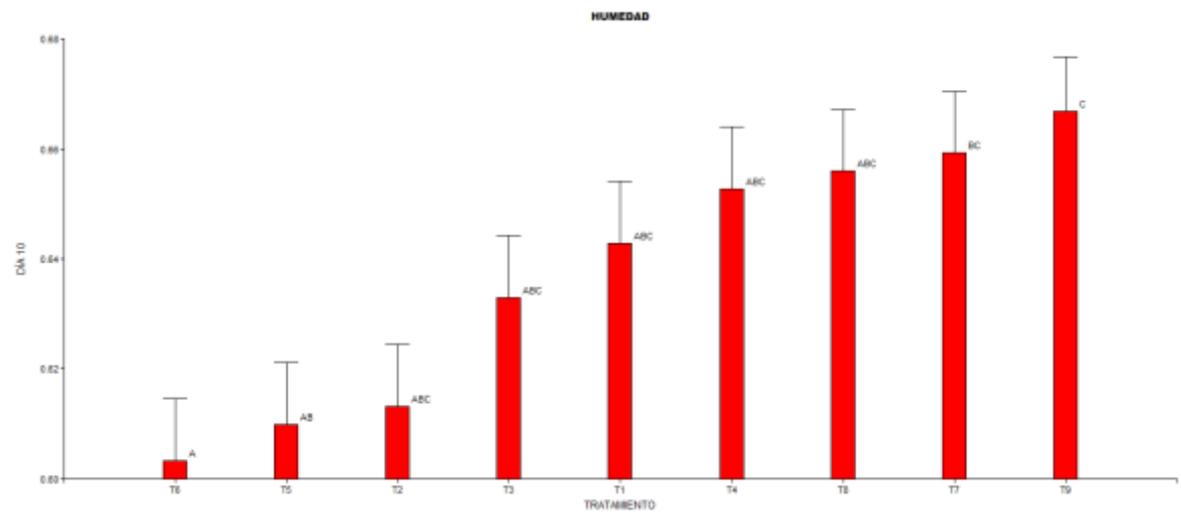
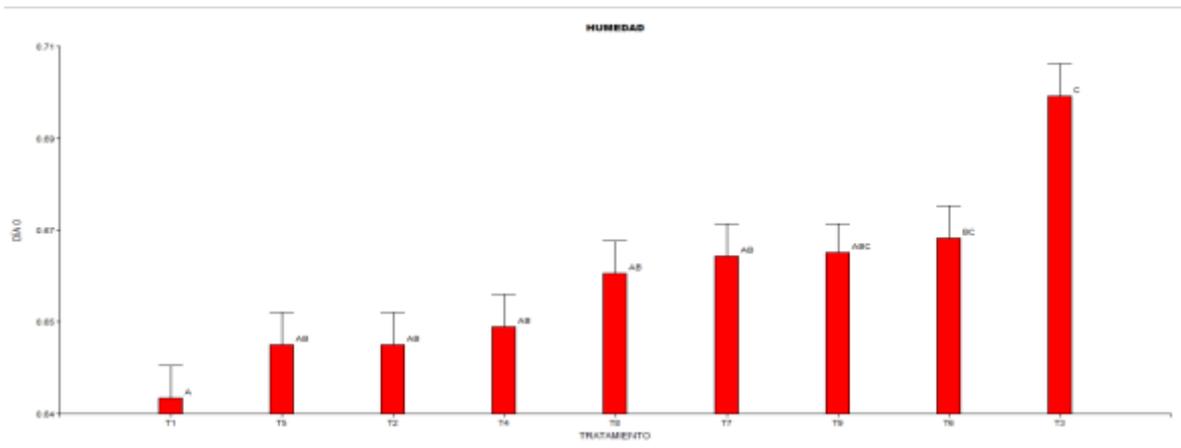


Graficas Crecimiento de Staphylococcus de los días 0,10, 20.





Graficas Cambio de pH de los días 0, 10,20.



Graficas Cambios de la humedad de los días 0, 10,20.

Anexo 2. Aerobios Totales, Datos de las unidades formadoras de colonias Promedio durante 30 días.

Repetición	Tratamiento	Día 0	Día 10	Día 20	Día 30	Raíz n+1 Día 0	Raíz n+1 Día 10	Raíz n+1 Día 20	Raíz n+1 Día 30	Día
1	T1	230	100	90	0	15	10	10	1	
1	T2	80	40	170	150	9	6	13	12	
1	T3	30	40	100	260	6	6	10	16	
1	T4	80	220	30	110	9	15	6	11	
1	T5	20	30	50	90	5	6	7	10	
1	T6	170	70	40	100	13	8	6	10	
1	T7	130	130	120	110	11	11	11	11	
1	T8	80	90	60	40	9	10	8	6	
1	T9	60	130	230	100	8	11	15	10	
2	T1	20	60	30	30	5	8	6	6	
2	T2	110	40	80	190	11	6	9	14	
2	T3	370	90	40	170	19	10	6	13	
2	T4	100	20	40	80	10	5	6	9	
2	T5	120	140	100	120	11	12	10	11	
2	T6	80	40	40	80	9	6	6	9	
2	T7	40	30	30	320	6	6	6	18	
2	T8	90	120	40	80	10	11	6	9	
2	T9	20	160	30	140	5	13	6	12	
3	T1	125	80	60	15	11	9	8	4	
3	T2	95	40	125	170	10	6	11	13	
3	T3	200	65	70	215	14	8	8	15	
3	T4	90	120	35	95	10	11	6	10	
3	T5	70	85	75	105	8	9	9	10	
3	T6	125	55	40	90	11	7	6	10	

<b>3</b>	T7	85	80	75	215	9	9	9	15
<b>3</b>	T8	85	105	50	60	9	10	7	8
<b>3</b>	T9	40	145	130	120	6	12	11	11

Anexo 3. Staphylococcus. Unidades formadoras de colonias durante 30 días.

Repetición	Tratamiento	Día 0	Día 10	Día 20	Día 30	Raíz n+1 Día 0	Raíz n+1 Día 10	Día	Raíz n+1 Día 20	Raíz n+1 Día 30
1	T1	40	30	50	40	13	13	11	13	
1	T2	20	30	30	10	5	6	6	3	
1	T3	20	0	60	60	5	1	8	8	
1	T4	60	0	30	60	8	1	6	8	
1	T5	40	90	30	120	6	10	6	11	
1	T6	60	20	70	40	8	5	8	6	
1	T7	70	40	180	50	8	6	13	7	
1	T8	60	40	30	50	8	6	6	7	
1	T9	110	0	90	30	11	1	10	6	
2	T1	10	20	0	30	3	5	1	6	
2	T2	0	30	30	190	1	6	6	14	
2	T3	30	50	20	170	6	7	5	13	
2	T4	40	90	10	80	6	10	3	9	
2	T5	30	50	30	120	6	7	6	11	
2	T6	50	10	30	80	7	3	6	9	
2	T7	30	20	10	320	6	5	3	18	
2	T8	40	40	70	60	6	6	8	8	
2	T9	10	50	30	130	3	7	6	11	
3	T1	40	42	49	80	7	7	7	10	
3	T2	40	35	44	94	6	6	7	10	
3	T3	42	35	45	99	7	6	7	10	
3	T4	43	37	44	101	7	6	7	10	
3	T5	42	39	45	103	7	6	7	10	
3	T6	42	36	46	103	7	6	7	10	
3	T7	41	37	45	106	6	6	7	10	

<b>3</b>	T8	39	37	37	109	6	6	6	10
<b>3</b>	T9	38	36	38	112	6	6	6	11

#### Anexo 4. PH durante 30 días

Repetición	Tratamiento	Día 0	Día 10	Día 20	Día 30	Raíz n+1 Día 0	Raíz n+1 Día 10	Raíz n+1 Día 20	Raíz n+1 Día 30
1	T1	4,8	5,5	5,48	3,33	2,4	2,5	2,5	2,1
1	T2	5,49	5,8	4,67	3,52	2,5	2,6	2,4	2,1
1	T3	5,54	5,87	4,79	3,38	2,6	2,6	2,4	2,1
1	T4	5,65	5,85	5,05	3,26	2,6	2,6	2,5	2,1
1	T5	5,59	5,86	4,86	3,09	2,6	2,6	2,4	2,0
1	T6	5,58	5,97	4,6	3,16	2,6	2,6	2,4	2,0
1	T7	5,52	5,76	4,54	3,33	2,6	2,6	2,4	2,1
1	T8	5,43	5,85	4,62	3,03	2,5	2,6	2,4	2,0
1	T9	5,39	5,85	4,69	3,64	2,5	2,6	2,4	2,2
2	T1	6,05	5,99	5,98	5,95	2,7	2,6	2,6	2,6
2	T2	5,59	5,6	4,59	4,76	2,6	2,6	2,4	2,4
2	T3	5,69	5,44	4,98	4	2,6	2,5	2,4	2,2
2	T4	5,61	5,53	4,98	4,7	2,6	2,6	2,4	2,4
2	T5	5,61	5,57	5,43	4,74	2,6	2,6	2,5	2,4
2	T6	5,51	5,48	5,4	4,91	2,6	2,5	2,5	2,4
2	T7	5,61	5,53	5,43	4,77	2,6	2,6	2,5	2,4
2	T8	5,58	5,44	4,84	3,34	2,6	2,5	2,4	2,1
2	T9	5,49	5,51	5,32	5,01	2,5	2,6	2,5	2,5
3	T1	5,5	5,7	5,0	4,0	2,6	2,6	2,5	2,2
3	T2	5,6	5,7	5,0	4,0	2,6	2,6	2,4	2,2

3	T3	5,6	5,7	5,0	4,1	2,6	2,6	2,5	2,2
3	T4	5,6	5,7	5,0	4,1	2,6	2,6	2,5	2,3
3	T5	5,6	5,7	5,0	4,1	2,6	2,6	2,5	2,3
3	T6	5,6	5,7	5,0	4,2	2,6	2,6	2,5	2,3
3	T7	5,6	5,6	5,0	4,3	2,6	2,6	2,5	2,3
3	T8	5,6	5,6	5,1	4,3	2,6	2,6	2,5	2,3
3	T9	5,6	5,6	5,1	4,4	2,6	2,6	2,5	2,3

#### Anexo 5. Humedad durante 30 días

Repetición	Tratamiento	Día 0	Día 10	Día 20	Día 30	Raíz n+1 Día 0	Raíz n+1 Día 10	Raíz n+1 Día 20	Raíz n+1 Día 30
1	T1	0,64	0,66	0,64	0,77	1,28	1,29	1,28	1,33
1	T2	0,64	0,66	0,60	0,76	1,28	1,29	1,26	1,33
1	T3	0,66	0,67	0,62	0,75	1,29	1,29	1,27	1,32
1	T4	0,65	0,65	0,60	0,79	1,28	1,28	1,27	1,34
1	T5	0,64	0,63	0,64	0,78	1,28	1,28	1,28	1,33
1	T6	0,67	0,64	0,59	0,75	1,29	1,28	1,26	1,32
1	T7	0,66	0,65	0,66	0,75	1,29	1,28	1,29	1,32
1	T8	0,66	0,66	0,60	0,77	1,29	1,29	1,27	1,33
1	T9	0,66	0,66	0,70	0,73	1,29	1,29	1,30	1,31
2	T1	0,64	0,63	0,71	0,68	1,28	1,28	1,31	1,30
2	T2	0,66	0,57	0,67	0,66	1,29	1,25	1,29	1,29
2	T3	0,73	0,60	0,66	0,66	1,32	1,26	1,29	1,29
2	T4	0,66	0,66	0,67	0,65	1,29	1,29	1,29	1,29
2	T5	0,66	0,59	0,66	0,65	1,29	1,26	1,29	1,28
2	T6	0,67	0,57	0,65	0,67	1,29	1,25	1,29	1,29

2	T7	0,67	0,67	0,68	0,67	1,29	1,29	1,30	1,29
2	T8	0,67	0,65	0,67	0,64	1,29	1,29	1,29	1,28
2	T9	0,67	0,67	0,74	0,68	1,29	1,29	1,32	1,30
3	T1	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,31
3	T2	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,31
3	T3	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,31
3	T4	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,30
3	T5	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,30
3	T6	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,30
3	T7	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,30
3	T8	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,30
3	T9	0,7	0,6	0,7	0,7	1,29	1,28	1,29	1,30

Anexo 6. Efecto antioxidante de aceites esenciales

<b>Aceite cilantro</b>		<b>Aceite Albahaca</b>		<b>Aceite Guayaba</b>	
<b>t(Min)</b>	<b>absorbancia</b>	<b>T(Min)</b>	<b>absorbancia</b>	<b>t(Min)</b>	<b>absorbancia</b>
1	4,884	1 min	3,177	1 min	4,099
2	4,752	2 min	3,111	2 min	3,629
3	3,974	3 min	3,067	3 min	3,132
4	3,899	4 min	3,016	4 min	2,932
5	3,821	5 min	2,976	5 min	2,738
6	3,759	6 min	2,946	6 min	2,47
7	3,707	7 min	2,912	7 min	2,357
8	3,651	8 min	2,876	8 min	2,217
9	3,598	9 min	2,841	9 min	2,137
10	3,563	10 min	2,82	10 min	2,089
11	3,49	11 min	2,8	11 min	2,052
12	3,45	12 min	2,775	12 min	1,998
13	3,406	13 min	2,748	13 min	1,955
14	3,377	14 min	2,726	14 min	1,938
15	3,344	15 min	2,663	15 min	1,941
16	3,313	16 min	2,616	16 min	1,899
17	3,282	17 min	2,588	17 min	1,807
18	3,253	18 min	2,356	18 min	1,788
19	3,226	19 min	1,86	19 min	1,773
20	3,193	20 min	0,99	20 min	1,761
21	3,173	21 min	0,567	21 min	1,745
22	3,152	22 min	0,418	22 min	1,735
23	3,119	23 min	0,349	23 min	1,7
24	3,095	24 min	0,318	24 min	1,68
25	3,07	25 min	0,286	25 min	1,652
26	3,049	26 min	0,278	26 min	1,643
27	3,023	27 min	0,254	27 min	1,617
28	3,006	28 min	0,253	28 min	1,603
29	2,98	29 min	0,252	29 min	1,563
30	2,96	30 min	0,252	30 min	1,534

